

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成30年4月26日 (2018.4.26)

【公表番号】特表2017-509647(P2017-509647A)

【公表日】平成29年4月6日 (2017.4.6)

【年通号数】公開・登録公報2017-014

【出願番号】特願2016-557982(P2016-557982)

【国際特許分類】

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 47/42 (2017.01)

A 6 1 K 47/50 (2017.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/22 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

【F I】

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 7/06

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 39/395 N

C 0 7 K 19/00 Z N A

C 0 7 K 16/22

C 1 2 N 15/00 G

【手続補正書】

【提出日】平成30年3月16日 (2018.3.16)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するのに使用する
ための組成物であって、アクチビン B および G D F 1 1 に結合し、これを阻害する多特異
性抗体または抗原結合フラグメントの有効量を含む、組成物。

【請求項 2】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチ

ビン B および G D F 1 1 のシグナル伝達を阻害する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、アクチビン A を実質的に阻害しない、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチビン A のシグナル伝達を実質的に阻害しない、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、アクチビン A に実質的に結合しない、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するのに使用するための組成物であって、前記組成物が、アクチビン B および G D F 1 1 を阻害する作用因子群の組合せの有効量を含み、作用因子群の前記組合せが、

a) アクチビン B に結合し、これを阻害する抗体またはその抗原結合フラグメント、および

b) G D F 1 1 に結合し、これを阻害する抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、組成物。

【請求項 7】

作用因子群の前記組合せが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチビン B および G D F 1 1 のシグナル伝達を阻害する、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

作用因子群の前記組合せが、アクチビン A を実質的に阻害しない、請求項 6 または 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

作用因子群の前記組合せが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチビン A のシグナル伝達を実質的に阻害しない、請求項 6 から 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

作用因子群の前記組合せが、アクチビン A に実質的に結合しない、請求項 6 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

作用因子群の前記組合せが、G D F 8、アクチビン A、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 5、N o d a l、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 のうちの 1 つまたは複数に結合し、これを阻害する抗体またはその抗原結合フラグメントをさらに含む、請求項 6 から 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するための組成物であって、

a) 作用因子または作用因子群の組合せであって、前記作用因子はアクチビン B および G D F 1 1 に結合し、これを阻害する多特異性抗体であり、作用因子群の前記組合せは、

i) G D F 1 1 に結合し、これを阻害する抗体またはその抗原結合フラグメント、および

i i) アクチビン B に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである作用因子または作用因子群の組合せ、ならびに

b) A c t R I I B に結合し S m a d 2 / 3 を介してシグナル伝達する 1 つまたは複数の追加のリガンドに結合し、これを阻害する抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を含む、組成物。

【請求項 13】

前記 1 つまたは複数の追加のリガンドが、G D F 8、アクチビン A、アクチビン C、ア

クチピン E、BMP 6、GDF 15、Nodal、GDF 3、BMP 3、BMP 3 B、BMP 9、および BMP 10 より選択される、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

a) アクチピン B および GDF 11 に結合し、これを阻害する多特異性抗体、および
b) ActRII B に結合し Smad 2 / 3 を介してシグナル伝達する 1 つまたは複数の追加のリガンドに結合し、これを阻害する抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を含む、請求項 12 または 13 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記対象が、骨髄異形成症候群を有する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 16】

前記対象が、サラセミアを有する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 17】

前記対象が、鎌状赤血球貧血を有する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物

。

【請求項 18】

前記対象が、骨髄線維症を有する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 19】

前記多特異性抗体または抗原結合フラグメントが、さらに GDF 8 に結合し、これを阻害する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0054

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0054】

一部の実施形態では、本開示の方法は、赤血球を増加させることを必要とする対象において、赤血球を増加させるための方法である。一部の実施形態では、方法は、貧血を処置または予防することを必要とする対象において、貧血を処置または予防するための方法である。一部の実施形態では、貧血は、多発性骨髄腫、慢性腎疾患もしくは急性腎疾患または慢性腎不全もしくは急性腎不全、対象の化学療法処置、骨髄異形成症候群、およびサラセミアのうちの 1 つまたは複数と関連する。一部の実施形態では、サラセミアは、ベータサラセミアである。一部の実施形態では、腎不全は、末期腎不全である。一部の実施形態では、対象は、鎌状赤血球貧血を有する。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するための方法であって、赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防することを必要とする対象に、アクチピン B および GDF 11 を阻害する作用因子の有効量を投与する工程を含む、方法。

