

ANTICUERPOS ANTI-BMP9 Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta aplicación reivindica prioridad y beneficio de la Solicitud Provisional de EE. UU. No. 63/347.543, presentada el 31 de mayo de 2022, la Solicitud Provisional de EE. UU. No. 63/375.781, presentada el 15 de septiembre de 2022, y la Solicitud Provisional de EE. UU. No. 63/499.808, presentada el 3 de mayo de 2023, cuyos contenidos se incorporan aquí a modo de referencia.

PARTES DE UNA DECLARACIÓN CONJUNTA DE INVESTIGACIÓN

La presente invención reivindicada fue realizada por o en nombre de las partes enumeradas a continuación en virtud de un acuerdo de investigación conjunto. El acuerdo de investigación conjunto estuvo vigente en o antes de la fecha en que se realizó la invención reivindicada, y la invención reivindicada se realizó como resultado de actividades llevadas a cabo dentro del alcance del acuerdo de investigación conjunto. Las partes del acuerdo de investigación conjunto son PARTNERS HEALTHCARE y PFIZER INC.

ANTECEDENTES

La hipertensión arterial pulmonar (HAP) es un trastorno raro y progresivo caracterizado por la presión arterial alta (hipertensión) en las arterias de los pulmones. La HAP se define como una presión arterial pulmonar media (PAPm) mayor a 20 mmHg en un contexto de gasto cardíaco normal o reducido y una presión de enclavamiento capilar pulmonar normal (Simonneau G, Hoeper MM, The revised definition of pulmonary hypertension: exploring the impact on patient management. *European Heart Journal Supplements*, 2019; 21: K4–K8). Los síntomas iniciales de la HAP incluyen dificultad para respirar después del ejercicio físico. Síntomas adicionales incluyen fatiga excesiva, debilidad, dolor en el pecho, mareos y episodios de desmayo. En etapas avanzadas de la HAP, las personas pueden presentar una coloración azulada anormal de la piel debido a bajos niveles de oxígeno en la circulación (cianosis), y la cámara derecha (ventrículo) del corazón puede estar anormalmente agrandada (hipertrofia), lo que potencialmente puede provocar insuficiencia cardíaca.

Los métodos actuales para tratar la HAP incluyen vasodilatadores, agentes antiproliferativos, bloqueadores de los canales de calcio, anticoagulantes y diuréticos. Estas

terapias se centran en prolongar la vida del paciente y mejorar su calidad de vida. Sin embargo, estos tratamientos tienen una o más desventajas, como falta de efectividad, efectos secundarios graves, baja adherencia del paciente y alto costo. De hecho, la mayoría de los pacientes todavía mueren a causa de la enfermedad o no responden adecuadamente a la terapia médica, con una tasa de supervivencia a 5 años del 59% (Boucly A, Weatherald J, Savale L, *et al.* Risk assessment, prognosis, and guideline implementation in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2017; 50:1700889). En consecuencia, existe la necesidad significativa en el arte de terapias dirigidas novedosas para el tratamiento y/o prevención de la HAP y, en particular, para abordar la fisiopatología subyacente.

SÍNTESIS

La presente revelación proporciona anticuerpos que se unen a la proteína morfogenética ósea-9 (BMP9), codificada por el gen del factor de diferenciación de crecimiento 2 (GDF2), así como también utiliza los anticuerpos y métodos asociados. Se proporcionan polinucleótidos que codifican anticuerpos que se unen a BMP9. También se proporcionan polinucleótidos que codifican cadenas pesadas o ligeras de anticuerpos, o ambas. Se proporcionan células huésped que expresan los anticuerpos. La revelación también proporciona procesos para la fabricación, preparación y producción de anticuerpos que se unen a BMP9. Además, la revelación abarca la expresión de anticuerpos y la preparación y fabricación de composiciones que comprenden los anticuerpos de la revelación, como medicamentos para el uso de los anticuerpos.

Los anticuerpos de la revelación son útiles en uno o más de los siguientes aspectos: diagnóstico, profilaxis y/o tratamiento de trastornos o afecciones mediadas por, o asociadas con, la actividad de BMP9, incluyendo, pero no limitándose a, hipertensión arterial pulmonar, anemias, enfermedades hepáticas, enfermedades neuroinflamatorias o neurodegenerativas como esclerosis múltiple, trastornos fibrosos e insuficiencia cardíaca. Uno o más de los trastornos o afecciones mencionados anteriormente pueden excluirse del diagnóstico, la profilaxis y/o el tratamiento mediado por, o asociado con, la actividad de BMP9.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a la proteína morfogenética ósea-9 (BMP9) y que comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL). En algunos aspectos, la región determinante de complementariedad uno (CDR1) de VH comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 24, SEQ ID

NO: 36, SEQ ID NO: 45 y SEQ ID NO: 53, la CDR2 de VH comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 70 y SEQ ID NO: 76, la CDR3 de VH comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 47 y SEQ ID NO: 62, la CDR1 de VL comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65 y SEQ ID NO: 73, la CDR2 de VL comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 41 y SEQ ID NO: 66, y la CDR3 de VL comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 67. La presente revelación incluye, en algunos aspectos, se encuentra un anticuerpo aislado que se une a la proteína morfogenética ósea-9 (BMP9) y consta de una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en la cual (i) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84; (ii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; (iii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (iv) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, y la VL CDR3 comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32; (v) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, la VH CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46, y la VH CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47, la VL CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, la VL CDR2 comprende
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y la VL CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42; (vi) la VH CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54, y la VH CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, la VL CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, la VL CDR2 comprende secuencia
10 de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (vii) la VH CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, la VH CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, y la VH CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62, la VL CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57, la VL CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de
15 SEQ ID NO: 41, y la VL CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58; (viii) la VH CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y la VH CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, la VL CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65, la VL CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ
20 ID NO: 66, y la VL CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; (ix) la VH CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y la VH CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, la VL CDR1 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, la VL CDR2 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ
25 ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67. En algunas realizaciones de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente: (i) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de
30 SEQ ID NO: 82, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84; (ii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 19, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (iii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (iv) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; o (v) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a la proteína morfogenética ósea-9 (BMP9) y que comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67.

En algunos aspectos, la VH de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71 o SEQ ID NO: 77, o una variante de los mismos que comprende de una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de un CDR. En algunos aspectos, la VL de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 74, o una variante de los mismos que comprende de una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de un CDR. En algunos aspectos, la VH

de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71 o SEQ ID NO: 77, o una variante de los mismos que comprende de una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de un CDR, y la VL de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 74, o una variante de los mismos que comprende de una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de un CDR.

En algunos aspectos, la VH de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, o cualquier rango de ellos, idéntica a SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71 o SEQ ID NO: 77.

En algunos aspectos, la VH de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71 o SEQ ID NO: 77. En algunos aspectos, la VL de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, o cualquier rango de ellos, idéntica a SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 74.

En algunos aspectos, la VL de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 74. En algunos aspectos, la VH de los anticuerpos aislados revelados aquí comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, (por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al

menos 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71, o SEQ ID NO: 77, y la VL de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente comprenden una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o
5 aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, (por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68, o SEQ ID NO: 74. Se contempla
10 que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

En algunos aspectos, los anticuerpos aislados que se revelan en la presente comprenden: (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; (ii) una VH que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33; (iv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; (v) una VH
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51; (vi) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59; (vii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; o (viii) una VH
25 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

En algunos aspectos, los anticuerpos aislados que se revelan en la presente comprenden: (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (ii) una VH que
30 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51; (iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; (iv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; (v) una VH

que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 22; (vi) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 55 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 51; (vii) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 68; o (viii) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos

91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 74. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización. En algunos aspectos, el anticuerpo aislado comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, una porción de un anticuerpo aislado, en donde el anticuerpo aislado se une a BMP9 y comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), donde la VH CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, y SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 70, y SEQ ID NO: 76, la VH CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 47, y SEQ ID NO: 62, the VL CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, y SEQ ID NO: 73, the VL CDR2 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 41, y SEQ ID NO: 66, y la VL CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 58, y SEQ ID NO: 67. En algunos aspectos, la porción se une a BMP9.

En algunos aspectos, la porción comprende una VH CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, y SEQ ID NO: 53, una VH CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 70, y SEQ ID NO: 76, y una VH CDR3 que comprende una secuencia de

aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 47, y SEQ ID NO: 62.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9 y comprende una VH codificada por la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127292, una VL
5 codificada por la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127293, o ambas.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende: (i) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 16 y las
10 secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 6; (ii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 27 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 22; (iii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 39 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 33; (iv)
15 las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 48 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 43; (v) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 55 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 51; (vi) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 63 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 59; (vii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 71 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y
20 VL CDR3 de SEQ ID NO: 68; o (viii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 77 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 74.

En algunos aspectos, el anticuerpo aislado comprende un dominio constante de cadena ligera V_{κ} o V_{λ} humana. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende un dominio constante de cadena ligera V_{λ} humana. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende un
25 dominio constante de cadena pesada. En algunos aspectos, el dominio constante de cadena pesada comprende una IgA (por ejemplo, IgA₁ o IgA₂), IgD, IgE, IgM, o IgG (por ejemplo IgG₁, IgG₂, IgG₃, o IgG₄). En algunos aspectos, el dominio constante de cadena pesada comprende una IgG. En algunos aspectos, la IgG se selecciona del grupo integrado por IgG₁, IgG₂, IgG₃, y IgG₄. En algunos aspectos, la IgG es IgG₁. En algunos aspectos, el anticuerpo
30 comprende un dominio Fc. En algunos aspectos, el dominio Fc comprende un dominio CH₂ de cadena pesada IgG1 y un dominio CH₃ de cadena pesada IgG.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 35, SEQ ID

NO: 44, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 69, y SEQ ID NO: 75. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 18, SEQ ID No: 29, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, y SEQ ID NO: 72. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende: (i) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 69, y SEQ ID NO: 75, y (ii) una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 18, SEQ ID No: 29, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, y SEQ ID NO: 72.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 69, o SEQ ID NO: 75. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 18, SEQ ID No: 29, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, o SEQ ID NO: 72. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende: (i) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 69, o SEQ ID NO: 75, y (ii) una cadena ligera que comprende una secuencia de

aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 18, SEQ ID No: 29, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, o SEQ ID NO: 72. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende: (i) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; (ii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; (iii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29; (iv) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; (v) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49; (vi) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56; (vii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; o (viii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende: (i) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; (ii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49; (iii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; (iv) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72; (v) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 23 y una LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 18; (vi) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 52 y una LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 49; (vii) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 69 y una LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 64; o (viii) una HC que comprende, o se

compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 72. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que comprende: (i) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72 o (ii) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%, idéntica a SEQ ID NO: 72. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Ala28, Pro29, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79. En algunos aspectos, el anticuerpo se une a Ala28, Pro29, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79. En algunos aspectos, el anticuerpo además se une a uno o más residuos de aminoácidos

seleccionados del grupo integrado por Pro81, Tyr86, Asp88, Asp89, Thr94, Lys96, His98, Tyr99 y Glu100 de SEQ ID NO: 79. En algunos aspectos, el anticuerpo se une a Pro81, Tyr86, Asp88, Asp89, Thr94, Lys96, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79. En algunos aspectos, el anticuerpo además se une a uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Ile27, Lys30, y Glu31 de SEQ ID NO: 79. En algunos aspectos, el anticuerpo se une a Ile27, Lys30, y Glu31 de SEQ ID NO: 79. Se contempla que uno o más de estos residuos de aminoácidos mencionados anteriormente puedan ser excluidos en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Tyr32, Ser80, Pro81, Ile82, Ser83, Val84, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79. Se contempla que uno o más de estos residuos de aminoácidos mencionados anteriormente puedan ser excluidos en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Tyr32, Ser80, Pro81, Ile82, Ser83, Val84, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Ala28, Pro29, Pro81, Ser83, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79. Se contempla que uno o más de estos residuos de aminoácidos mencionados anteriormente puedan ser excluidos en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende Ala28, Pro29, Pro81, Ser83, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Arg14, Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79. Se

contempla que uno o más de estos residuos de aminoácidos mencionados anteriormente puedan ser excluidos en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende Arg14, Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79. En algunos aspectos, el epítipo del anticuerpo en BMP9 no comprende residuos de aminoácidos 21-25, 43-60 de SEQ ID NO: 79.

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, o 150 pM, o cualquier rango de los mismos, a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados

que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM a 37°C

según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 75 pM a aproximadamente 95 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 85 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 87 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. Se contempla que cualquiera de estas afinidades de unión anteriores, ya sea una o más, pueden excluirse en una realización.

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 cyno con una afinidad de al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, o 150 pM, o cualquier rango de los mismos, a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 cyno con una afinidad de aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 cyno con una afinidad de aproximadamente 50 pM a aproximadamente 100 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 cyno con una afinidad de aproximadamente 65 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. Se contempla que cualquiera de estas afinidades de unión anteriores, ya sea una o más, pueden excluirse en una realización.

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 de rata con una afinidad de al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, o 150 pM, o cualquier rango de los mismos, a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 de rata con una afinidad de aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM,

aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, 5 aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 de rata con una afinidad de aproximadamente 75 pM a 10 aproximadamente 120 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 de rata con una afinidad de aproximadamente 98 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. Se contempla que cualquiera de estas afinidades de unión anteriores, ya sea una o más, pueden excluirse en una realización.

15 En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo comprende: (i) una CDR3 de región variable de cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 26 y una CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de SEQ ID NO: 84, (ii) una CDR3 de región variable de cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 26 y una CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de SEQ ID NO: 21, o (iii) una CDR3 de región variable de 20 cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 26 y una CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de SEQ ID NO: 67.

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo (i) se une a BMP9 humana e inhibe la unión de BMP9 humana a un receptor tipo II BMP9 (ej., BMPRII, ActRIIA, y/o ActRIIB); o (ii) se une a BMP9 humana e inhibe la 25 unión de BMP9 humana a un receptor tipo II BMP9 (por ej., BMPRII, ActRIIA, y/o ActRIIB) e inhibe débilmente la unión de BMP9 humana a un receptor tipo 1 de BMP9 (por ej., ALK1). En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo se une a BMP9 humana e inhibe la unión de BMP9 humana a células endoteliales humanas. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el 30 anticuerpo se une a BMP9 humana pero no se une a otros ligandos de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta humano (TGFβ) (por ej., GDF8, GDF11, Activina A, TGFβ1, GDF9, y BMP10).

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 medida por la translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 en células endoteliales.

En algunos aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 humana con una IC₅₀ de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 100 nM (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 10 pM, 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, 150 pM, 160 pM, 170 pM, 180 pM, 190 pM, 200 pM, 225 pM, 250 pM, 275 pM, 300 pM, 325 pM, 350 pM, 375 pM, 400 pM, 425 pM, 450 pM, 475 pM, 500 pM, 550 pM, 600 pM, 650 pM, 700 pM, 750 pM, 800 pM, 850 pM, 900 pM, 950 pM, 1000 pM, 2000 pM, 3000 pM, 4000 pM, 5000 pM, 6000 pM, 7000 pM, 8000 pM, 9000 pM, 10000 pM, 20000 pM, 30000 pM, 40000 pM, 50000 pM, 60000 pM, 70000 pM, 80000 pM, 90000 pM, o 100000 pM, o cualquier rango de los mismos). En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 humana con una IC₅₀ de aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, aproximadamente 145 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 155 pM, aproximadamente 160 pM, aproximadamente 170 pM, aproximadamente 180 pM, aproximadamente 190 pM, aproximadamente 200 pM, aproximadamente 225 pM, aproximadamente 250 pM, aproximadamente 300 pM, aproximadamente 350 pM, aproximadamente 400 pM, aproximadamente 450 pM, aproximadamente 500 pM, aproximadamente 600 pM, aproximadamente 700 pM, aproximadamente 800 pM, aproximadamente 900 pM, o aproximadamente 1000 pM. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 humana con una IC₅₀ de aproximadamente 1 nM, aproximadamente 2 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 20 nM, aproximadamente 30 nM, aproximadamente 40 nM, aproximadamente 50 nM,

aproximadamente 60 nM, aproximadamente 70 nM, aproximadamente 80 nM, aproximadamente 90 nM o aproximadamente 100 nM. Se contempla que cualquiera de estos valores IC_{50} anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización

En algunos aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 cyno con una IC_{50} de aproximadamente 15 pM a aproximadamente 120 pM (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, o 120 pM, o cualquier rango de los mismos). En algunos aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 cyno con una IC_{50} de aproximadamente 17 pM a aproximadamente 117 pM, por ejemplo, aunque no se limite a, aproximadamente 17 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 90 pM aproximadamente 100 pM, o aproximadamente 117 pM. En algunos aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 de rata con una IC_{50} de aproximadamente 120 pM a aproximadamente 300 pM, por ejemplo, aunque no se limite a, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 175 pM, aproximadamente 200 pM, aproximadamente 225 pM, aproximadamente 250 pM, aproximadamente 275 pM, o aproximadamente 300 pM. Se contempla que cualquiera de estos valores IC_{50} anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 medida por la translocación nuclear de fosfo-SMAD2 en células endoteliales.

En algunos aspectos, el anticuerpo inhibe actividad de BMP9 humana con una IC_{50} de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 350 nM (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 10 pM, 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, 150 pM, 160 pM, 170 pM, 180 pM, 190 pM, 200 pM, 225 pM, 250 pM, 275 pM, 300 pM, 325 pM, o 350 pM, o cualquier rango de los mismos). En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibe actividad de BMP9 humana con una IC_{50} de aproximadamente 10 pM, aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM,

aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM,
aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM,
aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM,
aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM,
5 aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM,
aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM,
aproximadamente 145 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 155 pM,
aproximadamente 160 pM, aproximadamente 170 pM, aproximadamente 180 pM,
aproximadamente 190 pM, aproximadamente 200 pM, aproximadamente 225 pM,
10 aproximadamente 250 pM, aproximadamente 300 pM, aproximadamente 350 pM,
aproximadamente 400 pM, aproximadamente 450 pM, aproximadamente 500 pM,
aproximadamente 600 pM, aproximadamente 700 pM, aproximadamente 800 pM,
aproximadamente 900 pM, o aproximadamente 1000 pM. En algunas realizaciones, el
anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 humana con una IC₅₀ de aproximadamente 1
15 nM, aproximadamente 2 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 20 nM,
aproximadamente 30 nM, aproximadamente 40 nM, aproximadamente 50 nM,
aproximadamente 60 nM, aproximadamente 70 nM, aproximadamente 80 nM,
aproximadamente 90 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 150 nM,
aproximadamente 200 nM, aproximadamente 250 nM, aproximadamente 300 nM, o
20 aproximadamente 350 nM. Se contempla que cualquiera de estos valores IC₅₀ anteriores, ya
sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

En algunos aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 cyno con
una IC₅₀ de aproximadamente 15 pM a aproximadamente 75 pM (por ej., al menos, como
máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 15
25 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, o
75 pM, o cualquier rango de los mismos). En algunos aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la
actividad de BMP9 cyno con una IC₅₀ de aproximadamente 27 pM a aproximadamente 42
pM, por ejemplo, aunque no se limite a, aproximadamente 27 pM, aproximadamente 30 pM,
aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, o aproximadamente 42 pM. En algunos
30 aspectos, el anticuerpo aislado inhibe la actividad de BMP9 de rata con una IC₅₀ de
aproximadamente 450 pM a aproximadamente 1 nM, por ejemplo, aunque no se limite a,
aproximadamente 650 pM, aproximadamente 700 pM, aproximadamente 750 pM,
aproximadamente 800 pM, aproximadamente 850 pM, aproximadamente 900 pM,

aproximadamente 950 pM, o aproximadamente 1000 pM. Se contempla que cualquiera de estos valores IC₅₀ anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo reduce la presión sistólica del ventrículo derecho en un sujeto en al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, o 70%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, o al menos 70%, en comparación con antes de la administración del anticuerpo. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo reduce la presión sistólica del ventrículo derecho en un sujeto en al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, o 70%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, o al menos 70%, en comparación con la diferencia porcentual (%) observada entre un anticuerpo de control de isotipo y la condición de normoxia. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo reduce la hipertrofia del ventrículo derecho en un sujeto en al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, o 70%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 2%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, o al menos 70%, en comparación con antes de la administración del anticuerpo. En algunos aspectos de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente, el anticuerpo reduce la hipertrofia del ventrículo derecho en un sujeto en al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, o 70%, o cualquier rango de los mismos, por ej., al menos 2%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, o al menos 70%, en comparación con la diferencia porcentual (%) observada entre un anticuerpo de control de isotipo y la condición de normoxia. En algunos aspectos, el sujeto es un modelo animal Sugén-Hipoxia de hipertensión arterial

pulmonar (HAP). Se contempla que cualquiera de estos porcentajes de reducción anteriores pueden excluirse en una realización.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un polinucleótido aislado que codifica cualquiera de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un ácido nucleico aislado que codifica la VH, VL, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9. En algunos aspectos, el ácido nucleico aislado comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 85, la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 86, o ambas. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada, cadena ligera, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9. En algunos aspectos, el ácido nucleico aislado comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 87, la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 88, o ambas. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un ácido nucleico aislado que codifica la VH, VL, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9. En algunos aspectos, el ácido nucleico aislado comprende la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127292, la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127293, o ambas.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un vector que comprende un polinucleótido aislado que se revela en la presente que codifica cualquiera de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un vector que comprende un ácido nucleico aislado que se revela en la presente que codifica la VH, VL, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9. Se revela en la presente, en algunos aspectos, un vector que comprende un ácido nucleico aislado que se revela en la presente que codifica la cadena pesada, cadena ligera, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, una célula huésped aislada que comprende un polinucleótido aislado que se revela en la presente que codifica cualquiera de los anticuerpos aislados que se revelan en la presente. Se revela en la presente, en algunos aspectos, una célula huésped aislada que comprende un ácido nucleico aislado que se revela en la presente que codifica la VH, VL, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9. Se revela en la presente, en algunos aspectos, una célula huésped aislada que comprende un ácido nucleico aislado que se revela en la presente que codifica la cadena pesada, cadena ligera, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9. En algunos aspectos, la célula huésped es una célula de mamífero o una célula de insecto. En algunos aspectos, la célula huésped es una célula de mamífero que se selecciona del grupo integrado por una célula CHO, una célula HEK-293, una célula NS0, una célula PER.C6®, o una célula Sp2.0.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un método para producir un anticuerpo, que comprende cultivar una célula huésped que se revela en la presente bajo condiciones que dan como resultado la producción del anticuerpo. En algunos aspectos, el método comprende además recuperar el anticuerpo.

- 5 Se revela en la presente, en algunos aspectos, una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo que se revela en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, la composición comprende 1,12 mg/mL L-histidina, 2,67 mg/mL L-histidina clorhidrato monohidrato, 85 mg/mL sacarosa, 0,05 mg/mL EDTA disódico dihidrato, 0,2 mg/mL polisorbato 80 a pH 5,8.
- 10 En algunos aspectos, la composición comprende 20 mM histidina, 8,5% sacarosa, y 0,02% polisorbato 80, 0,005% EDTA a pH 5,8. En algunos aspectos, la composición comprende aproximadamente 2 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 20 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL, 75 mg/mL, 100 mg/mL, 125 mg/mL, 150 mg/mL, 175 mg/mL, o 200 mg/mL de anticuerpo. En algunos aspectos, la composición es adecuada para administración subcutánea
- 15 (SC) y/o intravenosa (IV) . En algunos aspectos, la composición es adecuada para administración intravenosa (IV). En algunos aspectos, la composición es adecuada para administración subcutánea (SC).

- Se revela en la presente, en algunos aspectos, un método para reducir la expresión o actividad de BMP9 en un individuo, el método comprende administrar a un individuo que
- 20 lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que se revela en la presente o un anticuerpo que se revela en la presente.

- Se revela en la presente, en algunos aspectos, un método para tratar hipertensión en un individuo, el método comprende administrar a un individuo que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que se revela en la
- 25 presente o un anticuerpo que se revela en la presente. En algunos aspectos, la hipertensión es hipertensión pulmonar.

- Se revela en la presente, en algunos aspectos, un método para tratar hipertensión arterial pulmonar (HAP) en un individuo, el método comprende administrar a un individuo que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que
- 30 se revela en la presente o un anticuerpo que se revela en la presente. En algunos aspectos, el anticuerpo se administra en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos terapéuticamente activos adicionales o modalidades de tratamiento efectivas para tratar al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se revela en la presente, o una composición farmacéutica que se revela en la presente, para usar como un medicamento.

5 Se revela en la presente, en algunos aspectos, un anticuerpo aislado que se revela en la presente, o una composición farmacéutica que se revela en la presente, para usar en el tratamiento de al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

10 Se revela en la presente, en algunos aspectos, el uso de un anticuerpo aislado que se revela en la presente, o una composición farmacéutica que se revela en la presente en la elaboración de un medicamento para tratar al menos al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

15 Se contempla que cualquier aspecto analizado en esta memoria descriptiva puede ser implementado con respecto a cualquier método o composición de la revelación, y viceversa. Además, las composiciones de la revelación pueden ser utilizadas para llevar a cabo los métodos de la revelación.

20 Cualquier método en el contexto de un propósito o efecto terapéutico, diagnóstico o fisiológico también se puede describir en lenguaje de una reivindicación "de uso" tal como "uso de" cualquier compuesto, composición o agente analizado en la presente para lograr o implementar un propósito o efecto terapéutico, diagnóstico o fisiológico que se describe. El uso de una o más composiciones puede ser empleado basándose en cualquiera de los métodos que se describen en la presente.

25 Otras objetos, características y ventajas de la presente revelación se tornarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Se debe entender, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, mientras que indican realizaciones específicas de la revelación, se dan a modo de ilustración solamente, dado que varios cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance de la revelación se tornarán evidentes para aquellos con experiencia en el arte a partir de esta descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

30 **FIG. 1** representa un gráfico ejemplar que muestra la unión de anticuerpos a BMP9 humana en un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

FIGS. 2A-2F representa datos de competencia ELISA ejemplares con anticuerpos BMP9 y proteínas receptoras ActRIIA (**FIG. 2A**), BMPRII (**FIGS. 2B, 2E**), ActRIIB (**FIG. 2C**), y

ALK1 (**FIG. 2D, 2F**). Anticuerpos Ab89, Ab93, Ab100, y Ab101 son anticuerpos anti-BMP9 parentales identificados a partir de una campaña de selección de la colección de fagos de anticuerpos humanos. Ab352, Ab804, y Ab1076 son variantes optimizadas de Ab93. BM01 (referido como AM0100 en WO 2016/193872) y BM02 (referido como AM4405 en WO 2016/193872) se utilizaron como anticuerpos de referencia.

FIG. 3 representa un gráfico ejemplar que muestra el efecto de anticuerpos anti-BMP9 en la unión de BMP9 a células endoteliales microvasculares inmortalizadas con telomerasa humana (TIME, por sus siglas en inglés).

FIGS. 4A-4C representa sensogramas BIACORE™ representativos de la unión de Ab1076 Fab a BMP9 humana (**FIG. 4A**), cyno (**FIG. 4B**), y de rata (**FIG. 4C**).

FIG. 5 representa sensogramas Octet ejemplares de la unión de Ab1076 Fab a proteínas Activina A, BMP10, GDF8, GDF9, GDF11, TGFβ1, y BMP9 humanas, a 37°C.

FIGS. 6A-6K representan datos ejemplares que muestran la inhibición de translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 inducida por BMP9 (**FIGS. 6A, 6C, 6E, 6G, 6I, y 6K**) y fosfo-SMAD2 (**FIGS. 6B, 6D, 6F, 6H, y 6J**) por lo anticuerpos anti-BMP9.

FIGS. 7A-7B representa gráficos ejemplares que muestran la presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP; **FIG. 7A**) y la hipertrofia del ventrículo derecho (RV/(LV+S); **FIG. 7B**) en ratas tratadas con mAb de control isotipo (Iso Ctrl), ActRIIA-Fc, Ab732, o Ab1076. Datos representan la media ± SEM. ANOVA de una vía con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey se realizó tanto para RVSP como para RV/(LV+S) en relación con el Ctrl Iso. * = p≤0,05; ** = p≤0,01; y **** = p≤0,0001.

FIGS. 8A-8B representa datos ejemplares que muestran determinación cuantitativa de la BMP9 circulante total (**FIG. 8A**) y concentraciones BMP10 (**FIG. 8B**) en suero a partir de ratas tratadas con mAb control isotipo (Iso Ctrl), ActRIIA-Fc, Ab732, o Ab1076. Data representan la media ± SD. ANOVA de una vía con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey se realizó para todas las comparaciones de tratamiento tanto para las concentraciones circulantes de BMP9 como BMP10. * = p≤0,05; ** = p≤0,01; *** = p≤0,001; **** = p≤0,0001.

FIGS. 9A-9B representan datos ejemplares que muestran los epítomos de unión de BMP9 para el receptor tipo II ActRIIB (**FIG. 9A**) y el epítomo superpuesto para Ab1076 (**FIG. 9B**). Los epítomos de unión fueron calculados utilizando el método de descripción basado en la estructura descrito en la sección de ejemplos que se muestra a continuación. Aquí, se muestra la estructura de BMP9 en blanco, con el epítomo de ActRIIB (**FIG. 9A**) en negro y el epítomo

de Ab1076 (**FIG. 9B**) en gris superpuesto sobre el epítipo de ActRIIB que no se une en negro. El cálculo para el epítipo de ActRIIB se realizó en el complejo BMP9:ActRIIB en la Entrada 4fao de la Base de Datos de Proteínas (Protein Data Bank), cadenas A (BMP9) y E (ActRIIB). El cálculo del epítipo de Ab1076 se realizó utilizando la estructura de Ab1076, cadenas H+L (Fab) y G (BMP9).

FIGS. 10A-10D representan datos ejemplares que muestran la interfaz de unión de BMP9 con Ab1076. **FIG. 10A** representa el diagrama de cintas de la interacción del dímero de BMP9 (negro) con el Fab de Ab1076 (VH: Gris Oscuro, VL: Gris Claro) tal como se ve en la estructura cristalina de su complejo. En la interacción, se observa una proporción de 2-Fab:2-BMP9. Las mutaciones importantes mostradas en **FIG. 10B**, **FIG. 10C** y **FIG. 10D** contribuyen al aumento de aproximadamente 20 veces en la afinidad de unión de Ab93 a Ab1076. Estas incluyen la mutación D_H53_E, que se predice que introduce una geometría de puente salino más óptima con BMP9_K96; la mutación D_L31_F, que se predice que aumenta el empaquetamiento con BMP9_P29 y BMP9_Y32; y la mutación V_L93_E, que se predice que agrega un enlace de hidrógeno adicional a BMP9_S80.

FIGS. 11A-11B representan datos ejemplares que muestran la modulación mediada por suero de la translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 (**FIG. 11A**) y fosfo-SMAD2 (**FIG. 11B**) inducida en células endoteliales humanas por el suero de ratas tratadas con control de isotipo (Iso Ctrl), ActRIIA-Fc, Ab732 o Ab1076. Datos representan la media $\pm$ SD. ANOVA de una vía con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey se realizó tanto para fosfo-SMAD1/5/9 como para fosfo-SMAD2 en relación con el Ctrl Iso. * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$, y **** = $p \leq 0,0001$.

