(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0125979
(43) 공개일자 2018년11월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/46 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/465 (2013.01)
A61K 9/0021 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7028255
(22) 출원일자(국제) 2017년03월31일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년10월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/025618
(87) 국제공개번호 WO 2017/173413
국제공개일자 2017년10월05일
(30) 우선권주장
62/317,125 2016년04월01일 미국(US)

(71) 출원인
알렉시온 파마슈티칼스, 인코포레이티드
미국 코네티컷 06510 뉴 하벤 컬리지 스트리트 100
(72) 발명자
마로즈산, 안드레
미국 06460 코네티컷주 밀포드 유닛 에이 쉽야드 레인 23
(74) 대리인
양영준, 김영

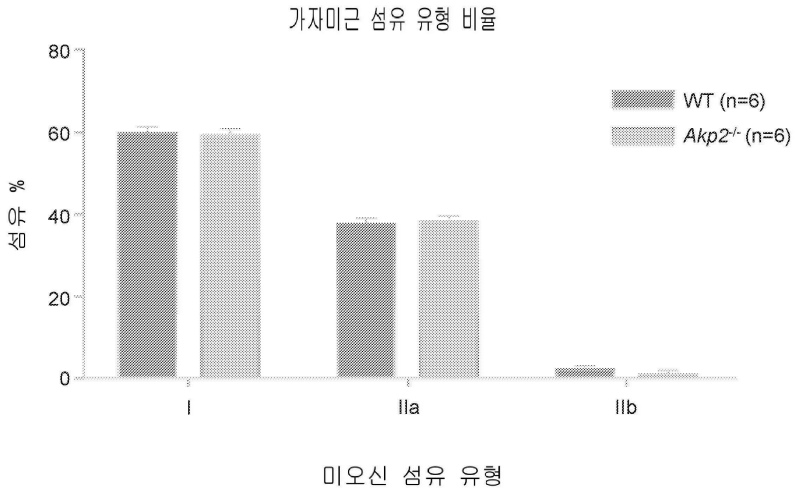
전체 청구항 수 : 총 87 항

(54) 발명의 명칭 **알칼리성 포스파타아제로 근육 약화의 치료**

(57) 요 약

본 발명은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 최소한 하나의 증상을 치료하거나 또는 개선하기 위한 방법에 관계하는데, 이들 방법은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 치료 효과량을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 21/00 (2018.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 인간 개체에서 근육 약화를 치료하거나 또는 개선하는 방법에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 치료 효과량을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 개체는 상승된 혈청 농도의 피로인산염 (PPi) 및/또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 상기 개체의 근육은 근섬유 유형 비율 및 섬유 수축성 성질에서 선택되는 최소한 하나의 성질에서, 상기 근육 약화 질환이 없는 정상적인 개체의 근육과 유의미하게 상이하지 않은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 근육은 다리 근육 중에서 최소한 하나의 유형, 특히 가자미근 및 장지신근 (EDL) 근육에서 선택되는 최소한 하나의 유형의 근육인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 근육 약화 질환은 상승된 농도의 피로인산염 (PPi) 및/또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상승된 농도의 피로인산염 (PPi)은 상기 개체에서 근육 약화를 증강하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 근육 약화 질환은 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 (CPPD) 및 가족성 저인산혈증 중에서 최소한 한 가지인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 가족성 저인산혈증은 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병 및 X 연관된 저인산혈증 (XLH) 중에서 최소한 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 상기 개체에서 피로인산염 (PPi)의 농도를 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

하기를 포함하는 방법에 있어서:

(i) 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 개체군을 확인하고;

(ii) 단계 (i)에서 개체군 사이에서 개체의 아개체군을 확인하고, 여기서:

(a) 상기 아개체군에서 개체는 상승된 혈청 농도의 피로인산염 (PPi) 및/또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖고;

(b) 상승된 농도의 피로인산염 (PPi)은 상기 아개체군에서 개체에서 근육 약화를 증강하고; 또는

(c) (a) 및 (b)이고; 그리고

(iii) 단계 (ii)에서 아개체군에서 개체의 최소한 하나의 증상을 치료하거나 또는 개선하고, 상기 방법은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 치료 효과량을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 단계 (iii)에서 개체의 근육은 근섬유 유형 비율 및 섬유 수축성 성질의 최소한 하나의 성질에서 상기 유형의 근육 약화가 없는 정상적인 개체의 근육과 유의미하게 상이하지 않은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 근육은 가자미근 및 장지신근 (EDL) 근육에서 선택되는 최소한 하나의 유형인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

청구항 10에 있어서, 상기 유형의 근육 약화는 상승된 농도의 무기 피로인산염 (PPi) 및/또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

청구항 10에 있어서, 상승된 농도의 피로인산염 (PPi)은 단계 (iii)에서 상기 개체에서 근육 약화를 증강하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

청구항 10에 있어서, 단계 (iii)에서 상기 개체는 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 (CPPD) 및 가족성 저인산혈증 중에서 최소한 한 가지를 앓거나 또는 앓기 쉬운 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 가족성 저인산혈증은 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병 및 X 연관된 저인산혈증 (XLH) 중에서 최소한 한 가지를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

청구항 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 상기 개체에서 피로인산염 (PPi)의 농도를 감소시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 최소한 1 주, 1 개월, 3 개월, 6 개월, 또는 1 년 동안 매일 개체에게 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 피하, 정맥내, 근육내, 설하, 척수강내 및 피내 루트 중에서 최소한 하나에 의해 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 피하 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP), 태반 알칼리성 포스파타아제 (PALP), 생식 세포 알칼리성 포스파타아제 (GCALP), 장관 알칼리성 포스파타아제 (IALP), 그리고 이들의 생물학적으로 기능적 단편, 융합 또는 키메라 구조체 중에서 최소한 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 TNALP, PALP, GCALP 및 IALP의 가용성 단편 중에서 최소한 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

청구항 21에 있어서, 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP)는 서열 번호: 1의 아미노산 1-485의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 융합 단백질인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 면역글로불린 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

청구항 25에 있어서, 면역글로불린 분자는 단편 결정화 영역 (Fc)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

청구항 26에 있어서, Fc는 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 28

청구항 1 내지 27 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 음성으로 하전된 펩티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 음성으로 하전된 펩티드는 D_{10}, D_{16}, E_{10} 및 E_{16} 중에서 최소한 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 30

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 하기 구조를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 뼈 표적화된 알칼리성 포스파타아제를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

Z-sALP-Y-스페이서-X-W_n-V,

여기서 sALP는 알칼리성 포스파타아제의 세포외 도메인이고;

V는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고;

X는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고;

Y는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고;

Z는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고; 그리고

W_n은 n=10 내지 16인 폴리아스파르테이트 또는 폴리글루타메이트임.

청구항 31

청구항 30에 있어서, 스페이서는 단편 결정화 영역 (Fc)을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 32

청구항 31에 있어서, Fc는 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 33

청구항 30에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 sALP-Fc-D_{10}의 구조를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 34

청구항 30에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 서열의 단위체를 포함하는 이합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 35

청구항 34에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 0.1 mg/kg/일 내지 약 20 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 36

청구항 34에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 0.5 mg/kg/일 내지 약 20 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 37

청구항 34에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 0.5 mg/kg/일 내지 약 10 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 38

청구항 34에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 1 mg/kg/일 내지 약 10 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 39

전술한 청구항 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 아스포타제 알파이고 6 mg/kg/주의 용량에서 피하 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 40

청구항 1 내지 39 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 350 미터 또는 그 이하의 6 분간 평균 보행 거리를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 41

청구항 1 내지 40 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 6 분간 평균 보행 거리에서 최소한 100 미터 또는 그 이상의 증가를 유발하는 것을 특징으로

하는 방법.

청구항 42

청구항 1 내지 41 중에서 어느 한 항에 있어서, 개체는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후 약 500 미터 또는 그 이상의 6 분간 평균 보행 거리를 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 43

청구항 1 내지 42 중에서 어느 한 항에 있어서, 개체는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후 이동 보조 장치에 대한 감소된 의존을 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 44

청구항 43에 있어서, 이동 보조 장치는 보행기, 휠체어, 고정기, 목발 및 보조기구로 구성된 군에서 선택되는 최소한 하나의 장치인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 45

청구항 1 내지 44 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 4.5 μM 또는 그 이상의 혈장 PPi 농도를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 46

청구항 1 내지 45 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 환자로부터 혈장 표본에서 PPi 농도에서 최소한 약 1 μM의 중앙 감소를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 47

청구항 1 내지 46 중에서 어느 한 항에 있어서, 개체는 알칼리성 포스파타아제를 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후 약 2 μM 내지 약 5 μM의 혈장 PPi 농도를 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 48

청구항 1 내지 47 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 90 U/L 또는 그 이하; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 134 U/L 또는 그 이하; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 156 U/L 또는 그 이하; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 141 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 62 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 127 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 54 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 89 U/L 또는 그 이하; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 48 U/L 또는 그 이하; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 59 U/L 또는 그 이하의 혈장 ALP 농도를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 49

청구항 1 내지 48 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 개체로부터 혈장 표본에서 ALP 농도에서 최소한 약 100 U/L 또는 그 이상의 중앙 증가를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 50

청구항 1 내지 49 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제를 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후, 개체는 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 273 U/L 또는 그 이상; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 518 U/L 또는 그 이상; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 369 U/L 또는 그 이상; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 460 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의

여성 개체의 경우에 약 280 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 이하 약 15 세의 남성 개체의 경우에 약 517 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 128 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 365 U/L 또는 그 이상; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 95 U/L 또는 그 이상; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 164 U/L 또는 그 이상의 혈장 ALP 농도를 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 51

청구항 1 내지 50 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 10 또는 그 이하의 평균 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2) 내구력 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 52

청구항 1 내지 51 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 10 또는 그 이상의 개체의 평균 BOT-2 내구력 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 53

청구항 1 내지 52 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 5 또는 그 이하의 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 54

청구항 1 내지 53 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 5 또는 그 이상의 개체의 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 55

청구항 1 내지 54 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 0.8 또는 그 이상의 평균 아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ) 지수 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 56

청구항 1 내지 55 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 0.5 또는 그 이하의 개체의 평균 CHAQ 지수 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 57

청구항 1 내지 56 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 40 또는 그 이하의 평균 소아 결과 데이터 수집 도구 (PODCI) 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 58

청구항 1 내지 57 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 40 또는 그 이상의 개체의 평균 PODCI 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 59

청구항 1 내지 58 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 5보다 적은 평균 근력 등급을 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 60

청구항 1 내지 59 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리

펩티드의 투여는 개체의 근력 등급에서 약 1 또는 그 이상의 평균 증가를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 61

청구항 1 내지 60 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 개체의 근력 등급에서 약 1 또는 그 이상의 평균 증가를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 62

청구항 1 내지 61 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 예측된 HHD 값의 약 80%보다 적은 평균 악력계 (HHD) 값을 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 63

청구항 1 내지 62 중에서 어느 한 항에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 예측된 HHD 값의 약 80% 또는 그 이상의 개체의 평균 HHD 값을 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 64

청구항 62 또는 63에 있어서, HHD 값은 개체의 악력, 무릎 굽힘, 무릎 신전, 엉덩관절 굽힘, 엉덩관절 신전, 또는 엉덩관절 외전을 나타내는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 65

