

【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GDF11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

ピン 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 1 、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 1 0 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

クチビン E、B M P 6、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、請求項1 2に記載の組成物。

【請求項 1 4】

a) 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、および
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、請求項 1 2 または 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記対象が、骨髄異形成症候群を有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記対象が、サラセミアを有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 7】

前記対象が、鐸状赤血球貧血を有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 8】

前記対象が、骨髄線維症を有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 9】

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 G D F 8 に結合し、これを阻害する、請求項 1 ~ 1 3 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】0 0 5 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 5 4】

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、鐸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、アクチビン B および G D F 1 1 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 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記作用因子が、アクチビン 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、アクチビン 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、GDF8、アクチビンA、アクチビンC、アクチビンE、GDF15、Nodal1、BMP3、BMP3B、BMP9、またはBMP10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、GDF11、GDF8、GDF15、Nodal1、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10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GDF11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10)

前記二特異性抗体が、互いに会合した2つの異なる单一特異性抗体を含む、項目9に記載の方法。

(項目11)

前記抗体が、キメラ抗体である、項目7から10のいずれか一項に記載の方法。

(項目12)

前記抗体が、ヒト化抗体である、項目7から10のいずれか一項に記載の方法。

(項目13)

前記抗体が、ヒト抗体である、項目7から10のいずれか一項に記載の方法。

(項目14)

前記抗体が、単鎖抗体である、項目7から13のいずれか一項に記載の方法。

(項目15)

前記抗体が、F(ab')₂フラグメントである、項目7から13のいずれか一項に記載の方法。

(項目16)

前記抗体が、単鎖ダイアボディー、タンデム単鎖Fv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とを含む融合タンパク質である、項目7から13のいずれか一項に記載の方法。

(項目17)

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16のいずれか一項に記載の方法。

(項目18)

前記抗体が、異種部分を含む、項目7から17のいずれか一項に記載の方法。

(項目19)

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18に記載の方法。

(項目20)

前記作用因子が、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GDF11/アクチビンBトラップであり、前記GDF11/アクチビンBトラップが、配列番号1の79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21)

前記作用因子が、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GDF11/アクチビンBトラップであり、前記GDF11/アクチビンBトラップが、アクチビンBに100pM未満のK_Dで結合する、項目1から6のいず

れか一項に記載の方法。

(項目22)

前記作用因子が、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GDF11／アクチビンBトラップであり、前記GDF11／アクチビンBトラップのGDF11に対するK_Dが、ActRIB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23)

前記作用因子が、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、GDF11／アクチビンBトラップであり、前記GDF11／アクチビンBトラップのアクチビンBに対するK_Dが、ActRIB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24)

前記GDF11／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85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目20から23のいずれか一項に記載の方法。

(項目25)

前記GDF11／アクチビンBトラップが、配列番号1のアミノ酸25～131に、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目20から23のいずれか一項に記載の方法。

(項目26)

前記GDF11／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80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目20から23のいずれか一項に記載の方法。

(項目27)

前記GDF11／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80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%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20から23のいずれか一項に記載の方法。

(項目28)

前記GDF11／アクチビンBトラップが、GDF／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20から27のいずれか一項に記載の方法。

(項目29)

前記融合タンパク質が、免疫グロブリンFc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28に記載の方法。

(項目30)

前記免疫グロブリンFcドメインが、IgG1Fcドメインである、項目29に記載の方法。

(項目31)

前記免疫グロブリンFcドメインが、配列番号16のアミノ酸配列を含む、項目30に記載の方法。

(項目32)

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Fcドメインとの間に配置されたリンクカードドメインをさらに含む、項目29または30に記載の方法。

(項目33)

前記リンクカードメインが、T G G G リンカーである、項目32に記載の方法。

(項目34)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、配列番号49のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目30から33のいずれか一項に記載の方法。

(項目35)

前記作用因子が、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GDF11/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36)

前記作用因子が、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GDF11/アクチビンBトラップであり、前記GDF11/アクチビンBトラップのGDF11に対する K_D が、ActRIIA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37)

前記作用因子が、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GDF11/アクチビンBトラップであり、前記GDF11/アクチビンBトラップのアクチビンBに対する K_D が、ActRIIA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38)

前記GDF11/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85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目35から37のいずれか一項に記載の方法。

(項目39)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、配列番号10のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目35から37のいずれか一項に記載の方法。

(項目40)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、配列番号11のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%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35から37のいずれか一項に記載の方法。

(項目41)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、GDF/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35から40のいずれか一項に記載の方法。