FIGS. 12A-12B representan gráficos ejemplares que muestran los efectos de los anticuerpos anti-BMP9 Ab732 y Ab1076 sobre la actividad de luciferasa inducida por GDF8 y GDF11.

FIG. 13 representa un gráfico ejemplar que muestra la inhibición de secreción endotelial de endotelina-1 por el anticuerpo anti-BMP9 Ab1076 en un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

FIGS. 14A-14F representan análisis de expresión diferenciales para determinar el nivel de relativo de expresión de mRNA (cambio en expresión plegada) para *Cxcl12* (**FIG. 14A**), *Igfbp4* (**FIG. 14B**), *Inhba* (**FIG. 14C**), *Mall* (**FIG. 14D**), *Frzb* (**FIG. 14E**), y *Cpe* (**FIG. 14F**) en pulmones de ratas tratadas con SU5416+Hypoxia (SuHx) en comparación con pulmones de ratas normóxicas (Nx) y pulmones de ratas SuHx tratadas con Ab93. Isotipo: 10 mg/kg, IP. Ab93: 10 mg/kg, IP. El análisis de los datos se realizó utilizando GraphPad Prism 9

(GraphPad Software). Los resultados se muestran como medias con SD. La significancia estadística se analizó mediante una prueba t (pruebas no paramétricas). Valores de $P < 0,05$ fueron considerados significativos. $N = 8$ para Nx, $N = 6$ para SuHx_Iso y SuHx_Ab93.

FIGS. 15A-15D representan la concentración de las proteínas CXCL12 (**FIG. 15A**), CCL2 (**FIG. 15B**), PDGFBB (FIG. 15C) y Endotelina1 (FIG. 15D) en el medio de cultivo de las células HPMVEC en respuesta al tratamiento con BMP9. El análisis de los datos se realizó utilizando GraphPad Prism 9 (GraphPad Software). Los resultados se muestran como medias con SD. La significancia estadística se analizó mediante una prueba t (pruebas no paramétricas). * $P < 0,05$.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención puede entenderse más fácilmente por referencia a la siguiente descripción detallada de las realizaciones de la invención y los Ejemplos incluidos en la presente. Se debe entender que esta invención no se limita a métodos específicos de fabricación, los cuales por supuesto pueden variar. También se debe entender que la terminología que se usa en la presente es con el fin de describir realizaciones específicas solamente, y no pretende ser limitativa.

Realizaciones ejemplares (E) de la invención que se proporcionan en la presente incluyen:

E1. Un anticuerpo aislado que se une a la proteína morfogenética ósea 9 (BMP9) y comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde:

la VH de la región determinante de complementariedad uno (CDR1) comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, y SEQ ID NO: 53,

la VH CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 70, y SEQ ID NO: 76,

la VH CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 47, y SEQ ID NO: 62,

la VL CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, y SEQ ID NO: 73,

la VL CDR2 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 41, y SEQ ID NO: 66, y

5 la VL CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 58, y SEQ ID NO: 67.

E2. Un anticuerpo aislado que se une a la proteína morfogenética ósea 9 (BMP9) y comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde:

(i) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84;

(ii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;

(iii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21;

(iv) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32;

(v) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

(vi) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21;

(vii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58;

(viii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; o

(ix) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67.

E3. El anticuerpo aislado de E2, en donde:

(i) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81, y la VH CDR3

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84;

5 (ii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de
10 SEQ ID NO: 21;

(iii) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, la VL CDR2 comprende la secuencia de
15 aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21;

(iv) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; o

(v) la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y la VH CDR3
25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67.

30 E4. Un anticuerpo aislado que se une a la proteína morfogenética ósea 9 (BMP9) y comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, la VH CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y la VH CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y la VL CDR1 comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, la VL CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y la VL CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67.

- 5 E5. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E4, en donde la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71, o SEQ ID NO: 77, o una variante del mismo que comprende una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de una CDR, y la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68, o SEQ ID NO: 74, o una variante del mismo que comprende una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de una CDR.

- 15 E6. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E4, en donde la VH comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71, o SEQ ID NO: 77, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68, o SEQ ID NO: 74.

- E7. El anticuerpo aislado de cualquiera de E5-E6, en donde el anticuerpo comprende:
- 25 (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;
- (iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33;
- 30 (iv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;
- (v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51;

(vi) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59;

(vii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; o

5 (viii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

E8. El anticuerpo aislado de E7, en donde el anticuerpo comprende:

10 (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51;

(iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68;

15 (iv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(v) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende una
20 secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 22;

(vi) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 55 y una VL que comprende una
25 secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 51;

(vii) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende una secuencia de
30 aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al

menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 68; o

(viii) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos

- 5 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 74.

10

E9. El anticuerpo aislado de E8, en donde el anticuerpo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

- 15 E10. Una porción de un anticuerpo aislado, en donde el anticuerpo aislado se une a BMP9 y comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde:

la VH CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, y SEQ ID NO: 53;

20

la VH CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 70, y SEQ ID NO: 76;

la VH CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 47, y SEQ ID NO: 62;

25

la VL CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, y SEQ ID NO: 73;

30

la VL CDR2 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 41, y SEQ ID NO: 66; y

la VL CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 58, y SEQ ID NO: 67, y

en donde la porción se une a BMP9.

5

E11. La porción de E10, en donde la porción comprende:

una VH CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, y SEQ ID NO: 53;

10

una VH CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 70, y SEQ ID NO: 76; y

una VH CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 47, y SEQ ID NO: 62.

15

E12. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9 y comprende una VH codificada por la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127292, una VL codificada por la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127293, o ambas.

20

E13. Un anticuerpo aislado que comprende:

(i) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 16 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 6;

25

(ii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 27 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 22;

(iii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 39 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 33;

(iv) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 48 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 43;

30

(v) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 55 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 51;

(vi) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 63 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 59;

(vii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 71 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 68; o

5 (viii) las secuencias VH CDR1, VH CDR2, y VH CDR3 de SEQ ID NO: 77 y las secuencias VL CDR1, VL CDR2, y VL CDR3 de SEQ ID NO: 74.

E14. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E13, donde el anticuerpo comprende un dominio constante de cadena ligera $V\kappa$ o $V\lambda$ humano.

10

E15. El anticuerpo aislado de E14, donde el anticuerpo comprende un dominio constante de cadena ligera $V\lambda$ humano.

E16. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E15, donde el anticuerpo comprende un dominio constante de cadena pesada.

15

E17. El anticuerpo aislado de E16, donde el dominio constante de cadena pesada comprende una IgA (por ejemplo, IgA1 o IgA2), IgD, IgE, IgM o IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4).

20

E18. El anticuerpo aislado de E17, en donde el dominio constante de cadena pesada comprende una IgG.

E19. El anticuerpo aislado de E18, en donde la IgG se selecciona del grupo integrado por IgG1, IgG2, IgG3, y IgG4.

25

E20. El anticuerpo aislado de E19, en donde la IgG es IgG1.

E21. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E20 en donde el anticuerpo comprende un dominio Fc.

30

E22. El anticuerpo aislado de E21, en donde el dominio Fc comprende un dominio CH_2 de cadena pesada de IgG1 y un dominio CH_3 de cadena pesada de IgG1.

E23. Un anticuerpo aislado que comprende:

- (i) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 69, y SEQ ID NO: 75; y
- 5 (ii) una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 18, SEQ ID No: 29, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, y SEQ ID NO: 72.

E24. Un anticuerpo aislado que comprende:

- 10 (i) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 69, o SEQ ID NO: 75; y
- 15 (ii) una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 18, SEQ ID No: 29, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, o SEQ ID NO: 72.

20

E25. Un anticuerpo aislado que comprende:

- (i) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;
- (ii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;
- 25 (iii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29;
- 30 (iv) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40;

(v) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49;

5 (vi) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56;

(vii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; o

10 (viii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72.

E26. Un anticuerpo aislado que comprende:

15 (i) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(ii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49;

20 (iii) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64;

(iv) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72;

25 (v) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 23 y una LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 30 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 18;

(vi) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 52 y una LC

que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 49;

(vii) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%,
5 al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%,
al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 69 y una LC
que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos
91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos
97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 64; o

10 (viii) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos
90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos
96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 75 y una
LC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos
91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos
15 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 72.

E27. Un anticuerpo aislado que comprende:

(i) una HC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75
y una LC que comprende, o se compone de, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72;

20 o

(ii) una HC que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%,
al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%,
al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 75 y una LC
que comprende, o se compone de, una secuencia de aminoácidos al menos 90%, al menos
25 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos
97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 72.

E28. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo
en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo
30 integrado por Ala28, Pro29, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID
NO: 79.

E29. El anticuerpo aislado de E28, en donde el anticuerpo se une a Ala28, Pro29, Ser83,
Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79.

E30. El anticuerpo aislado de cualquiera de E28-E29, en donde el anticuerpo además se une a uno o más residuos de aminoácidos que se seleccionan del grupo integrado por Pro81, Tyr86, Asp88, Asp89, Thr94, Lys96, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

5

E31. El anticuerpo aislado de E30, en donde el anticuerpo se une a Pro81, Tyr86, Asp88, Asp89, Thr94, Lys96, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

10 E32. El anticuerpo aislado de cualquiera de E28-E31, en donde el anticuerpo además se une a uno o más residuos de aminoácidos que se seleccionan del grupo integrado por Ile27, Lys30, y Glu31 de SEQ ID NO: 79.

E33. El anticuerpo aislado de E32, en donde el anticuerpo se une a Ile27, Lys30, y Glu31 de SEQ ID NO: 79.

15

20 E34. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Tyr32, Ser80, Pro81, Ile82, Ser83, Val84, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

25 E35. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Tyr32, Ser80, Pro81, Ile82, Ser83, Val84, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

30 E36. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Ala28, Pro29, Pro81, Ser83, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

E37. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en BMP9 que comprende Ala28, Pro29, Pro81, Ser83, Leu85, Tyr86, Asp88, Asp89, Met90, Val92, Pro93, Thr94, Leu95, Lys96, Tyr97, His98, Tyr99, y Glu100 de SEQ ID NO: 79.

E38. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítopo en BMP9 que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo integrado por Arg14, Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79.

E39. Un anticuerpo aislado que se une a BMP9, en donde el anticuerpo se une a un epítopo en BMP9 que comprende Arg14, Ile27, Ala28, Pro29, Lys30, Glu31, Ser83, Leu85, Met90, Val92, Pro93, Leu95, y Tyr97 de SEQ ID NO: 79.

E40. El anticuerpo aislado de cualquiera de E28-E39, en donde el epítopo en BMP9 no comprende residuos de aminoácidos 21-25, 43-60 de SEQ ID NO: 79.

E41. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E40, en donde el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

E42. El anticuerpo aislado de E41, en donde el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 30,48 pM o aproximadamente 87,41 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

E43. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E42, en donde el anticuerpo se une a BMP9 cyno con una afinidad de aproximadamente 10 pM, aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM,

aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, 5 aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

10 E44. El anticuerpo aislado de E43, en donde el anticuerpo se une a BMP9 cyno con una afinidad de aproximadamente 20,23 pM o aproximadamente 65,82 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

E45. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E44, en donde el anticuerpo se une a BMP9 de rata con una afinidad de aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, 15 aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, 20 aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

25 E46. El anticuerpo aislado de E45, en donde el anticuerpo se une a BMP9 de rata con una afinidad de aproximadamente 41,75 pM o aproximadamente 98,63 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

E47. El anticuerpo de cualquiera de E28-E31, E34-E37, E40-E46, en donde el anticuerpo comprende: (i) una CDR3 de región variable de cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 26 y 30 una CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de SEQ ID NO: 84; (ii) una CDR3 de región variable de cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 26 y una CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de SEQ ID NO: 21; o (iii) una CDR3 de región variable de cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 26 y una CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de SEQ ID NO: 67.

E48. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E47, en donde el anticuerpo:

- (i) se une a BMP9 humana e inhibe la unión de BMP9 humana a un receptor tipo II BMP9 (por ej., BMPRII, ActRIIA o ActRIIB); o
- 5 (ii) se une a BMP9 humana e inhibe la unión de BMP9 humana a un receptor tipo II BMP9 (por ej., BMPRII, ActRIIA o ActRIIB) e inhibe débilmente la unión de BMP9 humana a un receptor tipo I de BMP9 (por ej., ALK1).

10 E49. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-48, en donde el anticuerpo se une a BMP9 humana e inhibe la unión de BMP9 humana a células endoteliales humanas.

E50. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E49, en donde el anticuerpo se une a BMP9 humana pero no se une a otros ligandos de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β) humano (por ej., GDF8, GDF11, Activina A, GDF9, TGF β 1 y
15 BMP10).

E51. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E50, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 medida por la translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 en células endoteliales.

20 E52. El anticuerpo aislado de E51, en donde el anticuerpo inhibe actividad de BMP9 humana con una IC₅₀ de aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM,
25 aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM,
30 aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, aproximadamente 145 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 155 pM, aproximadamente 160 pM, aproximadamente 170 pM, aproximadamente 180 pM, aproximadamente 190 pM, aproximadamente 200 pM, aproximadamente 225 pM, aproximadamente 250 pM, aproximadamente 300 pM, aproximadamente 350 pM, aproximadamente 400 pM,

aproximadamente 450 pM, aproximadamente 500 pM, aproximadamente 600 pM, aproximadamente 700 pM, aproximadamente 800 pM, aproximadamente 900 pM, aproximadamente 1000 pM, aproximadamente 2 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 20 nM, aproximadamente 30 nM, aproximadamente 40 nM, 5 aproximadamente 50 nM, aproximadamente 60 nM, aproximadamente 70 nM, aproximadamente 80 nM, aproximadamente 90 nM o aproximadamente 100 nM.

E53. El anticuerpo aislado de E51, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 de rata con una IC₅₀ de aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 10 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 175 pM, aproximadamente 200 pM, aproximadamente 225 pM, aproximadamente 250 pM, aproximadamente 275 pM, o aproximadamente 300 pM.

E54. El anticuerpo aislado de E51, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 cyno con una IC₅₀ de aproximadamente 17 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 90 pM aproximadamente 100 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, 20 aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, o aproximadamente 140 pM.

E55. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E54, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 medida por la translocación nuclear de fosfo-SMAD2 en células 25 endoteliales.

E56. El anticuerpo aislado de E55, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de BMP9 con una IC₅₀ de aproximadamente 10 pM, aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, 30 aproximadamente 40 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 250 pM, aproximadamente 500 pM, aproximadamente 750 pM, aproximadamente 1000 pM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 200 nM, aproximadamente 300 nM o aproximadamente 350 nM.

- 5 E57. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E56, en donde el anticuerpo reduce la presión sistólica del ventrículo derecho en un sujeto en al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, o al menos 70% en comparación con antes de la administración del anticuerpo.
- 10 E58. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E57, en donde el anticuerpo reduce la hipertrofia del ventrículo derecho en un individuo por al menos 2%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, o al menos 70% en comparación con antes de la administración del anticuerpo.
- 15 E59. El anticuerpo aislado de cualquiera de E57-E58, en donde el sujeto es un modelo animal Sugén-Hypoxia de hipertensión arterial pulmonar (HAP).
- E60. Un polinucleótido aislado que codifica el anticuerpo de cualquiera de E1-E59, E91, o E92.
- 20 E61. El polinucleótido de E60, en donde dicho polinucleótido es ARN.
- E62. El polinucleótido de E61, en donde dicho polinucleótido comprende al menos una modificación química.
- 25 E63. El polinucleótido de E62, en donde la modificación química se selecciona de pseudouridina, 1-metilpseudouridina, N1-metilpseudouridina, N1-etilpseudouridina, 2-tiouridina, 4'-tiouridina, 5-metilcitosina, 2-tio-1-metil-1-deaza-pseudouridina, 2-tio-1-metilpseudouridina, 2-tio-5-aza-uridina, 2-tio-dihidropseudouridina, 2-tio-dihidrouridina, 2-tio-pseudouridina, 4-metoxi-2-tio-pseudouridina, 4-metoxi-pseudouridina, 4-tio-1-metilpseudouridina, 4-tio-pseudouridina, 5-aza-uridina, dihidropseudouridina, 5-metiluridina, 5-metoxiuridina, y 2'-O-metil uridina.
- 30 E64. El polinucleótido de E61, en donde dicho polinucleótido no comprende una modificación química.

E65. Un ácido nucleico aislado que codifica la VH, VL, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9, en donde el ácido nucleico comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 85, la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 86, o ambas.

5 E66. Un ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada, cadena ligera, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9, en donde dicho ácido nucleico comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 87, la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 88, o ambas.

10 E67. Un ácido nucleico aislado que codifica la VH, VL, o ambas, de un anticuerpo que se une a BMP9, en donde dicho ácido nucleico comprende la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127292, la secuencia del ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-127293, o ambas.

15

E68. Un vector que comprende el polinucleótido de cualquiera de E60-E64 o el ácido nucleico de cualquiera de E65-E67.

20 E69. Una célula huésped aislada que comprende el polinucleótido de cualquiera de E60-E64 o el ácido nucleico de cualquiera de E65-E67.

E70. La célula huésped de E69, en donde la célula es una célula de mamífero o una célula de insecto.

25 E71. La célula huésped de E70, en donde la célula huésped es una célula de mamífero seleccionada del grupo integrado por una célula CHO, una célula HEK-293, una célula NS0, una célula PER.C6®, o una célula Sp2.0.

30 E72. Un método para producir un anticuerpo, que comprende:
cultivar la célula huésped de cualquiera de E69-E71 bajo condiciones que dan como resultado la producción del anticuerpo; y recuperar el anticuerpo.

E73. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo de cualquiera de E1-E59, E90, o E91 y un portador farmacéuticamente aceptable.

5 E74. La composición farmacéutica de E73, en donde la composición comprende 1,12 mg/mL L-histidina, 2,67 mg/mL L-histidina clorhidrato monohidrato, 85 mg/mL sacarosa, 0,05 mg/mL EDTA disódico dihidrato, y 0,2 mg/mL polisorbato 80 a pH 5,8.

10 E75. La composición farmacéutica de cualquiera de E73-E74, en donde la composición comprende 20 mM histidina, 8,5% sacarosa, y 0,02% polisorbato 80, 0,005% EDTA a pH 5,8.

15 E76. La composición farmacéutica de cualquiera de E72-E74, en donde la composición comprende aproximadamente 2 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 20 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL, 75 mg/mL, 100 mg/mL, 125 mg/mL, 150 mg/mL, 175 mg/mL, o 200 mg/mL de anticuerpo.

20 E77. La composición farmacéutica de cualquiera de E73-E76 en donde la composición comprende aproximadamente 50 mg/mL, aproximadamente 100 mg/mL, aproximadamente 150 mg/ml, o aproximadamente 200 mg/mL de anticuerpo.

E78. La composición farmacéutica de cualquiera de E73-E77, en donde la dosis es una dosis de 1 mL.

25 E79. La composición farmacéutica de E73-E78, en donde la composición es adecuada para administración subcutánea (SC) y/o intravenosa (IV).

30 E80. Un método para reducir la expresión o actividad de BMP9 en un individuo, el método comprende administrar a un individuo que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79 o el anticuerpo de cualquiera de E1-E59, E90, o E91.

E81. Un método para tratar la hipertensión en un individuo, el método comprende administrar a un individuo que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición

farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones E73-E79 o el anticuerpo de E1-E59, E90, o E91.

E82. El método de E81, en donde la hipertensión es hipertensión pulmonar.

5

E83. Un método para tratar hipertensión arterial pulmonar (HAP) en un individuo, el método comprende administrar a un individuo que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79 o el anticuerpo de E1-E59, E90, o E91.

10

E84. El método de cualquiera de E80-E83, en donde el anticuerpo se administra en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos terapéuticamente activos adicionales o modalidades de tratamiento efectivas para tratar al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

15

E85. El método de E84, en donde las terapias de combinación se administran de acuerdo con el mismo régimen de dosificación (por ej., ambas terapias se administran diariamente) o de acuerdo a diferentes regímenes de dosificación (por ej., una terapia se administra diariamente, la otra terapia se administra semanalmente).

20

E86. Un anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, E90, o E91, o la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79, para usar como un medicamento.

25

E87. Un anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, E90, o E91, o la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79, para usar en el tratamiento de al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente hipertensión arterial pulmonar.

30

E88. Uso del anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, E90, o E91, o la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79, en la fabricación de un medicamento para tratar al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

E89. La composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79, o el anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, E90, o E91, para el tratamiento de al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

5 E90. Uso del anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, E91, o E92, o la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79, para tratar al menos un signo y/o síntoma de la hipertensión, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

10 E91. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, en donde el anticuerpo aislado inhibe una o más proteínas que se correlacionan con hipertensión, opcionalmente, hipertensión pulmonar.

15 E92. El anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59 o E91, en donde el anticuerpo aislado inhibe CXCL12, IGFBP4, INHBA, MALL, FRZB, CPE, CCL2, PDGFBB, Endotelina -1, o una combinación de los mismos.

20 E93. El método de cualquiera de E80-E85, en donde la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79 o el anticuerpo de cualquiera de E1-E59, E90, o E91 inhibe una o más proteínas que se correlacionan con hipertensión, opcionalmente, hipertensión pulmonar.

25 E94. El método de cualquiera de E80-E85 o E93, en donde la composición farmacéutica de cualquiera de E73-E79 o el anticuerpo de cualquiera de E1-E59, E91, o E92 inhibe CXCL12, IGFBP4, INHBA, MALL, FRZB, CPE, CCL2, PDGFBB, Endotelina-1, o una combinación de los mismos.

30 E100. Un método para monitorear la efectividad de una terapia de hipertensión arterial pulmonar (HAP) en un individuo que lo necesita que comprende: (i) administrar una terapia para la HAP al individuo; (ii) determinar el nivel de uno o más biomarcadores en una muestra biológica obtenida del individuo; y (iii) comparar el nivel de uno o más biomarcadores en el paso (ii) con el nivel del mismo de uno o más biomarcadores después de la administración de la terapia para la HAP, en donde un cambio (por ej., una disminución) en el nivel de uno o más biomarcadores después de la administración de la terapia para HAP indica que la terapia es efectiva, y en donde la terapia para la HAP comprende el anticuerpo aislado de cualquiera de E1-E59, E91, o E92.

E102. El método de cualquiera de E100-E101, en donde determinar el nivel de uno o más biomarcadores comprende determinar los niveles de ARNm.

5

E103. El método de cualquiera de E100-E101, en donde determinar el nivel de uno o más biomarcadores comprende determinar los niveles de proteína.

10 Los encabezados de sección que se utilizan en la presente son solo con fines de organización y no deben interpretarse como limitantes del tema descripto.

Todas las referencias citadas aquí, incluyendo referencias bibliográficas, solicitudes de patentes, publicaciones de patentes, números de acceso de UniProtKB y números de acceso de GenBank, se incorporan expresamente a modo de referencia, como si cada referencia individual se indicara específicamente para ser incorporada en su totalidad.
15 Cuando exista conflicto entre las definiciones de los términos utilizados en los documentos incorporados a modo de referencia y las definiciones utilizadas aquí, las definiciones utilizadas aquí tienen prioridad y prevalecen.

Las técnicas y procedimientos que se describen o a los que se hace referencia en la presente son generalmente bien comprendidos y comúnmente empleados utilizando
20 metodología convencional por parte de aquellas personas con experiencia en el arte, tal como, por ejemplo, las metodológicas ampliamente utilizadas tal como aquellas descritas en Sambrook *et al.*, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (3rd. ed.) (2001) (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.); CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, *et al.* eds.) (2003); the series
25 METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.): PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds.) (1995), ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL (Harlow and Lane, eds.) (1988), and ANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney, ed.) (1987); OLIGONUCLEOTIDE SYNTHESIS (M. J. Gait, ed.) (1984); METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (Humana
30 Press); CELL BIOLOGY: A LABORATORY NOTEBOOK (J. E. Cellis, ed.) (1998) (Academic Press); INTRODUCTION TO CELL AND TISSUE CULTURE (J. P. Mather and P. E. Roberts) (1998) (Plenum Press); CELL AND TISSUE CULTURE LABORATORY PROCEDURES (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds.) (1993-8) (J. Wiley and Sons); HANDBOOK OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY (D. M. Weir and C. C.

Blackwell, eds); GENE TRANSFER VECTORS FOR MAMMALIAN CELLS (J. M. Miller and M. P. Calos, eds.) (1987); PCR: THE POLYMERASE CHAIN REACTION (Mullis *et al.*, eds.) (1994); CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY (J. E. Coligan *et al.*, eds.) (1991); SHORT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (1999) (Wiley and Sons);
5 IMMUNOBIOLOGY (C. A. Janeway and P. Travers) (1997); ANTIBODIES (P. Finch) (1997); ANTIBODIES: A PRACTICAL APPROACH (D. Catty., ed.) (1988-1989) (IRL Press); MONOCLONAL ANTIBODIES: A PRACTICAL APPROACH (P. Shepherd and C. Dean, eds.) (2000) (Oxford University Press); USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL (E. Harlow and D. Lane (1999) (Cold Spring Harbor Laboratory Press); THE
10 ANTIBODIES (M. Zanetti and J. D. Capra, eds.) (1995) (Harwood Academic Publishers); y sus versiones actualizadas.

Definiciones

A menos que se defina de otra forma en la presente, los términos científicos y
15 técnicos que se usan en conexión con la presente invención tendrán los significados que se comprenden comúnmente por parte de aquellas personas con experiencia en la técnica.

Tal como se utiliza en la presente, el uso de las palabras “un” o “uno/a” o “el/la” cuando se unas en conjunto con los términos “comprende”, “incluye”, “tiene”, o “contiene”, o variaciones de estos términos, puede significar “uno/a”, pero también es consistente con el
20 significado de “uno/a o más”, “al menos uno/a”, y “uno/a o más de uno/a”. Por ejemplo, “un” anticuerpo incluye uno o más anticuerpos.

Cuando se describen aspectos o realizaciones de la invención en términos de un grupo de Markush u otra agrupación de alternativas, la presente invención abarca no solo todo el grupo listado en su totalidad, sino también cada miembro del grupo individualmente y
25 todos los subgrupos posibles del grupo principal, así como también el grupo principal sin uno o más de los miembros del grupo. La presente invención también contempla la exclusión explícita de uno o más de cualquiera de los miembros del grupo en la invención reivindicada.

La frase “y/o” significa “y” o “o”. Para ilustrar, A, B, y/o C incluye: A solamente, B solamente, C solamente, una combinación de A y B, una combinación de A y C, una
30 combinación de B y C, o una combinación de A, B y C. En otras palabras, “y/o” funcionan como un o inclusivo.

Cualquier ejemplo(s) que sigue al término “por ej.” o “por ejemplo” no pretende ser exhaustivo ni limitante.

Tal como se usa en la presente, el término “alrededor de” y “aproximadamente” y “sustancialmente” cuando se usan para modificar un parámetro definido (por ej., la dosis de “X) significa que el parámetro puede variar hasta un 10% por debajo o por encima del valor numérico indicado para ese parámetro. Por lo tanto, en cualquier aspecto revelado, los términos pueden ser reemplazados por "dentro de [un porcentaje]" de lo especificado. En un aspecto no limitante, el porcentaje incluye 0,1, 0,5, 1, 5 y 10 por ciento. Por ejemplo, una dosis de aproximadamente 5 mg significa $5\text{ mg} \pm 10\%$, es decir, puede variar entre 4,5 mg y 5,5 mg

La mención de rangos de valores en la presente tiene la intención de servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado dentro del rango. A menos que se indique lo contrario en la presente, cada valor individual se incorpora a la especificación como si se mencionara individualmente aquí.

La frase "prácticamente todos" se define como "al menos el 95%"; si prácticamente todos los miembros de un grupo tienen cierta propiedad, entonces al menos el 95% de los miembros del grupo tienen esa propiedad. En algunos aspectos, prácticamente todos significa igual a cualquiera de, al menos cualquiera de, o entre (inclusive o exclusivo) cualquiera de 95, 96, 97, 98, 99 o 100% de los miembros del grupo tienen esa propiedad.

Las composiciones y los métodos para su uso pueden "comprender", "componerse esencialmente de" o "componerse de" cualquiera de los ingredientes o pasos revelados en toda la memoria descriptiva. A lo largo de esta memoria descriptiva, a menos que el contexto lo requiera de otra forma, los términos “comprende” (y cualquier forma de comprende, tal como “comprenden” y “comprende”, “tiene” (y cualquier forma de tiene, tal como “tienen” y “tiene”), “incluye” (y cualquier forma de incluye, tal como “incluye” e “incluyen”) o “contiene” (y cualquier forma de contiene, tal como “contiene” y “contienen”), son inclusivas o abiertas y se entenderán que implican la inclusión de un paso establecido o elementos o grupos de pasos o elementos pero no la exclusión de cualquier otro paso o elemento o grupo de pasos o elementos. Como resultado, las composiciones o métodos de la presente revelación que “comprenden”, “tienen”, “incluyen” o “contienen” uno o más elementos poseen aquel o aquellos de otros elementos pero no están limitados a poseer solamente aquel o aquellos elementos. Asimismo, un elemento de una composición o método de la presente revelación que “comprende”, “tiene”, “incluye” o “contiene” una o más características posee aquella o aquellas características pero no se limita a poseer solamente aquella o aquellas características.

Se contempla que aspectos que se describen en la presente en el contexto del término “comprende” pueden también implementarse en el contexto del término “se compone de” o “se compone esencialmente de”. Las composiciones y los métodos “que se componen esencialmente de” cualquiera de los ingredientes o pasos que se revelan limitan el alcance de la reivindicación a los materiales o pasos especificados que no afectan sustancialmente la característica básica y novedosa de la revelación reivindicada. Las palabras “que se compone de” (y cualquier forma de se compone de, tal como “compuesto de” y “se compone de”) significa que incluye y se limita a lo que sigue a la frase “se compone de”. Por lo tanto, la frase “se compone de” indica que los elementos enumerados son requeridos u obligatorios, y que no pueden estar presentes otros elementos.

La referencia a lo largo de esta memoria descriptiva a "un aspecto", "un aspecto particular", "un aspecto relacionado", "un cierto aspecto", "un aspecto adicional", "otro aspecto", "una realización", "una realización particular", "una realización relacionada", "una cierta realización", "una realización adicional", "otra realización", o combinaciones de los mismos significa que una característica, estructura o característica particular descrita en relación con el aspecto está incluida en al menos un aspecto o realización de la presente revelación. Por lo tanto, la aparición de las anteriores frases en varios lugares a lo largo de esta memoria descriptiva no necesariamente todas se refieren al mismo aspecto o realización. Además, las características , estructuras y/o características particulares pueden ser combinadas de cualquier modo adecuado en uno o más aspectos o realizaciones.