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 6 분간 평균 보행 거리에서 최소한 100 미터 또는 그 이상의 증가를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 66

청구항 1 또는 10에 있어서, 개체는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후 약 500 미터 또는 그 이상의 6 분간 평균 보행 거리를 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 67

청구항 1 또는 10에 있어서, 개체는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후 이동 보조 장치에 대한 감소된 의존을 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 68

청구항 67에 있어서, 이동 보조 장치는 보행기, 휠체어, 고정기, 목발 및 보조기구로 구성된 군에서 선택되는 최소한 하나의 장치인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 69

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 4.5 μM 또는 그 이상의 혈장 PPi 농도를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 70

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 환자로부터 혈장 표본에서 PPi 농도에서 최소한 약 1 μM의 중앙 감소를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 71

청구항 1 또는 10에 있어서, 개체는 알칼리성 포스파타아제를 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후 약 2 μM 내지 약 5 μM의 혈장 PPi 농도를 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 72

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 90 U/L 또는 그 이하; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 134 U/L 또는 그 이하; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 156 U/L 또는 그 이하; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 141 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 62 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 127 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 54 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 89 U/L 또는 그 이하; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 48 U/L 또는 그 이하; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 59 U/L 또는 그 이하의 혈장 ALP 농도를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 73

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 개체로부터 혈장 표본에서 ALP 농도에서 최소한 약 100 U/L 또는 그 이상의 중앙 증가를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 74

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제를 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후, 개체는 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 273 U/L 또는 그 이상; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 518 U/L 또는 그 이상; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 369 U/L 또는 그 이상; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 460 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 280 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 이하 약 15 세의 남성 개체의 경우에 약 517 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 128 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 365 U/L 또는 그 이상; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 95 U/L 또는 그 이상; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 164 U/L 또는 그 이상의 혈장 ALP 농도를 전시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 75

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 10 또는 그 이하의 평균 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2) 내구력 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 76

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 10 또는 그 이상의 개체의 평균 BOT-2 내구력 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 77

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 5 또는 그 이하의 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 78

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 5 또는 그 이상의 개체의 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 79

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 0.8 또는 그 이상의 평균 아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ) 지수 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 80

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 0.5 또는 그 이하의 개체의 평균 CHAQ 지수 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 81

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 40 또는 그 이하의 평균 소아 결과 데이터 수집 도구 (PODCI) 점수를 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 82

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 약 40 또는 그 이상의 개체의 평균 PODCI 점수를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 83

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 약 5보다 적은 평균 근력 등급을 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 84

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 개체의 근력 등급에서 약 1 또는 그 이상의 평균 증가를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 85

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 예측된 HHD 값의 약 50%보다 적은 평균 악력계 (HHD) 값을 갖는 것으로 특징되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 86

청구항 1 또는 10에 있어서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 예측된 HHD 값의 약 50% 또는 그 이상의 개체의 평균 HHD 값을 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 87

청구항 85 또는 86에 있어서, HHD 값은 개체의 악력, 무릎 굽힘, 무릎 신전, 엉덩관절 굽힘, 엉덩관절 신전, 또는 엉덩관절 외전을 나타내는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **서열 목록**

[0002] 첨부된 서열 목록에서 열거된 아미노산 서열은 37 C.F.R. 1.822에서 규정된 바와 같은, 아미노산에 대한 표준 3 문자 코드를 이용하여 도시된다. 서열 목록은 2017년 3월 30일자에 창출된 ASCII 텍스트 파일 (약 84 KB)로서 제출되는데, 이것은 본원에 참조로서 편입된다.

배 경 기 술

[0003] **배경**

[0004] 저인산증 (HPP)은 상기 질환의 가장 심각한 형태의 경우에 100,000명 출생당 1명의 발생율을 갖는 희귀한, 유전적 골격 질환이다. HPP는 출생 시에 관찰될 때 종종 치명적인데, 영아 사망률이 ~70%이다. 심하게 영향을 받는 환자는 종종, 진행성 흉부 기형으로 인한 호흡 기능부전으로 영아기에 사망한다.

[0005] HPP는 조직-비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP)를 코딩하는 유전자에서 기능 상실 돌연변이로부터 발생할

수 있다. HPP는 구루병 (골연화증)으로부터 자궁내 뼈 광화의 거의 완전한 부재까지 주목할 만한 범위의 증상과 심각도를 야기한다. 대부분의 환자는 골격 변화의 특징, 짧은 신장, 고통스러운 다리, 보행 장애, 그리고 치아의 조기 빠짐을 전시한다. 가령, HPP의 영아 증상은 부적당한 체중 증가, 구루병의 외관, 손상된 골격 광화, 진행성 골격 광물제거, 늑골 골절 및 흉부 기형을 포함할 수 있고, 반면 HPP의 아동기 증상은 짧은 신장 및 골격 기형, 예를 들면, 굽은 다리 및 확장된 골간단의 결과로서 확대된 손목, 무릎과 발목을 포함할 수 있다. 근육 약화 (또는 저혈압증) 또한, HPP와 연관된 중요한 증상이다. HPP와 연관된 신체적 장애로 인해, HPP로 고통받는 환자는 건강한 환자가 도움을 필요로 하지 않으면서 매일 수행하는 일과적인 활동을 수행하는데 있어서 감소된 능력 또는 능력 없음을 종종 전시한다.

[0006] HPP에서 저혈압증은 데이터 없이, PPi 독성의 결과인 것으로 주장되었다 (Whyte, M.; *J. Bone Mineral Res.* (Jan. 2017)). 한 논문은 PPi가 소 근육 모형에서 액틴/미오신 상호작용을 교란할 수 있다는 것을 보여주었다 (*Meat Science* 84: 364-370 (2010)). 하지만, 근육 약화 및 PPi/ALP 수준에 관한 특정한 데이터는 가용하지 않았다. 초기 데이터는 골격 변화를 변화의 전반적인 방사선 인상 (RGI-C)에서 포커스와 연루시키긴 했지만, 근육 약화를 HPP의 표현형적 이질성으로부터 분리하는데 실패하였다.

[0007] 특히, 연장된 기간 동안 HPP, 특히 HPP와 연관된 외향적인 장애, 예를 들면, 근육 약화의 치료법은 알려져 있지 않다. 따라서, HPP 또는 다른 질환과 연관된 근육 약화를 치료하는데 이용될 수 있는 방법에 대한 요구가 존재한다. 부가적으로, 상승된 PPi 및/또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성에 의해 유발되거나 또는 이것과 연관된, 인간 개체에서 저혈압증 또는 근육 약화의 치료 방법에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] **요약**

[0009] 근육 약화는 HPP를 앓는 일부 환자에서 및 다른 질환 또는 장애에서 증상으로서 보고되었다. HPP에서, 상승된 PPi 농도는 기질, 예를 들면, 무기 피로인산염 (PPi), 포스포에탄올아민 (PEA) 및 피리독살 5'-인산염 (PLP)에 대한 효소인, 알칼리성 포스파타아제 (TNALP; 간/뼈/신장 유형 ALP로도 알려짐)의 조직 비특이적 동질효소를 인코딩하는 유전자 *ALPL*에서 기능 상실 돌연변이(들)에 기인한다. 본 발명은 상승된 피로인산염 (PPi) 농도 및/또는 감소된 알칼리성 포스파타아제 농도로 특징되는 개체에서 근육 약화 질환을 치료하는 방법을 교시한다.

[0010] HPP 환자의 근육 약화 표현형은 이차성인 것으로 고려되고 뼈 광화 결함에 의해 유발될 수 있는데, 이것은 HPP의 특징적인 특질로서 간주된다. 놀랍게도, 본 발명은 HPP에서 근육 약화가 아마도 뼈 결함에 기인하지 않는다고 교시하는데, 그 이유는 탈체에서 이들의 가자미근 섬유 유형 비율, 또는 가자미근 또는 EDL 근육 수축성 성질에서 야생형 (WT) 생쥐 및 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 근육 사이에서 차이 없음이 관찰되었기 때문이다. 이에 반하여, HPP에서 근육 약화는 상승된 PPi 농도에 더욱 상관되는 것으로 밝혀졌는데, 그 이유는 아스포타제 알파를 투여함으로써 PPi를 감소시키는 것이 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 근육 악력을 향상시켰기 때문이다. 따라서, 다른 HPP 증상이 없거나 또는 아직 HPP로 진단되지 않은 경우에도, 상승된 PPi 농도에 의해 특징되는 근육 약화 질환을 앓는 개체는 여전히, 아스포타제 알파에 의해 치료될 수 있다. 악력을 시험하는 방법은 개시되었다, 가령, Whyte, M. et al., *Bone* 2016 Dec; 93: 125-138; Whyte, M., et al. *JCI Insight* 2016;27:87-102; Whyte, M. et al., *Bone* 2015 Jun; 75: 229-39을 참조한다.

[0011] (1) 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 재조합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료를 위해 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)를 확인하는 방법, 그리고 (2) 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 재조합 폴리펩티드로 이런 개체의 치료가 개시된다. 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 재조합 폴리펩티드를 이용한 치료에 대한 요구 또는 치료의 효력을 평가하는데 유용한 예시적인 메트릭스는 (1) 혈장 PPi 및/또는 알칼리성 포스파타아제 농도, (2) 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2), (3) 아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ), (4) 소아 결과 데이터 수집 도구 (PODCI), (5) 베일리 영유아 발달검사, 제3판 (BSID-III), (6) 피바디 발달 운동 척도, 제2판 (PDMS-2), (7) 6 분 보행 검사 (6MWT), (8) 근력 등급, 그리고 (9) 악력계 (HHD)를 포함한다. 이들 방법은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에서 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 재조합 폴리펩티드를 이용한 치료 효력을 사정하기 위해 단독적으로 또는 임의의 조합으로 이들 설명된 메트릭스 (가령, 혈장 PPi 농도, 알칼리성 포스파타아제 농도,

BOT-2, CHAQ, PODCI, BSID-III, PDMS-2, 6MWT, 근력 등급 및 HHD) 중에서 하나 또는 그 이상의 이용을 더욱 포함하는데, 여기서 일정한 점수 또는 값에 비하여 향상은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 재조합 폴리펩티드가 근육 약화 질환을 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다.

[0012] 한 양상에서, 본 발명은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에서 근육 약화를 치료하거나 또는 개선하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 치료 효과량을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 개체는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도 및/또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성 또는 농도를 갖는다. 한 구체예에서, 상기 개체는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 혈청 농도를 갖는다. 다른 구체예에서, 상기 개체는 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도를 갖는다.

[0013] 다른 양상에서, 본 발명은 또한, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 아개체군을 확인하는 방법을 제공하는데, 여기서 상기 아개체군에서 개체는 상승된 무기 피로인산염 (PPi) 농도를 갖는다.

[0014] 일부 구체예에서, 상기 개체의 근육은 이런 근육의 최소한 하나의 성질에서, 상기 근육 약화 질환이 없는 정상적인 개체의 근육과 유의미하게 상이하지 않다. 이런 성질은 근섬유 유형 비율, 섬유 수축성 성질, 또는 당해 분야에서 공지된 다른 근육 성질에서 선택될 수 있다. 이런 근육은 가령, 골격근 또는 횡문근, 심근, 또는 평활근을 비롯하여, 개체의 임의의 근육을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이런 근육은 최소한 하나의 유형의 팔과 다리 근육, 특히 가자미근 및 장지신근 (EDL) 근육에서 선택되는 최소한 하나의 유형의 근육을 포함한다.