(項目 2)

前記作用因子が、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチピン B および GDF 11 のシグナル伝達を阻害する、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記作用因子が、アクチピン A を実質的に阻害しない、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記作用因子が、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチピン A のシグナル伝達を実質的に阻害しない、項目 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5)

前記作用因子が、アクチビン A に実質的に結合しない、項目 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6)

前記作用因子が、G D F 8、アクチビン A、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 5、N o d a l、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、または B M P 1 0 のうちの 1 つまたは複数をさらに阻害する、項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7)

前記作用因子が、多特異性抗体である、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8)

前記多特異性抗体が、アクチビン A、アクチビン B、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 1、G D F 8、G D F 1 5、N o d a l、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 のうちの 2 つまたはこれより多くに結合する、項目 7 に記載の方法。

(項目 9)

前記作用因子が、アクチビン B および G D F 1 1 に結合する二特異性抗体である、項目 8 に記載の方法。

(項目 1 0)

前記二特異性抗体が、互いに会合した 2 つの異なる単一特異性抗体を含む、項目 9 に記載の方法。

(項目 1 1)

前記抗体が、キメラ抗体である、項目 7 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2)

前記抗体が、ヒト化抗体である、項目 7 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3)

前記抗体が、ヒト抗体である、項目 7 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4)

前記抗体が、単鎖抗体である、項目 7 から 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5)

前記抗体が、F (a b ')₂ フラグメントである、項目 7 から 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6)

前記抗体が、単鎖ダイアボディー、タンデム単鎖 F v フラグメント、タンデム単鎖ダイアボディー、または単鎖ダイアボディーと免疫グロブリン重鎖定常領域の少なくとも一部を含む融合タンパク質である、項目 7 から 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 7)

前記抗体が、二重可変ドメイン免疫グロブリンである、項目 7 から 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8)

前記抗体が、異種部分を含む、項目 7 から 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9)

前記異種部分が、糖、検出可能な標識、または安定化部分である、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記作用因子が、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む G D F 1 1 / アクチビン B トラップであり、前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 1 の 7 9 位に酸性アミノ酸を含まない、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 1)

前記作用因子が、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む G D F 1 1 / アクチビン B トラップであり、前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、アクチビン B に 1 0 0 p M 未満の K_D で結合する、項目 1 から 6 のい

れか一項に記載の方法。

(項目 2 2)

前記作用因子が、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む G D F 1 1 / アクチビン B トラップであり、前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップの G D F 1 1 に対する K_D が、A c t R I I B 受容体の野生型リガンド結合ドメインの K_D の多くとも 2 分の 1 未満である、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3)

前記作用因子が、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に、少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、G D F 1 1 / アクチビン B トラップであり、前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップのアクチビン B に対する K_D が、A c t R I I B 受容体の野生型リガンド結合ドメインの K_D の多くとも 2 分の 1 未満である、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に、少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 2 0 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 1 のアミノ酸 2 5 ~ 1 3 1 に、少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 2 0 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 3 または 4 のアミノ酸配列に少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 2 0 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 7)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 5 または 6 のアミノ酸配列に少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 2 0 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 8)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、G D F / アクチビン B トラップポリペプチドドメインに加えて、インビボ半減期、インビトロ半減期、投与、組織局在または分布、タンパク質複合体の形成、および精製のうちの 1 つまたは複数を増強する、1 つまたは複数の異種ポリペプチドドメインを含む融合タンパク質である、項目 2 0 から 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9)

前記融合タンパク質が、免疫グロブリン F c ドメインおよび血清アルブミンより選択される、異種ポリペプチドドメインを含む、項目 2 8 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記免疫グロブリン F c ドメインが、I g G 1 F c ドメインである、項目 2 9 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記免疫グロブリン F c ドメインが、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む、項目 3 0 に記載の方法。

(項目 3 2)

融合タンパク質が、前記トラップポリペプチドドメインと前記免疫グロブリン F c ドメインとの間に配置されたリンカードメインをさらに含む、項目 2 9 または 3 0 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記リンカードメインが、T G G G リンカーである、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 4 9 のアミノ酸配列に少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 3 0 から 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 5)