Un "anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina capaz de unión específica a un objetivo, tal como un polipéptido, carbohidrato, polinucleótido, lípido, etc., a través de al menos un sitio de unión al antígeno, ubicado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Tal como se usa en la presente, el término "anticuerpo" puede abarcar cualquier tipo de anticuerpo (por ejemplo, monoespecífico, biespecífico) e incluye porciones de anticuerpos intactos que retienen la capacidad de unirse a un antígeno determinado (por ej., un "fragmento de unión al antígeno") y cualquier otra configuración modificada de una molécula de inmunoglobulina que comprenda un sitio de unión al antígeno.

Un anticuerpo incluye un anticuerpo de cualquier clase, como IgG, IgA o IgM (o una subclase de ellas), y el anticuerpo no necesita ser de ninguna clase en particular. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo de la región constante de sus cadenas pesadas (HC), las inmunoglobulinas pueden ser asignadas a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM, y varias de estas pueden ser divididas adicionalmente en subclases (isotipos), ej., IgG₁, IgG₂, IgG₃,

IgG₄, IgA₁ y IgA₂. Las regiones constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se llaman alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son ampliamente conocidas. Se contempla que cualquiera de las inmunoglobulinas anteriores o sus subclases pueden ser excluidas de una realización, ya sea una o más de ellas.

Ejemplos de fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos y configuraciones modificadas incluyen: (i) un fragmento Fab (un fragmento monovalente que se compone de los dominios VL, VH, CL y CH1); (ii) un fragmento F(ab')₂ (un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra); y (iii) un fragmento Fv que se compone de los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo. Además, aunque los dos dominios de un fragmento Fv, VL y VH, son codificados por genes separados, pueden unirse mediante métodos recombinantes utilizando un enlace sintético que les permite formar una cadena proteica única en la que las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena única (scFv)); véase, por ejemplo, Bird *et al.*, *Science* 1988; 242:423-426 y Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883. También se incluyen otras formas de anticuerpos de cadena única, como los diacuerpos. Se contempla que cualquiera de los fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos o las configuraciones modificadas mencionadas anteriormente puedan ser excluidas de una realización.

Además, también se incluyen los anticuerpos que carecen de un residuo de aminoácido lisina (K) en el extremo C-terminal de un polipéptido de cadena pesada (por ejemplo, la cadena pesada IgG1 humana comprende una lisina terminal). Como se conoce en el área, la lisina C-terminal a veces se corta durante la producción de anticuerpos, lo que resulta en un anticuerpo con una cadena pesada que carece de la lisina C-terminal. Alternativamente, una cadena pesada de anticuerpo puede ser producida utilizando un ácido nucleico que no incluya una lisina C-terminal. En consecuencia, la presente revelación incluye composiciones que comprenden un anticuerpo anti-BMP9 con una cadena pesada que carece del residuo de lisina C-terminal. En algunas realizaciones, la presente revelación incluye composiciones que comprenden un anticuerpo anti-BMP9 con una cadena pesada que tiene un residuo de lisina C-terminal y un anticuerpo anti-BMP9 con una cadena pesada que carece del residuo de lisina C-terminal. En algunas realizaciones, la presente revelación incluye composiciones que comprenden un anticuerpo anti-BMP9 que carece del residuo de lisina C-terminal.

Una "región variable" de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera o de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea por separado o en combinación. Como se conoce en el arte, las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras se componen cada una de cuatro regiones de armazón (FRs, por sus siglas en inglés) conectadas por tres regiones determinantes de complementariedad (CDRs, , por sus siglas en inglés), también conocidas como regiones hipervariables, y contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Si se desean variantes de una región variable determinada, especialmente con sustitución de residuos de aminoácidos fuera de una región CDR (es decir, en la región de armazón), se pueden identificar sustituciones adecuadas de aminoácidos, preferiblemente sustituciones conservadoras de aminoácidos, al comparar la región variable en cuestión con las regiones variables de otros anticuerpos que contienen secuencias CDR1 y CDR2 en la misma clase canónica que la región variable en cuestión (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196(4): 901-917, 1987).

En ciertas realizaciones, la delimitación definitiva de una CDR y la identificación de los residuos que conforman el sitio de unión de un anticuerpo se logra resolviendo la estructura del anticuerpo o resolviendo la estructura del complejo anticuerpo-ligando. En ciertas realizaciones, esto se puede lograr mediante diversas técnicas conocidas por aquellos expertos en el arte, como la cristalografía de rayos X. En ciertos modos de realización, se pueden emplear varios métodos de análisis para identificar o aproximar las regiones CDR. En ciertos modos de realización, se pueden emplear varios métodos de análisis para identificar o aproximar las regiones CDR. Ejemplos de tales métodos incluyen, pero no se limitan a, la definición de Kabat, la definición de Chothia, la definición de AbM, la definición de contacto, la definición extendida y la definición conformacional.

La definición de Kabat es un estándar para numerar los residuos en un anticuerpo y se utiliza típicamente para identificar las regiones CDR. Ver, por ej., Johnson & Wu, 2000, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8. La definición de Chothia es similar a la definición de Kabat, pero tiene en cuenta las posiciones de ciertas regiones estructurales en forma de bucle. Ver, por ej., Chothia *et al.*, 1986, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17; Chothia *et al.*, 1989, *Nature*, 342: 877-83. La definición extendida es la combinación de las definiciones de Kabat y Chothia. La definición AbM utiliza un conjunto integrado de programas informáticos producido por Oxford Molecular Group que modela la estructura de anticuerpos. Ver, por ej. Martin *et al.*, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 86:9268-9272; "AbM™, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies," Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd. La definición AbM modela la estructura terciaria de un anticuerpo a partir de la secuencia

primaria utilizando una combinación de bases de datos de conocimiento y métodos *ab initio*, tal como los descritos por Samudrala et al., 1999, "Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach," en *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198. La definición de contacto se basa en un análisis de las estructuras

5 cristalinas complejas disponibles. Ver, por ej., MacCallum *et al.*, 1996, *J. Mol.Biol.*, 5:732-45. En otro enfoque, conocido como la "definición conformacional" de las CDR, las posiciones de las CDR pueden identificarse como los residuos que contribuyen de manera entálpica a la unión con el antígeno. Ver, por ej., Makabe *et al.*, 2008, *J. Biol. Chem.*, 283:1156-1166. Incluso otras definiciones de los límites de las CDR pueden no seguir
10 estrictamente uno de los enfoques mencionados anteriormente, pero sin embargo se superponen con al menos una parte de las CDR de Kabat, aunque pueden ser acortadas o alargadas en función de la predicción o los hallazgos experimentales que indican que ciertos residuos o grupos de residuos no tienen un impacto significativo en la unión con el antígeno. Según se utiliza aquí, una CDR puede referirse a CDR definidas según cualquier enfoque
15 conocido en el arte, incluyendo combinaciones de enfoques. Los métodos utilizados aquí pueden utilizar CDR definidas de acuerdo con cualquiera de estos enfoques. Para cualquier realización determinada que contenga más de una CDR, las CDR pueden definirse de acuerdo con cualquiera de una o más de las definiciones de Kabat, Chothia, extendida, AbM, contacto y/o conformacional. Se contempla que cualquiera de estas definiciones puede ser excluida en
20 una realización.

Una "región constante" de un anticuerpo se refiere a la región constante de la cadena ligera o de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea por separado o en combinación. Una región constante de la cadena pesada de IgG contiene tres dominios de inmunoglobulina
25 secuenciales (CH1, CH2 y CH3), con una región entre los dominios CH1 y CH2. Una región constante de la cadena ligera de IgG contiene un solo dominio de inmunoglobulina (CL).

Un "dominio Fc" se refiere a la porción de una molécula de inmunoglobulina (Ig) que corresponde a un fragmento cristizable obtenido por la digestión de papaína de una molécula Ig. Como se utiliza aquí, el término se refiere a la región constante de dos cadenas
30 de un anticuerpo, excluyendo cada cadena el primer dominio constante de la región inmunoglobulina. Dentro de un dominio Fc, hay dos "cadenas Fc" (por ejemplo, una "primera cadena Fc" y una "segunda cadena Fc"). "Cadena Fc" generalmente se refiere a la porción C-terminal de una cadena pesada de anticuerpo. Por lo tanto, cadena Fc se refiere a los últimos dos dominios de región constante de inmunoglobulina (CH2 y CH3) de las cadenas pesadas de IgA, IgD e IgG, y a los últimos tres dominios de región constante de inmunoglobulina de

las cadenas pesadas de IgE e IgM, y opcionalmente, a la bisagra flexible N-terminal a estos dominios.

Aunque los límites de la cadena Fc pueden variar, la cadena Fc de la cadena pesada de la IgG humana generalmente se define como que abarca los residuos C226 o P230 hasta su terminal carboxi, donde la numeración se basa en el índice de la UE de Edelman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1969; 63(1):78-85 y según se describe en Kabat *et al.*, 1991. Por lo general, la cadena Fc abarca desde aproximadamente el residuo de aminoácido 236 hasta aproximadamente el 447 de la región constante de la cadena pesada IgG1 humana. "Cadena Fc" puede referirse a este polipéptido de forma aislada o en el contexto de una molécula más grande, (por ej., en una cadena pesada de anticuerpo o una proteína de fusión Fc).

Un dominio "Fc funcional" se refiere a un dominio Fc que posee al menos una función efectora de un dominio Fc de secuencia nativa. Ejemplos de "funciones efectoras" incluyen unión a C1q; citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); unión a receptores Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; regulación descendente de receptores en la superficie celular (por ejemplo, receptor de células B); y activación de células B, etc. Dichas funciones efectoras generalmente requieren que el dominio Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, una región variable de anticuerpo) y se pueden evaluar mediante diversos ensayos conocidos en el arte para evaluar tales funciones efectoras de anticuerpos. Una cadena Fc de "secuencia nativa" se refiere a una cadena Fc que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cadena Fc encontrada en la naturaleza. . Una cadena Fc "variante" tiene una secuencia de aminoácidos que difiere de la de una cadena Fc de secuencia nativa debido a al menos una modificación de aminoácidos. Se contempla que cualquiera de las cadenas Fc o dominios mencionados anteriormente pueden ser excluidos de una realización..

Un "anticuerpo monoclonal" (mAb) se refiere a un anticuerpo que se deriva de una sola copia o clon, incluyendo, por ejemplo, cualquier clon eucariota, procariota o de fagos. Anticuerpos monoclonales son sumamente específicos, siendo dirigidos contra un único sitio antigénico. Adicionalmente, a diferencia de preparaciones de anticuerpo policlonal que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante sobre el antígeno. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como que es obtenido a partir de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no debe ser interpretado como que requiere producción del anticuerpo mediante cualquier método

particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales a ser usados de acuerdo con la presente revelación pueden ser realizados mediante el método hibridoma primero descrito por Kohler and Milstein, 1975, Nature, 256: 495, o puede ser realizado por métodos de ADN recombinantes tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4.816.567. En otro ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden ser aislados de colecciones de fagos como las generadas utilizando las técnicas descritas en McCafferty *et al.*, 1990 (Nature 348:552-554).

Un "anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde a la de un anticuerpo producido por un humano o que ha sido generado utilizando cualquier técnica para la producción de anticuerpos completamente humanos. Por ejemplo, los anticuerpos completamente humanos pueden obtenerse utilizando ratones comercialmente disponibles que han sido modificados para expresar proteínas de inmunoglobulina humana específicas, o mediante técnicas de expresión de colecciones (por ejemplo, de fagos, levaduras o ribosomas) para preparar anticuerpos completamente humanos. Esta definición de un anticuerpo humano específicamente excluye un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humanos.

Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el cual las secuencias de la región variable son derivadas de una especie y las secuencias de la región constante son derivadas de otra especie, tal como un anticuerpo en donde las secuencias de la región variable derivadas provienen de un ratón y las secuencias de la región constante provienen de un anticuerpo humano.

Un anticuerpo "humanizado" se refiere a un anticuerpo no humano (por ejemplo, murino) que es un anticuerpo quimérico que contiene una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. Preferiblemente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpos receptores) en las cuales los residuos de una CDR del receptor son reemplazados por residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata o conejo que tienen la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. El anticuerpo humanizado puede incluir residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las secuencias importadas de CDR o estructura, pero se incluyen para refinar y optimizar aún más el rendimiento del anticuerpo.

Se contempla que cualquiera de uno o más de los tipos de anticuerpos que se describieron en la presente, pueden ser excluidos de una realización.

Un "antígeno" se refiere a la entidad molecular utilizada para la inmunización de un vertebrado inmunocompetente con el fin de producir el anticuerpo que reconoce el

antígeno, o para rastrear una colección de expresión (por ejemplo, una colección de fagos, levadura o ribosoma, entre otras) para la selección de anticuerpos. En la presente, el término antígeno se utiliza de manera más amplia y pretende incluir generalmente moléculas objetivo que son reconocidas específicamente por el anticuerpo, lo que incluye fragmentos o imitaciones de la molécula utilizada en un proceso de inmunización para generar el anticuerpo o en el rastreo de colecciones para la selección del anticuerpo.

Un "epítipo" se refiere al área o región de un antígeno a la cual un anticuerpo se une específicamente, por ejemplo, un área o región que comprende residuos que interactúan con el anticuerpo, como se determina mediante cualquier método bien conocido en el arte.

Existen muchos métodos conocidos en el arte para mapear y caracterizar la ubicación de los epítipos en las proteínas, que incluyen la resolución de la estructura cristalina de un complejo anticuerpo-antígeno, ensayos de competencia, ensayos de expresión de fragmentos génicos, mapeo de epítipos y ensayos basados en péptidos sintéticos, como se describe, por ejemplo, en el Capítulo 11 de Harlow y Lane, "USING ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 1999. Además, o alternativamente, durante el proceso de descubrimiento, la generación y caracterización de los anticuerpos pueden proporcionar información sobre los epítipos deseables. A partir de esta información, es posible luego realizar un cribado competitivo de anticuerpos para la unión al mismo epítipo.

Además, el epítipo al que se une un anticuerpo puede determinarse mediante un cribado sistemático utilizando péptidos superpuestos derivados del antígeno y determinando la unión por el anticuerpo. Según los ensayos de expresión de fragmentos génicos, el marco de lectura abierta que codifica el antígeno puede fragmentarse de forma aleatoria o mediante construcciones genéticas específicas, y se determina la reactividad de los fragmentos expresados del antígeno con el anticuerpo a ser probado. Los fragmentos génicos pueden, por ejemplo, ser producidos por PCR y luego transcritos y traducidos en proteínas *in vitro*, en la presencia de aminoácidos radioactivos. La unión del anticuerpo a los fragmentos del antígeno marcados radioactivamente se determina mediante inmunoprecipitación y electroforesis en gel.

Ciertos epítipos también se pueden identificar mediante el uso de grandes colecciones de secuencias peptídicas aleatorias que se expresan en la superficie de partículas de fagos (colecciones de fagos) o levaduras (exhibición de levadura). Alternativamente, se puede probar una colección definida de fragmentos peptídicos superpuestos para determinar su unión al anticuerpo de prueba en ensayos de unión simples. En un ejemplo adicional, se

pueden realizar experimentos de mutagénesis de un antígeno, intercambio de dominios y mutagénesis por escaneo de alanina para identificar los residuos requeridos, suficientes o necesarios para la unión al epítipo.

En su nivel más detallado, el epítipo para la interacción entre el antígeno y el anticuerpo puede definirse mediante las coordenadas espaciales que definen los contactos atómicos presentes en la interacción antígeno-anticuerpo, así como información sobre sus contribuciones relativas a la termodinámica de unión. A un nivel menos detallado, el epítipo puede ser caracterizado por las coordenadas espaciales que definen los contactos atómicos entre el antígeno y el anticuerpo. A un nivel aún menos detallado, el epítipo puede ser caracterizado por los residuos de aminoácidos que lo conforman, definidos por un criterio específico, por ej., por la distancia entre átomos (por ejemplo, átomos pesados, es decir, no hidrógeno) en el anticuerpo y el antígeno. A un nivel aún menos detallado, el epítipo puede caracterizarse a través de su función, por ejemplo, mediante la competencia en la unión con otros anticuerpos. El epítipo también puede definirse de manera más genérica como aquel que comprende residuos de aminoácidos cuya sustitución por otro aminoácido alterará las características de la interacción entre el anticuerpo y el antígeno (por ejemplo, utilizando el escaneo de alanina).

Dado que las descripciones y definiciones de los epítopos, dependiendo del método de mapeo de epítopos utilizado, se obtienen a diferentes niveles de detalle, se sigue que la comparación de epítopos para diferentes anticuerpos en el mismo antígeno también se puede llevar a cabo a diferentes niveles de detalle.

Los epítopos descritos a nivel de aminoácidos, por ejemplo, determinados a partir de cristalografía de rayos X, espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) o espectrometría de masas de intercambio hidrógeno/deuterio (H/D-MS), se consideran idénticos si contienen el mismo conjunto de residuos de aminoácidos. Los epítopos se consideran superpuestos si comparten al menos un aminoácido. Los epítopos se consideran separados (únicos) si no comparten ningún residuo de aminoácido.

Otro método que se puede utilizar para caracterizar un anticuerpo es utilizar ensayos de competencia con otros anticuerpos conocidos por unirse al mismo antígeno, para determinar si un anticuerpo de interés se une al mismo epítipo que otros anticuerpos. Los ensayos de competencia son bien conocidos por aquellos con experiencia en el arte. Los epítopos caracterizados por la competencia en la unión se consideran superpuestos si la unión de los anticuerpos correspondientes es mutuamente excluyente, es decir, la unión de un anticuerpo excluye la unión simultánea o consecutiva del otro anticuerpo. Los epítopos se

consideran separados (únicos) si el antígeno es capaz de acomodar la unión de ambos anticuerpos correspondientes simultáneamente.

Los epítopos pueden ser lineales o conformacionales. En un epítipo lineal, todos los puntos de interacción entre la proteína y la molécula de interacción (tal como un anticuerpo) se dan de manera lineal a lo largo de la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína. Un "epítipo no lineal" o "epítipo conformacional" comprende polipéptidos (o aminoácidos) no contiguos dentro de la proteína antigénica a los cuales se une un anticuerpo específico para el epítipo.

El término "afinidad de unión" se refiere a la fuerza de la suma total de las interacciones no covalentes entre un sitio de unión único de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su pareja de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, tal como se utiliza en la presente, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su pareja Y generalmente se representa mediante la constante de disociación (K_D , por sus siglas en inglés). La afinidad puede medirse mediante métodos comunes conocidos en el arte. Los anticuerpos de baja afinidad generalmente se unen al antígeno lentamente y tienden a disociarse fácilmente, mientras que los anticuerpos de alta afinidad generalmente se unen al antígeno más rápidamente y tienden a permanecer unidos por más tiempo. En particular, el término "afinidad de unión" se refiere a la tasa de disociación de una interacción específica antígeno-anticuerpo. La K_D es la relación de la tasa de disociación, también llamada "tasa de disociación (k_{off})" o " k_d ", o "tasa de asociación (k_{on})" o " k_a ". Por lo tanto, la K_D es igual a k_{off} / k_{on} (o k_d / k_a) y se expresa como una concentración molar (M). En consecuencia cuanto menor sea la K_D , mayor será la afinidad de unión. Por lo tanto, una K_D de 1 μ M indica una menor afinidad de unión en comparación con una K_D de 1 nM. Los valores de K_D para los anticuerpos pueden determinarse utilizando métodos bien establecidos en el arte. Un método ejemplar para determinar la K_D de un anticuerpo es mediante la resonancia de plasmón superficial (SPR), típicamente utilizando un sistema biosensor como el sistema BIACORE™. El análisis cinético de BIACORE™ comprende el análisis de la unión y disociación de un antígeno a partir de chips con moléculas inmovilizadas (por ejemplo, moléculas que comprenden dominios de unión al epítipo) en su superficie. Otro método para determinar la K_D de un anticuerpo es mediante el uso de interferometría de capa biológica, típicamente utilizando la tecnología OCTET® (sistema OCTET® QK^e, ForteBio, ahora Sartorius). Alternativamente, o además, se puede utilizar un ensayo de exclusión cinética KINEXA®

(Kinetic Exclusion Assay), disponible en Sapidyne Instruments (Boise, ID).

Un "anticuerpo monoespecífico" se refiere a un anticuerpo que comprende uno o más sitios de unión al antígeno por molécula, de modo que todos los sitios de unión del anticuerpo reconocen específicamente el mismo epítipo en el antígeno. Por lo tanto, en los
5 casos en los que un anticuerpo monoespecífico tiene más de un sitio de unión al antígeno, los sitios de unión compiten entre sí por la unión a una molécula de antígeno.

Un "anticuerpo biespecífico" se refiere a una molécula que tiene especificidad de unión para al menos dos epítopos diferentes. En algunos casos, los anticuerpos biespecíficos pueden unirse simultáneamente a dos antígenos diferentes. En otras realizaciones, los dos
10 epítopos diferentes pueden residir en el mismo antígeno.

El término "concentración efectiva media máxima (EC_{50})" se refiere a la concentración de un agente terapéutico que causa una respuesta a la mitad entre el valor de referencia y el máximo después de un tiempo de exposición especificado. EC_{90} se refiere a la concentración de un agente terapéutico que corresponde al 90% de la respuesta máxima
15 posible después de un tiempo de exposición especificado. El agente terapéutico puede causar inhibición o estimulación. El valor de EC_{50} se utiliza comúnmente, y se utiliza aquí, como una medida de potencia.

El término "concentración inhibitoria media" (IC_{50}) se refiere a la concentración del agente terapéutico que se requiere para lograr una inhibición del 50% de la respuesta
20 máxima obtenida.

Un "agonista" se refiere a una sustancia que promueve (es decir, induce, causa, potencia y/o aumenta) la actividad biológica o el efecto de otra molécula. El término agonista abarca sustancias (tal como un anticuerpo) que se unen a una molécula para promover la actividad de esa molécula.

Un "antagonista" se refiere a una sustancia que previene, bloquea, inhibe, neutraliza y/o reduce una actividad biológica o efecto de otra molécula, tal como un receptor. El término antagonista abarca sustancias (tal como un anticuerpo) que se unen a una molécula para prevenir o reducir la actividad de esa molécula.
25

El término "competir", tal como se utiliza aquí en relación con un anticuerpo, significa que un primer anticuerpo se une a un epítipo de manera suficientemente similar a la unión de un segundo anticuerpo, de modo que el resultado de la unión del segundo anticuerpo con su epítipo correspondiente disminuye de manera detectable en la presencia del primer anticuerpo en comparación con la unión del segundo anticuerpo en la ausencia del primer anticuerpo. La alternativa, donde la unión del primer anticuerpo a su epítipo también
30

disminuye de manera detectable en la presencia del segundo anticuerpo, puede, pero no necesariamente tiene que ser el caso. Es decir, un primer anticuerpo puede inhibir la unión de un segundo anticuerpo a su epítipo sin que ese segundo anticuerpo inhiba la unión del primer anticuerpo a su epítipo respectivo. Sin embargo, cuando cada anticuerpo inhibe detectablemente la unión del otro anticuerpo con su epítipo o ligando correspondiente, ya sea en mayor o menor medida, se dice que los anticuerpos "compiten entre sí" por la unión de su o sus respectivos epítopos. Tanto los anticuerpos que compiten como los que compiten entre sí están abarcados en la presente revelación. Independientemente del mecanismo mediante el cual ocurre esta competencia o competencia cruzada (por ejemplo, obstrucción estérica, cambio conformacional y/o unión a un epítipo común, o una porción del mismo), el experto en el arte apreciaría, en base a las enseñanzas proporcionadas en la presente, que dichos anticuerpos que compiten o compiten entre están comprendidos y pueden ser útiles para los métodos que se revelan en la presente.

Un "receptor Fc" (FcR) se refiere a un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. En algunas realizaciones, un FcR es un FcR humano nativo. En algunas realizaciones, un FcR es aquel que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII y FcγRIII, que incluyen variantes alélicas y formas alternativamente empalmadas de esos receptores. Los receptores FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor activador") y FcγRIIB (un "receptor inhibidor"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en sus dominios citoplasmáticos. El receptor activador FcγRIIA contiene un motivo de activación de tirosina basado en inmunoreceptor (ITAM) en su dominio citoplasmático. El receptor inhibidor FcγRIIB contiene un motivo de inhibición de tirosina a base de inmunoreceptor (ITIM) en su dominio citoplasmático (ver, por ejemplo, Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 1997; 15:203-234). Los FcRs son revisados, por ejemplo, en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 1991; 9:457-92; Capel *et al.*, *Immunomethods* 1994; 4:25-34; y de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 1995; 126:330-41. Otras FcRs, incluyendo aquellas a ser identificadas en el futuro, se encuentran abarcadas por el término "receptor Fc" en la presente. El término "receptor Fc" también incluye al receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgGs maternas al feto (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 1976; 117:587 y Kim *et al.*, *J. Immunol.* 1994; 24:249) y la regulación de la homeostasis de las inmunoglobulinas. Se conocen métodos para medir la unión a FcRn (ver, por ej., Ghetie and Ward., *Immunol. Today* 1997; 18(12):592-598; Ghetie *et al.*, *Nature Biotechnology*, 1997; 15(7):637- 640; Hinton *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2004; 279(8):6213-6216; WO 2004/92219).

Una “célula efectora” se refiere a un leucocito que expresa uno o más FcRs y desarrolla funciones efectoras. En ciertas realizaciones, las células efectoras expresan al menos FcγRIII y llevan a cabo función o funciones efectoras ADCC. Ejemplos de leucocitos que median en la ADCC incluyen las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), las células asesinas naturales (NK), los monocitos, los macrófagos, las células T citotóxicas y los neutrófilos. Las células efectoras pueden ser aisladas de una fuente natural, por ejemplo, de la sangre.

El término "citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos" o "ADCC" se refiere a una forma de citotoxicidad en la cual los Ig secretados unidos a receptores Fc (FcRs) presentes en ciertas células citotóxicas (por ejemplo, células NK, neutrófilos y macrófagos) permiten que estas células efectoras citotóxicas se unan específicamente a una célula objetivo que posee un antígeno y posteriormente la eliminen con citotoxinas. Las células principales para mediar la ADCC, las células NK, solo expresan FcγRIII, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. Para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés, se puede realizar un ensayo de ADCC *in vitro*, como se describe en las patentes de EE. UU. 5.500.362, 5.821.337 o 6.737.056. Las células efectoras útiles para tales ensayos incluyen las células PBMC y las células NK. Alternativamente, o además, la actividad de ADCC de la molécula de interés se puede evaluar *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal como se describe en Clynes *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 1998; 95:652-656. También se describen otros anticuerpos con secuencias de aminoácidos alteradas en la región Fc y con actividad de ADCC aumentada o disminuida, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. 7.923.538 y 7.994.290.

El término "actividad ADCC mejorada" se refiere a un anticuerpo que es más efectivo en la mediación de la ADCC *in vitro* o *in vivo* en comparación con el anticuerpo progenitor, en el que el anticuerpo y el anticuerpo progenitor difieren en al menos un aspecto estructural, y cuando las cantidades de dicho anticuerpo y anticuerpo progenitor utilizadas en el ensayo son esencialmente las mismas. En algunos casos, el anticuerpo y el anticuerpo progenitor tienen la misma secuencia de aminoácidos, pero el anticuerpo está afucosilado mientras que el anticuerpo progenitor está fucosilado. En algunos casos, la actividad ADCC se determinará utilizando un ensayo ADCC *in vitro*, pero también se contemplan otros ensayos o métodos para determinar la actividad ADCC, por ej., en un modelo animal, etc. En algunos casos, un anticuerpo con actividad ADCC mejorada tiene una afinidad mejorada por FcγRIIIA.

El término afinidad de unión "alterada" a FcR o actividad ADCC se refiere a un

anticuerpo que tiene una actividad mejorada o disminuida para una o más actividades de unión a FcR o actividad ADCC en comparación con un anticuerpo progenitor, en el cual el anticuerpo y el anticuerpo progenitor difieren en al menos un aspecto estructural. Un anticuerpo que "muestra una mayor unión" a un FcR se une al menos a un FcR con una afinidad mejor que el anticuerpo progenitor. Un anticuerpo que "muestra una menor unión" a un FcR se une al menos a un FcR con una afinidad más baja que un anticuerpo progenitor. Tales anticuerpos que muestran una menor unión a un FcR pueden tener poca o ninguna unión apreciable a un FcR, por ejemplo, un 0-20 por ciento de unión al FcR en comparación con una región Fc de IgG de secuencia nativa.

El término "citotoxicidad dependiente del complemento" o "CDC" se refiere a la lisis de una célula objetivo en presencia de complemento. La activación de la vía clásica del complemento se inicia mediante la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a los anticuerpos (de la subclase apropiada), que están unidos a su antígeno correspondiente. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo de CDC, por ejemplo, como se describe en Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 1996; 202: 163. Se describen anticuerpos con secuencias de aminoácidos alteradas en la región Fc y una capacidad aumentada o disminuida de unión a C1q, por ejemplo, en Patente de los EE. UU. No. 6.194.551, Patente de los EE. UU. No. 7.923.538, Patente de los EE. UU. No. 7.994.290 y WO 1999/51642.

Una "célula huésped" se refiere a una célula individual o un cultivo celular que puede ser o ha sido un receptor para vector(es) para la incorporación de inserciones de polinucleótidos. Las células huésped incluyen la progenie de una sola célula huésped, y la progenie no necesariamente es completamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN genómico) a la célula progenitora original debido a mutaciones naturales, accidentales y/o deliberadas. Una célula huésped incluye células transfectadas *in vivo* con un polinucleótido(s) que se revela en la presente.

Un "vector" se refiere a un constructo, que es capaz de entregar y, preferentemente, expresar uno o más genes o secuencias de interés (por ejemplo, un gen que codifica un anticuerpo) en una célula huésped. Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos y vectores virales, y pueden contener ácidos nucleicos desnudos, pueden contener ácidos nucleicos asociados con materiales que ayudan en la entrega (por ejemplo, agentes condensantes catiónicos, liposomas, etc.). Los vectores pueden contener ADN o ARN. Un "vector de expresión", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un vector que incluye al menos un gen que codifica un polipéptido, al menos un elemento regulador (por

ejemplo, secuencia promotora, secuencia de poli(A)) relacionados con la transcripción o traducción del gen. Típicamente, un vector utilizado en la presente contiene al menos un gen que codifica un anticuerpo, así como uno o más elementos reguladores o marcadores seleccionables. Los componentes del vector pueden incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes: una secuencia, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, elementos de control transcripcional adecuados (como promotores, potenciadores y terminadores). Para la traducción, también se pueden incluir uno o más elementos de control de traducción, tal como sitios de unión a ribosomas, sitios de iniciación de la traducción y codones de terminación. Se contempla que cualquiera de estos anteriores componentes o elementos pueden excluirse en una realización.

Una molécula "aislada" (por ejemplo, un anticuerpo) se refiere a una molécula que, debido a su origen o fuente de derivación (1) no está asociada con componentes que la acompañan en su estado natural, (2) está sustancialmente libre de otras moléculas de la misma fuente, por ej., especies, células de las que se expresa, colecciones, etc., (3) es expresada por una célula de una especie diferente, o (4) no se da en la naturaleza. Por lo tanto, una molécula que es sintetizada químicamente o expresada en un sistema celular diferente al sistema del cual se origina naturalmente se considerará "aislada" de sus componentes naturalmente asociados. Una molécula también puede estar sustancialmente libre de componentes naturalmente asociados mediante su aislamiento, utilizando técnicas de purificación bien conocidas en el arte.