[0015] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도, 예를 들면, 약 4.5 μM보다 큰 PPi 농도에 의해 유발된다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 혈청 농도에 의해 유발된다. 가령, 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.71 μM 또는 그 이상일 수 있고, 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 4.78 μM 또는 그 이상일 수 있고; 그리고 성인 (가령, 18 세보다 많은 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.82 μM 또는 그 이상일 수 있다. 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도에 의해 유발된다. 일부 구체예에서, 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도는 상기 개체에서 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 증강한다. 한 구체예에서, PPi의 상승된 혈청 농도는 상기 개체에서 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 증강한다. 가령, 근육 약화 질환을 증강하는 무기 PPi의 상승된 혈청 농도는 예로서, 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 약 5.71 μM 또는 그 이상, 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 약 4.78 μM 또는 그 이상; 그리고 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 약 5.82 μM 또는 그 이상일 수 있다.

[0016] 일부 구체예에서, 근육 약화 질환은 개체에서 낮은 알칼리성 포스파타아제 농도에 의해 유발되거나 또는 증강된다. 가령, 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 낮은 알칼리성 포스파타아제 농도는 예로서, 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 90 U/L 또는 그 이하; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 134 U/L 또는 그 이하; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 156 U/L 또는 그 이하; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 141 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 62 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 127 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 54 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 89 U/L 또는 그 이하; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 48 U/L 또는 그 이하; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 59 U/L 또는 그 이하일 수 있다.

[0017] 다른 구체예에서, 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도는 상기 개체에서 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 증강한다.

[0018] 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 예로서, 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 (CPPD), 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등), 또는 근육 약화 표현형 및 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도를 갖는 다른 질환 중에서 최소한 하나를 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 예로서, 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 (CPPD), 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등), 또는 근육 약화 표현형 및 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된

농도 (가령, 혈청 농도)를 갖는 다른 질환 중에서 최소한 하나를 포함한다.

[0019] 일부 구체예에서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여는 상기 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 농도를 감소시킨다. 가령, 개체에게 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 농도를 영아 또는 소아의 경우에 약 5.71 μM 이하 (가령, 약 3.5 μM, 약 4 μM, 약 4.5 μM, 약 5 μM 또는 약 5.5 μM의 혈장 PPi 농도, 또는 약 3.5 μM 내지 약 5.5 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도); 청소년의 경우에 약 4.78 μM 이하 (가령, 약 3.5 μM, 약 4 μM 또는 약 4.5 μM의 혈장 PPi 농도, 또는 약 3.5 μM 내지 약 4.5 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도); 또는 성인의 경우에 약 5.82 μM 이하 (가령, 약 3.5 μM, 약 4 μM, 약 4.5 μM, 약 5 μM 또는 약 5.5 μM의 혈장 PPi 농도, 또는 약 3.5 μM 내지 약 5.5 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도)까지 감소시킨다.

[0020] 다른 양상에서, 본 발명은 또한, (i) 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 개체군을 확인하고; (ii) 단계 (i)에서 개체군 사이에서 개체의 아개체군을 확인하고, 여기서: (a) 상기 아개체군에서 개체는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도; (b) 상기 아개체군에서 개체에서 근육 약화를 증강하는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 모두를 갖고; 그리고 (iii) 단계 (ii)에서 상기 아개체군을 치료하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0021] 다른 양상에서, 본 발명은 또한, (i) 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 개체군을 확인하고; (ii) 단계 (i)에서 개체군 사이에서 개체의 아개체군을 확인하고, 여기서: (a) 상기 아개체군에서 개체는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도; (b) 상기 아개체군에서 개체에서 근육 약화를 증강하는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 모두를 갖고; 그리고 (iii) 단계 (ii)에서 아개체군에서 개체의 근육 약화 질환의 최소한 하나의 증상을 치료하거나 또는 개선하는 것을 포함하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 치료 효과량을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 한 구체예에서, 아개체군에서 상기 개체는 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 혈청 농도를 갖는다.

[0022] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 단계 (iii)에서 개체의 근육은 근육의 최소한 하나의 성질에서, 상기 유형의 근육 약화가 없는 정상적인 개체의 근육과 유의미하게 상이하지 않다. 한 구체예에서, 근육의 최소한 하나의 성질은 예로서, 섬유 유형 비율 및/또는 섬유 수축성 성질을 포함한다. 이런 근육은 가령, 골격근 또는 횡문근, 심근, 또는 평활근을 비롯하여, 개체의 임의의 근육을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이런 근육은 최소한 하나의 유형의 팔 및/또는 다리 근육, 특히 가자미근 및 장지신근 (EDL) 근육에서 선택되는 최소한 하나의 유형의 근육을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉽고, 그리고 상승된 농도의 PPi, 상승된 농도의 알칼리성 포스파타아제, 감소된 악력, 가령 10보다 적은 평균 BOT-2 내구력 점수, 가령 5보다 적은 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수, 가령 약 0.8보다 큰 평균 CHAQ 지수 점수, 가령 약 40보다 적은 평균 PODCI 점수, 가령 예측된 6MWT 값의 약 80%보다 적은 평균 6MWT 및/또는 가령 5보다 적은 근력 등급을 갖는 개체를 확인하는 것을 포함한다.

[0023] 가령, 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.71 μM 또는 그 이상일 수 있고, 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 4.78 μM 또는 그 이상일 수 있고; 그리고 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.82 μM 또는 그 이상일 수 있다. 추가적으로, 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 알칼리성 포스파타아제의 상승된 농도는 예로서, 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 90 U/L 또는 그 이하; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 134 U/L 또는 그 이하; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 156 U/L 또는 그 이하; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 141 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 62 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 127 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 54 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 89 U/L 또는 그 이하; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 48 U/L 또는 그 이하; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 59 U/L 또는 그 이하일 수 있다.

[0024] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도에 의해 유발된다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 혈청 농도에 의해 유발된다. 가령, 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상

승된 농도는 약 5.71 μM 또는 그 이상일 수 있고, 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 4.78 μM 또는 그 이상일 수 있고; 그리고 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.82 μM일 수 있다. 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도에 의해 유발된다.

[0025] 일부 구체예에서, 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도는 본원에서 설명된 단계 (iii)에서 상기 개체에서 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 증강한다. 한 구체예에서, 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 혈청 농도는 상기 개체에서 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 증강한다. 가령, 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.71 μM 또는 그 이상일 수 있고, 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 4.78 μM 또는 그 이상일 수 있고; 그리고 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.82 μM일 수 있다.

[0026] 다른 구체예에서, 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도는 상기 개체에서 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 증강한다.

[0027] 아개체군 선별을 위한 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 예로서, 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 (CPPD), 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등), 또는 근육 약화 표현형 및 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도를 갖는 다른 질환 중에서 최소한 하나를 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 예로서, 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 (CPPD), 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등), 또는 근육 약화 표현형 및 무기 피로인산염 (PPi)의 상승된 농도 (가령, 혈청 농도)를 갖는 다른 질환 중에서 최소한 하나를 포함한다.

[0028] 일부 구체예에서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여는 상기 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 무기 피로인산염 (PPi)의 농도를 감소시킨다. 가령, 개체에게 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 농도를 영아 또는 소아의 경우에 약 5.71 μM 이하 (가령, 약 3.5 μM, 약 4 μM, 약 4.5 μM, 약 5 μM 또는 약 5.5 μM의 혈장 PPi 농도, 또는 약 3.5 μM 내지 약 5.5 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도); 청소년의 경우에 약 4.78 μM 이하 (가령, 약 3.5 μM, 약 4 μM 또는 약 4.5 μM의 혈장 PPi 농도, 또는 약 3.5 μM 내지 약 4.5 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도); 또는 성인의 경우에 약 5.82 μM 이하 (가령, 약 3.5 μM, 약 4 μM, 약 4.5 μM, 약 5 μM 또는 약 5.5 μM의 혈장 PPi 농도, 또는 약 3.5 μM 내지 약 5.5 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도)까지 감소시킨다.

[0029] 일부 구체예에서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여는 상기 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 알칼리성 포스파타아제의 농도를 증가시킨다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 알칼리성 포스파타아제 농도를 예로서, 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 273 U/L 또는 그 이상; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 518 U/L 또는 그 이상; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 369 U/L 또는 그 이상; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 460 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 280 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 이하 약 15 세의 남성 개체의 경우에 약 517 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 128 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 365 U/L 또는 그 이상; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 95 U/L 또는 그 이상; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 164 U/L 또는 그 이상까지 증가시킨다.

[0030] 일부 구체예에서, 개체는 또한, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여 후, 이동 보조 장치 (가령, 보행기, 휠체어, 고정기, 목발 및 보조기구)에 감소된 의존을 전시할 수 있다.

[0031] 상기 양상 중에서 한 가지에서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여에 앞서, 개체는 특히, 예측된 HHD 값의 약 80%보다 적은 평균 악력계 (HHD) 값 (가령, 대략 동일한 연령, 동일한

성별 및/또는 동일한 신장의 정상적인 개체에 비하여)을 갖는 것으로 특징되고, 여기서 HHD 값은 개체의 악력, 무릎 굽힘, 무릎 신전, 엉덩관절 굽힘, 엉덩관절 신전, 또는 엉덩관절 외전을 나타낸다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 투여는 예로서, 예측된 HHD 값의 약 50% 또는 그 이상의 개체의 평균 HHD 값을 유발하고, 여기서 HHD 값은 개체의 악력, 무릎 굽힘, 무릎 신전, 엉덩관절 굽힘, 엉덩관절 신전, 또는 엉덩관절 외전을 나타낸다.

[0032] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 하루 1회, 주 2회, 주 1회, 또는 훨씬 낮은 빈도에서 개체에게 투여되거나 또는 투여될 수 있다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 개체에게 하루 1회 투여된다. 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 최소한 1 주, 2 주, 1 개월, 3 개월, 6 개월, 1 년, 또는 개체의 일생까지 더욱 긴 기간 동안 개체에게 투여될 수 있다.

[0033] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 최소한 하나의 루트에 의해 투여되거나 또는 투여될 수 있다. 이런 루트는 예로서, 피하, 정맥내, 근육내, 설하, 척수강내, 피내, 또는 당해 분야에서 공지된 다른 루트를 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 피하 투여된다.

[0034] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP), 태반 알칼리성 포스파타아제 (PALP), 생식 세포 알칼리성 포스파타아제 (GCALP), 장관 알칼리성 포스파타아제 (IALP), 그리고 이들의 생물학적으로 기능적 단편, 융합 또는 키메라 구조체 중에서 최소한 하나를 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 TNALP, PALP, GCALP 및 IALP의 가용성 단편 중에서 최소한 하나를 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP)는 서열 번호: 1의 아미노산 1-485의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이것으로 구성된다. 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP)는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이것으로 구성된다.