前記作用因子が、配列番号 9 のアミノ酸 3 0 ~ 1 1 0 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む G D F 1 1 / アクチビン B トラップである、項目 1 から 6 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記作用因子が、配列番号 9 のアミノ酸 3 0 ~ 1 1 0 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む G D F 1 1 / アクチビン B トラップであり、前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップの G D F 1 1 に対する K_D が、A c t R I I A 受容体の野生型リガンド結合ドメインの K_D の多くとも 2 分の 1 未満である、項目 1 から 6 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記作用因子が、配列番号 9 のアミノ酸 3 0 ~ 1 1 0 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む G D F 1 1 / アクチビン B トラップであり、前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップのアクチビン B に対する K_D が、A c t R I I A 受容体の野生型リガンド結合ドメインの結合アフィニティーの多くとも 2 分の 1 未満である、項目 1 から 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 9 のアミノ酸 3 0 ~ 1 1 0 に少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 9)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 1 0 のアミノ酸配列に少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 0)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 1 1 のアミノ酸配列に少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 1)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、G D F / アクチビン B トラップポリペプチドドメインに加えて、インビボ半減期、インビトロ半減期、投与、組織局在または分布、タンパク質複合体の形成、および精製のうちの 1 つまたは複数を増強する、1 つまたは複数の異種ポリペプチドドメインを含む融合タンパク質である、項目 3 5 から 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 2)

前記融合タンパク質が、免疫グロブリン F c ドメインおよび血清アルブミンより選択される、異種ポリペプチドドメインを含む、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記免疫グロブリン F c ドメインが、I g G 1 F c ドメインである、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記免疫グロブリン F c ドメインが、配列番号 1 6 より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 4 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

融合タンパク質が、前記トラップポリペプチドドメインと前記免疫グロブリン F c ドメインとの間に配置されたリンカードメインをさらに含む、項目 4 3 または 4 4 に記載の方

法。

(項目 4 6)

前記リンカードメインが、T G G G リンカーである、項目 4 5 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、配列番号 2 0 のアミノ酸配列に少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 4 2 から 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、グリコシル化アミノ酸、P E G 化アミノ酸、ファルネシル化アミノ酸、アセチル化アミノ酸、ビオチニル化アミノ酸、脂質部分にコンジュゲートされたアミノ酸、有機誘導体化剤にコンジュゲートされたアミノ酸より選択される、1 つまたは複数のアミノ酸修飾を含む、項目 2 0 から 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、グリコシル化されており、哺乳動物グリコシル化パターンを有する、項目 4 8 に記載の方法。

(項目 5 0)

前記 G D F 1 1 / アクチビン B トラップが、チャイニーズハムスター卵巢細胞株から得ることができるグリコシル化パターンを有する、項目 4 9 に記載の方法。

(項目 5 1)

赤血球を増加させることを必要とする対象において、赤血球を増加させるための、項目 1 から 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 2)

貧血を処置または予防することを必要とする対象において、貧血を処置または予防するための、項目 1 から 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 3)

前記貧血が、多発性骨髄腫、慢性腎疾患もしくは急性腎疾患または慢性腎不全もしくは急性腎不全、前記対象の化学療法処置、骨髄異形成症候群、およびサラセミアのうちの 1 つまたは複数と関連する、項目 5 2 に記載の方法。

(項目 5 4)

前記サラセミアが、ベータサラセミアである、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 5)

前記腎不全が、末期腎不全である、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記対象が、鎌状赤血球貧血を有する、項目 1 から 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 7)

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するための方法であって、赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防することを必要とする対象に、アクチビン B および G D F 1 1 を阻害する作用因子群の組合せの有効量を投与する工程を含む、方法。

(項目 5 8)

作用因子群の前記組合せが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチビン B および G D F 1 1 のシグナル伝達を阻害する、項目 5 7 に記載の方法。

(項目 5 9)

作用因子群の前記組合せが、アクチビン A を実質的に阻害しない、項目 5 7 または 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

作用因子群の前記組合せが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチビン A のシグナル伝達を実質的に阻害しない、項目 5 7 から 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 1)

作用因子群の前記組合せが、アクチビン A に実質的に結合しない、項目 57 から 60 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 62)

前記作用因子群の 1 つまたは複数が、G D F 8、アクチビン A、アクチビン C、アクチビン E、G D F 15、N o d a l、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 10 のうちの 1 つまたは複数をさらに阻害する、項目 57 から 61 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 63)

作用因子群の前記組合せが、G D F 11 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである少なくとも 1 つの作用因子を含む、項目 57 から 62 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 64)