Un "polipéptido" o "proteína" (utilizados indistintamente en la presente) se refiere a una cadena de aminoácidos de cualquier longitud. La cadena puede ser lineal o ramificada. La cadena puede incluir uno o más aminoácidos modificados. Los términos también abarcan una cadena de aminoácidos que ha sido modificada de forma natural o por intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación y/o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente marcado. También se incluyen en la definición, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluidos, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en el arte. Se entiende que los polipéptidos pueden darse como cadenas únicas o cadenas asociadas.

Un "polinucleótido" o "ácido nucleico" (utilizados indistintamente en la presente) se refiere a una cadena de nucleótidos de cualquier longitud e incluye ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxiribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos modificados o bases o sus análogos, o cualquier sustrato que pueda incorporarse a una cadena mediante una

ADN o ARN polimerasa. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, como nucleótidos metilados y sus análogos. Si están presentes, las modificaciones en la estructura del nucleótido pueden ser impartidas antes o después del ensamble de la cadena. La secuencia de nucleótidos puede interrumpirse por componentes que no son nucleótidos.

- 5 Un polinucleótido puede ser modificado aún más después de la polimerización, tal como mediante la conjugación con un componente marcado. Otros tipos de modificaciones incluyen, por ejemplo, "tapas", la sustitución de uno o más de los nucleótidos naturalmente presentes con un análogo, modificaciones internucleotídicas tal como, por ejemplo, aquellas con enlaces no cargados (por ej., metilfosfonatos, fosfotriésteres, fosfoamidatos, carbamatos, etc.) y con enlaces cargados (por ej., fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), aquellos que
- 10 contienen grupos colgantes, como, por ejemplo, proteínas (por ej., nucleasas, toxinas, anticuerpos, péptidos señal, poli-L-lisina, etc.), aquellos con intercaladores (por ej., acridina, psoraleno, etc.), aquellos que contienen quelantes (por ej., metales, metales radiactivos, boro, metales oxidantes, etc.), aquellos que contienen alquilantes, aquellos con enlaces modificados
- 15 (por ej., ácidos nucleicos alfa anómeros, etc.), así como formas no modificadas del polinucleótido(s). Además, cualquier grupo hidroxilo presente habitualmente en los azúcares puede ser reemplazado, por ejemplo, por grupos fosfonato, grupos fosfato, protegidos por grupos de protección estándar, o activados para preparar enlaces adicionales a nucleótidos adicionales, o puede estar conjugado a soportes sólidos. Los grupos OH terminales en el
- 20 extremo 5' y 3' pueden ser fosforilados o sustituidos con aminas o porciones de grupos con terminación orgánicos que contengan de 1 a 20 átomos de carbono. Otros grupos hidroxilo también pueden derivar a grupos de protección estándar. Los polinucleótidos también pueden contener formas análogas de azúcares ribosa o desoxiribosa que son ampliamente conocidas en el arte, incluyendo, por ejemplo, 2'-O-metil-, 2'-O-alil-, 2'-fluoro- o 2'-azido-ribosa,
- 25 análogos de azúcar carbocíclicos, azúcares alfa o beta-anómeros, azúcares epiméricos como arabinosa, xilosas o lixosas, azúcares piranosas, azúcares furanosas, sedoheptulosas, análogos acíclicos y análogos de nucleósidos abásicos como metil ribósido. Se contempla que cualquiera de estas anteriores modificaciones pueden excluirse en una realización.

- Una "sustitución conservativa" se refiere al reemplazo de un aminoácido por un
- 30 residuo biológica, química y/o estructuralmente similar. Biológicamente similar significa que la sustitución no destruye una actividad biológica. Estructuralmente similar significa que los aminoácidos tienen cadenas laterales de longitud similar, tal como alanina, glicina y serina o un tamaño similar. La similitud química significa que los residuos tienen la misma carga o son tanto hidrofílicos como hidrofóbicos. Ejemplos particulares incluyen la sustitución de un

residuo hidrofóbico, tal como isoleucina, valina, leucina o metionina, por otro, o la sustitución de un residuo polar por otro, tal como la sustitución de arginina por lisina, ácido glutámico por ácido aspártico o glutamina por asparagina, serina por treonina, y similares. Ejemplos particulares de sustituciones conservativas incluyen la sustitución de un residuo hidrofóbico tal como isoleucina, valina, leucina o metionina por otro, la sustitución de un residuo polar por otro, tal como la sustitución de arginina por lisina, ácido glutámico por ácido aspártico o glutamina por asparagina, y similares. Las sustituciones conservativas de aminoácidos generalmente incluyen, por ejemplo, sustituciones dentro de los siguientes grupos: glicina, alanina, valina, isoleucina, leucina; ácido aspártico, ácido glutámico; asparagina, glutamina; serina, treonina; lisina, arginina; y fenilalanina, tirosina.

El término "identidad" o "idéntico a" se refiere a la relación global entre moléculas poliméricas, por ejemplo, entre moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ADN o moléculas de ARN) o entre moléculas de polipéptido. "Identidad" mide el porcentaje de coincidencias idénticas entre dos o más secuencias con alineamientos que contienen brechas, según un modelo matemático específico o programas informáticos (por ejemplo, algoritmos) que son bien conocidos en el arte

Los términos "aumentar", "mejorar", "disminuir" o "reducir" se refieren a valores que son relativos a una medida de referencia, tal como una medición en el mismo individuo antes de iniciar el tratamiento descrito aquí, o una medición en un individuo o sujeto de control (o varios individuos o sujetos de control) en la ausencia del tratamiento descrito en la presente. En algunas realizaciones, un "individuo de control" es un individuo afectado por la misma forma de enfermedad o lesión que el individuo en tratamiento. En algunas realizaciones, un "individuo de control" es un individuo que no está afectado por la misma forma de enfermedad o lesión que el individuo en tratamiento

El término "excipiente" se refiere a cualquier material que, combinado con un ingrediente activo de interés (por ej., un anticuerpo), permite que el ingrediente activo retenga su actividad biológica. La elección del excipiente dependerá en gran medida de factores como el modo de administración, el efecto del excipiente en la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma de dosificación. Como se utiliza aquí, "excipiente" incluye todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, transportadores, diluyentes y similares que son fisiológicamente compatibles. Ejemplos de excipientes incluyen uno o más de agua, solución salina, suero salino tamponado con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos, y pueden incluir agentes isotónicos, por ejemplo

azúcares, cloruro de sodio y/o polialcoholes tal como manitol o sorbitol en la composición. Se contempla que cualquiera de estos excipientes anteriores pueden excluirse en una realización.

5 Los términos “que trata”, "tratar", o "tratamiento" se refieren a cualquier tipo de tratamiento, por ej., tal como aliviar, mitigar, mejorar y/o retardar la progresión de la enfermedad, trastorno o afección del paciente, así como cualquier daño tisular asociado con la enfermedad. En algunas realizaciones, la enfermedad, trastorno o afección puede ser la hipertensión, opcionalmente la hipertensión arterial pulmonar.

10 Los términos "prevenir" o "prevención" se refieren a uno o más de: retraso en el inicio, reducción en la frecuencia y/o reducción en la gravedad de al menos un signo o síntoma (por ej., falta de aliento, fatiga, mareos, presión o dolor en el pecho, hinchazón (edema), cianosis, palpitaciones cardíacas, hipertrofia ventricular y/o disminución del funcionamiento de la parte derecha del corazón (lo que puede llevar a insuficiencia cardíaca) para la hipertensión arterial pulmonar) de una enfermedad, trastorno o afección en particular
15 (por ej., hipertensión arterial pulmonar). En algunas realizaciones, la prevención se evalúa a nivel de población, de modo que se considera que un agente "previene" una enfermedad, trastorno o afección en particular si se observa una disminución estadísticamente significativa en el desarrollo, frecuencia y/o intensidad de uno o más síntomas de la enfermedad, trastorno o afección. La prevención puede considerarse completa cuando se ha retrasado el inicio de la
20 enfermedad, trastorno o afección durante un período de tiempo predefinido.

Los términos "sujeto", "individuo" o "paciente" (utilizados de manera intercambiable en la presente) se refieren a cualquier animal, incluyendo mamíferos. Los mamíferos según los ejemplos incluyen caninos, felinos, bovinos, caprinos, equinos, ovinos, porcinos, roedores, lagomorfos, primates, humanos y otros similares, y abarcan mamíferos en
25 el útero. En una realización, los seres humanos son sujetos adecuados. Los sujetos humanos pueden ser de cualquier género y en cualquier etapa de desarrollo. En algunos ejemplos, un sujeto es un paciente con hipertensión arterial, opcionalmente, hipertensión arterial pulmonar.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de ingrediente activo que provoca la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema,
30 animal, individuo y/o humano que busca un investigador, veterinario, médico y/u otro clínico, lo cual puede incluir uno o más de los siguientes:

(1) prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede tener predisposición a la enfermedad, afección o trastorno pero aún no experimenta y/o muestra la patología y/o sintomatología de la enfermedad;

(2) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando y/o mostrando la patología y/o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener y/o retardar el desarrollo posterior de la patología y/o sintomatología); y

- 5 (3) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando y/o mostrando la patología y/o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología).

Anticuerpos para BMP9

- 10 La revelación proporciona anticuerpos que se unen a la proteína morfogenética ósea-9 (BMP9). BMP9, también conocido como factor de diferenciación de crecimiento 2 (GDF2), está codificado en humanos por el gen GDF2. Pertenece a la superfamilia del factor de crecimiento transformador beta (TGF β). Las BMPs se sintetizan como precursores grandes de aproximadamente 400-500 aminoácidos que constan de un péptido señal N-
- 15 terminal que dirige la secreción, un prodominio para el plegamiento adecuado y un péptido maduro C-terminal (Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A (2011) Bone morphogenetic proteins: a critical review. *Cell Signal* 23:609–620). Luego de la dimerización, las proteínas maduras carboxi-terminales se escinden de los prodominios (Nelsen SM, Christian JL (2009) Site-specific cleavage of BMP4 by furin, PC6, and PC7. *J. Biol. Chem.* 284:27157–27166). Después de la escisión, el prodominio permanece asociado
- 20 no covalentemente con el dímero activo maduro de BMP. Tres receptores tipo II [receptor de proteína morfogenética ósea de tipo II (BMPRII), receptor activina tipo 2A (ActRIIA), y tipo 2B (ActRIIB)], y cuatro receptores tipo I [activin receptor-like kinase (ALK1, ALK2, ALK3, y ALK6)] están involucrados en señalización de BMP. Después de la hetero-oligomerización
- 25 del receptor inducida por ligando, los receptores de tipo I se trans-fosforilan y se activan por los receptores de tipo II. Estos complejos de receptores activados fosforilan a las Smad reguladas por (R-Smad: Smad1, Smad5 y Smad8), lo que permite la formación de un complejo con la co-Smad, Smad4. Los complejos R-Smad/Smad4 se desplazan al núcleo y regulan la expresión de genes objetivo mediante la unión a elementos reguladores y
- 30 reclutando complejos co-represores y/o de activación transcripcional en sus promotores (Bidart, M., Ricard, N., Levet, S. *et al.* BMP9 is produced by hepatocytes and circulates mainly in an active mature form complexed to its prodomain. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 313–324 (2012)).

Tal como se utiliza en la presente, el término proteína morfogenética ósea-9 o

proteína morfogénica ósea 9 (BMP9), también conocida como factor de diferenciación de crecimiento 2 (GDF2), incluye variantes, isoformas, homólogos, ortólogos y parálogos de BMP9. En algunas realizaciones, un anticuerpo que se revela en la presente puede presentar reactividad cruzada con BMP9 de especies diferentes a la humana, tal como BMP9 de mono cynomolgus y/o rata, así como diferentes formas de BMP9. En algunas realizaciones, un anticuerpo puede ser completamente específico para BMP9 humana y no presentar reactividad cruzada con otras especies (por ejemplo, no se une a BMP9 de ratón). En algunas realizaciones, un anticuerpo puede ser completamente específico para BMP9 humana pero no presentar reactividad cruzada con otros miembros de la superfamilia de factores de crecimiento transformante beta (por ejemplo, no se une a TGFβ1, GDF8, GDF9, GDF11, Activina A y BMP10). Tal como se usa en la presente, el término BMP9 se refiere a BMP9 humana que se da naturalmente, a menos que el contexto indique lo contrario. Por lo tanto, un "anticuerpo BMP9", "anticuerpo anti-BMP9" u otra designación similar significa cualquier anticuerpo (según se define en la presente) que se una o reaccione con BMP9, o una isoforma, fragmento y/o derivado de este. La forma completa de BMP9 humana, representada por el número de acceso UniProtKB/Swiss-Prot Q9UK05, se proporciona aquí como SEQ ID NO: 78. La forma madura completa de BMP9 humana (monómero) se proporciona aquí como SEQ ID NO: 79.

Sin pretender estar vinculado a ninguna teoría en particular, la perturbación de la vía de señalización de BMP9 ha surgido como algo esencial en la (dis)función endotelial y la remodelación vascular, en particular en la hipertensión arterial pulmonar. Se ha demostrado que la supresión de BMP9 en diferentes modelos animales complementarios y bien establecidos de HAP protege parcialmente contra la hipertensión pulmonar experimental (Tu L., Desroches-Castan A., Mallet C., *et al.* Selective BMP-9 inhibition partially protects against experimental pulmonary hypertension. *Circulation Research*. 2019; 124:846-855; Bouvard C., Tu L., Rossi M., *et al.* Different cardiovascular and pulmonary phenotypes are observed in single- and double-knock-out mice deficient in BMP9 and/or BMP10. *Cardiovasc Res*. 2021; Jun 4:cvab187).

Un anticuerpo neutralizante o "bloqueante" se refiere a un anticuerpo cuya unión a BMP9 cumple con una o ambas de (i) interfiere con, limita e inhibe la interacción entre BMP9 y un receptor de tipo I o un receptor de tipo II, o ambos, tal como (ALK1, ALK2, ALK3 ALK6, BMPRII, ActRIIA y ActRIIB); y/o (ii) da como resultado la inhibición de al menos una función biológica de la unión de BMP9. Los ensayos para determinar la

neutralización por un anticuerpo de la revelación son bien conocidos en el arte.

La "función biológica" o "actividad biológica" de BMP9 se refiere a la unión de BMP9 a las células endoteliales, la inducción de la translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 en las células endoteliales y la inducción de la translocación nuclear de fosfo-SMAD2 en las células endoteliales. La función biológica o actividad biológica de BMP9 puede, pero no necesariamente, ser mediada por la interacción entre BMP9 y sus receptores.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9 de la presente revelación abarca un anticuerpo en donde uno o ambos de i) compite por la unión a BMP9 humana con, y/o ii) se une al mismo epítipo que un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena pesada establecida como SEQ ID NO: 77 y la secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena ligera establecida como SEQ ID NO: 74

Los anticuerpos anti-BMP9 de la presente revelación pueden incluir anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fc, etc.), anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos heteroconjugados, cadena única (ScFv), mutantes de los mismos, proteínas de fusión que comprenden un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, un dominio de anticuerpo), anticuerpos humanizados y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprenda un sitio de unión al antígeno de la especificidad requerida, incluyendo variantes de glicosilación de los anticuerpos, variantes de secuencia de aminoácidos de los anticuerpos y anticuerpos modificados covalentemente. Los anticuerpos pueden ser murinos, de rata, humanos o de cualquier otra procedencia (incluyendo anticuerpos quiméricos o humanizados). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9 es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9 es un anticuerpo humano o humanizado. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9 es un anticuerpo quimérico. Se contempla que cualquiera de estos anteriores tipos de anticuerpo pueden excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, se divulga un anticuerpo que tiene una secuencia de región variable de cadena ligera (VL) y una secuencia de región variable de cadena pesada (VH) como se encuentra en la Tabla 3/Tabla 4, o variantes de las mismas. En la Tabla 4, las secuencias subrayadas son secuencias de CDR (definición de Kabat), y las secuencias en cursiva son secuencias de CDR (definición de Chothia). En la Tabla 1, la K_D indica la afinidad para BMP9 humana medida mediante resonancia de plasmón de superficie a 37 °C, a menos que se indique lo contrario.

Las Tablas 3 y 4 proporcionan secuencias VH y VL para los mAbs de

realizaciones particulares de la presente revelación.

En algunas realizaciones, también se proporcionan porciones de CDR de anticuerpos para BMP9. La determinación de las regiones de CDR está dentro de las habilidades del arte. Se entiende que, en algunas realizaciones, las CDR pueden ser una combinación de las CDR de Kabat y Chothia (también denominados "CDRs combinadas" o "CDRs extendidas"). En otro enfoque, denominado aquí "definición conformacional" de las CDR, las posiciones de las CDR pueden identificarse como los residuos que contribuyen de manera entálpica a la unión del antígeno. Véase, por ejemplo, Makabe *et al.*, 2008, *J. Biol. Chem.*, 283:1156-1166. En general, "CDRs conformacionales" incluyen las posiciones de residuos en las CDR de Kabat y las zonas Vernier que están restringidas para mantener una estructura de bucle adecuada para que el anticuerpo se una a un antígeno específico. La determinación de las CDR conformacionales está dentro de las habilidades del arte. En algunas realizaciones, las CDR son las CDR de Kabat. En otras realizaciones, las CDR son las CDR de Chothia. En otras realizaciones, las CDR son las CDR extendidas, AbM, conformacionales y/o de contacto. En otras palabras, en las realizaciones con más de una CDR, las CDR pueden ser cualquiera de las CDR de Kabat, Chothia, extendidas, AbM, conformacionales, CDR de contacto o combinaciones de los mismos. Se contempla que cualquiera de estas CDRs anteriores pueden excluirse en una realización.

La Tabla 4 proporciona ejemplos de secuencias CDR de anticuerpos anti-BMP9 revelados aquí. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDRs de cualquiera de las regiones variables de cadena pesada que se muestran en la Tabla 4. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDRs de cualquiera de las regiones variables de cadena ligera que se muestran en la Tabla 4. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDRs de cualquiera de las regiones variables de cadena pesada que se muestran en la Tabla 4 y tres CDRs de cualquiera de las regiones variables de cadena ligera que se muestran en la Tabla 4. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDRs de cadena ligera y tres CDRs de cadena pesada de la Tabla 4.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende uno o ambos de i) la cadena pesada de longitud completa, con o sin la lisina C-terminal, y/o ii) la cadena ligera de longitud completa de un anticuerpo anti-BMP9 (por ejemplo, Ab1076, Ab93, Ab352, Ab804, Ab101, Ab732, Ab100 y Ab89). Las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada de longitud completa y la cadena ligera para los anticuerpos BMP9 se muestran a continuación en la Tabla 4.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito aquí comprende un dominio Fc. El

dominio Fc puede provenir de IgA (por ejemplo, IgA₁ o IgA₂), IgD, IgE, IgM o IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, o IgG₄). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9 es un anticuerpo IgG.

5 Algunas realizaciones incluyen modificaciones a las regiones variables, las regiones CDR y/o las secuencias de cadena pesada y cadena ligera que se muestran en las Tablas 4 y 5. Por ejemplo, las realizaciones comprenden anticuerpos que contienen regiones variables y CDRs equivalentes funcionalmente que no afectan significativamente sus propiedades, así como variantes que presentan una actividad o afinidad mejorada o disminuida. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos puede ser mutada para obtener un
10 anticuerpo con la afinidad de unión deseada a BMP9. La modificación de polipéptidos es una práctica rutinaria en el arte y no es necesario describirla en detalle en la presente. Ejemplos de polipéptidos modificados incluyen polipéptidos con sustituciones conservativas de residuos de aminoácidos, una o más deleciones o adiciones de aminoácidos que no cambian significativamente de manera perjudicial la actividad funcional, o que desarrollan (mejoran)
15 la afinidad del polipéptido por su ligando, o el uso de análogos químicos. Se contempla que cualquiera de estas modificaciones anteriores pueden excluirse en una realización.

También se puede realizar una modificación o mutación en una región marco o región constante para aumentar la vida media de un anticuerpo proporcionado aquí. Ver, por ejemplo, la Publicación PCT No. WO 00/09560. Una mutación en una región marco o región
20 constante también se puede realizar para alterar la inmunogenicidad del anticuerpo, proporcionar un sitio para la unión covalente o no covalente a otra molécula, y/o alterar tales propiedades como la fijación del complemento, la unión a FcR y la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos. En algunas realizaciones, se realizan no más de una a cinco (por ejemplo, al menos, como máximo o exactamente 1, 2, 3, 4 o 5) sustituciones
25 conservadoras de aminoácidos dentro de la región marco o región constante. En otras realizaciones, se realizan no más de una a tres (por ejemplo, al menos, como máximo o exactamente 1, 2 o 3) sustituciones conservadoras de aminoácidos dentro de la región marco o región constante. Según ciertas realizaciones, un único anticuerpo puede tener mutaciones en una o más de las CDRs o regiones marco del dominio variable o en la región constante.

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante modificada que tiene una afinidad de unión aumentada o disminuida para un receptor gamma Fc humano, es inmunológicamente inerte o parcialmente inerte, por ejemplo, no desencadena lisis mediada por el complemento, no estimula la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), no activa las microglías, y/o tiene actividades reducidas

(en comparación con el anticuerpo no modificado) en uno o más de los siguientes: desencadenar lisis mediada por el complemento, estimular ADCC, y/o activar las microglías. Se contempla que cualquiera de estas características anteriores debido a una región constante modificada puede excluirse en una realización. Se pueden utilizar diferentes modificaciones de la región constante para lograr un nivel óptimo o una combinación de funciones efectoras. Ver, por ejemplo, Morgan *et al.*, *Immunology* 86:319-324, 1995; Lund *et al.*, *J. Immunology* 157:4963-9 157:4963-4969, 1996; Idusogie *et al.*, *J. Immunology* 164:4178-4184, 2000; Tao *et al.*, *J. Immunology* 143: 2595-2601, 1989; y Jefferis *et al.*, *Immunological Reviews* 163:59-76, 1998. En algunas realizaciones, la región constante se modifica según se describe en *Eur. J. Immunol.*, 1999, 29:2613-2624; Publicación PCT No. WO99/058572.

Las modificaciones también incluyen polipéptidos glicosilados y no glicosilados, así como polipéptidos con otras modificaciones postraduccionales, como por ejemplo, glicosilación con diferentes azúcares, acetilación y fosforilación. Los anticuerpos se glicosilan en posiciones conservadas en sus regiones constantes (Jefferis and Lund, 1997, *Chem. Immunol.* 65:111-128; Wright and Morrison, 1997, *TibTECH* 15:26-32). Las cadenas laterales oligosacáridas de las inmunoglobulinas afectan la función de la proteína (Boyd *et al.*, 1996, *Mol. Immunol.* 32:1311-1318; Wittwe y Howard, 1990, *Biochem.* 29:4175-4180) y la interacción intramolecular entre porciones de la glicoproteína, lo cual puede afectar la conformación y la superficie tridimensional presentada de la glicoproteína (Jefferis and Lund, supra; Wyss and Wagner, 1996, *Current Opin. Biotech.* 7:409-416). Las oligosacáridas también pueden servir para dirigir una determinada glicoproteína a ciertas moléculas en función de estructuras de reconocimiento específicas. Se ha informado que la glicosilación de los anticuerpos también afecta la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). En particular, se informó que los anticuerpos producidos por células CHO con expresión regulada de tetraciclina de $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII), una glicosiltransferasa que cataliza la formación de GlcNAc con enlace bisectante, tienen una mayor actividad de ADCC (Umana *et al.*, 1999, *Nature Biotech.* 17:176-180).

En algunas realizaciones, la revelación proporciona anticuerpos anti-BMP9 que contienen variaciones de las regiones variables, las CDRs o las secuencias de cadena pesada y ligera que se muestran en las Tablas 4 y 5, en donde dichos polipéptidos variantes comparten al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99%, o cualquier rango de los mismos, de identidad de secuencia de

aminoácidos con cualquiera de las secuencias de aminoácidos que se revela en las Tablas 4 o 5. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la revelación proporciona anticuerpos anti-BMP9 que contienen variaciones de las regiones variables, las CDRs o las secuencias de cadena pesada y ligera que se muestran en las Tablas 4 y 5, en donde tales polipéptidos variantes comparten al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 87%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con cualquiera de las secuencias de aminoácidos que se revela en las Tablas 4 o 5. Estas cantidades no están destinadas a ser limitantes y se contempla específicamente la posibilidad de incrementos entre los porcentajes mencionados como parte de la revelación. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

Se contempla que una región o fragmento de un polipéptido de la revelación pueda tener una secuencia de aminoácidos que tenga, tenga al menos o tenga como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones de aminoácidos, adiciones de aminoácidos contiguos y/o deleciones de aminoácidos contiguos con respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas como SEQ ID NOs: 1-77, 80-84 o 89. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende o se compone de una secuencia de aminoácidos que es, al menos, o como máximo 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% (o cualquier rango de los mismos) idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 1-77, 80-84, o 89. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores, ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

Además, en algunas realizaciones, una región o fragmento comprende una región de aminoácidos de al menos, como máximo, exactamente o entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,

172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189,
190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207,
208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225,
226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243,
5 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261,
262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279,
280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297,
298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315,
316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333,
10 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351,
352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369,
370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387,
388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405,
406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423,
15 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441,
442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459,
460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477,
478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495,
496, 497, 498, 499, 500 o más aminoácidos contiguos (o cualquier rango de los mismos)
20 comenzando en la posición 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,
21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45,
46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70,
71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95,
96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114,
25 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132,
133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150,
151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168,
169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186,
187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204,
30 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222,
223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240,
241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258,
259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276,
277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294,

295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 5 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 10 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500 en cualquiera de SEQ ID NOS: 1-77, 80-84, o 89 (en donde la posición 1 está en el N-terminal de la SEQ ID NO).

Un anticuerpo anti-BMP9 , o su fragmento de unión a antígeno, de la revelación 15 puede incluir al menos , como máximo , exactamente o entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50 o más (o cualquier rango de los mismos) variantes de aminoácidos o sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, una variante o sustitución de aminoácido se encuentra 20 en la posición 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 25 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 30 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297,

298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315,
316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333,
334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351,
352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369,
5 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387,
388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405,
406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423,
424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441,
442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459,
10 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477,
478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495,
496, 497, 498, 499, y/o 500 en cualquiera de SEQ ID NOS: 1-77, 80-84, o 89 (en donde la
posición 1 está en el N-terminal de la SEQ ID NO), y el anticuerpo anti-BMP9 , o su
fragmento de unión antígeno puede estar al menos, como máximo, exactamente o entre
15 (inclusivo o exclusivo) cualquier par de 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%,
69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%,
85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o
100% idéntico a u homólogo con al menos, o como máximo 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,
14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38,
20 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63,
64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88,
89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109,
110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127,
128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145,
25 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163,
164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181,
182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199,
200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217,
218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235,
30 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 300, 400, 500,
550, 600, o más aminoácidos contiguos, o cualquier rango de los mismos, de cualquiera de
SEQ ID NOs: 1-77, 80-84, o 89. Se contempla que cualquiera de estos porcentajes anteriores,
ya sea uno o más, pueden excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona anticuerpos anti-BMP9 que contienen variaciones de las regiones variables que se muestran en las Tablas 4 y 5. En algunas realizaciones, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 71, o SEQ ID NO: 77, o su variante que comprende una a cuatro sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de una CDR. En algunas realizaciones, una a cuatro (es decir, 1, 2, 3, o 4) sustituciones de aminoácidos pueden seleccionarse del grupo integrado por K13Q, D73N, S74A, T77S, K83R, y T84A de SEQ ID NO: 27. En algunas realizaciones, la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 68, o SEQ ID NO: 74, o su variante que comprende que comprende una a cuatro (es decir, 1, 2, 3, o 4) sustituciones de aminoácidos en residuos que no se encuentran dentro de una CDR. En algunas realizaciones, una a cuatro sustituciones de aminoácidos pueden seleccionarse del grupo integrado por M43T, V76S, Q79R, G84A, y Y85D de SEQ ID NO: 22. En algunas realizaciones, se proporciona en la presente un anticuerpo anti-BMP9 que comprende una VH y una VL, en donde la VH del anticuerpo tiene una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia del ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC que tiene ATCC No. de Acceso PTA-127292 y/o la VL del anticuerpo tiene la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia del ácido nucleico del inserto del plásmido depositado en la ATCC que tiene ATCC No. de Acceso PTA-127293.

Las realizaciones también comprenden proteínas de fusión que incluyen uno o más componentes de los anticuerpos revelados aquí. En algunas realizaciones, se puede generar una proteína de fusión que comprende la totalidad o una porción de un anticuerpo anti-BMP9 revelado aquí unido a otro polipéptido. En otra realización, solo los dominios variables del anticuerpo anti-BMP9 se unen al polipéptido. En otra realización, el dominio VH de un anticuerpo anti-BMP9 se une a un primer polipéptido, mientras que el dominio VL de un anticuerpo anti-BMP9 se une a un segundo polipéptido que se asocia con el primer polipéptido de manera tal que los dominios VH y VL puedan interactuar entre sí para formar un sitio de unión al antígeno. En otra realización, el dominio VH está separado del dominio VL por un conector de manera que los dominios VH y VL puedan interactuar entre sí. El anticuerpo VH-conector-VL se une entonces al polipéptido de interés. Además, se pueden crear anticuerpos de fusión en los que se unen entre sí dos (o más) anticuerpos de cadena

única. Esto es útil si se desea crear un anticuerpo divalente o polivalente en una única cadena de polipéptidos, o si se desea crear un anticuerpo biespecífico

Actividad Biológica de anticuerpos anti-BMP9

- 5 Además de unirse a un epítipo en BMP9, un anticuerpo de la presente revelación puede mediar una actividad biológica. Es decir, la revelación incluye un anticuerpo aislado que se une específicamente a BMP9 y media al menos una actividad detectable seleccionada de entre las siguientes:
- 10 (i) se une específicamente a BMP9 humana;
- (ii) se une específicamente a BMP9 de mono cynomolgus (cyno);
- (iii) se une específicamente a BMP9 de rata;
- (iv) uno o más de reduce, inhibe y/o neutraliza la unión de BMP9 al receptor tipo II (BMPRII, ActRIIA y/o ActRIIB) (por ejemplo, Ab89, Ab93, Ab100, Ab101);
- 15 (v) uno o más de reduce, inhibe y/o neutraliza la unión de BMP9 al receptor tipo II (BMPRII, ActRIIA y/o ActRIIB) e inhibe débilmente la unión de BMP9 al receptor tipo I (ALK1) (por ejemplo, Ab352, Ab804 y Ab1076);
- (vi) uno o más de reduce, inhibe, y/o neutraliza la unión de BMP9 a células endoteliales;
- 20 (vii) uno o más de reduce, inhibe, y/o neutraliza la fosforilación de SMAD1/5/9 y/o translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 en células endoteliales;
- (viii) uno o más de reduce, inhibe, y/o neutraliza la fosforilación de SMAD2 o translocación nuclear de fosfo-SMAD2 en células endoteliales;
- (ix) reduce la presión sistólica ventricular derecha;
- 25 (x) reduce la hipertrofia ventricular derecha;
- (xi) reduce la presión arterial pulmonar (por ejemplo, al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 1 mmHg, 2 mmHg, 3 mmHg, 4 mmHg, 5 mmHg, 6 mmHg, 7 mmHg, 8 mmHg, 9 mmHg, 10 mmHg, 11 mmHg, 12 mmHg, 13 mmHg, 14 mmHg, 15 mmHg, 16 mmHg, 17 mmHg, 18 mmHg, 19 mmHg, 20 mmHg, 21 mmHg, 22 mmHg, 23 mmHg, 24 mmHg, o 25 mmHg, o cualquier rango de los mismos) (por ej., al menos 3 mmHg, al menos 5 mmHg, al menos 7 mmHg, al menos 10 mmHg, al menos 12 mmHg, al menos 15 mmHg, al menos 20 mmHg, o al menos 25 mmHg);
- 30

- (xii) reduce la resistencia vascular pulmonar;
- (xiii) aumenta el gasto cardíaco o el índice cardíaco;
- (xiv) aumenta la presión en cuña capilar pulmonar;
- (xv) aumenta la presión diastólica final del ventrículo izquierdo;
- 5 (xvi) aumenta la capacidad de ejercicio del individuo;
- (xvii) aumenta la distancia caminada en 6 minutos por el individuo (por ej., por al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, o 100 metros , o cualquier rango de los mismos) (por ej.,
10 por al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 o más metros); y
- (xviii) reduce el índice de disnea de Borg del individuo (BDI) (por ej., Clini Enrico *et al. Multidiscip. Respir. Med.* 2010; 5(3):202-210).