[0035] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 융합 단백질이다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 면역글로불린 분자를 포함한다. 이런 면역글로불린 분자는 예로서, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, $IgG_{2/4}$, 또는 다른 IgG 융합을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, IgG의 단편 결정화 영역 (Fc), 또는 전장, 또는 이들의 단편일 수 있다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 Fc는 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함한다.

[0036] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 음성으로 하전된 펩티드를 포함한다. 이런 음성으로 하전된 펩티드는 최소한 하나의 폴리(글루타민산) (polyE) 또는 폴리(아스파르트산) (polyD) 펩티드를 포함할 수 있다, 예를 들면, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16개의 연속적 산성 잔기, 특히, 아스파르트산 (D) 또는 글루타민산 (E), 예를 들면, D_{10}, D_{16}, E_{10} 및 E_{16} 중에서 최소한 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 E_6, E_7, E_8, E_9, E_{10}, E_{11}, E_{12}, E_{13}, E_{14}, E_{15}, E_{16}, D_6, D_7, D_8, D_9, D_{10}, D_{11}, D_{12}, D_{13}, D_{14}, D_{15}, 또는 D_{16}, 예를 들면, E_6, E_{10}, D_6 또는 D_{10}을 포함한다.

[0037] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 구조: Z-sALP-Y-스페이서-X-Wn-V를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 뼈 표적화된 알칼리성 포스파타아제를 포함하고, 여기서 sALP는 알칼리성 포스파타아제의 세포외 도메인이고; V는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고; X는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고; Y는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고; Z는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이고; 그리고 Wn은 폴리아스파르테이트 또는 폴리글루타메이트 (여기서 n=10 내지 16)이다.

[0038] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 스페이서는 단편 결정화 영역 (Fc)을 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 Fc는 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 sALP-Fc-D_{10}의 구조를 포함한다.

[0039] 한 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 서열의 단위체를 포함하는 이합체를 포함한다.

[0040] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 0.1 mg/kg/일 내지 약 20 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여된다. 한 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 0.5 mg/kg/일 내지 약 20 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여된다. 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 0.5 mg/kg/일 내지 약 10 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여된다. 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드는 약 1 mg/kg/일 내지 약 10 mg/kg/일의 용량, 또는 필적하는 주간 용량에서 투여된다.

[0041] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 개체는 포유동물 (가령, 인간)이다.

과제의 해결 수단

[0042] **정의**

[0043] 본원에서 이용된 바와 같이, 단수 용어 ("a" 또는 "an")는 달리 지시되지 않으면, "최소한 하나" 또는 "하나 또는 그 이상"을 의미한다. 이에 더하여, 단수 형태 ("a," "an," 및 "the")는 문맥에서 달리 명시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다.

[0044] 본원에서 이용된 바와 같이, "약"은 언급된 값의 ± 10 %, 바람직하게는 언급된 값의 ± 5 %, 또는 더욱 바람직하게는 언급된 값의 ± 2 %인 양을 지칭한다.

[0045] 본원에서 이용된 바와 같이, "최소한"은 언급된 값의 ≤ 10 %, 바람직하게는 언급된 값의 ≤ 5 %, 또는 더욱 바람직하게는 언급된 값의 ≤ 2 %인 양을 지칭한다.

[0046] "아스포타제 알파"는 HPP의 치료용으로 조제된 인간 TNALP (hTNALP) 융합 단백질인 것으로 의미된다. 아스포타제 알파는 2개의 동일한 폴리펩티드 사슬의 가용성 당단백질을 포함하는 융합 단백질이고, 여기서 각 폴리펩티드 사슬은 서열 번호: 1의 아미노산 잔기 1-726을 포함한다. 각 폴리펩티드 사슬의 구조는 hTNALP의 촉매 도메인, 인간 면역글로불린 G_1 Fc 도메인, 그리고 뼈 표적화 도메인으로서 이용된 데카-아스파르트산염 펩티드를 포함한다 (구조 hTNALP-Fc-D_{10}). 2개의 폴리펩티드 사슬은 2개의 이황화 결합에 의해 공유 연결된다. 아스포타제 알파는 미국, 유럽, 일본, 캐나다, 이스라엘, 오스트레일리아 및 한국에서 상품명 STRENSIQ® (Alexion Pharmaceuticals, Inc., New Haven, CT) 하에 승인되었다.

[0047] 용어 "개체," "피험체," 및 "환자"는 본원에서 교체가능하게 이용되고 진단, 치료, 또는 요법이 요망되는 임의의 개체, 특히 인간을 지칭한다. 다른 개체는 예로서, 소, 개, 고양이, 기니 피그, 토끼, 쥐, 생쥐, 말 등을 포함할 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, "위험에 처해있는" 개체 또는 질환에 "걸리기 쉬운" 개체는 근육 약화 질환과 연관된 질환, 장애 또는 증상이 발달할 위험을 갖는 것으로 확인된 개체이다.

[0048] 본원에서 이용된 바와 같이, "평균"은 데이터 세트의 평균 또는 중앙을 표현하는 수치 값을 지칭한다. 데이터 세트의 평균은 데이터 세트에서 값의 합계를 그들의 숫자로 나눔으로써 계산된다. 데이터 세트의 중앙은 홀수의 목록 데이터에서 중간 값을 결정함으로써, 또는 짝수의 목록에서 중간에서 2개 데이터 값의 평균을 결정함으로써 계산된다.

[0049] 본 발명에서 TNALP 또는 다른 유전자 또는 단백질에 대해 이용된 용어 "야생형" "또는 "야생형 서열"은 이것이 정상적인 인간, 비인간 포유동물, 또는 다른 살아있는 생물체에서 자연적으로 발생할 때 이런 유전자 또는 단백질의 전형적인 형태를 지칭한다. 야생형 서열은 비표준, "돌연변이체" 대립형질 또는 아미노산 서열/변형/상호작용에 의해 생산된 것과 대조적으로, 유전자의 경우에 좌위에서 표준 "정상적인" 대립형질, 또는 폴리펩티드 또는 단백질의 경우에 표준 "정상적인" 일차 아미노산 서열 (임의선택적으로, 아미노산 잔기에 표준 "정상적인" 번역후 변형 및/또는 아미노산 잔기 사이에서 사슬간 결합 및/또는 상호작용을 갖는) 지칭할 수 있다. "돌연변이체" 대립형질은 크게 변할 수 있고, 그리고 유전적 변이가 개체군 내에서 일어나면, 심지어 야생형이 되기도 한다. 현재, 대부분의 또는 모든 유전자 좌위 (및 덜 빈번하지만, 대부분의 폴리펩티드 서열에 대해서도 여전히 가능)는 종의 지리학적 범위 전역에서 빈도에서 서로 다른 다양한 대립형질 형태에서 존재하고, 그리고 균일한 야생형이 반드시 존재할 필요는 없는 것으로 인지된다. 일반적으로, 하지만, 가장 유력한 대립형질 또는 아미노산 서열 - 다시 말하면, 정상적인 개별 인간 또는 다른 생물체 사이에서 가장 높은 빈도를 갖는 것 -은 본 발명에서 야생형으로서 간주되는 것이다.

[0050] 본 명세서에서 인간 또는 다른 생물체에 대해 이용된 용어 "정상적인"은 달리 특정된 경우를 제외하고, 유관한 유전자 또는 폴리펩티드/단백질의 일탈적 활성 (이것은 예로서, 유전자 또는 단백질 산물의 결함 또는 결여 및/또는 유전자 또는 단백질 산물의 결손 또는 기능 상실에 기인할 수 있다)에 의해 유발되거나 또는 이것에 관련된 임의의 질환 (가령, HPP), 장애 및/또는 증상 또는 생리학적 결과 (가령, 근육 약화)가 없는 인간 또는 다른 생물체를 지칭한다. 정상적인 인간에 대한 가장 명백한 실례는 근육 약화 또는 근육 약화 증상을 결여하고, 그리고 HPP-관련된 근육 약화를 유발할 수 있는, 유전자 또는 단백질 (가령, ALPL 유전자 및 ALP 단백질)에 대한 돌연변이 또는 변형을 결여하는 인간이다. ALP 기능에 집중하는 다른 시나리오에서, 본 발명에서 "정상적인" 인간의 범위는 일탈적 내인성 알칼리성 포스파타아제 활성 (이것은 예로서, 기질 (PPi, PEA 및 PLP) 수준에 의해 시험되고, 그리고 다른 건강한 또는 정상적인 인간에서 상응하는 활성과 비교될 수 있다)을 갖지 않는 임의의 인간을 포함하도록 확대될 수 있다.

[0051] 본원에서 이용된 바와 같이, "상승된" 또는 "증가된" 농도는 야생형 개체에서, 근육 약화 질환이 없는 다른 개체에서, 개체가 이런 근육 약화 질환을 앓지 않는 시점에서 상기 개체에서, 또는 개체가 이런 근육 약화 질환을 앓은 적이 없다면 상기 개체에서 농도보다 높은, 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에서 농도 (가령, PPi의)를 지칭한다. 이런 "상승된 농도"는 개체의 임의의 세포, 조직, 장기 또는 부분을 비롯하여, 본원에서 설명된 개체 내부에서 상승된 농도를 지칭한다. 한 구체예에서, 이런 "상승된 농도"는 개체의 혈청에서 상승된 농도를 포함한다.

[0052] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "베일리 영유아 발달검사, 제3판" 또는 "BSID-III"은 환자의 운동 (소근육 및 총체적), 언어 (수용적 및 표현적), 그리고 인지 발달을 사정하는데 이용되는 계측의 표준화된 계열을 지칭한다. Bayley, (2006). *Bayley scales of infant and toddler development: administration manual*. San Antonio, TX: Harcourt Assessment를 참조하는데, 이것은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다. BSID-III 계측은 환자에게 운영된 일련의 발달 수행 과제를 포함한다. 성공적으로 완결된 항목의 미가공 점수는 척도화된 점수로 전환된다. 척도화된 점수는 이후, 건강한, 연령-조정된 환자와 비교하여 환자의 성과를 결정하는데 이용된다. BSID-III은 또한, 사회 정서적 적응 행동 설문지를 포함할 수 있는데, 이것은 환자의 적응 행동의 범위를 확립하기 위해 부모/후견인에 의해 완결된다. 가령, BSID-III 점수 (가령, BSID-III 총체적 운동 기능 점수)를 결정하기 위한 계측은 파악, 지각-운동 통합, 운동 계획과 속도, 시각 추적, 뻗기, 물체 움켜잡기, 물체 조작, 기능의수 기술, 촉각 정보에 대한 반응, 사지와 몸통의 움직임, 정적 위치설정, 동적 움직임, 균형, 그리고 운동 계획을 포함할 수 있다. 이들 환자 치수는 이후, 0 내지 14의 범위에서 변하는 BSID-III 척도화된 점수 (가령, BSID-III 총체적 운동 기능 척도화된 점수)로 전환되는데, 여기서 약 7 내지 약 13의 점수가 건강한 환자의 정상 범위인 것으로 고려된다.

[0053] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "뼈-표적화 모이어티"는 이러한 뼈-표적화 모이어티가 특이하게, 골기질에 대해 약 10^{-6} M 내지 약 10^{-15} M (가령, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M, 10^{-14} M, 또는 10^{-15} M)의 생체내 결합 친화성을 갖도록, 골기질에 대한 충분한 친화성을 갖는, 길이에서 1 및 50개 아미노산 잔기 사이의 아미노산 서열을 지칭한다.