作用因子群の前記組合せが、アクチビン B に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである少なくとも 1 つの作用因子を含む、項目 57 から 63 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 65)

作用因子群の前記組合せが、G D F 11、G D F 8、アクチビン A、アクチビン B、アクチビン C、アクチビン E、G D F 15、N o d a l、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 10 のうちの 1 つまたは複수에結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである少なくとも 1 つの作用因子を含む、項目 57 から 64 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 66)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、キメラ抗体またはそのフラグメントである、項目 63 から 65 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 67)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、ヒト化抗体またはそのフラグメントである、項目 63 から 65 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 68)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、ヒト抗体またはそのフラグメントである、項目 63 から 65 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 69)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、単鎖抗体である、項目 63 から 68 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 70)

前記抗原結合フラグメントが、F a b、F a b'、F (a b')₂、F (a b')₃、F d、および F v からなる群より選択される、項目 63 から 68 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 71)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、異種部分を含む、項目 63 から 70 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 72)

前記異種部分が、糖、検出可能な標識、または安定化部分である、項目 71 に記載の方法。

(項目 73)

作用因子群の前記組合せが、G D F 11 トラップである少なくとも 1 つの作用因子を含み、前記 G D F 11 トラップが、配列番号 1 のアミノ酸 29 ~ 109 に少なくとも 80 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 57 から 72 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 74)

作用因子群の前記組合せが、アクチビン B トラップである少なくとも 1 つの作用因子を

含み、前記アクチビンBトラップが、配列番号1のアミノ酸29～109に少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目57から73のいずれか一項に記載の方法。

(項目75)

作用因子群の前記組合せが、GDF11トラップである少なくとも1つの作用因子を含み、前記GDF11トラップが、配列番号9のアミノ酸30～110に少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目57から74のいずれか一項に記載の方法。

(項目76)

作用因子群の前記組合せが、アクチビンBトラップである少なくとも1つの作用因子を含み、前記アクチビンBトラップが、配列番号9のアミノ酸30～110に少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目57から75のいずれか一項に記載の方法。

(項目77)

作用因子群の前記組合せが、アクチビンB、アクチビンC、アクチビンE、GDF11、およびGDF8のうちの1つまたは複数の低分子アンタゴニストである少なくとも1つの作用因子を含む、項目57から76のいずれか一項に記載の方法。

(項目78)

作用因子群の前記組合せが、アクチビンBの低分子アンタゴニストである少なくとも1つの作用因子を含む、項目57から77のいずれか一項に記載の方法。

(項目79)

作用因子群の前記組合せが、GDF11の低分子アンタゴニストである少なくとも1つの作用因子を含む、項目57から78のいずれか一項に記載の方法。

(項目80)

作用因子群の前記組合せが、アクチビンA、アクチビンB、アクチビンC、アクチビンE、GDF11、GDF8、GDF15、Nodal、GDF3、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10のうちの1つまたは複数の発現を阻害する少なくとも1つのポリヌクレオチド配列を含む、項目57から79のいずれか一項に記載の方法。

(項目81)

前記ポリヌクレオチド配列が、アクチビンA、アクチビンB、アクチビンC、アクチビンE、GDF11、GDF8、GDF15、Nodal、GDF3、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10より選択される遺伝子の転写物とハイブリダイズして、前記遺伝子の発現を阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチドである、項目80に記載の方法。

(項目82)

作用因子群の前記組合せが、アクチビンBの転写物とハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、項目81に記載の方法。

(項目83)

作用因子群の前記組合せが、GDF11の転写物とハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、項目81に記載の方法。

(項目84)

前記ポリヌクレオチド配列が、アクチビンA、アクチビンB、アクチビンC、アクチビンE、GDF11、GDF8、GDF15、Nodal、GDF3、BMP3B、BMP9、およびBMP10より選択される遺伝子の転写物を標的とするRNAi配列を含む、項目80に記載の方法。

(項目85)

ポリヌクレオチド分子が、アクチビンBの転写物を標的とするRNAi配列を含む、項目84に記載の方法。

(項目86)

前記ポリヌクレオチド配列が、GDF11の転写物を標的とするRNAi配列を含む、

項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 7)

前記 R N A i 配列が、 s i R N A である、項目 8 4 から 8 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 8)