Se contempla que cualquiera de estas actividades anteriores pueden excluirse en una realización.

15 Los ensayos para medir las actividades funcionales descritas anteriormente son ampliamente conocidos en el campo. Por ejemplo, la actividad de unión se puede medir utilizando un ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA), un ensayo de radioinmunoensayo (REA), análisis FACS, bioensayo (por ejemplo, inhibición del crecimiento), ensayo de Western Blot, ensayo BIACORE™ y/o mediante resonancia de
20 plasmón superficial. Cada uno de estos ensayos generalmente detecta la presencia de complejos proteína-anticuerpo de interés particular utilizando un reactivo marcado (por ejemplo, un anticuerpo) específico para el complejo de interés

La capacidad de bloquear o competir con la molécula de referencia (por ejemplo, un receptor o un anticuerpo) se puede determinar mediante, por ejemplo, un ensayo de unión
25 de competencia Con un ensayo de unión de competencia, se examina el anticuerpo bajo prueba para determinar su capacidad de inhibir la unión específica de la molécula de referencia a un antígeno común, tal como el polipéptido BMP9. Un anticuerpo de prueba compite con la molécula de referencia por la unión específica al antígeno si un exceso del anticuerpo de prueba inhibe sustancialmente la unión de la molécula de referencia. La
30 inhibición sustancial significa que el anticuerpo de prueba reduce la unión específica de la molécula de referencia generalmente en al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% o 90%, o cualquier rango de valores dentro de esos límites (por ejemplo, al menos 10%, 25%, 50%, 75% o 90%). Existen

varios ensayos de unión de competencia conocidos que se pueden utilizar para evaluar la competencia de un anticuerpo con un anticuerpo de referencia para la unión a una proteína específica, en este caso, BMP9. Estos incluyen, por ejemplo, el radioinmunoensayo (RIA) directo o indirecto en fase sólida, el inmunoensayo enzimático (EIA) directo o indirecto en fase sólida, el ensayo de competencia tipo sándwich (ver Stahli et al., *Methods in Enzymology* 9:242-253, 1983); el EIA directo en fase sólida utilizando biotina-avidina (ver Kirkland et al., *J. Immunol.* 137:3614-3619, 1986); el ensayo directo con marcado en fase sólida, el ensayo tipo sándwich directo con marcado en fase sólida (ver Harlow & Lane, *supra*); el RIA directo con marcado en fase sólida utilizando el marcador 1-125 (ver Morel et al., *Molec. Immunol.* 25:7-15, 1988); el EIA directo en fase sólida utilizando biotina-avidina (Cheung et al., *Virology* 176:546-552, 1990); y el RIA con marcado directo (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77-82, 1990).

Los anticuerpos que se unen a BMP9 y sus fragmentos de unión a antígeno de la presente revelación se pueden someter a pruebas adicionales de reactividad con el polipéptido BMP9 o fragmento antigénico mediante Western blot. En resumen, se pueden preparar polipéptidos de BMP9 purificados o proteínas de fusión, y/o extractos celulares de células que expresan BMP9, y someterlos a electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio. Después de la electroforesis, los antígenos separados se transfieren a membranas de nitrocelulosa, se bloquean con suero fetal bovino al 10% y se detectan con los anticuerpos monoclonales que se van a probar. La unión de IgG humana se puede detectar utilizando fosfatasa alcalina anti-IgG humana y se desarrolla con tabletas de sustrato BCIP/NBT (Sigma Chem. Co., St. Louis, Mo.).

Ejemplos de ensayos funcionales también se describen en la sección de Ejemplos a continuación. Se contempla que cualquiera de estos ensayos funcionales anteriores pueden excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, el anticuerpo que media al menos una de las actividades funcionales descritas en este documento se selecciona del grupo que integrado por Ab89, Ab93, Ab100, Ab101, Ab352, Ab732, Ab804, y Ab1076. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab93, Ab352, Ab804, o Ab1076. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab1076. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab101. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab732. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab101 o Ab732. Se contempla que cualquiera de estos anteriores anticuerpos pueden excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 15 pM a aproximadamente 80 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 15 pM a aproximadamente 150 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, o 150 pM, o cualquier rango de los mismos (por ej., aproximadamente 15 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 25 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 35 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 45 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 55 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 65 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 75 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 95 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, o aproximadamente 150 pM) a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 87 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a BMP9 humana con una afinidad de aproximadamente 87,41 pM o aproximadamente 90 pM a 37°C según se mide mediante resonancia de plasmón superficial. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab1076.

Polinucleótidos que codifican Anticuerpos Anti-BMP9 , y Métodos de Elaboración

La revelación también proporciona polinucleótidos que codifican cualquiera de los anticuerpos de la presente revelación, incluyendo porciones de anticuerpos y anticuerpos modificados descritos aquí. Además, se proporciona un método de elaboración de cualquiera de los anticuerpos y polinucleótidos descritos aquí. Los polinucleótidos se pueden producir y las proteínas se pueden expresar a partir de ellos mediante procedimientos conocidos en el arte.

Si se desea, un anticuerpo anti-BMP9 de interés puede ser secuenciado y luego la

secuencia de polinucleótidos puede ser clonada en un vector para expresión o propagación. La secuencia que codifica el anticuerpo de interés puede mantenerse en un vector dentro de una célula huésped, y la célula huésped puede luego ser expandida y congelada para su uso futuro. La producción de anticuerpos monoclonales recombinantes en cultivo celular puede
5 llevarse a cabo mediante la clonación de genes de anticuerpos a partir de células B utilizando métodos conocidos en el arte. Ver, por ejemplo, Tiller *et al.*, 2008, *J. Immunol. Methods* 329, 112; Patente de EE. UU. No. 7.314.622.

En algunas realizaciones, se proporciona un polinucleótido que comprende una secuencia que codifica una o ambas de las regiones variables de la cadena pesada y/o de la
10 cadena ligera de un anticuerpo anti-BMP9 proporcionado en la presente. La secuencia que codifica el anticuerpo de interés puede mantenerse en un vector dentro de una célula huésped, y la célula huésped puede luego ser expandida y congelada para su uso futuro. Los vectores (incluyendo vectores de expresión) y las células huésped se describen con más detalle en la presente.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que codifican las secuencias de aminoácidos de cualquiera de los siguientes anticuerpos anti-BMP9: Ab89, Ab93, Ab100, Ab101, Ab352, Ab732, Ab804 y Ab1076. En una realización, la revelación
15 proporciona polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-BMP9 Ab93, Ab1076, Ab101 o Ab732. En una realización, la revelación proporciona polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-BMP9
20 Ab1076.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que codifican uno o más polipéptidos de cadena pesada de anticuerpos anti-BMP9 que comprenden una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por: SEQ ID NOs: 8, 23, 35,
25 44, 52, 60, 69, y 75.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que codifican uno o más polipéptidos de cadena ligera de anticuerpos anti-BMP9 que comprenden una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por: SEQ ID NOs: 1, 18, 29,
40, 49, 56, 64, y 72.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que comprenden SEQ ID NO: 87. En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que comprenden SEQ ID NO: 88.
30

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que codifican uno o más polipéptidos VH de anticuerpos anti-BMP9 que comprenden una secuencia de

aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por: SEQ ID NOs: 16, 27, 39 48, 55, 63, 71, y 77.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que codifican uno o más polipéptidos VL de anticuerpos anti-BMP9 que comprenden una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo integrado por: SEQ ID NOs: 6, 22, 33, 43, 51, 59, 68, y 74.

En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que comprenden SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la revelación proporciona polinucleótidos que comprenden SEQ ID NO: 86.

La presente revelación proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto de ADN del plásmido depositado en el ATCC con el número de acceso PTA-127292, que codifica el dominio VH del anticuerpo Ab1076. Además, la presente revelación proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en el ATCC con el número de acceso PTA-127293, que codifica el dominio VL del anticuerpo Ab1076

Se apreciará por aquellos con experiencia común en el arte que, como resultado de la degeneración del código genético, existen muchas secuencias de nucleótidos que codifican un polipéptido tal como se describe en la presente. Algunos de estos polinucleótidos tienen una homología mínima con la secuencia de nucleótidos de cualquier gen nativo. No obstante, se contempla específicamente por la presente revelación los polinucleótidos que varían debido a diferencias en el uso de codones. Además, los alelos de los genes que comprenden las secuencias de polinucleótidos proporcionadas en la presente revelación están dentro del alcance de la misma. Los alelos son genes endógenos que se alteran como resultado de una o más mutaciones, tal como deleciones, adiciones y/o sustituciones de nucleótidos. El ARNm y la proteína resultantes pueden, pero no necesariamente, tener una estructura o función alterada. Los alelos pueden ser identificados utilizando técnicas estándar (tal como hibridación, amplificación y/o comparación de secuencias de bases de datos).

En una realización, los dominios VH y/o VL, y/o HC y/o LC de longitud completa están codificados por polinucleótidos separados. Alternativamente, tanto VH y/o VL, y/o HC y/o LC están codificados por un solo polinucleótido.

Los polinucleótidos complementarios a cualquiera de estas secuencias también están comprendidos en la presente revelación. Los polinucleótidos pueden ser de cadena sencilla (codificante o antisentido) o de cadena doble, y pueden ser moléculas de ADN (genómicas, ADNc o sintéticas) o moléculas de ARN. Las moléculas de ARN incluyen

moléculas HnRNA, que contienen intrones y corresponden a una molécula de ADN de manera uno a uno, y moléculas de ARNm, que no contienen intrones. Dentro de un polinucleótido de la presente revelación, pueden estar presentes secuencias adicionales codificantes o no codificantes, pero no necesariamente, y un polinucleótido puede estar, pero no necesariamente, enlazado a otras moléculas o materiales de soporte.

Los polinucleótidos de esta revelación pueden obtenerse mediante síntesis química, métodos recombinantes o PCR. Los métodos de síntesis química de polinucleótidos son bien conocidos en el arte y no es necesario describirlos en detalle aquí. Una persona con experiencia en el arte puede utilizar las secuencias proporcionadas en la presente y un sintetizador de ADN comercial para producir una secuencia de ADN deseada.

Para preparar polinucleótidos utilizando métodos recombinantes, un polinucleótido que comprende una secuencia deseada puede ser insertado en un vector adecuado, y el vector a su vez puede ser introducido en una célula huésped adecuada para su replicación y amplificación, como se analiza más adelante en la presente. Los polinucleótidos pueden ser insertados dentro de células huésped por cualquier medio conocido en el arte. Las células son transformadas mediante la introducción de un polinucleótido exógeno mediante captación directa, endocitosis, transfección, apareamiento F o electroporación. Una vez introducido, el polinucleótido exógeno puede mantenerse dentro de la célula como un vector no integrado (tal como un plásmido) o integrarse en el genoma de la célula huésped.

Los vectores de clonación adecuados pueden construirse según técnicas estándar o seleccionarse entre una gran cantidad de vectores de clonación disponibles en el arte. Si bien el vector de clonación seleccionado puede variar según la célula huésped prevista para su uso, los vectores de clonación útiles generalmente tendrán una o más características tal como i) la capacidad de autorreplicación, ii) un solo objetivo para una endonucleasa de restricción particular, o iii) pueden llevar genes para un marcador que se puede utilizar para seleccionar clones que contengan el vector. Ejemplos adecuados incluyen plásmidos y virus bacterianos, por ejemplo, pUC18, pUC19, Bluescript (por ejemplo, pBS SK+) y sus derivados, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ADNs de fagos y vectores versátiles tal como pSA3 y pAT28. Estos y muchos otros vectores de clonación están disponibles en proveedores comerciales como BioRad, Strategene e Invitrogen.

Se proporcionan además vectores de expresión. Los vectores de expresión son generalmente constructos de polinucleótidos replicables que contienen un polinucleótido de acuerdo con la revelación. Se entiende que un vector de expresión debe ser replicable en las células huésped, ya sea como episomas o como parte integral del ADN cromosómico. Los

vectores de expresión adecuados incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, vectores virales, incluyendo adenovirus, virus adenoasociados, retrovirus, cósmidos y vector(es) de expresión revelados en la publicación PCT N° WO 87/04462. Los componentes del vector pueden incluir, en general, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: una secuencia de señal; un origen de replicación; uno o más genes marcadores; y elementos de control transcripcional adecuados (tal como promotores, potenciadores y terminadores). Para la expresión (es decir, la traducción), generalmente también se requieren uno o más elementos de control de traducción, como sitios de unión al ribosoma, sitios de iniciación de traducción y codones de terminación. Se contempla que cualquiera de estos componentes vectores o elementos anteriores pueden excluirse en una realización.

Los vectores que contienen los polinucleótidos de interés pueden ser introducidos en la célula huésped mediante varios medios apropiados, que incluyen electroporación, transfección empleando cloruro de calcio, cloruro de rubidio, fosfato de calcio, DEAE-dextrano u otras sustancias; bombardeo de microproyectiles; lipofección; e infección (por ejemplo, cuando el vector es un agente infeccioso como el virus vaccinia). La elección de introducir vectores o polinucleótidos dependerá a menudo de las características de la célula huésped.

Además las realizaciones proporcionan células huésped que contienen cualquiera de los polinucleótidos descritos en la presente. Se pueden utilizar cualquier célula huésped capaz de sobreexpresar ADN heterólogos con el propósito de aislar los genes que codifican el anticuerpo, polipéptido o proteína de interés. Ejemplos no limitativos de células huésped de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, células COS, HeLa y CHO. *Ver también Publicación* PCT No. WO 87/04462. Las células huésped no mamíferas adecuadas incluyen procariotas (tal como *E. coli* o *B. subtilis*) y levadura (tal como *S. cerevisiae*, *S. pombe*; o *K. lactis*).

Además, se pueden utilizar cualquier número de líneas celulares disponibles comercialmente y no comercialmente que expresen polipéptidos o proteínas de acuerdo con la presente revelación. Una persona con experiencia en el arte apreciará que diferentes líneas celulares pueden tener diferentes requisitos de nutrientes o pueden requerir diferentes condiciones de cultivo para un crecimiento óptimo y una expresión de polipéptidos o proteínas y será capaz de modificar las condiciones según sea necesario.

En algunas realizaciones, los anticuerpos de cadena pesada y ligera descritos en la presente se producen con un péptido señal (por ejemplo, SEQ ID NO: 89). Según se utiliza en la presente, los términos "péptido líder" o "secuencia líder" o "secuencia señal líder" o

"secuencia señal" o "péptido señal" (utilizados indistintamente aquí) se refieren a cualquier secuencia de ácido nucleico o secuencia de aminoácidos codificada por ella, que puede estar presente en el extremo 5' de una molécula de ácido nucleico y/o en o cerca del extremo N-terminal de un polipéptido, que cuando está presente, puede mediar el transporte del polipéptido a un organelo de destino, incluyendo, pero sin limitarse a, la secreción del polipéptido desde una célula. Dichas secuencias líder incluyen, pero no se limitan a, secuencias de ácido nucleico que codifican SEQ ID NO: 89. Las realizaciones abarcan esta y cualquier otra señal líder (secuencias de ácido nucleico y aminoácidos) que se conocen en el arte o que se identifiquen y que den como resultado el transporte de un polipéptido al organelo deseado, por ejemplo, el retículo endoplásmico, y/o su secreción desde la célula. En realizaciones preferidas, el péptido señal se elimina y/o no está presente en el polipéptido maduro.

Composiciones Farmacéuticas

En otra realización, la presente revelación comprende composiciones farmacéuticas. Una "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de un anticuerpo y uno o más excipientes.

Las composiciones farmacéuticas de esta revelación pueden presentarse en una variedad de formas. Estas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, como soluciones líquidas tal como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infusiones), dispersiones o suspensiones, y polvos liofilizados. La forma depende del modo de administración que se pretende y de la aplicación terapéutica. Se contempla que cualquiera de estas formas anteriores pueden excluirse en una realización.

También se pueden utilizar otros excipientes y modos de administración conocidos en el campo farmacéutico. Las composiciones farmacéuticas de la revelación pueden prepararse mediante cualquiera de las técnicas conocidas de farmacia, tal como formulaciones y procedimientos de administración efectivos. Las consideraciones anteriores en cuanto a formulaciones efectivas y procedimientos de administración son bien conocidas en el campo y se describen en libros de textos estándar. La formulación de medicamentos se analiza, por ejemplo, en Hoover, John E., REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman *et al.*, Eds., PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; y Kibbe *et al.*, Eds., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS (3rd Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

Los excipientes aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, y pueden incluir tampones tal como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; sales tal como cloruro de sodio; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tal como cloruro de octadecildimetilbencilamonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, fenol, alcohol bencílico o butílico, alquil parabenos, tal como metil o propil parabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tal como albúmina sérica, gelatina y/o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tal como polivinilpirrolidona; aminoácidos tal como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina y/o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa y/o dextrinas; agentes quelantes tal como EDTA; azúcares tal como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sal tal como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tal como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Se contempla que cualquiera de estos excipientes anteriores pueden excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 20 mg/mL, 25 mg/mL, 30 mg/mL, 35 mg/mL, 40 mg/mL, 45 mg/mL, 50 mg/mL, 55 mg/mL, 60 mg/mL, 65 mg/mL, 70 mg/mL, 75 mg/mL, 80 mg/mL, 85 mg/mL, 90 mg/mL, 95 mg/mL, 100 mg/mL, 105 mg/mL, 110 mg/mL, 115 mg/mL, 120 mg/mL, 125 mg/mL, 130 mg/mL, 135 mg/mL, 140 mg/mL, 145 mg/mL o 150 mg/mL de anticuerpo (o un fragmento de unión al antígeno del mismo), o cualquier rango dentro de estos valores (por ejemplo, aproximadamente 25 mg/mL, 50 mg/mL, 75 mg/mL, 100 mg/mL, 125 mg/mL, 150 mg/mL de anticuerpo). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg/mL de anticuerpo (o un fragmento de unión al antígeno del mismo). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica adecuada para la administración subcutánea y/o intravenosa comprende aproximadamente 100 mg/mL de anticuerpo anti-BMP9 (o un fragmento de unión al antígeno del mismo) (por ejemplo, Ab1076).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, se administra en una formulación intravenosa o subcutánea como una solución acuosa estéril que comprende un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, se administra en una formulación intravenosa o

subcutánea como una solución acuosa estéril que comprende un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BMP9, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, se administra en una formulación intravenosa o subcutánea como una solución acuosa estéril que comprende un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72.

En algunas realizaciones, se administra un anticuerpo anti-BMP9 (o un fragmento de unión al antígeno del mismo) (por ej., Ab1076) como una formulación intravenosa o subcutánea que es una solución acuosa estéril que contiene al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 20 mg/mL, 25 mg/mL, 30 mg/mL, 35 mg/mL, 40 mg/mL, 45 mg/mL, 50 mg/mL, 55 mg/mL, 60 mg/mL, 65 mg/mL, 70 mg/mL, 75 mg/mL, 80 mg/mL, 85 mg/mL, 90 mg/mL, 95 mg/mL, 100 mg/mL, 105 mg/mL, 110 mg/mL, 115 mg/mL, 120 mg/mL, 125 mg/mL, 130 mg/mL, 135 mg/mL, 140 mg/mL, 145 mg/mL, o 150 mg/mL de anticuerpo, o cualquier rango de los mismos (por ej., aproximadamente 5 mg/mL, aproximadamente 10 mg/mL, aproximadamente 15 mg/mL, aproximadamente 20 mg/mL, aproximadamente 25 mg/mL, aproximadamente 50 mg/mL, aproximadamente 75 mg/mL, aproximadamente 100 mg/mL, aproximadamente 125 mg/mL o aproximadamente 150 mg/mL de anticuerpo).

En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que comprende acetato de sodio, polisorbato 80 y cloruro de sodio, con un pH que varía aproximadamente entre 5 y 6. En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que contiene al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM o 40 mM de acetato de sodio, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que contiene 20 mM de acetato de sodio. En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que contiene al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 0.01 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,15 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,3 mg/mL, 0,35 mg/mL o 0,4 mg/mL de polisorbato 80, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que contiene 0,2 mg/mL de polisorbato 80. En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que contiene al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo)

cualquier par de, o aproximadamente 100 mM, 105 mM, 110 mM, 115 mM, 120 mM, 125 mM, 130 mM, 135 mM, 140 mM, 145 mM, 150 mM, 155 mM, 160 mM, 165 mM, 170 mM, 175 mM, 180 mM, 185 mM, 190 mM, 195 mM o 200 mM de cloruro de sodio, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una formulación intravenosa o subcutánea es una solución acuosa estéril que contiene 140 mM de cloruro de sodio. En algunos aspectos, el cloruro de sodio tiene un pH de al menos, como máximo, exactamente o aproximadamente 5 (por ej., pH 4, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9 o 6, o cualquier rango de los mismos). En algunas realizaciones, una formulación intravenosa es una solución acuosa estéril que contiene 5 o 10 mg/mL de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, con 20 mM de acetato de sodio, 0,2 mg/mL de polisorbato 80 y 140 mM de cloruro de sodio a pH 5,5, opcionalmente, en un volumen de llenado nominal de 1,0 mL. Se contempla que cualquiera de estos ingredientes anteriores puede excluirse en una realización.

Además, una solución que comprende un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, puede contener, entre muchos otros compuestos, ácido glutámico, histidina, manitol, sacarosa, trehalosa, glicina, poli(etileno) glicol, EDTA, metionina, polisorbato 80, o cualquier combinación de los mismos, y muchos otros compuestos conocidos en el campo pertinente. Se contempla que cualquiera de estos ingredientes anteriores puede excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM o 40 mM de histidina, o cualquier rango de valores de los mencionados. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 20 mM de histidina. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 10 mM de histidina. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% o 20% de sacarosa, o cualquier rango de valores de los mencionados. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 8,5% de sacarosa.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 5% de sacarosa. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o

aproximadamente el 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,015%, 0,02%, 0,025%, 0,03%, 0,035% o 0,04% de polisorbato 80, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 0,02% de polisorbato 80. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 0,01% de polisorbato 80. En algunos aspectos, el
5 polisorbato 80 tiene al menos, como máximo, exactamente o aproximadamente un pH de 5,8 (por ejemplo, pH 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 o 6,5, o cualquier rango de los mismos). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%,
10 0,007%, 0,008%, 0,009% o 0,01% de EDTA, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 0,005% de EDTA. En algunos aspectos, el EDTA tiene al menos, como máximo, exactamente o aproximadamente un pH de 5,8 (por ej., pH 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, o 6,5, o cualquier rango de los mismos). En una realización, una composición
15 farmacéutica de la presente descripción comprende los siguientes componentes: 50 mg/mL o 100 mg/mL de un anticuerpo anti-BMP9 o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, Ab1076) de la presente descripción, 20 mM de histidina, 8,5% de sacarosa y 0,02% de polisorbato 80, 0,005% de EDTA a pH 5,8. En una realización, una composición farmacéutica comprende los siguientes componentes: 100 mg/mL de anticuerpo anti-BMP9 o
20 fragmento de unión a antígeno del mismo (por ej., Ab1076) o fragmento de unión a antígeno de la presente descripción, 10 mM de histidina, 5% de sacarosa y 0,01% de polisorbato 80 a pH 5,8. Se contempla que cualquiera de estos ingredientes anteriores pueden excluirse en una realización.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos,
25 como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 0,2 mg/mL, 0,4 mg/mL, 0,6 mg/mL, 0,8 mg/mL, 1 mg/mL, 1,2 mg/mL, 1,4 mg/mL, 1,6 mg/mL, 1,8 mg/mL, o 2 mg/mL L-histidina, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 1,12 mg/mL L-histidina. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos,
30 como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 1,5 mg/mL, 1,7 mg/mL, 1,9 mg/mL, 2,1 mg/mL, 2,3 mg/mL, 2,5 mg/mL, 2,7 mg/mL, 2,9 mg/mL, 3,1 mg/mL, 3,3 mg/mL, o 3,5 mg/mL L-histidina clorhidrato monohidrato, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 2,67 mg/mL L-histidina clorhidrato monohidrato. En

algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 50 mg/mL, 55 mg/mL, 60 mg/mL, 65 mg/mL, 70 mg/mL, 75 mg/mL, 80 mg/mL, 85 mg/mL, 90 mg/mL, 95 mg/mL, 100 mg/mL, 105 mg/mL, 110 mg/mL, 115 mg/mL, 120 mg/mL, 125 mg/mL, 130 mg/mL, 135 mg/mL, 140 mg/mL, 145 mg/mL, o 150 mg/mL sacarosa, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 85 mg/mL sacarosa. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 0,01 mg/mL, 0,02 mg/mL, 0,03 mg/mL, 0,04 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,06 mg/mL, 0,07 mg/mL, 0,08 mg/mL, 0,09 mg/mL, o 0,1 mg/mL EDTA, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 0,05 mg/mL EDTA. En algunos aspectos, el EDTA tiene al menos, como máximo, exactamente o aproximadamente un pH de 5,8 (por ej., pH 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, o 6,5, o cualquier rango de los mismos). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 0,01 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,15 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,3 mg/mL, 0,35 mg/mL, o 0,4 mg/mL polisorbato 80, o cualquier rango de los mismos. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende 0,2 mg/mL polisorbato 80. En algunos aspectos, el polisorbato 80 tiene al menos, como máximo, exactamente o aproximadamente un pH de 5,8 (por ej., pH 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, o 6,5, o cualquier rango de los mismos). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-BMP9, o fragmento de unión a antígeno del mismo, (por ej., Ab1076) con una concentración de 105 mg/mL (o aproximadamente 99,6 mg/mL a aproximadamente 118,2 mg/mL) o 100 mg/mL, 1,12 mg/mL L-histidina, 2,67 mg/mL L-histidina clorhidrato monohidrato, 85 mg/mL sacarosa, 0,05 mg/mL edetato disódico dihidratado y 0,2 mg/mL polisorbato con un pH de 5,8 en un volumen de llenado nominal de 1,0 mL. Dicha composición farmacéutica es adecuada para administración SC o IV. Se contempla que cualquiera de estos ingredientes anteriores pueden excluirse en una realización.

Métodos Terapéuticos, Diagnósticos y Otros

Los anticuerpos y los conjugados de anticuerpos de la presente revelación son útiles en diversas aplicaciones, incluyendo, pero sin limitación a, métodos de tratamiento terapéutico y/o métodos de tratamiento diagnóstico.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno aquí revelados pueden inhibir, antagonizar y/o modular la actividad de BMP9 y sus receptores, y pueden ser útiles en el tratamiento, prevención, supresión y/o mejoramiento de enfermedades, trastornos o afecciones mediadas por una actividad aumentada de BMP9, incluyendo, pero sin limitación a, hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar), anemias, enfermedades hepáticas (por ejemplo, fibrosis hepática, cirrosis, hipertensión de vena porta, enfermedad hepática en etapa terminal, tal como várices, ictericia, ascitis, encefalopatía hepática, síndrome hepatorenal, peritonitis bacteriana espontánea, enfermedad hepática por hígado graso no alcohólico, hipertensión portopulmonar y síndrome hepato-pulmonar), enfermedades neuroinflamatorias o neurodegenerativas como la esclerosis múltiple, trastornos fibrosos y/o insuficiencia cardíaca. En algunas realizaciones, la enfermedad, trastorno o afección se selecciona del grupo integrado por: síndrome de telangiectasia hemorrágica hereditaria; malformaciones valvulares cardíacas; malformaciones estructurales cardíacas; fibrodisplasia osificante progresiva; síndrome de poliposis juvenil familiar; enfermedad paratiroidea; cáncer (por ejemplo, carcinoma de mama, carcinoma de próstata, carcinoma de células renales, metástasis óseas, metástasis pulmonares, osteosarcoma y mieloma múltiple); calcificación vascular; inflamación vascular; aterosclerosis; hipercolesterolemia adquirida o congénita o hiperlipoproteinemia; enfermedades, trastornos o síndromes asociados con defectos en la absorción o metabolismo de lípidos; enfermedades, trastornos o síndromes causados por hiperlipidemia; calcificación valvular; osteodistrofia renal; trastornos inflamatorios (por ejemplo, espondilitis anquilosante); infecciones con virus, bacterias, hongos, tuberculosis y parásitos.

En un aspecto, la revelación proporciona un método para tratar la hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar). En algunas realizaciones, el método de tratamiento de la hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar) en un individuo comprende administrar al sujeto que lo necesite una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende cualquiera de los anticuerpos contra BMP9 o fragmentos de unión a antígeno tal como se describen aquí. En algunos aspectos, se proporciona un método para reducir o inhibir la actividad de BMP9 en un individuo, que comprende administrar al individuo que lo necesite una cantidad efectiva de una composición que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se proporciona en la presente.

En otro aspecto, la revelación proporciona además un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo, según se describe en la presente para usar en el método descrito de tratar la hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar). La revelación también contempla el uso de un anticuerpo, un
5 fragmento de unión a antígeno del mismo, según se describe en la presente, en la elaboración de un medicamento para tratar la hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar).