[0054] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판" 또는 "BOT-2"는 예로서, 약 4 내지 약 21 세의 환자에 대한 총체적 및 소근육 운동 성과의 표준화된 검사의 두 번째 판을 지칭한다. Bruininks, R. H. (2005). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, (BOT-2)*. Minneapolis, MN: Pearson Assessment를 참조하는데, 이것은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다. BOT-2는 다양한 환자의 총체적 및 소근육 운동 기술을 사정하기 위해 개별적으로 운영된다. 특히, BOT-2는 HPP를 앓는 환자에서 신체적 장애 및 이동성 제한을 평가하는데 이용될 수 있다. BOT-2는 다음 분야에서 복합 BOT-2 점수를 제공한다: 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형, 그리고 상지 협응. 가령, BOT-2 내구력 점수는 환자에게 윗몸 일으키기, 브이업, 제자리 멀리뛰기, 월싯 및 푸시업을 수행하도록 함으로써 결정될 수 있다. 진행 속도와 민첩성 점수는 환자에게 평균대 위를 걸어가거나 또는 왕복 달리기, 두 다리 사이드 홉, 또는 한 다리 사이드 홉을 수행하도록 함으로써 결정될 수 있다. BOT-2 내구력 및 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수 둘 모두 0 내지 25의 범위에서 변하는데, 여기서 약 10 내지 20의 점수가 건강한 환자를 나타내는 것으로 고려된다.

[0055] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "아동기 건강 사정 설문지" 또는 "CHAQ"는 1 내지 19 세의 환자, 예를 들면, HPP를 앓는 환자의 건강 상태 (가령, 일상 생활 활동 (ADLs)을 수행하는 능력 및 통증의 발생)을 사정하는데 이용되는 설문지를 지칭한다. CHAQ 지수의 설명을 위해, 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 Bruce & Fries (*J.*

Rheumatol. 30(1): 167-178, 2003)를 참조한다. CHAQ는 8 세보다 많은 소아의 경우에 면담 또는 자가-보고에 의해 운영될 수 있다. CHAQ는 분장/손질, 일어나기, 식사, 보행, 위생, 뻗기, 움켜잡기 및 활동에 대한 8가지 하위척도를 포함한다. 각 범주 내에 점수의 범위는 0 내지 3인데, 여기서 0의 점수는 어려움이 없음을 지시하고; 1의 점수는 일부 어려움을 지시하고; 2의 점수는 많은 어려움을 지시하고; 그리고 3의 점수는 환자가 활동을 수행할 수 없다는 것을 지시한다. CHAQ 지수는 또한, 통증의 존재와 심각도를 결정하는데 이용될 수 있다.

[0056] "세포외 도메인"은 선천적 단백질, 예를 들면, 알칼리성 포스파타아제의 임의의 기능적 세포외 부분인 것으로 의미된다. 특히, 세포외 도메인은 신호 펩티드를 결여한다.

[0057] "Fc"는 면역글로불린 중쇄의 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는, 면역글로불린, 예를 들면, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-3 또는 IgG-4의 단편 결정화 영역인 것으로 의미된다. Fc는 또한, Fab 및 Fc 영역을 연결하는 힌지 영역의 임의의 부분을 포함할 수 있다. Fc는 인간을 비롯한 임의의 포유동물의 것일 수 있고, 그리고 번역후 변형될 수 있다 (가령, 글리코실화에 의해). 무제한적 실례에서, Fc는 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 인간 IgG-1의 단편 결정화 영역일 수 있다.

[0058] "단편"은 바람직하게는, 참고 핵산 분자 또는 폴리펩티드의 전체 길이의 최소한 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상을 내포하는, 폴리펩티드 또는 핵산 분자의 부분인 것으로 의미된다. 단편은 예로서, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 400, 500, 600, 700개, 또는 폴리펩티드의 전체 길이까지 더욱 많은 아미노산 잔기를 내포할 수 있다. 예시적인 sALP 단편은 ALP의 아미노산 잔기 18-498, 18-499, 18-500, 18-501, 18-502, 18-503, 18-504, 18-505, 18-506, 18-507, 18-508, 18-509, 18-510, 18-511, 또는 18-512 (가령, 서열 번호: 2-6)를 갖고, 그리고 추가 C 말단 및/또는 N 말단 부분을 포함할 수 있다.

[0059] 본원에서 교체 가능하게 이용된 바와 같이, 용어 "악력계" 및 "HHD"는 개체, 특히, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 악력 및 근력을 계측하는 방법을 지칭한다. 검력계는 개체 (가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체)의 악력, 무릎 굽힘, 무릎 신전, 엉덩관절 굽힘, 엉덩관절 신전 및 엉덩관절 외전을 사정하는데 이용될 수 있다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 무릎 굽힘과 신전, 그리고 또한, 엉덩관절 굽힘, 신전 및 외전은 예로서, MICROFET2™ 검력계를 이용하여 계측될 수 있고, 반면 개체의 악력은 예로서, Jamar 악력계를 이용하여 계측될 수 있다. 특히, 운영자는 검력계를 움직이지 않게 유지하고, 그리고 개체는 검력계에 대항하여 최대한의 힘을 발휘한다. 피크 힘 데이터는 파운드에서 수집되고, 이후 뉴턴 (N)으로 전환된다. 이후, 토크 값이 N-미터에서 사지 길이를 이용하여 계산된다. 토크 값은 이후, 예로서 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 동일한 신장의 정상적인 개체의 값과 비교되고, 그리고 개체의 HHD 값을 산출하기 위해 백분율 값으로서 표시될 수 있다.

[0060] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "저인산증" 또는 "HPP"는 예로서, 조직-비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP)를 인코딩하는 ALPL (알칼리성 포스파타아제, 간/뼈/신장) 유전자에서 하나 또는 그 이상의 기능 상실 돌연변이에 의해 유발된 희귀한, 유전적 골격 장애를 지칭한다. HPP는 영아 HPP, 아동기 HPP, 출생전후 HPP (가령, 양성 출생전후 HPP 또는 치명적인 출생전후 HPP), 또는 치아-HPP로서 더욱 특징될 수 있다.

[0061] "미경험 환자" 또는 "미경험 개체"는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료를 제공받은 적이 없는, 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 앓는 환자 또는 개체인 것으로 의미된다.

[0062] 본원에서 이용된 바와 같이, "통증"은 본원에서 설명된 근육 약화 질환에 의해 유발된 신체적 고통 또는 불편, 예를 들면, 근육 통증을 지칭한다. 가령, 통증의 증상은 예로서, 쓰라림, 긴장, 또는 경직을 포함할 수 있다. 통증의 심각도는 환자 사이에서 달라질 수 있다 (가령, 만성 통증 또는 급성 통증). 특히, 만성 통증은 3 내지 6 개월보다 길게 지속되는 통증, 또는 치유의 예상된 기간 너머까지 연장되는 통증을 지칭한다. 대조적으로, 급성 통증은 전형적으로, 3 내지 6 개월보다 적게 지속되는 통증을 지칭한다. 본원에서 설명된 바와 같이, 치료 조성물 (가령, sALP, 예를 들면, 아스포타제 알파를 포함)은 통증의 증상 (가령, 불편, 쓰라림, 긴장 또는 경직) 및 이의 합병증 (가령, 피로, 불면증, 약화된 면역계, 우울증, 불안, 스트레스, 자극감수성 또는 장애)을 완화하거나 또는 최소한 부분적으로 완화하는데 충분한 양으로, 통증 (가령, 근육 통증)으로 고통받는 환자에게

투여될 수 있다.

[0063] 용어 "펩티드," "폴리펩티드," 및 "단백질"은 교체가능하게 이용되고, 그리고 번역후 변형 (가령, 글리코실화 또는 인산화)과 상관없이, 본원에서 설명된 바와 같은 자연발생 또는 비자연발생 폴리펩티드 또는 펩티드의 전부 또는 일부를 구성하는, 2개 또는 그 이상의 자연 또는 비자연 아미노산 잔기의 임의의 사슬을 지칭한다.

[0064] "제약학적으로 허용되는 담체" 또는 "제약학적으로 허용되는 부형제"는 각각, 자신과 함께 투여되는 화합물의 치료적 성질을 유지하면서, 치료되는 환자에게 생리학적으로 허용되는 최소한 하나의 담체 또는 부형제인 것으로 의미된다. 한 가지 예시적인 제약학적으로 허용되는 담체 물질은 생리 식염수이다. 가령, 제약학적으로 허용되는 담체는 염화나트륨 (가령, 150 mM 염화나트륨) 및 인산나트륨 (가령, 25 mM 인산나트륨)을 포함할 수 있다. 다른 생리학적으로 허용되는 담체 및 이들의 제제는 당업자에게 공지되어 있고, 그리고 예로서, Remington's Pharmaceutical Sciences (제20판), A. Gennaro, Ed., 2000, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA에서 설명된다.

[0065] "제약학적 조성물"은 최소한 하나의 제약학적으로 허용되는 부형제, 희석제, 또는 담체로 조제된, 본원에서 설명된 바와 같은 폴리펩티드 또는 핵산 분자를 내포하는 조성물인 것으로 의미된다. 제약학적 조성물은 환자에서 질환 또는 사건의 치료 또는 예방을 위한 치료적 섭생의 일부로서 정부 규제 당국의 승인 하에 제조되거나 또는 판매될 수 있다. 제약학적 조성물은 예로서, 단위 복용 형태에서 피하 투여, 정맥내 투여 (가령, 미립자 색전이 없는 무균 용액으로서 및 정맥내 이용에 적합한 용매 시스템에서), 경구 투여 (가령, 정제, 캡슐, 당의정, 젤라틴 캡슐 또는 시럽), 또는 본원에서 설명된 임의의 다른 제제를 위해 조제될 수 있다. 한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 피하 투여되거나 또는 피하 투여용으로 조제된다.

[0066] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "신체적 장애"는 예로서, 환자의 이동, 기능적 지구력 및 일상 생활 활동 (ADL)을 수행하는 능력을 제약하거나 또는 제거할 수 있는 생리학적 상태, 예를 들면, 뼈 허약 및 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 지칭한다. 특히, 신체적 장애는 건강한 환자가 도움을 필요로 하지 않으면서 매일 수행하는 일과적인 활동, 예를 들면, 기능적인 이동 또는 이전 (가령, 보행), 입욕과 샤워, 분장, 자가-영양공급, 그리고 개인 위생과 손질인 ADL을 수행하는 환자의 능력을 제약하거나 또는 제거할 수 있다. 본원에서 설명된 바와 같이, 치료 조성물 (가령, sALP, 예를 들면, 아스포타제 알파를 포함하는 조성물)은 근육 약화와 연관된 신체적 장애의 심각도 및/또는 빈도를 감소시키기 위해 환자에게 투여될 수 있다.