前記 s i R N A が、約 1 9 ~ 約 4 5 ヌクレオチドの長さである、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記 s i R N A が、約 2 5 ~ 約 3 0 ヌクレオチドの長さである、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記 s i R N A が、約 1 0 ~ 約 2 0 ヌクレオチドの長さである、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記 R N A i 配列が、 s h R N A である、項目 8 4 から 8 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 2)

前記 s h R N A が、1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドのステム長を有する、項目 9 1 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記 s h R N A が、1 9 ~ 2 3 ヌクレオチドのステム長を有する、項目 9 2 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記 s h R N A のループ領域が、5 ~ 9 ヌクレオチドの長さを有する、項目 9 1 から 9 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 5)

前記作用因子が、細胞ベースのアッセイにおいて、G D F 8、アクチビン A、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 5、N o d a l、G D F 3、G D F 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 のシグナル伝達のうちの 1 つまたは複数を阻害する、項目 6 に記載の方法。

(項目 9 6)

作用因子群の前記組合せが、細胞ベースのアッセイにおいて、G D F 8、アクチビン A、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 5、N o d a l、G D F 3、G D F 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 のシグナル伝達の 1 つまたは複数を阻害する、項目 5 7 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記作用因子または作用因子群の組合せが、S m a d 2 / 3 のシグナル伝達を阻害する、項目 1 から 9 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 8)

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するための方法であって、赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防することを必要とする対象に、G D F 1 1 と、A c t R I I B に結合し S m a d 2 / 3 を介してシグナル伝達する 1 つまたは複数の追加のリガンドとを阻害する作用因子または作用因子群の組合せの有効量を投与する工程を含む、方法。

(項目 9 9)

前記 1 つまたは複数の追加のリガンドが、G D F 8、アクチビン A、アクチビン B、アクチビン C、アクチビン E、B M P 6、G D F 1 5、N o d a l、G D F 3、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 より選択される、項目 9 8 に記載の方法。

(項目 1 0 0)

対象において赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防するための方法であって、赤血球レベルを高めるかまたは貧血を処置もしくは予防することを必要とする対

象に、アクチビンBと、ActRIIBに結合しSmad2/3を介してシグナル伝達する1つまたは複数の追加のリガンドとを阻害する作用因子または作用因子の組合せの有効量を投与する工程を含む、方法。

(項目101)

前記1つまたは複数の追加のリガンドが、GDF8、GDF11、アクチビンA、アクチビンC、アクチビンE、BMP6、GDF15、Nodal、GDF3、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10より選択される、項目100に記載の方法。

(項目102)

前記作用因子または作用因子群の組合せが、アクチビンAのシグナル伝達を実質的に阻害しない、項目98から101のいずれか一項に記載の方法。

(項目103)

前記作用因子または作用因子群の組合せが、細胞ベースのアッセイにおいて、アクチビンAのシグナル伝達を実質的に阻害しない、項目98から102のいずれか一項に記載の方法。

(項目104)

前記作用因子または作用因子群の組合せが、アクチビンAに実質的に結合しない、項目98から103のいずれか一項に記載の方法。

(項目105)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも1つが、GDF11に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである少なくとも1つの作用因子を含む、項目98から104のいずれか一項に記載の方法。

(項目106)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも1つが、アクチビンBに結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである、項目98から105のいずれか一項に記載の方法。

(項目107)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも1つが、GDF11、GDF8、アクチビンB、アクチビンC、GDF15、Nodal、GDF3、BMP3、BMP3B、BMP9、BMP10、およびアクチビンEのうちの1つまたは複数に結合する多特異性抗体またはその抗原結合フラグメントである、項目98から106のいずれか一項に記載の方法。

(項目108)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、キメラ抗体またはそのフラグメントである、項目105から107のいずれか一項に記載の方法。

(項目109)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、ヒト化抗体またはそのフラグメントである、項目105から107のいずれか一項に記載の方法。

(項目110)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、ヒト抗体またはそのフラグメントである、項目105から107のいずれか一項に記載の方法。

(項目111)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、単鎖抗体である、項目105から110のいずれか一項に記載の方法。

(項目112)

前記抗原結合フラグメントが、Fab、Fab'、F(ab')₂、F(ab')₃、Fd、およびFvからなる群より選択される、項目105から111のいずれか一項に記載の方法。

(項目113)

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、異種部分を含む、項目105から112のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1 4)