(項目42)

前記融合タンパク質が、免疫グロブリンFc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41に記載の方法。

(項目43)

前記免疫グロブリンFcドメインが、IgG1Fcドメインである、項目42に記載の方法。

(項目44)

前記免疫グロブリンFcドメインが、配列番号16より選択されるアミノ酸配列を含む、項目43に記載の方法。

(項目45)

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Fcドメインとの間に配置されたリンクカードドメインをさらに含む、項目43または44に記載の方

法。

(項目46)

前記リンカードメインが、T G G G リンカーである、項目45に記載の方法。

(項目47)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、配列番号20のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を含む、項目42から46のいずれか一項に記載の方法。

(項目48)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、グリコシル化アミノ酸、PEG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20から47のいずれか一項に記載の方法。

(項目49)

前記GDF11/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48に記載の方法。

(項目50)

前記GDF11/アクチビンBトラップが、チャイニーズハムスター卵巣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49に記載の方法。

(項目51)

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50のいずれか一項に記載の方法。

(項目52)

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50のいずれか一項に記載の方法。

(項目53)

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52に記載の方法。

(項目54)

前記サラセミアが、ベータサラセミアである、項目53に記載の方法。

(項目55)

前記腎不全が、末期腎不全である、項目53に記載の方法。

(項目56)

前記対象が、鐸状赤血球貧血を有する、項目1から50のいずれか一項に記載の方法。

(項目57)

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GDF11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58)

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GDF11のシグナル伝達を阻害する、項目57に記載の方法。

(項目59)

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57または58に記載の方法。

(項目60)

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57から59のいずれか一項に記載の方法。

(項目61)

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、GDF8、アクチビンA、アクチビンC、アクチビンE、GDF15、Nodal、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10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、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、GDF11、GDF8、アクチビンA、アクチビンB、アクチビンC、アクチビンE、GDF15、Nodal、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10のうちの1つまたは複数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、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、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 1 、 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 1 、 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 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、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、Nodal1、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、Nodal1、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 114)

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113に記載の方法。

(項目 115)

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トラップであり、前記GDF11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98から114のいずれか一項に記載の方法。

(項目 116)

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98から115のいずれか一項に記載の方法。

(項目 117)

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トラップであり、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98から116のいずれか一項に記載の方法。

(項目 118)

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98から117のいずれか一項に記載の方法。

(項目 119)

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、GDF11、GDF8、GDF15、Nodal、GDF3、BMP3、BMP3B、BMP9、およびBMP10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98から118のいずれか一項に記載の方法。

(項目 120)

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98から119のいずれか一項に記載の方法。

(項目 121)

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の低分子アンタゴニストである、項目98から120のいずれか一項に記載の方法。

(項目 122)

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、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ポリヌクレオチドを含む、項目98から121のいずれか一項に記載の方法。

(項目 123)

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、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122に記載の方法。

(項目 124)

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123に記載の方法。

(項目 125)

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、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である、項目123に記載の方法。

(項目126)

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、GDF11、GDF8、GDF15、Noda1、GDF3、BMP3、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配列である、項目122に記載の方法。

(項目127)

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RNAi配列である、項目126に記載の方法。

(項目128)

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、GDF11の転写物を標的とするRNAi配列である、項目126に記載の方法。

(項目129)

前記RNAi配列、または前記RNAi配列のうちの少なくとも1つが、siRNAである、項目126から128のいずれか一項に記載の方法。

(項目130)

前記siRNA配列、または前記siRNA配列のうちの少なくとも1つが、約19～約45ヌクレオチドの長さである、項目129に記載の方法。

(項目131)

前記siRNA配列、または前記siRNA配列のうちの少なくとも1つが、約25～約30ヌクレオチドの長さである、項目130に記載の方法。

(項目132)

前記siRNA配列、または前記siRNA配列のうちの少なくとも1つが、約10～約20ヌクレオチドの長さである、項目130に記載の方法。

(項目133)

前記RNAi配列、または前記RNAi配列のうちの少なくとも1つが、shRNAである、項目126から128のいずれか一項に記載の方法。

(項目134)

前記shRNA配列、または前記shRNA配列のうちの少なくとも1つが、19～29ヌクレオチドのステム長を有する、項目133に記載の方法。

(項目135)

前記shRNA配列、または前記shRNA配列のうちの少なくとも1つが、19～23ヌクレオチドのステム長を有する、項目134に記載の方法。

(項目136)

前記shRNA配列、または前記shRNA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133から135のいずれか一項に記載の方法。