[0067] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "소아 결과 데이터 수집 도구" 또는 "PODCI"은 19 세 미만의 환자, 특히 만성적인 건강 장애를 앓는 환자, 예를 들면, HPP를 앓는 환자의 전체 건강, 통증의 발생 및 ADL을 수행하는 능력을 사정하는데 이용된 설문지를 지칭한다. PODCI에 관한 설명을 위해, 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 Plint et al. (*J. Pediatr. Orthop. 23*(6): 788-790, 2003)을 참조한다. 상기 설문지는 환자에 의해 또는 환자의 상태를 알고 있는 환자의 부모/후견인에 의해 완결될 수 있다. PODCI로부터 산출된 8가지 척도는 다음을 포함한다: 1) 일일 개인 위생과 학생 활동을 수행할 때 목격되는 어려움을 계측하는 상지와 신체 기능 척도; 2) 일상 활동에서 일과적인 움직임 및 운동 활동을 수행할 때 경험되는 어려움을 계측하는 이전과 기본 이동성 척도; 3) 더욱 활발한 활동 또는 스포츠에 참여할 때 목격되는 어려움 또는 제약을 계측하는 스포츠/신체 기능 척도; 4) 지난 주 동안 경험된 통증의 수준을 계측하는 통증/편안함 척도; 5) 치료의 장기간 예상을 계측하는 치료 기대 척도; 6) 용색에 대한 전반적인 만족 및 자기 또래의 친구 등과의 동질감을 계측하는 행복 척도; 7) 현재 제약이 평생 동안 지속되는 상태이면, 이러한 제약의 환자 용인을 계측하는 증상에 대한 만족 척도; 그리고 8) 상기 열거된 첫 4가지 척도로부터 계산된 전반적인 조합된 척도인 전역 기능 척도. 표준화된 점수는 PODCI에서 일련의 질문으로부터 산출되고 0 내지 100 규모로 전환되는데, 여기서 0은 유의미한 장애를 나타내고, 그리고 100은 더욱 적은 장애를 나타낸다.

[0068] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "피바디 발달 운동 척도, 제2판" 또는 "PDMS-2"는 출생으로부터 아동기 (가령, 영아 및 소아)까지의 환자에서 총체적 및 소근육 운동 기술의 사정을 제공하는 초기 아동기 운동 발달 프로그램을 지칭한다. PDMS-2 척도에 관한 설명을 위해, 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 van Hartingsveldt et al. (*Occup. Ther. Int.* 12(1): 1-13, 2005)을 참조한다. PDMS-2는 초기 발달의 상호관계된 운동 능력을 계측하는 6가지 하위검사로 구성된다. 이들 6가지 하위검사는 다음을 포함한다: 1) 한 장소로부터 다른 장소로 이동하는 환자의 능력을 계측하는 운동 하위검사 (계측은 네발기기, 걷기, 달리기, 호핑 및 앞으로 점핑을 포함한다); 2) 환경적 사건에 자동적으로 반응하는 환자의 능력을 계측하는 반사 하위검사; 3) 무게 중심 내에서 자신의 신체의 제어를 지속하고 평형을 유지하는 환자의 능력을 계측하는 부동 하위검사; 4) 물체를 조작하는, 예를 들면, 공을 잡고, 던지고, 차는 환자의 능력을 계측하는 물체 조작 하위검사; 5) 자신의 손을

이용하는 환자의 능력, 예를 들면, 한 손으로 물체를 유지하는 능력 및 양손의 손가락의 제어된 이용을 필요로 하는 행위를 계측하는 움켜짐 하위검사; 그리고 6) 자신의 시각 지각 기술을 이용하여 복잡한 눈-손 협응 과제, 예를 들면, 물체에 손을 뻗어 움켜잡음, 블록으로 집짓기 및 디자인 모방을 수행하는 환자의 능력을 계측하는 시각 운동 통합 하위검사. 각 하위검사에 대한 PDMS-2 치수는 PDMS-2 점수, 예를 들면, 0 내지 13의 범위에서 변하는 PDMS-2 운동 표준 점수로 전환되는데, 여기서 건강한 환자의 범위는 약 7 내지 약 13이다.

[0069] 용어 "sALP," "가용성 알칼리성 포스파타아제," 및 "알칼리성 포스파타아제의 세포외 도메인"은 교체가능하게 이용되고, 그리고 가용성, 비-막-결합된 알칼리성 포스파타아제 또는 도메인, 이들의 생물학적으로 활성 단편, 또는 이들의 생물학적으로 활성 변이체를 지칭한다. sALP는 예로서, C 말단 당지질 앵커를 결여하는 알칼리성 포스파타아제 (GPI 신호 서열, 예를 들면, 인간 TNALP의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드 (서열 번호: 2, 3, 4, 5, 또는 6))를 포함한다. 특히, TNALP는 예로서, 서열 번호: 1의 아미노산 잔기 1-485를 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드, 예를 들면, 아스포타제 알파, 또는 서열 번호: 1의 아미노산 잔기 1-485에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체를 포함할 수 있다. sALP는 예로서, 인간 TNALP의 포유류 오르소로그, 예를 들면, 붉은털 원숭이 TNALP (서열 번호: 7), 쥐 TNALP (서열 번호: 8), 개 TNALP (서열 번호: 9), 돼지 TNALP (서열 번호: 10), 뮤린 TNALP (서열 번호: 11), 소 TNALP (서열 번호: 12-14), 또는 고양이 TNALP (서열 번호: 15)를 더욱 포함한다. sALP는 또한, 인간 PALP의 가용성, 비-막-결합된 형태 (가령, 서열 번호: 16 또는 17의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드), GCALP (가령, 서열 번호: 18의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드), IALP (가령, 서열 번호: 19의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드), 그리고 알칼리성 포스파타아제 활성, 예를 들면, PPi를 가수분해하는 능력을 유지하는 이들의 추가 변이체 및 유사체를 포함한다. sALP는 특히, N 말단 신호 펩티드 (가령, 서열 번호: 2-6, 8, 11-13, 또는 15의 aa 1-17 또는 서열 번호: 7의 aa 1-25)를 결여한다.

[0070] "sALP 폴리펩티드"는 구조 A-sALP-B를 갖는 폴리펩티드인 것으로 의미되고, 여기서 sALP는 본원에서 규정된 바와 같고, 그리고 A와 B는 각각 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열이다. 예시적인 sALP 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 1-485를 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 아미노산 서열을 갖는다. 다른 예시적인 sALP 폴리펩티드는 본원에서 설명된 임의의 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, 서열 번호: 1 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파의 sALP 융합 폴리펩티드)를 포함한다.

[0071] "신호 펩티드"는 폴리펩티드를 분비 경로 (가령, 세포외 공간)를 향해 지향시키는, 폴리펩티드의 N 말단에서 짧은 펩티드 (5-30개 아미노산 길이)인 것으로 의미된다. 신호 펩티드는 전형적으로, 폴리펩티드의 분비 동안 개열된다. 신호 서열은 폴리펩티드를 세포내 구획 또는 소기관, 예를 들면, 골지 기관으로 지향시킬 수 있다. 신호 서열은 폴리펩티드를 세포의 특정 영역으로 표적화시키는 공지된 기능을 갖는 펩티드에 대한 상동성 또는 생물학적 활성에 의해 확인될 수 있다. 당업자는 쉽게 가용한 소프트웨어 (가령, Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705, BLAST, 또는 PILEUP/PRETTYBOX 프로그램)를 이용함으로써 신호 펩티드를 확인할 수 있다. 신호 펩티드는 예로서, 서열 번호: 2-6의 아미노산 잔기 1-17 또는 서열 번호: 7의 아미노산 잔기 1-25와 실제적으로 동일한 것일 수 있다.

[0072] 본원에서 이용된 바와 같이, 폴리펩티드 또는 핵산 서열이 참고 서열에 "최소한 X% 서열 동일성"을 갖는 것으로 지칭될 때 (여기서 "X"는 실수이다), 상기 폴리펩티드 또는 핵산에서 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드의 최소한 X 퍼센트는 이들 서열이 최적으로 정렬될 때 참고 서열의 것들과 동일한 것으로 의미된다. 서열의 최적 정렬은 당해 분야에서 지식 범위 안에 있는 다양한 방식으로, 예를 들면, Smith Waterman 정렬 알고리즘 (Smith et al., *J. Mol. Biol.* 147:195-7, 1981) 및 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215: 403-10, 1990)에 의해 결정될 수 있다. 이런 저런 정렬 알고리즘은 공개적으로 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들면, GeneMatcher Plus (Schwarz and Dayhoff, Atlas of Protein Sequence and Structure, Dayhoff, M.O., Ed pp 353-358, 1979) 내로 통합된 "Best Fit" (Smith and Waterman, Advances in Applied Mathematics, 482-489, 1981), BLAST, BLAST-2, BLAST-P, BLAST-N, BLAST-X, WU-BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, CLUSTAL, Megalign (DNASTAR), 또는 정렬을 위한 다른 소프트웨어/하드웨어를 이용하여 접근가능하다. 이에 더하여, 당업자는 비교되는 서열의 길이에 걸쳐 최적 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 정렬을 계측하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0073] 용어 "환자" 및 "개체"는 교체가능하게 이용되고, 그리고 인간 또는 비인간 포유동물, 예를 들면, 소, 말, 개,

양, 또는 고양이를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 포유동물을 지칭한다.

[0074] "치료 효과량"은 HPP의 최소한 하나의 증상을 실제적으로 향상시키거나, 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 억제하거나, 또는 정지시키는데 충분한, 본원에서 설명된 폴리펩티드 또는 핵산 분자의 양인 것으로 의미된다. 본원에서 설명된 조성물의 치료 효과량은 치료되는 장애의 심각도, 그리고 환자의 조건, 체중 및 전반적인 상태에 의존할 수 있고, 그리고 이런 인자를 고려하여 당업자에 의해 결정될 수 있다. 본원에서 설명된 조성물의 치료 효과량은 단일 용량에서 또는 일정한 기간에 걸쳐 투여된 복수 용량에서 환자에게 투여될 수 있다.

[0075] "치료하는," "치료한다," 또는 "치료"는 예로서, 제약학적 조성물을 투여함으로써, 근육 약화 질환 (가령, HPP를 앓는 환자에서)을 치유하거나, 개선하거나, 안정시키거나, 이의 가능성을 감소시키거나, 또는 예방하려는 의도를 갖는 환자의 의학적 관리 및/또는 근육 약화 질환 (가령, HPP를 환자에서)을 전시하거나 또는 앓을 가능성이 높은 환자의 관리인 것으로 의미된다.

[0076] 이러한 용어는 적극 치료, 다시 말하면, 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건의 향상을 향해 특이적으로 지향되거나 또는 이것의 치유와 연관된 치료를 포함하고, 그리고 또한, 원인 치료, 다시 말하면, 연관된 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건의 원인의 제거를 향해 지향된 치료를 포함한다. 이에 더하여, 이러한 용어는 완화 치료, 다시 말하면, 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건의 치유보다는 최소한 하나의 증상의 경감 또는 향상을 위해 설계된 치료; 증상 치료, 다시 말하면, 연관된 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건의 전신 증상을 향해 지향된 치료; 방지적 치료, 다시 말하면, 가령 아직 발병하지 않았지만 특정 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건에 감수성이거나 또는 만약 그렇지 않으면, 이것의 위험에 처해 있는 환자에서 연관된 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건의 발달을 최소화하거나, 또는 부분적으로 또는 완전하게 저해하는 것을 향해 지향된 치료; 그리고 지지 요법, 다시 말하면, 연관된 질환, 병리학적 상태, 장애 또는 사건의 향상을 향해 지향된 다른 특정한 요법을 보충하는데 이용된 치료를 포함한다.