En otro aspecto, se proporciona un método de uno o más de detección, pronóstico, diagnóstico y/o monitoreo de enfermedades, trastornos o afecciones mediadas por una actividad aumentada y/o desregulada de BMP9, que incluyen, aunque in limitación a,
10 hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar), anemias, enfermedades del hígado (por ejemplo, fibrosis hepática, cirrosis, hipertensión de la vena porta, enfermedad hepática en etapa terminal, como várices, ictericia, ascitis, encefalopatía hepática, síndrome hepatorenal, peritonitis bacteriana espontánea, enfermedad del hígado graso no alcohólico, hipertensión portopulmonar y síndrome hepato-pulmonar), enfermedades neuroinflamatorias
15 o neurodegenerativas como la esclerosis múltiple, trastornos fibrosos y/o insuficiencia cardíaca. En algunas realizaciones, los métodos comprenden determinar, medir, detectar o ensayar el nivel de BMP9 en una muestra obtenida de un sujeto utilizando los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se describen en la presente. Por ejemplo, los anticuerpos anti-BMP9, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como
20 se describe en la presente, pueden estar etiquetados con una porción detectable, tal como un agente para el diagnóstico por imágenes, una etiqueta de sustrato enzimático u otros compuestos o elementos que pueden detectarse debido a sus propiedades funcionales específicas y/o características químicas, cuyo uso permite detectar el anticuerpo y/o cuantificarlo aún más si se desea.

Ejemplos de etiquetas detectables incluyen, aunque no se limitan a, isótopos radiactivos, fluoróforos, nanocristales semiconductores, quimiluminiscentes, cromóforos, enzimas, sustratos de enzimas, cofactores de enzimas, inhibidores de enzimas, tintes, iones metálicos, soluciones metálicas, ligandos (por ejemplo, biotina, estreptavidina o haptenos) y similares. Ejemplos particulares de etiquetas son, aunque no se limitan a, peroxidasa de
30 rábano (HRP), fluoresceína, FITC, rodamina, dansilo, umbeliferona, éster de acridinio dimetilo (DMAE), rojo de Texas, luminol, NADPH y α - o β -galactosidasa. Basándose en el nivel determinado, medido, detectado o ensayado de BMP9, se pueden realizar diferentes diagnósticos y/o pronósticos para diferentes individuos. Los anticuerpos, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en la presente, también se pueden utilizar en

ensayos diagnósticos *in vivo*, tal como la toma de imágenes *in vivo* (por ejemplo, PET o SPECT) o como un reactivo de tinción.

En otro aspecto, se proporciona un método para monitorear la efectividad de una terapia (por ejemplo, los anticuerpos de BMP9, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descritos en la presente) en un individuo que tiene una enfermedad, trastorno o afección. La enfermedad, trastorno o afección puede ser mediada por una actividad aumentada y/o desregulada de BMP9, y puede incluir, pero no limitarse a, hipertensión (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar), anemias, enfermedades del hígado (por ejemplo, fibrosis hepática, cirrosis, hipertensión de la vena porta, enfermedad hepática en etapa terminal, tal como várices, ictericia, ascitis, encefalopatía hepática, síndrome hepatorenal, peritonitis bacteriana espontánea, enfermedad del hígado graso no alcohólico, hipertensión portopulmonar y síndrome hepato-pulmonar), enfermedades neuroinflamatorias o neurodegenerativas como la esclerosis múltiple, trastornos fibróticos y/o insuficiencia cardíaca. En aspectos específicos, la enfermedad, trastorno o afección es la hipertensión arterial pulmonar. En algunos aspectos, el método comprende administrar una terapia (por ejemplo, los anticuerpos de BMP9, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descritos en la presente) a un individuo que lo necesita.

En algunos aspectos, el método además comprende determinar, medir, detectar o analizar el nivel de expresión o actividad de uno o más biomarcadores en una muestra biológica obtenida de un sujeto. En algunos aspectos, uno o más biomarcadores incluyen CXCL12, IGFBP4, INHBA, MALL, FRZB, CPE, CCL2, PDGFBB, Endotelina-1, o una combinación de los mismos. Los niveles de biomarcadores pueden determinarse, medirse, detectarse o analizarse en una muestra biológica obtenida de un sujeto mediante la medición de los niveles de ARNm y/o proteína. Los niveles de proteína pueden determinarse, medirse, detectarse o analizarse utilizando, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que se unan específicamente a los biomarcadores. Por ejemplo, los anticuerpos de biomarcadores, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, pueden marcarse con una porción detectable, como un agente para la toma de imágenes, una etiqueta de sustrato enzimático u otros compuestos o elementos que puedan detectarse debido a sus propiedades funcionales específicas y/o características químicas, cuyo uso permite detectar el anticuerpo y/o cuantificarlo si se desea. Los ejemplos de etiquetas detectables incluyen, aunque no se limitan a, isótopos radiactivos, fluoróforos, nanocristales de semiconductor, quimioluminiscentes, cromóforos, enzimas, sustratos de enzimas, cofactores de enzimas, inhibidores de enzimas, tintes, iones metálicos, soluciones metálicas, ligandos (por ejemplo,

biotina, estreptavidina o haptenos) y similares. Ejemplos particulares de etiquetas incluyen, pero no se limitan a, peroxidasa de rábano (HRP), fluoresceína, FITC, rodamina, dansilo, umbeliferona, éster de acridinio dimetilo (DMAE), rojo de Texas, luminol, NADPH y α - o β -galactosidasa.

5 En algunos aspectos, el método además comprende comparar el nivel de uno o más biomarcadores medidos en la muestra biológica del sujeto con el nivel de uno o más biomarcadores medidos en una muestra biológica obtenida del sujeto antes de la administración de la terapia (por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente). En algunos aspectos, el método además
10 comprende determinar la eficacia de la terapia (por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente) en función del nivel determinado, medido, detectado o ensayado de uno o más biomarcadores. Basándose en el perfil de los niveles de expresión o actividad de los biomarcadores, pueden prescribirse o recomendarse diferentes tratamientos para diferentes sujetos y/o puede modificarse un
15 tratamiento para un sujeto.

 Por ejemplo, en algunos aspectos, se determina que la terapia (por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente) es efectiva cuando el o los biomarcadores medidos, detectados o ensayados; i) no se miden, detectan o analizan en la muestra biológica del sujeto; ii) no difieren
20 significativamente de un control, donde el control comprende un nivel de biomarcador(es) que es representativo de un nivel de biomarcador(es) en una muestra biológica de un sujeto sin la enfermedad, trastorno o condición (por ejemplo, HAP); iii) son inferiores a un control, donde el control comprende un nivel de biomarcado(res) que es representativo de un nivel de biomarcador(es) en una muestra biológica de un sujeto con la enfermedad, trastorno o
25 condición (por ejemplo, HAP); o iv) disminuyen en comparación con un nivel de biomarcador(es) antes del tratamiento del sujeto con la terapia (por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente). En algunos aspectos, se determina que la terapia (por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente) es ineficaz cuando el
30 o los biomarcadores; i) se miden, detectan o analizan en la muestra biológica del sujeto; ii) aumentan en comparación con un control, donde el control comprende un nivel de biomarcador(es) que es representativo de un nivel de biomarcador(es) en una muestra biológica de un sujeto sin la enfermedad, trastorno o condición (por ejemplo, HAP); iii) no difieren significativamente o son superiores a un control, donde el control comprende un

nivel de biomarcador(es) que es representativo de un nivel de biomarcador(es) en una muestra biológica de un sujeto con la enfermedad, trastorno o condición (por ejemplo, HAP); o iv) no difieren significativamente o aumentan en comparación con un nivel de biomarcador(es) antes del tratamiento del sujeto con la terapia (por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente).

En algunos aspectos, el método también comprende medir, detectar o ensayar el nivel de biomarcador(es) en una muestra biológica obtenida del sujeto antes del tratamiento. En algunos aspectos, el método también comprende medir, detectar o ensayar el nivel de biomarcador(es) en una muestra biológica obtenida del sujeto después de uno o más tratamientos con la terapia, por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente. Por ejemplo, el método puede comprender o incluir adicionalmente la determinación, medición, detección o ensayo de los niveles de biomarcador después de una dosis, después de dos dosis, después de tres dosis, después de cuatro dosis, después de cinco dosis, después de seis dosis o después de más dosis de la terapia, por ejemplo, los anticuerpos BMP9, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente. La eficacia del tratamiento puede determinarse en función de los niveles medidos, detectados o ensayados de uno o más biomarcadores.

En algunos aspectos, el nivel determinado, medido, detectado o ensayado de BMP9 y/o biomarcadores se normaliza. En algunos aspectos, se compara el nivel de BMP9 y/o biomarcadores con un control. En algunos aspectos, se determina que el nivel medido, detectado o ensayado de BMP9 y/o biomarcadores es mayor que el control. En algunos aspectos, se determina que el nivel medido, detectado o ensayado de BMP9 y/o biomarcadores es menor que el control. En algunos aspectos, se determina que el sujeto tiene o se ha determinado que tiene un nivel medido, detectado o ensayado de BMP9 y/o biomarcadores en la muestra que es mayor que el nivel de BMP9 y/o biomarcadores en una muestra de control. En algunos aspectos, se determina que el sujeto tiene o se ha determinado que tiene un nivel medido, detectado o ensayado de BMP9 y/o biomarcadores en la muestra que es menor que el nivel de BMP9 y/o biomarcadores en una muestra de control. En algunos aspectos, se determina que el sujeto tiene o se ha determinado que tiene un nivel medido, detectado o ensayado de BMP9 y/o biomarcadores en la muestra que no es significativamente diferente que el nivel de BMP9 y/o biomarcadores en una muestra de control. El control puede comprender un nivel de BMP9 y/o biomarcadores que sea representativo de un nivel de BMP9 y/o biomarcadores en una muestra de un sujeto con o sin la enfermedad, trastorno o afección (por ejemplo, PAH). En algunos casos, el control puede comprender un nivel de

BMP9 y/o biomarcadores que sea representativo de un nivel de BMP9 y/o biomarcadores en una muestra de un sujeto con la enfermedad, trastorno o afección (por ejemplo, PAH). En algunos aspectos, el control puede comprender un nivel de BMP9 y/o biomarcadores que sea representativo de un nivel de BMP9 y/o biomarcadores en una muestra de un sujeto sin la enfermedad, trastorno o afección (por ejemplo, PAH).

Las muestras de sujetos para su uso en los métodos descritos aquí pueden obtenerse utilizando cualquier método conocido en el arte que pueda proporcionar una muestra adecuada para los métodos analíticos descritos aquí. Los métodos para obtener una muestra de un sujeto proporcionados aquí pueden incluir, por ejemplo, obtener tejido, células o material biológico mediante raspado, frotis, biopsia u otra forma de recolección del tejido, células o material biológico. Una muestra puede incluir, pero no se limita a, tejido, células o material biológico de células o derivados de células de un sujeto. También se conocen en el arte métodos generales para obtener muestras biológicas. Por ejemplo, publicaciones como "Ramzy, Ibrahim, *Clinical Cytopathology and Aspiration Biopsy*" (2001), que se incorpora aquí en su totalidad a modo de referencia, describen métodos generales de biopsia y citología. La muestra biológica puede ser una población heterogénea o homogénea de células o tejidos. En ciertos aspectos, la muestra se obtiene de fuentes que incluyen, pero no se limitan a, orina, sangre, suero, plasma, esputo, moco, saliva, condensado de la respiración exhalada, líquido de lavado broncoalveolar, líquido cefalorraquídeo, sudor, tejido, folículo piloso, tejido bucal, lágrimas, menstruación o heces. En aspectos específicos, la muestra se obtiene del suero. En ciertos aspectos de los métodos actuales, cualquier profesional médico como un médico, enfermero o técnico médico puede obtener una muestra biológica para su análisis. Además, la muestra biológica puede obtenerse sin la asistencia de un profesional médico. En algunos aspectos de los métodos actuales, la muestra biológica se obtiene directamente del sujeto, de un profesional médico, de un tercero o de un kit proporcionado por una empresa con un perfil molecular o un tercero. En algunos casos, la muestra biológica puede obtenerse después de que el sujeto, un profesional médico o un tercero adquiera y envíe la muestra biológica a un tercero. En algunos casos, el tercero puede proporcionar recipientes adecuados y excipientes para el almacenamiento y transporte de la muestra biológica al tercero.

Sin pretender limitarnos por teorías, se plantea la hipótesis de que en sujetos enfermos (como en pacientes con HAP), la reducción de BMPRII, ya sea debido a mutaciones o a la regulación descendente, desplaza a BMP9 de ser un factor de quiescencia vascular a ser un impulsor de la remodelación vascular mediante la modulación de la proliferación y supervivencia de las células endoteliales (es decir, la desregulación de

BMPRII conduce a la ganancia patogénica BMP9 de función.) Como tal, los métodos comprenden el tratamiento del sujeto con los anticuerpos BMP9, los fragmentos de unión a antígeno de los mismos o las composiciones farmacéuticas de los mismos, descritos aquí, para bloquear la unión de BMP9 a los receptores de tipo II, incluyendo BMPRII, ActRIIA y ActRIIB, neutralizando así su señalización (patológica) descendente en las células endoteliales (EC) y células del músculo liso (SMCs) desreguladas en HAP. En algunas realizaciones, los anticuerpos BMP9, los fragmentos de unión a antígeno de los mismos o las composiciones farmacéuticas de los mismos, descritos aquí, se unen a BMP9 y bloquean su unión a los receptores de tipo II en al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 100%, o cualquier rango de los mismos (por ejemplo, en al menos un 5%, en al menos un 10%, en al menos un 15%, en al menos un 20%, en al menos un 30%, en al menos un 40%, en al menos un 50%, en al menos un 60%, en al menos un 70%, en al menos un 80%, en al menos un 90%, o en al menos un 100%), en comparación con antes de la administración.

En lo que respecta a todos los métodos descritos aquí, la referencia a los anticuerpos anti-BMP9 también incluye fragmentos de unión a antígeno de los mismos y composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos anti-BMP9 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos y uno o más agentes adicionales.

Administración y Dosificación

Por lo general, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de la revelación se administra en una cantidad efectiva para tratar una afección tal como se describe aquí. Los anticuerpos de la revelación pueden administrarse como un anticuerpo en sí mismo, o alternativamente, como una composición farmacéutica que contiene el anticuerpo.

En ciertas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o las composiciones farmacéuticas de los mismos, de la presente revelación se administran por cualquier ruta adecuada en forma de una composición farmacéutica adaptada a dicha vía y en una dosis efectiva para el tratamiento que se pretende.

En ciertas realizaciones, los anticuerpos, o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o las composiciones farmacéuticas de los mismos, pueden administrarse por vía parenteral, por ejemplo, directamente en el torrente sanguíneo, en el músculo o en un órgano interno. Los medios adecuados para la administración parenteral incluyen la vía intravenosa,

intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intrasternal, intracraneal, intramuscular y subcutánea. Los dispositivos adecuados para la administración parenteral incluyen inyectores de aguja (incluidas las micro agujas), inyectores sin aguja y técnicas de infusión. En algunas realizaciones, los anticuerpos, o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o las composiciones farmacéuticas de los mismos, pueden administrarse de forma subcutánea. En algunas realizaciones, los anticuerpos, o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o las composiciones farmacéuticas de los mismos, pueden administrarse por vía intravenosa. Se contempla que cualquiera de estas vías de administración anteriores pueden excluirse en una realización.

En otra realización, los compuestos revelados en la presente también pueden administrarse tópicamente en la piel o mucosa, es decir, dérmicamente, transdérmicamente o sublingualmente. En otra realización, los compuestos revelados en la presente también pueden administrarse por vía intranasal o mediante inhalación. En otra realización, los compuestos revelados en la presente pueden administrarse por vía rectal o vaginal. En otra realización, los compuestos revelados en la presente también pueden administrarse directamente en el ojo o el oído. Se contempla que cualquiera de estas vías de administración anteriores pueden excluirse en una realización.

El régimen de dosificación para los anticuerpos, o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la presente revelación, o las composiciones que contienen dichos anticuerpos, se basa en una variedad de factores, que incluyen el tipo, la edad, el peso, el sexo y/o la condición médica del sujeto; la gravedad de la afección; la vía de administración; y la actividad del anticuerpo específico utilizado. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente. En una realización, la dosis diaria total de un anticuerpo de la revelación es típicamente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1000 mg/kg (es decir, mg de anticuerpo de la revelación por kg de peso corporal) (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,07 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,09 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,8 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg, 600 mg/kg, 700 mg/kg, 800 mg/kg, 900 mg/kg, o 1000 mg/kg, o cualquier rango de los mismos), para el tratamiento de las afecciones indicadas analizadas en la presente. En otra realización, la dosis diaria total del anticuerpo de la revelación es de aproximadamente 0,1 a

aproximadamente 50 mg/kg, y en otra realización, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 30 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis diaria es de aproximadamente 0,5 mg/kg (es decir, aproximadamente 35 mg al día en un humano de tamaño típico).

En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de

5 aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 1 mg a 1000 mg (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg,

10 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg, 600 mg/kg, 700 mg/kg, 800 mg/kg, 900 mg/kg, o 1000 mg/kg, o cualquier rango de los mismos) como una dosis fija inicial. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 2 mg, aproximadamente 2 mg a aproximadamente 5 mg, aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 mg,

15 aproximadamente 10 mg a aproximadamente 20 mg, aproximadamente 20 mg a aproximadamente 30 mg, aproximadamente 30 mg a aproximadamente 40 mg, aproximadamente 40 mg a aproximadamente 50 mg, aproximadamente 50 mg a aproximadamente 60 mg, aproximadamente 60 mg a aproximadamente 70 mg, aproximadamente 70 mg a aproximadamente 80 mg, aproximadamente 80 mg a

20 aproximadamente 90 mg, aproximadamente 90 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg, aproximadamente 150 mg a aproximadamente 200 mg, aproximadamente 200 mg a aproximadamente 300 mg, aproximadamente 300 mg a aproximadamente 400 mg, aproximadamente 400 mg a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 500 mg a aproximadamente 600 mg,

25 aproximadamente 600 mg a aproximadamente 700 mg, aproximadamente 700 mg a aproximadamente 800 mg, aproximadamente 800 mg a aproximadamente 900 mg, o aproximadamente 900 mg a aproximadamente 1000 mg, opcionalmente, como una dosis fija inicial. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 15 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 300 mg, 500 mg,

30 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, o 1000 mg de un anticuerpo anti-BMP9 o una composición farmacéutica del mismo. En algunas realizaciones, la dosis es una dosis fija inicial.

En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 12 mg a 500 mg (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre

(inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, o 500 mg/kg, o cualquier rango de los mismos) subcutáneamente cada 2 semanas cada 3 semanas o cada 4 semanas. En algunas

5 realizaciones, el método de uso comprende administrar subcutáneamente una dosis de aproximadamente 12 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 24 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 65 mg,

10 aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 85 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 95 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 105 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 115 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 135 mg, aproximadamente 140 mg,

15 aproximadamente 145 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, o aproximadamente 500 mg cada 2 semanas, cada 3 semanas o

20 cada 4 semanas. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 110 mg subcutáneamente cada 3 semanas. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 30 mg, aproximadamente 50 mg aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 165 mg, aproximadamente 180 mg, o

25 aproximadamente 200 mg cada 2 semanas. En algunas el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 165 mg cada 2 semanas. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 50 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 255 mg, aproximadamente 260 mg,

30 aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, o aproximadamente 300 mg cada 3 semanas. En algunos aspectos, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 255 mg cada 3 semanas. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 65 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg,

aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg cada 4 semanas. En algunos aspectos, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 355 mg cada 4
5 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo es Ab1076.

La dosis administrada proporciona una supresión promedio de aproximadamente 90% a aproximadamente 99% (por ej., al menos, como máximo, exactamente, entre (inclusivo o exclusivo) cualquier par de, o aproximadamente el 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o
10 100%, o cualquier rango de los mismos) de BMP9 libre en estado estable en un modelo estándar de anticuerpo antagonista. En algunas realizaciones, el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo, se administra subcutáneamente a aproximadamente 30 mg, 35 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 85 mg, aproximadamente 100 mg,
15 aproximadamente 125 mg, aproximadamente 150 mg, o aproximadamente 165 mg cada 2 semanas y proporciona una supresión promedio del 95%, 98%, o 99% de BMP9 libre en estado estable. En algunas realizaciones, el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo, se administra subcutáneamente a aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg, aproximadamente 120 mg,
20 aproximadamente 130 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 250 mg, o aproximadamente 255 mg cada 3 semanas y proporciona una supresión promedio del 95%, 98%, o 99% de BMP9 libre en estado estable. En algunas realizaciones, el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo, se administra subcutáneamente a
25 aproximadamente 65 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg, aproximadamente 350 mg, o aproximadamente 355 mg cada 4 semanas y proporciona una supresión promedio del 95%, 98%, o 99% de BMP9 libre en estado estable. En algunas
30 realizaciones, el anticuerpo es Ab1076.

En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 2 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 110 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, o 500 mg de un anticuerpo anti-BMP9, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica

del mismo de la revelación. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 2 mg, 10 mg, 30 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, o 500 mg de un anticuerpo anti-BMP9, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo de

- 5 la revelación en una base semanal. En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 2 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, o 500 mg de un anticuerpo anti-BMP9 (por ej., Ab1076), o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo, subcutáneamente, en una base semanal.
- 10 En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar una dosis de aproximadamente 2 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, o 500 mg de un anticuerpo anti-BMP9 (por ej., Ab1076), o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica del mismo, subcutáneamente, en una base mensual. La dosis requerida puede
- 15 administrarse por vía subcutánea como una sola inyección o puede administrarse en más de una inyección en uno o más sitios de inyección. Por ejemplo, la dosis requerida puede administrarse subcutáneamente como dos inyecciones una vez al mes

- En algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a
- 20 aproximadamente 250 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg, o aproximadamente 75 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica, opcionalmente como una dosis inicial. La dosis inicial puede ser seguida por una o más dosis posteriores. En algunas realizaciones, una o más dosis
- 25 posteriores pueden administrarse al menos semanalmente, cada dos semanas, cada tres semanas, cada cuatro semanas, cada cinco semanas, cada seis semanas, cada siete semanas, cada ocho semanas, cada nueve semanas, cada diez semanas, cada once semanas o cada doce semanas. En algunas realizaciones, la dosis se administra cada tres semanas.

- Una dosis inicial puede ser seguida por una o más dosis posteriores. En algunas
- 30 realizaciones, una dosis posterior es la misma dosis, una dosis menor o una dosis mayor del anticuerpo anti-BMP9 en comparación con la dosis inicial. En algunas realizaciones, una o más dosis posteriores pueden administrarse al menos semanalmente, cada dos semanas, cada tres semanas, cada cuatro semanas, cada cinco semanas, cada seis semanas, cada siete semanas, cada ocho semanas, cada nueve semanas, cada diez semanas, cada once semanas o

cada doce semanas. Un protocolo de dosificación específico implica la dosis máxima o frecuencia de dosificación que evita efectos secundarios significativamente indeseables.

Se contempla que cualquiera de estas dosis y/o regímenes de dosificación anteriores pueden excluirse en una realización.

Co-administración

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la revelación pueden utilizarse solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. La presente revelación proporciona cualquier uso, método o composición tal como se define en la presente, en donde un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la revelación se utiliza en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, en el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar, los anticuerpos BMP9 o sus fragmentos de unión a antígeno descritos en la presente pueden utilizarse en combinación con uno o más de los tratamientos actuales para la hipertensión arterial pulmonar. Ejemplos de tales tratamientos incluyen aunque no se limitan a, vasodilatadores como prostaciclina, epoprostenol y sildenafil; antagonistas de los receptores de endotelina tal como bosentan; bloqueadores de los canales de calcio como amlodipina, diltiazem y nifedipina; anticoagulantes como warfarina; y diuréticos. El tratamiento de la hipertensión pulmonar también puede llevarse a cabo junto con la terapia de oxígeno, la septostomía auricular, la tromboendarterectomía pulmonar y/o el trasplante de pulmón y/o corazón. Se contempla que cualquiera de estos tratamientos anteriores pueden excluirse en una realización.

La administración de dos o más agentes "en combinación" significa que todos los agentes se administran lo suficientemente cerca en el tiempo como para afectar el tratamiento del sujeto. Los dos o más agentes pueden administrarse de forma simultánea o secuencial. Además, la administración simultánea puede llevarse a cabo mezclando los agentes antes de la administración o administrando los agentes en el mismo momento pero como formas de dosificación separadas en el mismo sitio de administración o en sitios de administración diferentes.

Kits

Otro aspecto de la revelación proporciona kits que comprenden el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la revelación (por ejemplo, Ab1076) o composiciones farmacéuticas que comprenden el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, Ab1076). Un kit puede incluir, además del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica del mismo de la revelación, agentes diagnósticos o terapéuticos. También puede incluir también instrucciones de uso en un método diagnóstico o terapéutico. En algunas realizaciones, el kit incluye el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o una composición farmacéutica del mismo y un agente diagnóstico.

En otras realizaciones, el kit incluye el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o una composición farmacéutica del mismo y uno o más agentes terapéuticos, tal como prostaciclina, epoprostenol y sildenafil; antagonistas de los receptores de endotelina como bosentan; bloqueadores de los canales de calcio como amlodipina, diltiazem y nifedipina; anticoagulantes como warfarina; y/o diuréticos. Se contempla que cualquiera de estos agentes terapéuticos anteriores pueden excluirse en una realización.

Incluso en otra realización, la revelación comprende kits adecuados para ser utilizados en la realización de los métodos de tratamiento descritos en la presente. En una realización, el kit contiene una primera forma de dosificación que comprende uno o más de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo de la presente revelación en cantidades suficientes para llevar a cabo los métodos que se revelan en la presente. En otra realización, el kit comprende uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo de la presente revelación en cantidades suficientes para llevar a cabo los métodos que se revelan en la presente y al menos un primer contenedor para una primera dosis y un segundo contenedor para una segunda dosis.

Depósito Biológico

Materiales representativos de la presente revelación fueron depositados en la American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, EE. UU., el 19 de abril de 2022. El vector "Ab1076-VH" con número de acceso ATCC PTA-127292 contiene un inserto de ADN que codifica la región variable de cadena pesada anti-BMP9 y el vector "Ab1076-VL" con número de acceso ATCC PTA-127293 contiene un inserto inserción de ADN que codifica la región variable de cadena ligera anti-BMP9.

Anticuerpo	Descripción	SEQ ID NO:	Nº de Acceso ATCC
Ab1076	Ab1076-VH (región variable de cadena pesada de anticuerpo Ab1076)	77	PTA-127292
Ab1076	Ab1076-VL (región variable de cadena ligera de anticuerpo Ab1076)	74	PTA-127293

Los depósitos se realizaron de acuerdo con las disposiciones del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los fines de los Procedimiento de Patente y las Regulaciones correspondientes (Tratado de Budapest). Esto garantiza el mantenimiento de un cultivo viable del depósito durante 30 años a partir de

la fecha de depósito. El depósito estará disponible a través de ATCC bajo los términos del Tratado de Budapest y estará sujeto a un acuerdo entre Pfizer Inc. y ATCC, que garantiza la disponibilidad permanente e ilimitada de la progenie del cultivo del depósito al público tras la emisión de la patente pertinente de EEUU o tras la revelación al público de cualquier solicitud de patente de EEUU o del extranjero, lo que ocurra primero, y garantiza la disponibilidad de la progenie a la persona determinada por el Oficial de Patentes y Marcas de los Estados Unidos que tenga derecho según la Sección 122 del Título 35 del Código de los Estados Unidos y las normas del Oficial de acuerdo a ello (incluyendo Sección 1.14 Título 37 del Código de Regulaciones Federales con referencia particular a 886 OG 638).

El cesionario de la presente solicitud ha acordado que si un cultivo de los materiales depositados muriera, se perdiera o se destruyera cuando se cultive bajo condiciones adecuadas; los materiales serán reemplazados de inmediato mediante notificación con otro de igual naturaleza. La disponibilidad del material depositado no debe interpretarse como una licencia para ejercer la invención en contravención de los derechos otorgados bajo la autoridad de cualquier gobierno de acuerdo con sus leyes de patentes.

EJEMPLOS

A continuación se presentan ejemplos de aspectos específicos para llevar a cabo la presente revelación. Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar aspectos de la revelación. Los ejemplos se ofrecen únicamente con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la presente revelación de ninguna manera. Se debe apreciar por parte de aquellos expertos en la materia que las técnicas reveladas en los ejemplos que siguen representan técnicas descubiertas por el inventor para que funcionan bien en la práctica de la revelación. Sin embargo, aquellos con experiencia en la materia deberán apreciar, a la luz de la presente revelación, que se pueden realizar muchos cambios en los aspectos específicos revelados y aún obtener un resultado parecido o similar sin apartarse del espíritu y el alcance de la revelación. Se han realizado esfuerzos para garantizar la exactitud en cuanto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero, desde luego, se deben permitir ciertos errores y desviaciones experimentales.

Ejemplo 1: Selección de anticuerpos anti-BMP9 mediante expresión de fagos.

Los aciertos de Fv de cadena única (scFv) anti-BMP9 fueron seleccionados de la biblioteca de anticuerpos de exhibición de fagos humana WyHN5 mediante el proceso de selección en la BMP9 madura humana de la siguiente manera.

5 La proteína BMP9 humana madura se biotiniló utilizando sulfo-NHS-LC-Biotin (Thermo) siguiendo el protocolo del fabricante. Se realizaron cuatro rondas de selección en solución con concentraciones decrecientes de BMP9 humana biotinilada, de la siguiente manera: 200 nM de BMP9 biotinilada (1ª ronda), 50 nM de BMP9 biotinilada (2ª ronda), 1 nM de BMP9 biotinilada, luego se añadió 1 µM de BMP9 no biotinilada e incubó durante la
10 noche (3ª ronda), y 1 nM de BMP9 biotinilada (4ª ronda). En cada ronda, los fagos que se unieron al BMP9 biotinilada fueron capturados con DYNABEADS® M-280 Streptavidina magnéticas (Invitrogen), seguidos de un lavado para eliminar los fagos unidos no específicamente. Los agentes de unión específica al BMP9 fueron eluidos con trietilamina 100 mM, seguidos de una amplificación en *E. coli* para las siguientes rondas de selección y/o
15 detección mediante ELISA.

 scFv puede expresarse tanto en la superficie de una partícula de fago como en solución en el espacio periplasmático bacteriano, según las condiciones de crecimiento utilizadas. Para inducir la liberación de scFv en el periplasma, se inocularon placas de 96 pocillos con medio 2X YT con 0,1% de glucosa y 100 µg/ml de ampicilina a partir de placas
20 de agar 2X YT (un clon por pocillo) y se cultivaron a 37°C con agitación a 850 rpm durante aproximadamente 4 horas. Los cultivos se indujeron con IPTG a una concentración final de 0,02 mM y se cultivaron durante la noche a 30°C con agitación a 850 rpm. El contenido del periplasma bacteriano (peripreps) se liberó mediante choque osmótico. En resumen, las placas se centrifugaron y las microesferas se resuspendieron en 150 ml de tampón
25 periplásmico TES (50 mM de Tris, 1 mM de EDTA, 20% de sacarosa, pH 7,4), seguido de la adición de 150 µl de TES:agua 1:5, y se incubaron en hielo durante 30 minutos. Las placas se centrifugaron durante 20 minutos a 4000 rpm y se recolectaron los sobrenadantes que contenían scFv.