前記異種部分が、糖、検出可能な標識、または安定化部分である、項目 1 1 3 に記載の方法。

(項目 1 1 5)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、G D F 1 1 トラップであり、前記 G D F 1 1 トラップが、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 9 8 から 1 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1 6)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、アクチビン B トラップであり、前記アクチビン B トラップが、配列番号 1 のアミノ酸 2 9 ~ 1 0 9 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 9 8 から 1 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1 7)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、G D F 1 1 トラップであり、前記 G D F 1 1 トラップが、配列番号 9 のアミノ酸 3 0 ~ 1 1 0 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 9 8 から 1 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1 8)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、アクチビン B トラップであり、前記アクチビン B トラップが、配列番号 9 のアミノ酸 3 0 ~ 1 1 0 に少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、項目 9 8 から 1 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1 9)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、アクチビン B、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 1、G D F 8、G D F 1 5、N o d a l、G D F 3、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 のうちの 1 つまたは複数の低分子アンタゴニストである、項目 9 8 から 1 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 0)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、アクチビン B の低分子アンタゴニストである、項目 9 8 から 1 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 1)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、G D F 1 1 の低分子アンタゴニストである、項目 9 8 から 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 2)

前記作用因子、または前記作用因子群のうちの少なくとも 1 つが、アクチビン B、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 1、G D F 8、G D F 1 5、N o d a l、G D F 3、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 のうちの 1 つまたは複数の発現を阻害するポリヌクレオチドを含む、項目 9 8 から 1 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 3)

前記ポリヌクレオチド、または少なくとも 1 つのポリヌクレオチドが、アクチビン B、アクチビン C、アクチビン E、G D F 1 1、G D F 8、G D F 1 5、N o d a l、G D F 3、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、および B M P 1 0 より選択される遺伝子の転写物とハイブリダイズして、前記遺伝子の発現を阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチドである、項目 1 2 2 に記載の方法。

(項目 1 2 4)

前記ポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、アクチビン B の転写物とハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドである、項目 1 2 3 に記載の方法。

(項目 1 2 5)

前記ポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、G D F 1 1の転写物とハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドである、項目1 2 3に記載の方法。

(項目1 2 6)

前記ポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、アクチビンB、アクチビンC、アクチビンE、G D F 1 1、G D F 8、G D F 1 5、N o d a 1、G D F 3、B M P 3、B M P 3 B、B M P 9、およびB M P 1 0より選択される遺伝子の転写物を標的とするR N A i配列である、項目1 2 2に記載の方法。

(項目1 2 7)

前記ポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、アクチビンBの前記転写物を標的とするR N A i配列である、項目1 2 6に記載の方法。

(項目1 2 8)

前記ポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、G D F 1 1の転写物を標的とするR N A i配列である、項目1 2 6に記載の方法。

(項目1 2 9)

前記R N A i配列、または前記R N A i配列のうちの少なくとも1つが、s i R N Aである、項目1 2 6から1 2 8のいずれか一項に記載の方法。

(項目1 3 0)

前記s i R N A配列、または前記s i R N A配列のうちの少なくとも1つが、約1 9 ~ 約4 5ヌクレオチドの長さである、項目1 2 9に記載の方法。

(項目1 3 1)

前記s i R N A配列、または前記s i R N A配列のうちの少なくとも1つが、約2 5 ~ 約3 0ヌクレオチドの長さである、項目1 3 0に記載の方法。

(項目1 3 2)

前記s i R N A配列、または前記s i R N A配列のうちの少なくとも1つが、約1 0 ~ 約2 0ヌクレオチドの長さである、項目1 3 0に記載の方法。

(項目1 3 3)

前記R N A i配列、または前記R N A i配列のうちの少なくとも1つが、s h R N Aである、項目1 2 6から1 2 8のいずれか一項に記載の方法。

(項目1 3 4)

前記s h R N A配列、または前記s h R N A配列のうちの少なくとも1つが、1 9 ~ 2 9ヌクレオチドのステム長を有する、項目1 3 3に記載の方法。

(項目1 3 5)

前記s h R N A配列、または前記s h R N A配列のうちの少なくとも1つが、1 9 ~ 2 3ヌクレオチドのステム長を有する、項目1 3 4に記載の方法。

(項目1 3 6)

前記s h R N A配列、または前記s h R N A配列のうちの少なくとも1つのループ領域が、5 ~ 9ヌクレオチドの長さを有する、項目1 3 3から1 3 5のいずれか一項に記載の方法。