[0077] 본원에서 이용된 바와 같이, "보행 능력"은 각 발을 차례로 올리고 내리는 환자 (가령, 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 앓는 환자)의 능력을 지칭한다. 보행 능력은 검사, 특히, 6 분 보행 검사 (6MWT)에 의해 사정될 수 있다. 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 the American Thoracic Society statement: guidelines for the six-minute walk test (*American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(1):111-7, 2002)를 참조한다.

[0078] 본 발명의 다른 특질 및 이점은 다음의 상세한 설명, 도면 및 청구항으로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0079] **도면의 간단한 설명**

도면 1은 야생형 (WT) 생쥐 또는 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 모든 가자미근 섬유에서 미오신 섬유 유형의 백분율을 보여주는 그래프이다.

도면 2A-2D는 야생형 (WT) 생쥐 또는 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 절개된 가자미근에서 섬유 크기 분포의 그래프이다. 상이한 최소 크기 (μm^2)의 섬유의 백분율이 모든 섬유 (도면 2A), 유형 I 섬유 (도면 2B), 유형 IIa 섬유 (도면 2C), 또는 유형 IIb 섬유 (도면 2D)에 대해 도시된다.

도면 3A-3D는 야생형 (WT) 생쥐 또는 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 가자미근의 수축성 성질의 그래프이다. 근육량 (도면 3A), 내구력 (도면 3B), 힘 주파수 (도면 3C) 및 피로 특징 (도면 3D)이 수컷 및 암컷 생쥐 둘 모두에서 비교되었다.

도면 4A-4D는 야생형 (WT) 생쥐 또는 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 장지신근 (EDL) 근육의 수축성 성질의 그래프이다. 근육량 (도면 4A), 내구력 (도면 4B), 힘 주파수 (도면 4C) 및 피로 특징 (도면 4D)이 수컷 및 암컷 생쥐 둘 모두에서 비교되었다.

도면 5A-5B는 PPi 농도와 관련하여, 야생형 (WT) 생쥐 또는 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 절개된 가자미근 (도면 5A) 및 장지신근 (EDL) (도면 5B) 근육의 수축성 성질의 그래프이다.

도면 6은 야생형 (WT) 생쥐, 35 일자 후 아스포타제 알파의 연속 치료를 제공받는 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐 (Tx-Tx), 또는 35 일자 후 아스포타제 알파의 치료가 중단된 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐 (Tx-V)의 앞다리 또는 뒷다리의 악력의 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0080] **상세한 설명**

[0081] 근육 약화는 HPP의 여러 증상 중에서 한 가지로서 보고되었다 (Seshia et al. 1990 *Archives of Disease in Childhood* 65:130-131). HPP에 더하여, 다른 질환 또는 장애 또한 근육 약화를 야기할 수 있다. 가령, 마그네슘 부족은 칼슘 피로인산염 침전 질환 (CPPD, 또는 CPDD) 환자에서 근육 약화를 유발한다 (Hahn et al. 2012 *BMC Gastroenterology* 12-19). 일부 근육 약화 질환 또는 장애, 예를 들면, HPP, CPPD, 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등)은 상기 질환 또는 장애를 앓는 개체에서 상승된 피로인산염 (PPi) 농도의 특징적인 특질을 공유한다. HPP에서, 상승된 PPi 농도는 기질, 예를 들면, PPi, 포스포에탄올아민 (PEA) 및 피리독살 5'-인산염 (PLP)에 대한 효소인, 알칼리성 포스파타아제 (TNALP; 간/뼈/신장 유형 ALP로도 알려짐)의 조직 비특이적 동질효소를 인코딩하는 유전자 *ALPL*에서 기능 상실 돌연변이(들)에 기인한다. CPPD에서, 다양한 포스파타아제에 대한 보조인자로서 행동하는 Mg의 결핍은 CPPD 결정의 형성을 위해 필요한 전구체인 PPi의 더욱 높은 양을 야기한다. 칼슘 피로인산염의 침전은 만성 염증성 관절염, 저인산증, 저마그네슘혈증, 그리고 연골석회증 및 "가성통풍"의 급성 발작을 동반한 부갑상선 기능항진증을 더욱 야기할 수 있다.

[0082] 본 발명은 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 갖는 것으로 특징되는 개체에서 근육 약화 질환을 치료하는 방법을 교시한다: 상승된 PPi 농도, 감소된 알칼리성 포스파타아제 농도, 가령 10보다 적은 평균 BOT-2 내구력 점수, 가령 5보다 적은 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수, 가령 약 0.8보다 큰 평균 CHAQ 지수 점수, 또는 가령 약 40보다 적은 평균 PODCI 점수, 가령 예측된 6MWT 값의 약 80%보다 적은 평균 6MWT (가령, 여기서 예측된 6MWT 값은 연령-정합된 및/또는 성별-정합된 정상적인 개체의 6MWT 값이다), 가령 5보다 적은 근력 등급 및/또는 가령 예측된 HHD 값의 약 50%보다 적은 평균 HHD 값 (가령, 평균 HHD 근력 또는 악력 값) (가령, 여기서 예측된 HHD 값은 연령-정합된 및/또는 성별-정합된 정상적인 개체의 HHD 값이다). 특히, 상기 개체는 근육 약화를 앓거나 또는 앓기 쉬운 것으로 확인되었다.

[0083] 가령, 상승된 PPi 농도, 감소된 ALP 농도, 가령 10보다 적은 평균 BOT-2 내구력 점수, 가령 5보다 적은 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수, 가령 약 0.8보다 큰 평균 CHAQ 지수 점수, 가령 약 40보다 적은 평균 PODCI 점수, 가령 예측된 6MWT 값의 약 80%보다 적은 평균 6MWT, 가령 5보다 적은 근력 등급 및/또는 가령 예측된 HHD 값의 약 80%보다 적은 평균 HHD 값 (가령, 평균 HHD 근력 또는 악력 값)을 갖는 것으로 특징되는, 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 재조합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료를 위한 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)를 확인하는 방법이 개시된다. 가령, 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.71 μM 또는 그 이상일 수 있고, 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 4.78 μM 또는 그 이상일 수 있고; 그리고 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)으로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi의 상승된 농도는 약 5.82 μM 또는 그 이상일 수 있다. 특히, 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 감소된 ALP 농도는 예로서, 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 90 U/L 또는 그 이하; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 134 U/L 또는 그 이하; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 156 U/L 또는 그 이하; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 141 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 62 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 127 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 54 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 89 U/L 또는 그 이하; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 48 U/L 또는 그 이하; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 59 U/L 또는 그 이하일 수 있다.

[0084] 본 발명은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에서 근육 약화를 치료하거나 또는 개선하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 최소한 하나의 재조합 폴리펩티드의 치료 효과량을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 특히, 상기 개체는 근육 약화를 앓거나 또는 앓기 쉬운 것으로 확인되었다.

[0085] 본 발명은 또한, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 아개체군을 확인하는 방법을 제공하고, 여기서 상기 아개체군에서 개체는 상승된 PPi 농도, 감소된 알칼리성 포스파타아제 농도 및/또는 감소된 악력 또는 근력 (가령, BOT-2, 6MWT, CHAQ, PODCI, 근력 등급 및/또는 HHD를 이용하여 사정될 때)을 갖는다.

[0086] 1) 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 아개체군을 확인하고, 여기서 상기 아개체군에서 개체는 상승된 PPi 농도, 감소된 ALP 농도 및/또는 감소된 악력 또는 근력을 갖고; 그리고 2) 이후, 상기 아개체군에서 개체에서 근육 약화 질환의 최소한 하나의 증상을 치료하거나 또는 개선하기 위한 방법 역시 설명된다.

[0087] 상승된 PPi 농도, 감소된 ALP 농도 및/또는 감소된 악력 또는 근력으로 특징되는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 아개체군을 확인하는 방법 역시 설명된다.

[0088] 개체의 아개체군은 이들이 저인산증 (HPP), 칼슘 피로인산염 침전 질환 (CPPD), 또는 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등)으로 이전에 진단되었는 지와 상관없이 확인될 수 있다. 아개체군은 예로서, 이런 개체에서 상승된 PPi 농도에 근거하여 확인된다. 상승된 PPi 농도의 원인은 예로서, 신호전달 분자에서 결함, 또는 PPi의 안정성에 영향을 주는 생산, 분해 또는 다른 방식을 조절하는, 이런 신호전달 분자를 인코딩하는 유전자에서 돌연변이를 포함한다. 가령, 신호전달 분자에 결함 또는 돌연변이는 PPi의 과다발현, 또는 PPi의 감소된 분해 또는 가수분해를 유발할 수 있다. HPP 환자는 PPi를 가수분해할 수 있는 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제가 결함성이거나 또는 없다. 따라서, HPP와 유사하게, 알칼리성 포스파타아제에서 결함으로 인한 다른 질환에서, PPi 농도가 상승될 수 있다. 신호전달 분자에서 결함은 또한, 이들 신호전달 분자의 기능을 조장하는 보조인자 또는 다른 분자에서 결함을 포함한다. 가령, CPPD에서, 다양한 포스파타아제에 대한 보조인자로서 행동하는 Mg의 결핍은 PPi의 상승된 수준을 야기한다.

[0089] 근육 약화 질환-관련된 증상을 전시하거나, 또는 이런 근육 약화 질환-관련된 증상이 발달할 위험에 처해있는 개체의 아개체군을 확인하기 위한 방법이 본원에서 설명된다. 확인된 개체군은 이런 근육 약화 질환을 앓는 것으로 이전에 확인되었거나 또는 이전 진단 없이 무증상성인 개체를 포함할 수 있다. 본 발명에서 근육 약화 질환은 예로서, HPP 또는 HPP-관련된 질환, CPPD 또는 CPPD-관련된 질환, 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등), 또는 상승된 PPi를 갖는 임의의 다른 근육 약화 질환을 포함한다. 개체 아개체군을 확인하기 위한 방법은 예로서, 이런 개체에서 상승된 무기 피로인산염 (PPi) 농도의 검출을 포함한다.

[0090] **표적화된 근육 약화 질환**

[0091] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 최소한 하나의 증상을 치료하거나 또는 개선하기 위한 방법이 본원에서 제공된다. 본원에서 설명된 근육 약화 질환, 근병증 또는 근무력증은 근육 약화의 최소한 하나의 증상을 유발하거나, 이것에 기인하거나, 또는 이것에 관련되는 임의의 질환 또는 장애를 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어 "근육 약화, "근병증," "근무력증" 또는 다른 유사한 표현은 근육 기능의 손상된 상태에 관련된 상태, 예를 들면, 근력의 결여 또는 결함을 갖지 않는 다른 개체 또는 이런 상태를 갖기 이전의 시점에서 동일한 개체와 비교하여, 이러한 상태를 지칭한다. 근육 약화는 진정한 또는 지각된 근육 약화를 갖는 상태로 나눠질 수 있다. 진정한 근육 약화는 근육에 의해 발휘된 힘이 예상된 것보다 적은 상태를 포함할 수 있다. 가령, 진정한 근육 약화는 근이영양증 및 염증성 근병증을 비롯한 다양한 골격근 질환을 포함한다. 예시적인 질환 또는 장애는 신경근 이음부 장애, 예를 들면, 중증 근무력증을 포함한다. 근육 약화는 또한, 근육 세포 내에 낮은 수준의 칼륨 및 다른 전해질에 의해 유발될 수 있는데, 여기서 근육에 의해 발휘된 힘은 예상된 것보다 적다. 지각된 근육 약화 (또는 비-신경근 허약)는 일정한 양의 힘을 발휘하기 위해 정상적인 것보다 더욱 많은 노력이 필요하다고 개체가 느끼지만 실제 근력은 정상적인 상태 (다시 말하면, 이런 상태를 갖지 않는 다른 개체 또는 이런 상태를 갖기 이전의 시점에서 동일한 개체와 비교하여), 예를 들면, 만성 피로 증후군을 설명한다.