 Para los ensayos de unión con peripreps scFv, se recubrieron placas de ELISA de alta
30 unión de 96 pocillos (Costar 3590) con 0,1 µg por pocillo (100 µl de 1 µg/ml) de BMP9 humana en tampón PBS durante la noche a 4°C. Después de desechar la solución de recubrimiento, las placas se bloquearon a temperatura ambiente durante 2 horas con PBS + 3% BSA. Después de desechar la solución de bloqueo, se añadieron 100 µl de peripreps. Tras

1 hora de incubación a temperatura ambiente con agitación suave, las placas se lavaron 5 veces con 300 µl por pocillo de tampón de lavado (Perkin Elmer 1244-114) y se incubaron durante 1 hora con 100 µl de Ab secundario HRP rotulado con etiqueta anti-His. Después de lavar 5 veces con 300 µl por pocillo de tampón de lavado, las placas se desarrollaron con solución de sustrato TMB durante 10 minutos, luego se añadió 0,18 M de H₂SO₄ para detener la reacción. Se midió la absorbancia a 450 nM y los datos se trazaron y analizaron con Microsoft Excel. A partir de esta selección, se identificaron 100 aciertos scFv que se unían a BMP9 humana mediante ELISA periprep y 15 clones únicos, incluyendo los clones principales BMP9-0093 (también conocido como Ab93) y BMP9-0101 (también conocido como Ab101), posteriormente se convirtieron a IgG1/lambda humana utilizando métodos estándar de biología molecular.

Ejemplo 2: Unión de anticuerpos anti-BMP9 a proteína BMP9 humana.

Este ejemplo ilustra la unión de los anticuerpos anti-BMP9 identificados a la proteína BMP9 humana en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

La proteína humana madura BMP9 purificada se recubrió en placas ELISA NUNCTTM-MAXISORPTM de 96 pocillos a una concentración de 1 µg/ml en 100 µl de PBS (libre de calcio y magnesio) a 4°C. Las placas se lavaron 3 veces con PBS + 0,05% de TweenTM 20 y se bloquearon con PBS + 1% de BSA durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Los Abs probados se diluyeron en serie 5 veces en PBS + 1% de BSA, comenzando desde 100 nM. Se eliminó la solución de bloqueo y se lavaron las placas como antes, luego se agregaron los Abs diluidos en serie y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Las placas se lavaron como antes y se agregó un anticuerpo secundario (cabra anti-IgG humana Fc-HRP de Invitrogen, cat# 31413, 1:10000), seguido de una incubación de 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron como antes, se desarrolló la señal utilizando un sustrato TMB y la reacción se detuvo con 0,18 M de H₂SO₄. La absorbancia se leyó a 450 nm en un lector de placas ENVISION® (Perkin Elmer).

El resultado se muestra en la **FIG. 1**. Todos los anticuerpos identificados (Ab89, Ab93, Ab100 y Ab101) se unieron a la proteína humana madura BMP9 con alta potencia. BM01 (referido como AM0100 en WO 2016/193872) y BM02 (referido como AM4405 en WO 2016/193872) se utilizaron como anticuerpos de referencia. Por el contrario, el anticuerpo control de isotipo no se unió a la proteína humana BMP9.

Ejemplo 3: ELISA de competencia para medir actividad de neutralización de anticuerpos anti-BMP9.

Este ejemplo ilustra la capacidad de los anticuerpos anti-BMP9 identificados para inhibir las interacciones entre BMP9 y sus receptores en un ELISA de bloqueo (competencia).

Se utilizaron los receptores de tipo I (ALK1) y los receptores de tipo II (BMPRII, ActRIIA o ActRIIB) para ver si los Abs anti-BMP9 pueden competir con la unión de estos receptores a BMP9. Cada receptor se recubrió en una placa de ELISA a una concentración de 1-15 µg/ml, y luego se incubó con BMP9 biotinilada diluida en serie para determinar la concentración óptima de recubrimiento del receptor y determinar la EC₉₀ de la unión de BMP9 biotinilada a cada receptor (los datos no se muestran).

Para los ensayos de competencia ELISA, cada proteína de receptor se recubrió en una placa de ELISA de 384 pocillos a su concentración óptima de recubrimiento, 20 µl/pocillo en PBS-CMF a 4 °C durante la noche. Al día siguiente, se lavaron las placas 3 veces con PBS + 0,05% TWEENTM 20 y se bloquearon con PBS + 1% BSA durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Los Abs anti-BMP9 se diluyeron en serie 3 veces en PBS + 1% BSA, comenzando desde 100 nM, y luego se mezclaron con el mismo volumen de la concentración óptima de BMP9 biotinilada. La concentración final de BMP9 biotinilada correspondía al EC₉₀ para cada receptor, según se determinó en un experimento preliminar descrito anteriormente.

Los Abs diluidos en serie se incubaron con BMP9 biotinilada durante al menos 15 minutos a TA. Las placas se lavaron como antes, seguido de la adición de los Abs diluidos en serie y la mezcla de BMP9 biotinilada. Después de incubar durante 1 hora a TA, las placas se lavaron 3 veces con PBS + 0,05% TWEENTM 20. Se agregó un anticuerpo secundario (HRP-Streptavidina de BioLegend, cat# 405210, 1:2000), seguido de una incubación de 1 hora a TA. Las placas se lavaron como antes, se desarrolló la señal utilizando sustrato TMB y la reacción se detuvo con 0,18 M H₂SO₄. Se leyó la absorbancia a 450 nm en un lector de placas ENVISION® (Perkin Elmer).

Los resultados de estos ELISA de competencia se muestran en la **FIG. 2**. Los anticuerpos Ab89, Ab93, Ab100 y Ab101 inhiben la unión de BMP9 a los receptores de tipo II (BMPRII, ActRIIA o ActRIIB), pero no la unión de BMP9 al receptor de tipo I ALK1 (**FIGS. 2A-2D**). Los anticuerpos Ab352, Ab804 y Ab1076, derivados del anticuerpo parental

Ab93, inhiben fuertemente la unión de BMP9 al receptor de tipo II (BMPRII) y tienen una inhibición débil de la unión de BMP9 al receptor de tipo I ALK1 (**FIGS. 2E-2F**). Por el contrario, el anticuerpo de referencia BM02 es un bloqueador del receptor de tipo I, ya que inhibe fuertemente la unión de BMP9 a ALK1 (**FIG. 2F**) y no inhibe la unión al receptor de tipo II (no se muestra).

Ejemplo 4: Efecto de anticuerpos anti-BMP9 en la unión de BMP9 a células endoteliales.

Este ejemplo ilustra la capacidad de los anticuerpos anti-BMP9 identificados para inhibir la unión del BMP9 humana a células endoteliales de manera dependiente de la dosis.

Se obtuvieron células endoteliales microvasculares inmortalizadas con telomerasa humana (TIME) de ATCC y se cultivaron siguiendo las instrucciones del proveedor. La BMP9 humana recombinante se conjugó con el colorante NHS-ALEXA FLUOR 647™. En el día del experimento, las células se recolectaron mediante desprendimiento enzimático y se resuspendieron en medio de crecimiento preenfriado. A continuación, se repartieron alícuotas idénticas de la suspensión celular en pocillos de placas de 96 pocillos y se colocaron sobre hielo.

Los Abs BMP9 se diluyeron en serie en medio de crecimiento celular preenfriado a 4 veces las concentraciones finales de 0,2 nM, 1 nM, 5 nM, 25 nM y 125 nM. La proteína BMP9-ALEXA FLUOR 647™ se diluyó en medio de crecimiento celular preenfriado a 4 veces la concentración final de 1 nM, para combinarse con los Abs BMP9 diluidos en serie en una proporción de 1:1 (v/v), lo que da como resultado una concentración final de BMP9 y Abs de 2 veces, respectivamente. Además, una alícuota de la solución de BMP9 a 4 veces la concentración se combinó 1:1 (v/v) con medio preenfriado sin los Abs.

Las muestras anteriores luego se incubaron refrigeradas y protegidas de la luz durante 40 minutos antes de distribuir alícuotas de cada muestra en una proporción de 1:1 (v/v) en los pocillos que contenían las suspensiones de células TIME en placas de 96 pocillos. Las muestras de células mezcladas con medio sin BMP9 o Abs se consideraron como control sin tratar. Las placas se incubaron adicionalmente durante 60 minutos sobre hielo protegidas de la luz, después de lo cual las muestras en los pocillos se lavaron con un exceso de tampón preenfriado que contenía proteína de suero fetal bovino y azida sódica para evitar la absorción activa de materiales del entorno celular.

Las muestras se analizaron luego con un citómetro de flujo BD FACSYMPHONY™ A5 equipado con una configuración óptica adecuada para el análisis de

la intensidad mediana de la señal del tinte ALEXA FLUOR 647[®] por célula, utilizando el software BD FACSDIVA[™]. Los archivos de datos sin procesar se exportaron para su análisis con el software FlowJo, y los datos numéricos se representaron gráficamente utilizando GraphPad Prism.

5 El resultado se muestra en la **FIG. 3**. Los anticuerpos anti-BMP9 Ab89, Ab93 y Ab100 demostraron una inhibición dependiente de la dosis en la unión de BMP9 a células TIME

Ejemplo 5: Determinación de afinidad de Ab1076 a BMP9 humana, cyno y de rata.

10 Este ejemplo confirma la afinidad de unión del anticuerpo anti-BMP9 Ab1076 (analizado como un Fab) a BMP9 humana, cyno y de rata.

Las afinidades de unión de Ab1076 (como un fragmento Fab monovalente) hacia las formas maduras de BMP9 humana, cyno y de rata se determinaron mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando un equipo BIACORE[™] T200 (Cytiva) a 37°C con una tasa de recolección de 10 Hz. La ejecución y el tampón de muestra utilizado fue 10 mM de HEPES pH 7,4, 0,15 M de NaCl, 3 mM de EDTA, 0,05% de P-20 (HBS-EP+). Las proteínas BMP9 humanas, cyno y de rata biotiniladas fueron capturadas de forma reversible en un chip sensor CAP utilizando el reactivo de captura de biotina CAPture (Cytiva, 28920234) siguiendo las instrucciones del fabricante. El nivel final de captura de BMP9 humano fue de 100 unidades de resonancia (RU), para cyno BMP9 fue de 50 RU y para BMP9 de rata fue de 60 RU. La celda de flujo 1, sin BMP9, se utilizó como celda de flujo de referencia. Se inyectó una serie de dilución de dos veces del Fab Ab1076, con concentraciones que van desde 100 nM hasta 6,2 nM, durante 60 segundos a un caudal de flujo de 100 µl por minuto, y la disociación se monitoreó durante 1800 segundos. Las constantes de velocidad y las afinidades se determinaron ajustando los datos del sensorgrama doblemente referenciado a un modelo 1:1 en el software BIACORE[™] Insight Evaluation versión 3.0.1.12.15655 (Cytiva).

Como se resume en la **Tabla 1**, los valores de la constante de disociación de equilibrio (KD) para BMP9 humana, cyno y de rata son 87,41 pM, 65,82 pM y 98,63 pM respectivamente. Los valores de KD para BMP9 cyno y de rata están dentro de un margen de 2 veces en comparación con BMP9 humana. Los sensorgramas representativos se muestran en la **FIG. 4**.

Tabla 1. Afinidades del fragmento Fab Ab1076 hacia BMP9 humana, cyno y de rata determinadas por SPR a 37°C. Se utilizaron datos de sensorgramas de 3 mediciones paralelas a partir de 3 diluciones independientes del analito Fab Ab1076 para calcular los valores de k_a , k_d y $K_D \pm SD$.

5

Analito	Ligando	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM), +/- SD
Ab1076 (Fab)	BMP9 humana-biotina	4,40E+05	3,84E-05	87,41 $\pm$ 6,99
	BMP9 cyno -biotina	5,85E+05	3,84E-05	65,82 $\pm$ 6,48
	BMP9 de rata-biotina	5,32E+05	5,14E-05	98,63 $\pm$ 19,2

Ejemplo 6: Evaluación de Ab1076 para la unión inespecífica a un panel de miembros de la familia TGF β .

En este ejemplo, se evaluó la unión inespecífica de Ab1076 (probado como un
10 fragmento Fab) a un panel de miembros de la familia TGF β .

Se utilizó la técnica de Interferometría de Capa Biológica (BLI, por sus siglas en inglés) con un instrumento OCTET® Red 384 para evaluar el enlace no específico de Ab1076 Fab a un panel de miembros de la familia TGF β , incluyendo TGF β 1 humano, GDF8, GDF9, GDF11, Activina A y BMP10, a 37°C. Se utilizó BMP9 humana como control
15 positivo. Los miembros de la familia TGF β fueron acoplados a biosensores AR2G (Sartorius ForteBio, 18-5092) mediante unión con amina a una concentración de 20 μ g/ml durante 300 segundos. Los niveles de inmovilización fueron los siguientes: GDF8, 0,72 nm; GDF11, 0,28 nm; BMP9, 0,58 nm; BMP10, 1,0 nm; GDF9, 0,35 nm; TGF β 1, 0,62 nm y Activina A, 0,6 nm. Los biosensores con los miembros de la familia TGF β inmovilizados fueron sumergidos
20 en Ab1076 Fab diluido a 100 nM en tampón cinético (Sartorius ForteBio 18-5032) durante 300 segundos. La disociación se siguió durante 180 segundos. Los datos se recopilaron utilizando el software OCTET® Acquisition versión 11.0.0.64 y se analizaron con el software OCTET® Data Analysis versión 11.0.

A una concentración de 100 nM, Ab1076 Fab demostró unión inespecífica no
25 observable a los miembros de la familia TGF β evaluados, pero sí se unió a BMP9 como se esperaba (**FIG. 5**). Todos los miembros de la familia TGF β estaban activos, como se demostró por su unión a sus controles positivos respectivos (no se muestra).

Ejemplo 7: Anticuerpos anti-BMP9 inhiben la señalización de fosfo-SMAD1/5/9 y fosfo-SMAD2 inducida por BMP9 en células endoteliales.

En este ejemplo, se probó la capacidad de los anticuerpos anti-BMP9 para inhibir la translocación nuclear de fosfo-SMAD1/5/9 y fosfo-SMAD2 inducida por BMP9 como medida de la activación de la señalización de SMAD1/5/9 o SMAD2 en células endoteliales humanas, de mono cynomolgus y de rata. En resumen, se trataron células TIME (línea celular inmortalizada de células endoteliales microvasculares humanas), células endoteliales primarias de la arteria pulmonar humana (HPAEC), células endoteliales primarias de la arteria pulmonar de mono cynomolgus (PAEC) y células endoteliales primarias sinusoidales hepáticas de rata (LSEC) con 10 pM o 1000 pM de BMP9 humano o específico de cada especie en la presencia de anticuerpos anti-BMP9 durante 30 minutos. Las células se fijaron, bloquearon y permeabilizaron, y se tiñeron durante la noche con un anticuerpo contra pSMAD1/5/9 o pSMAD2. Al día siguiente, las células se lavaron y se tiñeron con un anticuerpo secundario marcado con ALEXA FLUOR® 488 para detectar pSMAD1/5/9 o pSMAD2, Hoechst 33342 para detectar los núcleos y un tinte rojo intenso de máscara celular para delinear todas las células. Después de un último lavado, las células se capturaron en un sistema de imágenes de alto contenido. Para analizar la translocación nuclear de pSMAD1/5/9 o pSMAD2, se calculó la fluorescencia nuclear promedio en el canal ALEXA FLUOR® 488 para cada pocillo de células. Los valores de IC₅₀ se calcularon utilizando GraphPad Prism Versión 9.0.0.

Se observó una inhibición dependiente de la dosis en la translocación nuclear de pSMAD1/5/9 y pSMAD2 inducida por BMP9 en todas las células endoteliales tras el tratamiento con anticuerpos anti-BMP9.

En varios experimentos realizados, los valores de IC₅₀ de los anticuerpos anti-BMP9 para BMP9 humana en el ensayo de pSMAD1/5/9 oscilaron entre 0,02 nM y 86 nM. Los valores de IC₅₀ de los anticuerpos anti-BMP9 para BMP9 de mono cynomolgus oscilaron entre 17 pM y 117 pM, y entre 120 pM y 300 pM para BMP9 de rata en el ensayo de pSMAD1/5/9. El valor de IC₅₀ de los anticuerpos anti-BMP9 para BMP9 humano en el ensayo de pSMAD2 osciló entre 0,01 nM y 330 nM en varios experimentos realizados. Los valores de IC₅₀ de Ab1076 para BMP9 de mono cynomolgus en el ensayo de pSMAD2 oscilaron entre 27 pM y 42 pM, y entre 465 pM y 1 nM para BMP9 de rata. Se presentan imágenes representativas en la **FIG. 6**.

Ejemplo 8: Anticuerpos anti-BMP9 Ab732 y Ab1076 son eficaces en el modelo de hipertensión pulmonar Sugén-Hipoxia en ratas.

Se realizó un estudio de eficacia para evaluar los efectos de Ab732 y Ab1076 sobre la hipertensión pulmonar, en relación con un control isotipo y un dispositivo de captura
5 ligando de activina (ActRIIA-Fc) en el modelo preclínico de hipertensión arterial pulmonar (HAP) Sugén-Hipoxia (SuHx). En este modelo vasculoproliferativo, los roedores desarrollan lesiones obliterativas y complejas progresivas que recuerdan a la enfermedad grave en humanos (Abe, K., Toba, M., Alzoubi, A., Ito, M., Fagan, K. A., Cool, C. D., Voelkel, N. F., McMurtry, I. F., y Oka, M. (2010) Formación de lesiones plexiformes en la hipertensión
10 arterial pulmonar severa experimental. *Circulation* 121, 2747-2754).

Ratas macho Sprague-Dawley (150-200 g) recibieron una única inyección subcutánea del antagonista del receptor 1/2 del factor de crecimiento endotelial vascular Sugén 5416 (20 mg/kg) y fueron colocadas en hipoxia normobárica ($FiO_2=0,1$) para inducir una enfermedad moderada. También se incluyó un grupo control no tratado (normóxico) de la
15 misma edad. Cuatro semanas después, las ratas tratadas con SuHx fueron devueltas a la normoxia y se asignaron aleatoriamente a diferentes grupos de tratamiento con pesos corporales equivalentes.

Los tratamientos se administraron por vía intraperitoneal, dos veces por semana, durante un período de 3 semanas. Ab732 y Ab1076 se probaron a una dosis de 0,3 mg/kg y 3
20 mg/kg. La proteína humana ActRIIA-Fc se administró a una dosis de 2,1 mg/kg, y se utilizó un control de isotipo de IgG1 humana a una dosis de 3 mg/kg. Al final del estudio, se realizaron evaluaciones hemodinámicas cardiovasculares. Las ratas fueron anestesiadas y se midieron las presiones sistólicas del ventrículo derecho (RVSP) mediante cateterización. Para evaluar el grado de hipertrofia del ventrículo derecho (RVH), se disecó la pared libre del
25 ventrículo derecho del ventrículo izquierdo más el septo (LV+S) en los corazones explantados y se pesó; la RVH se expresó como una relación entre el peso del ventrículo derecho y el peso del (LV+S). Los resultados se muestran en la **FIG. 7**.

La RVSP y la RVH en el grupo no tratado (normoxia) fueron de $29,2 \pm 1,25$ mmHg y $0,197 \pm 0,00669$, respectivamente. Cuando se administró después de 4 semanas de
30 SuHx, Ab1076 a 3 mg/kg mejoró significativamente la RVSP: $63,7 \pm 3,82$ mmHg en comparación con $94,9 \pm 7,27$ mmHg para el control de isotipo, lo que representa una reducción de 31,2 mmHg o el 47,4% de la diferencia [control de isotipo menos normoxia] ($p < 0,05$). Ab1076 a 3 mg/kg también mejoró la RVH ($0,331 \pm 0,0240$) en relación con el

control isotipo ($0,410 \pm 0,0236$), lo que representa una disminución del 37,1% de la diferencia [control de isotipo menos normoxia]. Ab732 también indujo mejoras significativas en los parámetros hemodinámicos: a 3 mg/kg, Ab732 mejoró significativamente la RVSP: $55,4 \pm 6,81$ mmHg, una reducción de 39,5 mmHg o el 60,0% de la diferencia [control de isotipo menos normoxia] ($p < 0,01$). A 3 mg/kg, Ab732 mejoró la RVH ($0,329 \pm 0,0216$) en relación con el control de isotipo, una disminución del 37,9% de la diferencia [control de isotipo menos normoxia].

El tratamiento con ActRIIA-Fc también mejoró significativamente la RVSP ($62,9 \pm 4,60$ mmHg, una reducción de 31,9 mmHg vs control de isotipo $p < 0,05$) y mejoró la RVH ($0,325 \pm 0,0171$) en relación con el control isotipo.

En resumen, la administración de Ab732, Ab1076 y ActRIIA-Fc atenuó la magnitud de la HAP desarrollada en este estudio.

Ejemplo 9: Evaluación de las concentraciones totales de BMP9 y BMP10 en suero en modelo Sugén-Hypoxia (SuHx).

Se evaluó el efecto del tratamiento con anti-BMP9 en las concentraciones totales de BMP9 y BMP10 solubles en las muestras de suero de ratas recogidas al final del estudio de dosis de eficacia de SuHx del Ejemplo 8 mediante análisis de inmunoafinidad LCMS. Esta lectura funcional se utilizó para la determinación cuantitativa del complejo objetivo:anticuerpo en suero, como una medida del compromiso con los objetivos. Los resultados se muestran en la **FIG. 8**.

Se midieron concentraciones similares y consistentes de BMP9 y BMP10 circulantes de ratas mantenidas en condiciones normóxicas y en ratas SuHx tratadas con control isotipo. No se observaron cambios significativos en las concentraciones circulantes de BMP9 y BMP10 después del tratamiento con ActRIIA-Fc.

Se observó un aumento de 1,7 veces en las concentraciones circulantes de BMP9 después del tratamiento con 3 mg/kg de Ab732 en relación con los grupos de normoxia y control isotipo, y no se observaron cambios a 0,3 mg/kg. Se observó una acumulación dependiente de dosis de BMP9 circulante con el tratamiento de Ab1076: se registró un aumento de 1,6 veces y de 7,9 veces a 0,3 mg/kg y 3 mg/kg ($p \leq 0,0001$), respectivamente, en relación con los grupos de normoxia y control isotipo (**FIG. 8A**). Esto es consistente con una mayor afinidad de BMP9 hacia Ab1076 en comparación con Ab732. La magnitud de los cambios de BMP10 circulante se reducen en relación con BMP9 (**FIG. 8B**).

Ejemplo 10: Interacciones moleculares de Ab93, Ab101 y Ab1076 con BMP9 humana analizadas por cristalografía de rayos X.

Cristalización y determinación de estructura de BMP9 madura humana en complejo con Fab de Ab1076

5 Para los ensayos de cristalización, el complejo entre el Fab Ab1076 y BMP9 humana madura se formó en una proporción molar de 1:1,5 y se concentró a 9,2 mg/ml en una solución de proteína que contenía TBS a pH 7,5.

10 Los cristales presentaban una simetría consistente con el grupo espacial ortorrómbico C222 con parámetros de celda unitaria $a=141,98 \text{ \AA}$; $b=271,05 \text{ \AA}$; $c=62,59 \text{ \AA}$ y con dos copias de los complejos BMP9 + Ab1076 Fab en la unidad asimétrica cristalográfica. Los cristales fueron congelados rápidamente en nitrógeno líquido utilizando una solución crioprotectora de 15% de etilenglicol (EG). Se recopiló un conjunto de datos con una resolución de $2,55 \text{ \AA}$ a partir de un solo cristal congelado en un haz de luz IMCA 17-ID en el Laboratorio Nacional Argonne. Los datos se procesaron y escalonaron utilizando autoPROC,
15 y el conjunto de datos final estaba completo al 62,7%.

20 La estructura se resolvió mediante el reemplazo molecular con PHASER. Varias rondas iterativas de ajuste manual y reconstrucción del modelo utilizando COOT y refinamiento cristalográfico utilizando autoBUSTER produjeron el modelo final de BMP9 + Ab1076 Fab con un R_{work} cristalográfico del 25,6% y un R_{free} del 27,7%, donde $R_{\text{work}} = \frac{|F_{\text{obs}}| - |F_{\text{calc}}|}{|F_{\text{obs}}|}$ y R_{free} es equivalente a R_{work} , pero se calcula para un 5% aleatoriamente seleccionado de reflexiones omitidas del proceso de refinamiento.

25 Los epítomos de BMP9 de los anticuerpos Ab1076, Ab93 y Ab101, así como del receptor de tipo II ActRIIB, se definen mediante un método de descripción basado en la estructura, que se detalla a continuación. El método de descripción basado en la estructura
30 utiliza la estructura cristalina del complejo y define los residuos del epítipo como aquellos residuos que: a) están significativamente enterrados por la formación del complejo (área superficial enterrada $\geq 20 \text{ \AA}^2$), b) participan en enlaces de hidrógeno, c) participan en enlaces de hidrógeno mediados por agua, d) participan en puentes salinos, y e) están en contacto cercano ($<3,8 \text{ \AA}$). Esta combinación de residuos interactuantes y residuos cercanos se
30 combina luego como la lista de todos los residuos del epítipo potencialmente importantes. Esta lista se limita por el hecho de que los sitios que no están en contacto cercano con el ligando aún pueden ser críticos para la unión, y los sitios que están cercanos pueden no ser críticos. El cálculo utilizó las cadenas H, L y G de la estructura de Ab1076, las cadenas H, L y C de la estructura de Ab93, las cadenas H, L e I de la estructura de Ab101, y las cadenas A

y E de la entrada 4fao de la Base de Datos de Proteínas para generar los descriptores de los residuos de la interfaz.

Los epítomos de BMP9 de los anticuerpos Ab1076, Ab93 y Ab101, y del receptor de tipo II ActRIIB, se sintetizan en la Tabla 2. Es evidente a partir de este análisis que hay una superposición significativa en los epítomos para los anticuerpos Ab1076, Ab93 y Ab101, y del receptor de tipo II ActRIIB (**FIG. 9**), así como otros receptores de tipo II como BMPRII, ActRIIA y endoglina (no se muestran datos). La superposición del epítomo de BMP9 del anticuerpo Ab1076 y ActRIIB se ilustra en la **FIG. 9**.

- 10 **Tabla 2:** Epítomos de BMP9 de los anticuerpos Ab1076, Ab93 y Ab101 y del receptor tipo II ActRIIB definidos mediante el método de descriptor basado en estructura.

Sitio	Aminoácido	Ab1076	Ab93	Ab101	ActRIIB
14	ARG			X	X
27	ILE	X		X	X
28	ALA	X	X	X	X
29	PRO	X	X	X	X
30	LYS	X		X	X
31	GLU	X		X	X
32	TYR	X			X
33	GLU				X
78	LYS				X
80	SER	X			X
81	PRO	X	X		X
82	ILE	X			
83	SER	X	X	X	X
84	VAL	X			X
85	LEU	X	X	X	X
86	TYR	X	X		
87	LYS				X
88	ASP	X	X		
89	ASP	X	X		
90	MET	X	X	X	
91	GLY				X
92	VAL	X	X	X	X
93	PRO	X	X	X	X
94	THR	X	X		X
95	LEU	X	X	X	X
96	LYS	X	X		
97	TYR	X	X	X	X
98	HIS	X	X		X
99	TYR	X	X		
100	GLU	X	X		

Descriptores de Residuos de Epítomos en Base a Estructura

Aquí se utilizaron las cadenas H, L y G del complejo Ab1076:BMP9, las cadenas H, L y C del complejo Ab93:BMP9, y las cadenas H, L y I del complejo Ab101:BMP9 para generar los descriptores de residuos de la interfaz. Se considera que los residuos del antígeno y el anticuerpo están unidos por enlaces de hidrógeno si incluyen un átomo donante de enlace hidrógeno (unido a un hidrógeno electropositivo) en una molécula ubicada dentro de 3,2 Å de un átomo aceptor de enlace hidrógeno que posee un par de electrones no compartidos en la otra molécula. Además, se consideró que un determinado residuo forma parte de un enlace hidrógeno mediado por agua si participa en un enlace de hidrógeno con una molécula de agua que también está unida por enlaces de hidrógeno al anticuerpo. Los residuos del anticuerpo y el antígeno se consideran que forman un puente de sal si contienen un átomo cargado positivamente en una molécula a una distancia de 4 Å de un átomo cargado negativamente en la otra molécula. Los residuos están en contacto cercano si un átomo en el residuo del antígeno se encuentra a una distancia de 3,8 Å de un átomo en el anticuerpo.

El área de superficie enterrada por residuo se determinó calculando el área de superficie accesible al solvente de cada residuo del anticuerpo y del antígeno en el complejo, y restando esto de la suma de las áreas de superficie accesibles al solvente de los dos componentes considerados individualmente. El área de superficie accesible al solvente se calculó según el método de Strake y Rupley (J. Mol. Biol. 79 (2): 351-71, 1973). El área de superficie enterrada en pares se utilizó para estimar las contribuciones individuales de los pares de residuos del anticuerpo y del antígeno al efecto general del área de superficie enterrada en la energía de unión. Dado que el área de superficie enterrada no es descomponible en pares, se calculó el área de superficie enterrada de cada residuo en el epítipo en presencia de cada residuo individual del antígeno en ausencia del resto del antígeno. Estas contribuciones individuales se normalizaron de manera que la suma de todas las contribuciones individuales de todos los residuos del antígeno al área de superficie enterrada de un residuo de epítipo dado fuera igual al área de superficie enterrada total de ese residuo de epítipo debido a la unión del antígeno completo. Este proceso se repitió en sentido inverso para las contribuciones individuales de los residuos del epítipo al área de superficie enterrada de los residuos del anticuerpo. Se consideró que el residuo del antígeno formaba parte del epítipo si el área de superficie enterrada era $\geq 20 \text{ Å}^2$.

El mismo cálculo se realizó en la interacción del epítipo de unión de BMP9 para ActRIIB utilizando las cadenas A y E de la estructura de la Base de Datos de Proteínas 4fao.

La interacción de unión de Ab1076 Fab con BMP9 humano en una estructura cristalina se ilustra en la **FIG. 10**.

Ejemplo 11: Anticuerpos anti-BMP9 inhiben la señalización inducida por suero de fosfo-SMAD1/5/9 y fosfo-SMAD2 en células endoteliales humanas.

Se utilizaron muestras de suero de rata recolectadas al final del estudio de dosis de eficacia de SuHx del Ejemplo 8 para evaluar el efecto de los tratamientos con anticuerpos anti-BMP9 y ActRIIA-Fc en la translocación nuclear de pSMAD1/5/9 y pSMAD2 en células endoteliales microvasculares humanas inmortalizadas. En resumen, las células TIME en ayunas de suero fueron tratadas con un 10% de suero de rata durante 20 minutos. Las células fueron fijadas, bloqueadas y permeabilizadas, y se tiñeron durante la noche con un anticuerpo contra pSMAD1/5/9 o pSMAD2. Al día siguiente, las células se lavaron y se tiñeron con un anticuerpo secundario marcado con ALEXA FLUOR® 488 para detectar pSMAD1/5/9 o pSMAD2, Hoechst 33342 para detectar núcleos y un tinte rojo intenso de máscara celular para delinear todas las células. Después de un último lavado, las células se capturaron en un equipo para la toma de imágenes de alto contenido. Para analizar la translocación nuclear de pSMAD1/5/9 o pSMAD2, se calculó la fluorescencia nuclear promedio en el canal ALEXA FLUOR® 488 para cada pocillo de células. Los valores de IC50 se calcularon utilizando GraphPad Prism Versión 9.0.0.

El suero de ratas tratadas con 0,3 mg/kg de Ab1076 indujo una intensidad de fluorescencia nuclear promedio de pSMAD1/5/9 significativamente menor: 2270 ± 155 en comparación con 2810 ± 160 para el control de isotipo, una reducción del 19,3% ($p \leq 0,0001$). Se observó una reducción del 18,7% en la intensidad nuclear de pSMAD1/5/9 al recibir tratamiento con 3 mg/kg de Ab1076 (2290 ± 325) en relación con el control de isotipo ($p \leq 0,0001$). El tratamiento con suero de ratas tratadas a 0,3 mg/kg (2550 ± 140) y 3 mg/kg ($2530 \pm 74,6$; $p \leq 0,05$) de Ab732 inhibió la fluorescencia nuclear promedio de pSMAD1/5/9 en relación con el suero de ratas tratadas con el control de isotipo, una reducción del 9,2% y 10%, respectivamente (**FIG. 11A**).

La intensidad media nuclear promedio de pSMAD2 se redujo en un 14,5% tras el tratamiento con suero del grupo Ab1076 0,3 mg/kg ($2400 \pm 79,1$; $p \leq 0,0001$) y en un 11,6% (2481 ± 171 ; $p = 0,0002$) tras el tratamiento con suero del grupo Ab1076 de 3 mg/kg en comparación con el Iso Ctrl (2810 ± 189). El tratamiento con suero de ratas tratadas con

Ab732 a 0,3 mg/kg (2720 ± 127) y 3 mg/kg ($2580 \pm 75,7$; $p \leq 0,05$) inhibió la fluorescencia nuclear media de pSMAD2 en relación con el suero de ratas tratadas con Iso Ctrl (**FIG. 11B**).

Se observaron niveles similares de translocación nuclear de pSMAD1/5/9 (2150 ± 169) y pSMAD2 ($2320 \pm 42,4$) en células endoteliales TIME no tratadas y en células tratadas con suero de los grupos Ab1076 de 0,3 mg/kg o 3 mg/kg.

No se observaron cambios significativos en la translocación nuclear de pSMAD1/5/9 (2780 ± 104) y pSMAD2 (2790 ± 144) tras el tratamiento con ActRIIA-Fc en relación con el Iso Ctrl.

10 Ejemplo 12: Evaluación de efectos inespecíficos de anticuerpos anti-BMP9 en la señalización inducida por los miembros de la familia de TGF β GDF8- y GDF11.

La capacidad de Ab1076 y Ab732 para inhibir la actividad de los miembros de la familia BMP9, GDF8 y GDF11, se evaluó utilizando células C2C12 de mioblastos de ratón que expresaban de manera estable el promotor CAGA insertado en un constructo reportero de luciferasa de luciérnaga. En resumen, se trataron las células C2C12-CagaLuc con 3 nM de GDF8 o GDF11 en presencia de un rango de dosis de Ab1076, Ab732 o un anticuerpo de control isotipo durante 24 horas. Se evaluó la actividad de luciferasa mediante la lisis de las células y la adición de un sustrato específico para luciferasa de luciérnaga D-lucifereína, y luego se midió la luminiscencia en un lector de placas.

El Ab1076 no tuvo efecto en la actividad de luciferasa inducida por GDF8 (**FIG. 12A**) ni por GDF11 (**FIG. 12B**) en relación con un anticuerpo de control de isotipo que no se une. El Ab732 inhibió la actividad de luciferasa inducida por GDF8 (**FIG. 12A**), pero no la actividad de luciferasa inducida por GDF11 (**FIG. 12B**). Se utilizó ActRIIA-Fc como un control positivo e inhibió GDF8 y GDF11 con valores de IC₅₀ en el rango de 0,2 nM a 1,5 nM (no se muestran datos).

Ejemplo 13: Evaluación de efectos de anticuerpo Ab1076 anti-BMP9 en la inhibición de secreción endotelial de endotelina-1.

En este ejemplo, se probó la capacidad del anticuerpo anti-BMP9 Ab1076 para inhibir la secreción celular endotelial de endotelina-1 (ET-1). En resumen, las células endoteliales de la arteria pulmonar humanas (HPAEC) se trataron con 100 pM de BMP9 en la presencia de un rango de Ab1076 o control isotipo durante 24 horas. Al final del período de tratamiento, se recolectó el medio de cada pocillo de células y se sometió a un ensayo ELISA

ET-1. Se generó una curva estándar utilizando un ajuste de curva logística de cuatro parámetros, y esta se utilizó para determinar la cantidad de ET-1 en cada uno de los pocillos de muestra. Los valores de IC₅₀ se calcularon utilizando GraphPad Prism Versión 9.0.0.

5 BMP9 estimuló un aumento en la secreción de ET-1 (no se muestran datos), y Ab1076 redujo los aumentos inducidos por BMP9 en secreción de ET-1 con valores de IC₅₀ que oscilaron entre 0,021 nM y 0,065 nM en varios experimentos realizados (**FIG. 13**).

Ejemplo 14: Identificación de genes y proteínas objetivo para tratamiento de hipertensión pulmonar con anticuerpos anti-BMP9.

10 En este ejemplo, se identificaron los potenciales genes objetivo de BMP9 en la hipertensión pulmonar.

Se analizaron los datos de ARNseq a granel de los pulmones de ratas tratadas con normoxia (Nx), SU5416+Hypoxia+Control isotipo (SuHx_Iso) y SU5416+Hypoxia+Ab93 (SuHx_Ab93). También se probó la inducción de la expresión génica y la secreción de
15 productos génicos correlacionados con la hipertensión pulmonar en respuesta a la expresión de BMP9 en HPMVEC.

Las lecturas sin procesar en formato FASTQ de extremos pareados se alinearon con el genoma de referencia *Rattus norvegicus* rn7 utilizando el paquete Rsubread R (2.8.2). Se utilizó FeatureCounts para contar el número de lecturas mapeadas a cada gen. El análisis
20 de expresión diferencial se realizó utilizando el paquete R DESeq2 (1.34.0). El nivel relativo de expresión de ARNm (cambio en plegamiento) de los siguientes genes de interés aumentó en los pulmones de ratas tratadas con SU5416+Hypoxia (SuHx) en comparación con los pulmones de ratas normóxicas (Nx) y disminuyó en los pulmones de ratas SuHx tratadas con Ab93, y se asignaron a ciertos tipos de células según lo indicado a continuación en los datos
25 de scARNseq de pulmón humano (Saygin *et al.*, *Pulm Circ*, 2020) (**FIG. 14**).

a. *Cxcl12*, ligando quimiocina 12 del motivo C-X-C, también conocida como factor derivado de células estromales 1 (SDF1) (**FIG. 14A**). La expresión de *Cxcl12* aumentó en células endoteliales pulmonares IPAH y fibroblastos. La proteína codificada por este gen es una proteína secretada. En algunos casos, la neutralización de CXCL12 puede atenuar la
30 hipertensión pulmonar establecida en ratas.

b. *Igfbp4*, proteína 4 de unión al factor de crecimiento similar a insulina (**FIG. 14B**). La expresión de *Igfbp4* aumentó en células endoteliales pulmonares IPAH humanas y

células del músculo liso/pericitos. La proteína codificada por este gen es una proteína secretada. En algunos aspectos, IGFBP4 inhibe la angiogénesis.

c. *Inhba*, Inhibina, Beta A, también conocida como Activina A, polipéptido Alfa Activina AB, o proteína de Diferenciación Eritroide (**FIG. 14C**). La proteína codificada por este gen es miembro de la superfamilia de proteínas TGF-beta. Se observó un aumento en la expresión de Activina A en macrófagos SPP1 en los pulmones de pacientes con IPAH en humanos, pero se redujo en macrófagos FABP4 y células proliferativas (macrófagos y ECs).

d. *Mall*, o *Mal*, proteína similar a la proteína de diferenciación de células T (**FIG. 14D**). Se observó un aumento en la expresión de MALL en células epiteliales en los pulmones de pacientes con IPAH en humanos.

e. *Frzb*, proteína relacionada con Frizzled 3 secretada (**FIG. 14E**). La proteína codificada por este gen es una proteína secretada, que está involucrada en la regulación del desarrollo óseo. Se observó un aumento en la expresión de FRZB en SMC/pericitos en los pulmones de pacientes con IPAH en humanos.

f. *Cpe*, Carboxipeptidasa E (**FIG. 14F**). *Cpe* codifica un miembro de la familia M14 de metalocarboxipeptidasas. La proteína codificada es una proteína secretada. En algunos aspectos, CPE aumenta la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 e inhibe la activación de la caspasa-3. Se observó un aumento en la expresión de CPE en SMC/pericitos en los pulmones de pacientes con IPAH en humanos.

En consecuencia, entre los genes que se sobreexpresaron en los pulmones de ratas SuHx_Iso en comparación con los pulmones de ratas Nx, pero se subexpresaron en los pulmones de ratas SuHx_Ab93 en comparación con los pulmones de ratas SuHx_Iso, *Cxcl12*, *Igfbp4*, *Inhba*, *Mall*, *Frzb* y *Cpe* se seleccionaron como posibles genes objetivo de BMP9. Se ha demostrado que la expresión de estos genes también está aumentada en ciertos tipos de células de los pulmones de pacientes con IPAH, según se probó mediante scARNseq (Saygin *et al.*, *Pulm. Circ.*, 2020). De los seis genes, se ha demostrado que la expresión de *Cxcl12*, *Inhba*, *Mall*, *Frzb* y *Cpe* también está aumentada en los pulmones de pacientes con HAP, según se probó mediante ensayos de micromatrices (Stearman *et al.*, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019).

Células endoteliales microvasculares pulmonares humanas cultivadas en pasajes bajos (<3) (HPMVEC, Lonza) se trataron con BMP9 (40 pM) durante 0, 4, 8, 16 o 24 horas, y se analizaron los sobrenadantes de cultivo utilizando el Sistema de Inmunoensayo Automatizado Ella para CXCL12 humana (proteína simple: SPCKB-PS-000299) (**FIG. 15A**); CCL2 humana (**FIG. 15B**); PDGF-BB (proteína simple: SPCKC-PS-006510) (**FIG. 15C**); y

Endotelina-1 humana (también conocida como ET-1) (proteína simple: SPCKC-PS-000265) (**FIG. 15D**). La concentración de las proteínas CXCL12, CCL2, PDGF-BB y Endotelina-1 en el medio de cultivo de HPMVEC aumentó debido a BMP9. CXCL12 fue identificado mediante análisis de ARNseq. Se informó que CCL2, ligando quimiocina C-C tipo 2, se encuentra sobreexpresada en PAH, y la inhibición de CCL2 disminuye la PAH en animales (Yu *et al.*, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013). Se ha informado que PDGF-BB y Endotelina-1 (codificada por *Edn1*) están involucradas en la PAH.

Se identificaron múltiples genes objetivo de BMP9 utilizando análisis de datos de ARNseq *in vivo* y análisis de medios de cultivo celular *in vitro*. Se demostró que algunos de estos genes están fuertemente correlacionados con la hipertensión pulmonar, incluyendo *Cxcl12*, *Ccl2*, *Pdgfb* y *Edn1*. Estos genes son potenciales biomarcadores de la hipertensión pulmonar. En algunos aspectos, los productos génicos pueden ser objetivos de uno o más de los anticuerpos anti-BMP9, o fragmentos de unión a antígeno, o composiciones farmacéuticas de los mismos, que se revelan en la presente para el tratamiento de la hipertensión pulmonar.

Tabla 3: Síntesis de SEQ ID Nos. de los anticuerpos

Anticuerpo	Cadena Pesada (HC)										Cadena Ligera (LC)						
	HC	HC	HC	JH	V _H	CH1	HINGE	CH2	CH3	HC	LC	LC	LC	JL	V _L	CL	LC
	CDR1	CDR2	CDR3								CDR1	CDR2	CDR3				
Ab89	9	10	11	17	16	12	13	14	15	8	2	3	4	7	6	5	1
Ab93	24	25	26	28	27	12	13	14	15	23	19	20	21	7	22	5	18
Ab100	36	37	38	17	39	12	13	14	15	35	30	31	32	34	33	5	29
Ab101	45	46	47	17	48	12	13	14	15	44	2	41	42	7	43	5	40
Ab352	53	54	26	28	55	12	13	14	15	52	50	20	21	7	51	5	49
Ab732	45	61	62	17	63	12	13	14	15	60	57	41	58	7	59	5	56
Ab804	53	70	26	28	71	12	13	14	15	69	65	66	67	7	68	5	64
Ab1076	53	76	26	28	77	12	13	14	15	75	73	20	67	7	74	5	72

Tabla 4: Secuencias. En las secuencias HC completas de todos los clones de Ab, las CDRs de VH se marcaron para mostrar designaciones de Kabat y Chotia: Kabat subrayado, Chotia *en cursiva*. Solo las designaciones de CDR-H1 y CDR-H2 son diferentes entre Kabat y Chotia, pero CDR-H3 se marca también. No hay diferencia entre Kabat y Chotia en las CDRs VL (no marcadas).

SEQ ID	Descripción	Secuencia
1	Ab89_LC	NFMLTQPHSV SESPGKTVTI SCTGSSGSIA SNYVQWYQQR PGSAPTTVIY EDNQRPSGVP DRFSGSIDSS SNSASLTISG LKTEDEADYY CQSYDSSIHV VFGGGTKLTV LGQPKAAPSV TLFPPSSEEL QANKATLVCL ISDFYPGAVT VAWKADSSPV KAGVETTTPS KQSNKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSCQV THEGSTVEKT VAPTECS
2	Ab89_LC_CDR1	TGSSGSIASN YVQ
3	Ab89_LC_CDR2	EDNQRPS
4	Ab89_LC_CDR3	QSYDSSIHVV
5	Ab89_CL	GQPKAAPSVT LFPSPSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
6	Ab89_VL	NFMLTQPHSV SESPGKTVTI SCTGSSGSIA SNYVQWYQQR PGSAPTTVIY EDNQRPSGVP DRFSGSIDSS SNSASLTISG LKTEDEADYY CQSYDSSIHV VFGGGTKLTV L
7	Ab89_JL	FGGGKTLTVL
8	Ab89_HC; se puede preparar con o sin lisina C-terminal	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT <u>SYMH</u> WVRQA PGQGLEWMGI <u>INPSGG</u> TSY <u>AQKFQ</u> GRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCASRD <u>YSG</u> GRVYYY <u>YGMDV</u> WGQGT TVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVTVPS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGAPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPDSIAVEW ESNGQPENNY KTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMEHA LHNHYTQKSL SLSPG(K)
9	Ab89_HC_CDR1	GYTFTSYMH
10	Ab89_HC_CDR2	IINPSGGSTS YAQKFQG
11	Ab89_HC_CDR3	RDYYGSGRVY YYYGMDV
12	HC_CH1	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSC
13	HC_HINGE	DKTHTCPPCP
14	HC_CH2	APEAAGAPSV FLFPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
15	Ab89_HC_CH3	GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPDSIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMEH ALHNHYTQKS LSLSPGK
16	Ab89_VH	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYMHWVRQA

		PGQGLEWMGI INPSGGSTSY AQKFQGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCASRD YYGSGRVYYY YGMDVWGQGT TVTVSS
17	Ab89_JH	WGQGTTVTVS S
18	Ab93_LC	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNSDID IDNVHWYQQL PGMAPKLLFF HDYRPSGVSD RFSGSKSGTS ASLAIVGLQS EDEGYYYCAG LDVAMRGPVF GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
19	Ab93_LC_CDR1	SVTNSDIDID NVH
20	Ab93_LC_CDR2	HDYRPS
21	Ab93_LC_CDR3	AGLDVAMRGP V
22	Ab93_VL	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNSDID IDNVHWYQQL PGMAPKLLFF HDYRPSGVSD RFSGSKSGTS ASLAIVGLQS EDEGYYYCAG LDVAMRGPVF GGGTKLTVL
23	Ab93_HC; se puede preparar con o sin lisina C- terminal	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS <u>NAWLSWVRQA</u> PGKGLEWVGR <u>IKSKTDGGTT</u> <u>DYAAPVKGRF</u> TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT <u>GTYWGQGTLV</u> TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCPAPE AAGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG(K)
24	Ab93_HC_CDR1	GFTFSNAWLS
25	Ab93_HC_CDR2	RIKSKTDGGT TDYAAPVKG
26	Ab93_HC_CDR3	GTY
27	Ab93_VH	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS <u>NAWLSWVRQA</u> PGKGLEWVGR <u>IKSKTDGGTT</u> <u>DYAAPVKGRF</u> TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT <u>GTYWGQGTLV</u> TVSS
28	Ab93_JH	WGQGTLVTVS S
29	Ab100_LC	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG SYNLVSWYQQ HPGKAPKLM IYEVSKRPSGV SDRFSGSKSA NTASLTISGL QAEDEADYYC SSFSINGPSF VFGTGTKVTV LGQPKAAPSV TLFPPSSEEL QANKATLVCL ISDFYPGAVT VAWKADSSPV KAGVETTTPS KQSNNKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSCQV THEGSTVEKT VAPTECS
30	Ab100_LC_CDR1	TGTSSDVGSY NLVS
31	Ab100_LC_CDR2	EVSKRPS
32	Ab100_LC_CDR3	SSFSINGPSF V
33	Ab100_VL	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG SYNLVSWYQQ HPGKAPKLM IYEVSKRPSGV SDRFSGSKSA NTASLTISGL QAEDEADYYC SSFSINGPSF VFGTGTKVTV L
34	Ab100_JL	FGTGTKVTVL
35	Ab100_HC; se puede preparar con o sin lisina C- terminal	QMQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTFS <u>SYAISWVRQA</u> PGQGLEWMGG <u>IIPIFGTANY</u> <u>AQKFQGRVTI</u> TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR <u>VQ</u> <u>LDLSYYYYYG</u> <u>MDI</u> WGQGTTV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP

		VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSL SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCPAPE AAGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG(K)
36	Ab100_HC_CDR1	GGTFSSYAIS
37	Ab100_HC_CDR2	GIPIFGTAN YAQKFQG
38	Ab100_HC_CDR3	VQLDSYYYYY YGMDV
39	Ab100_VH	QMQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTFS SYAISWVRQA PGQGLEWMGG IPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARVQ LDLSYYYYYG MDVWGQGTTV TVSS
40	Ab101_LC	NFMLTQPHSV SESP GKTVTI SCTGSSGSIA SNYVQWYQQR PGSAPTTVIY EDKQRPSGVP DRFSGSIDRS SNSASLTISG LKTEDEADYY CQSYDNSLSV VFGGGTKLTV LGQPKAAPSV TLFPSSSEEL QANKATLVCL ISDFYPGAVT VAWKADSSPV KAGVETTTPS KQSNNKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSCQV THEGSTVEKT VAPTECS
41	Ab101_LC_CDR2	EDKQRPS
42	Ab101_LC_CDR3	QSYDNSLSVV
43	Ab101_VL	NFMLTQPHSV SESP GKTVTI SCTGSSGSIA SNYVQWYQQR PGSAPTTVIY EDKQRPSGVP DRFSGSIDRS SNSASLTISG LKTEDEADYY CQSYDNSLSV VFGGGTKLTV L
44	Ab101_HC; se puede preparar con o sin lisina C- terminal	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYGISWVRQA PGQGLEWMGW <u>ISAYNGNTNY</u> AQKLQGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARAY <u>GMDV</u> WGQGT VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHNKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPAP EAAGAPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCVMHEAL HNHYTQKSLS LSPG(K)
45	Ab101_HC_CDR1	GYTFTSYGIS
46	Ab101_HC_CDR2	WISAYNGNTN YAQKLQG
47	Ab101_HC_CDR3	AYGMDV
48	Ab101_VH	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYGISWVRQA PGQGLEWMGW <u>ISAYNGNTNY</u> AQKLQGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARAY <u>GMDV</u> WGQGT VTVSS
49	Ab352_LC	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNSDID IFNVHWYQQL PGTAPKLLFF HDYRPSGVSD RFGSGSKSGTS ASLAISGLRS EDEADYYCAG LDVAMRGPVF GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
50	Ab352_LC_CDR1	SVTNSDIDIF NVH
51	Ab352_VL	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNSDID IFNVHWYQQL PGTAPKLLFF HDYRPSGVSD RFGSGSKSGTS ASLAISGLRS

		EDEADYYCAG LDVAMRGPVF GGGTKLTVL
52	Ab352_HC; se puede preparar con o sin lisina C-terminal	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS <u>NAWMSWVRQA</u> PGKGLEWVGR <u>IKSKTDSGTT</u> <u>DYAAPVKGRF</u> TISRDNAKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCTT <u>GTWYGQGT</u> LV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCPAPE AAGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS FFLYSKLTV DKSRLWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG(K)
53	Ab352_HC_CDR1	GFTFSNAWMS
54	Ab352_HC_CDR2	RIKSKTDSGT TDYAAPVKG
55	Ab352_VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NAWMSWVRQA PGKGLEWVGR IKSKTDSGTT DYAAPVKGRF TISRDNAKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCTT GTWYGQGT
56	Ab732_LC	NFMLTQPHSV SESPCKTVTI SCTGSSGNIA SNYVQWYQQR PGSAPTTVIY EDKQRPSGVP DRFSGSIDRS SNSASLTISG LKTEDEADYY CQSYDNHLSV VFGGGTKLTV LGQPKAAPSV TLFPPSSEEL QANKATLVCL ISDFYPGAVT VAWKADSSPV KAGVETTPS KQSNKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSCQV THEGSTVEKT VAPTECS
57	Ab732_LC_CDR1	TGSSGNIASN YVQ
58	Ab732_LC_CDR3	QSYDNHLSV
59	Ab732_VL	NFMLTQPHSV SESPCKTVTI SCTGSSGNIA SNYVQWYQQR PGSAPTTVIY EDKQRPSGVP DRFSGSIDRS SNSASLTISG LKTEDEADYY CQSYDNHLSV VFGGGTKLTV L
60	Ab732_HC; se puede preparar con o sin lisina C-terminal	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT <u>SYGISWVRQA</u> PGQGLEWMGW <u>ISAYIGNTNY</u> <u>AQKLQGRVTM</u> TTDTSISTAY MELSRLSDD TAVYYCARAY <u>YMDVWGQGT</u> VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSLS SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPAP EAAGAPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPVLDSG SFFLYSKLTV DKSRLWQQGNV FSCVMHEAL HNHYTQKSL LSPG(K)
61	Ab732_HC_CDR2	WISAYIGNTN YAQKLQG
62	Ab732_HC_CDR3	AYYMDV
63	Ab732_VH	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYGISWVRQA PGQGLEWMGW ISAYIGNTNY AQKLQGRVTM TTDTSISTAY MELSRLSDD TAVYYCARAY YMDVWGQGT
64	Ab804_LC	QSVLTQPPSA SGTPGQRTI SCSVTNPDI IFNVHWYQQL PGTAPKLLFF HEYRPSGVSD RFGSGSKSGT ASLAIVGLQS EDEGYYYCAG LDEAMRGPVF GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
65	Ab804_LC_CDR1	SVTNPDIDIF NVH

66	Ab804_LC_CDR2	HEYRPS
67	Ab804_LC_CDR3	AGLDEAMRGP V
68	Ab804_VL	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNPDID IFNVHWYQQL PGTAPKLLFF HEYRPSGVSD RFSGSKSGTS ASLAIVGLQS EDEGYYYCAG LDEAMRGPVF GGGTKLTVL
69	Ab804_HC; se puede preparar con o sin lisina C- terminal	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS <u>NAWMSWVRQA</u> PGKGLEWVGR <u>IKSKTDSGTT</u> <u>DYAAPVEGRF</u> TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT <u>GTYWGQGT</u> LV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCPAPE AAGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG(K)
70	Ab804_HC_CDR2	RIKSKTDSGT TDYAAPVEG
71	Ab804_VH	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NAWMSWVRQA PGKGLEWVGR IKSKTDSGTT DYAAPVEGRF TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT GTYWGQGT
72	Ab1076_LC	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNTDID IFNVHWYQQL PGTAPKLLFF HDYRPSGVSD RFSGSKSGTS ASLAIVGLQS EDEGYYYCAG LDEAMRGPVF GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
73	Ab1076_LC_CDR 1	SVTNTDIDIF NVH
74	Ab1076_VL	QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSVTNTDID IFNVHWYQQL PGTAPKLLFF HDYRPSGVSD RFSGSKSGTS ASLAIVGLQS EDEGYYYCAG LDEAMRGPVF GGGTKLTVL
75	Ab1076_HC; se puede preparar con o sin lisina C- terminal	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS <u>NAWMSWVRQA</u> PGKGLEWVGR <u>IKSKTEGGDT</u> <u>DYAAPVKGRF</u> TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT <u>GTYWGQGT</u> LV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCPAPE AAGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG(K)
76	Ab1076_HC_CDR 2	RIKSKTEGGD TDYAAPVKG
77	Ab1076_VH	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NAWMSWVRQA PGKGLEWVGR IKSKTEGGDT DYAAPVKGRF TISRDDSKNT LYLQMNSLKT EDTAVYYCTT GTYWGQGT
78	Proteína de longitud completa BMP9 humana. Cursiva indica péptido señal;	<u>MCPGALWVALPLLSLLAGSLQGKPLQSWGRGSAGGNAHSPLGVP</u> <u>GGGLPEHTFNLKMFLENVKVDFLRSLNLSGVPSQDKTRVEPPQ</u> <u>YMIDLYNRYTSDKSTTPASNIVRSFSMEDAISITATEDFPFQKHIL</u> <u>LFNISIPRHEQITRAELRLYVSCQNHVDPSHDLKGSVVIYDVL</u> <u>TDWD</u> <u>SATETK</u> <u>TLVSQDIQDEGWETLEVSSAVKRWVRS</u> <u>SDSTK</u>

	Secuencia subrayada indica el prodominio; Secuencia madura se muestra en negrita.	<u>SKNKLEVTVESHRKGC</u> <u>DTL</u> <u>DISVPPGSRNLPFFVVF</u> <u>SNDHSSGT</u> <u>KETRLELRE</u> <u>MISHEQESVLKKLSKDGSTEAGESSHEEDTDGHVA</u> <u>AGSTLARRKRSAGAGSHCQKTS</u> <u>LRVNFEDIGWDSWIIAPKEY</u> EAYECKGGCFFPLADDVTPTKHAIVQTLVHLKFPTKVGKAC CVPTKLSPISVLYKDDMGVPTLKYHYEGMSVAECGCR
79	Proteína BMP9 madura humana (monómero)	SAGAGSHCQKTSLRVNFEDIGWDSWIIAPKEYEAYECKGGCFFPLADDVTPTKHAIVQTLVHLKFPTKVGKACCVPTKLSPISVLYKDDMGVPTLKYHYEGMSVAECGCR
80	Consenso de Ab93, Ab352, Ab804, Ab1076 VH CDR1	GFTFSNAW(L/M)S
81	Consenso de Ab93, Ab352, Ab804, Ab1076 VH CDR2	RIKSKT(D/E)(G/S)G(T/D)TDYAAPV(K/E)G
82	Consenso de Ab93, Ab352, Ab804, Ab1076 VL CDR1	SVTN(S/P/T)DIDI(D/F)NVH
83	Consenso de Ab93, Ab352, Ab804, Ab1076 VL CDR2	H(D/E)YRPS
84	Consenso de Ab93, Ab352, Ab804, Ab1076 VL CDR3	AGLD(V/E)AMRGPV
85	ADN VH Ab1076	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCC TGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTAC TTTAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTATTAAGCAAAACTG AGGGTGGGGATACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGA TTCACCATCTCAAGAGATGATTCAAAAAACACGCTGTATCTG CAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTA CTGTACCACAGGTACTTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC CGTCTCGAGC
86	ADN VL Ab1076	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCC GGCCAGAGGGTCACTATTTCTTGCTCTGTACCAACACCGAC ATCGACATTTTCAATGTTCACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGA ACGGCCCCCAAACCTCCTCTTCTTTCATGATTACCGGCCCTCA GGGTCTCTGACCGATTTTCCGGCTCCAAGTCTGGAACCTCA GCCTCCCTGGCCATCGTTGGCCTCCAGTCTGAGGATGAGGGT TATTATTACTGTGCAGGATTGGATGAGGCTATGAGGGGTCCG GTTTTCGGCGGCGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
87	ADN HC Ab1076	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCC TGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTAC TTTAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTATTAAGCAAAACTG AGGGTGGGGATACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGA TTCACCATCTCAAGAGATGATTCAAAAAACACGCTGTATCTG CAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTA CTGTACCACAGGTACTTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC CGTCTCGAGCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA

		GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAAACCCAAGGACACCCTCATGA TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GAAAA
88	ADN LC Ab1076	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCC GGCCAGAGGGTCACTATTTCTTGCTCTGTACCAACACCGAC ATCGACATTTTCAATGTTCACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGA ACGGCCCCCAAACCTCCTCTTCTTTCATGATTACCGGCCCTCA GGGGTCTCTGACCGATTTTCCGGCTCCAAGTCTGGAACCTCA GCCTCCCTGGCCATCGTTGGCCTCCAGTCTGAGGATGAGGGT TATTATTACTGTGCAGGATTGGATGAGGCTATGAGGGGTCCG GTTTTCGGCGGGCGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCAGCCC AAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAG GAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGT GACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGA TAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCT CCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTG AGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAG CTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAG TGGCCCCTACAGAATGTTCA
89	Péptido señal de la cadena ligera y cadena pesada del Anticuerpo	MGWSCILFLVATATGVHS

La descripción anterior y Ejemplos detallan ciertas realizaciones específicas de la revelación y describen la mejor forma contemplada por parte de los inventores. Sin embargo, se apreciará que, sin importar cuán detallada pueda parecer la descripción anterior en el texto, la revelación puede ser practicada de muchas maneras y la revelación debe ser interpretada de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas y cualquier equivalente de las mismas.

Aunque las enseñanzas reveladas se han descrito con referencia a diversas aplicaciones, métodos, kits y composiciones, se apreciará que se pueden realizar diversos

cambios y modificaciones sin apartarse del concepto, espíritu y alcance de las enseñanzas de la presente y las reivindicaciones adjuntas debajo. Si bien las presentes enseñanzas se han descrito en términos de ejemplos ilustrativos, los expertos en la materia comprenderán fácilmente que numerosas variaciones y modificaciones de estas realizaciones ejemplares son
5 posibles sin experimentación indebida. Todas estas variaciones y modificaciones se consideran dentro del espíritu, alcance y concepto de la revelación según lo definido por las enseñanzas actuales.