[0092] 일부 질환, 예를 들면, 중증 근무력증에서, 근력은 안정 상태에 있을 때는 정상적이지만, 근육이 운동에 종속된 후에는 진정한 허약이 발생한다. 이것은 만성 피로 증후군의 일부 사례에서도 마찬가진데, 여기서 지연된 회복 기간과 함께 객관적인 운동후 근육 약화가 계측되었고 공개된 정의 중에서 일부의 특질이다. 이들 질환 또는 장애 역시 본 발명의 "근육 약화 질환" 내에 포함된다.

[0093] 근육 약화는 또한, 이것이 영향을 주는 근육의 위치에 근거하여 "근위" 또는 "원위" 로서 분류될 수 있다. 근위 근육 약화는 신체의 중심선에 가장 가까운 근육에 영향을 주고, 반면 원위 근육 약화는 사지에서 더욱 멀리 떨어진 근육에 영향을 준다. 근위 근육 약화는 쿠싱 증후군 및 갑상선기능항진증에서 목격될 수 있다.

[0094] 근육 약화의 다른 범주가 실제로 존재하다. 가령, 신경근 피로는 이의 원인에 따라 "중앙" 또는 "주변"으로서 분류될 수 있다. 중앙 근육 피로는 에너지 손실의 전반적인 감각으로서 현성하고, 반면 주변 근육 피로는 국부적인 근육-특이적 작업 능력 없음으로서 현성한다.

[0095] 근육 약화의 심각도는 다음의 예시적인 규준에 근거하여 상이한 "등급"으로 분류될 수 있다:

[0096] 등급 0: 수축 또는 근육 움직임 없음.

[0097] 등급 1: 미량의 수축, 하지만 관절에서 움직임 없음.

[0098] 등급 2: 중력이 제거될 때 관절에서 움직임.

[0099] 등급 3: 중력에 거슬러 움직임, 하지만 부가된 저항에 거슬러 움직임 없음.

[0100] 등급 4: 평소보다 더욱 적은 강도로 외부 저항에 거슬러 움직임.

[0101] 등급 5: 정상적인 강도.

[0102] *저인산증 (HPP) 및 근육 약화*

[0103] 저인산증 (HPP)은 조직-비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNSALP) 유전자에서 기능 상실 돌연변이(들)로부터 발생하는 희귀한 유전성 대사 장애이다. 생화학적 홀마크는 혈청에서 정상이하 ALP 활성 (저인산효소증)인데, 이것은 3가지 인화합물 기질: 무기 피로인산염 (PPi), 포스포에탄올아민 (PEA) 및 피리독살 5'-인산염 (PLP)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준을 야기한다. TNSALP 결핍은 일차 치아의 조기 상실, 구루병, 불량한 성장, 근육 약화, 약화된 신체 기능 및 통증을 비롯한 광범위한 후유증을 유발할 수 있다. 근육 약화 또는 근병증은 수십 년 전에 HPP와 연관하여 발견되었다. 가령, Seshia 등 (1990)은 HPP를 앓는 3명의 소아가 상기 장애에서 초기에 발생한 근육 통증, 경직, 그리고 근위 다리 근육 약화의 증상 (나머지는 이들 중에서 2 가지를 나타냄)을 또한 앓는다고 보고하였다. 흥미롭게도, Seshia 등 (1990)은 이들 증상이 "골격 장애에 의해 설명될 수 없고," 오히려 "골연화증 근병증에서 증상과 유사하다"는 것을 발견하였다. HPP에서 다른 징후와 증상은 다음을 포함할 수 있다: 근육 또는 관절에서 장기간 통증, 관절염 (성체 및 소아에서), 관절에서 칼슘의 침전물에 의해 유발된 가성통풍, 보조 장치, 예를 들면, 목발, 보행기 또는 휠체어 없이 걷을 수 없음, 기타 등등. 최근에, 아스포타제 알파, 재조합 뼈-표적화된 인간 TNASLP (다시 말하면, sALP-Fc-D_{10})는 상승된 무기 피로인산염 (PPi) 농도를 감소시키고, 그리고 HPP 환자의 골격 광화, 성장 및 신체 기능을 향상시키는 것으로 보고되었다. 3 년 이상 동안 아스포타제 알파로 치료되는 HPP를 앓는 5-12-세 소아는 악력계 (HHD), 그리고 내구력 및 진행 속도/민첩성 척도화된 점수를 비롯한 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사, 제2판 (BOT-2)의 개별 하위검사에 의해 계측될 때, 근력에서 향상을 보여주었다. 결과적으로, 이들은 일상 생활 활동을 수행하는 능력에 영향을 주는 그들의 근육의 신체 기능에서 유의미한 이득을 얻었다.

[0104] 아스포타제 알파는 예로서, 출생전후 HPP, 영아 HPP, 아동기 HPP 및 치아-HPP를 치료하기 위해 투여될 수 있다. 가령, 아동기 HPP를 앓는 환자 (가령, HPP를 앓는 약 5 내지 약 12 세의 소아) 또는 영아 HPP를 앓는 환자 (가령, 약 3 세 또는 3 세보다 적은 영아)는 최소한 1 년 (가령, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 최소한 10 년, 또는 10 년 이상 (가령, 환자의 일생))의 기간 동안 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료될 수 있다.

[0105] 아스포타제 알파 치료가 환자에서 뼈 광화를 극적으로 향상시키기 때문에, 환자의 근력에 대한 이의 효과가 단순히, 복원된 뼈 형성 및 그 이후, 골격근 부착/성장의 수복의 결과인지 또는 환자의 근육에 대한 직접적인 치료 효과인지는 불명확하였다. 본원에서 설명된 바와 같이, 우리는 아스포타제 알파가 환자 (가령, 근육 약화 질환, 예를 들면, HPP를 앓는 환자에서 근육 약화를 앓는 환자)의 근육에 대한 치료 효과를 갖는다는 것을 발견하였다.

[0106] *칼슘 피로인산염 침전 질환 (CPPD, 또는 CPDD) 및 근육 약화*

[0107] 칼슘 피로인산염 침전 질환 (CPPD, 또는 CPDD), 또는 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전 질환은 관절 내에서 및 주변에서, 특히 관절 연골 및 섬유 연골에서 칼슘 피로인산염 이수화물 결정의 침전에 의해 유발된 물질대사 관절병증이다. 비록 CPPD가 종종 무증상성이고 단지 방사선 변화만 목격되긴 하지만 (다시 말하면, 연골석회증), 급성 (가성통풍) 및 만성 관절염을 비롯한 다양한 임상적 현성이 일어날 수 있다. 결정 침전물은 관절에서 염증을 촉발하는데, 이것은 관절 연골의 파괴를 유발할 수 있다. 상기 질환은 소수의 상이한 관절염-관련된 형

태를 취할 수 있다: 골관절염, 만성 류마티스성 관절염 (RA)-유사 염증성 관절염, 또는 가성통풍으로 불리는 급성의 고통스러운 염증성 병태. 명칭 가성통풍은 이것이 통풍으로 불리는 다른 급성의 고통스러운 질환과 유사하다는 사실로부터 비롯된다. 주요 차이는 염증 및 손상에 관련된 결정의 유형이다. 비록 무릎, 손목 및 엉덩이가 가장 빈번하게 영향을 받긴 하지만, 거의 모든 관절이 CPPD에 의해 침범될 수 있다. 이러한 상태는 이차성 물질대사 골관절염의 가장 흔한 원인이다. CPPD를 앓는 환자는 가성통풍의 급성 공격의 통증 또는 만성 관절병증의 증상으로 인해 유의미한 이환을 경험할 수 있다. 증후성 CPPD의 치료는 추가적인 종말 기관 손상을 예방하는데 중요하긴 하지만, 이것은 상기 관절 질환을 반전시킬 수 없다.

[0108] CPPD의 발달에 대한 정확한 기전은 불명확한 상태로 남아있다. 노화, 유전적 인자, 또는 둘 모두로부터, 환자는 관절에서 증가된 무기 피로인산염 농도를 유발하는 증가된 아데노신 삼인산염 파괴를 갖는다. 연골 바탕질에서 변화는 칼슘 피로인산염 이수화물 결정 침전을 증진하는데 중요한 역할을 할 수 있다. 삼인산염, 예를 들면, 뉴클레오시드 삼인산염 피로포스포히드롤라아제를 파괴하는 효소의 과다 활성이 CPPD를 앓는 환자의 연골에서 관찰되었다. 이런 이유로, 무기 피로인산염은 칼슘에 결합하여, 연골 및 윤활막에서 침전을 야기할 수 있다. (Beutler et al., 1993 *Arthritis Rheum.* 36(5):704-715를 참조한다). 유리 연골이 가장 흔히 영향을 받지만, 섬유 연골, 예를 들면, 무릎의 반월 연골 역시 침범될 수 있다. (Pritzker et al., 1988 *J Rheumatol.* 15(5):828-835).

[0109] *다른 질환 및 근육 약화*

[0110] HPP 및 CPPD (또는 CPDD)와 유사하게, 다른 질환 또는 장애가 근육 약화의 최소한 하나의 증상을 포함할 수 있다. 이들 사이에서, 근육 약화 질환의 일부 유형은 특징적인 상승된 무기 피로인산염 (PPi) 농도를 갖는다. 상승된 PPi 농도를 갖는 이들 근육 약화 질환 역시 본 발명에서 아스포타제 알파로 치료에 대한 표적이다.

[0111] 가령, 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등)은 전형적으로, 근육 약화 표현형을 갖는다. 저인산혈증 또는 저인산혈 구루병은 낮은 혈청 인산염 수준 및 자외선 복사 또는 비타민 D 섭취로 치료에 대한 내성에 의해 특징되는 구루병의 한 형태이다. X 연관된 저인산혈증 (XLH)은 우성 질환이고, 그리고 모든 가족성 저인산혈증 중에서 80% 이상을 차지한다. XLH는 X 염색체에서 엔도펩티다아제에 상동한 인산염-조절 유전자 (PHEX)의 돌연변이로부터 전신 장애인 것으로 고려된다. XLH 환자는 1,25-디히드록시비타민 D3의 정상적인 또는 낮은 혈청 농도를 보여주는데, 이것은 이러한 비타민 D 대사산물의 부적당한 형성을 암시한다. 가족성 저인산혈증 환자 중에서 나머지 20%는 기능 획득 상염색체 열성 저인산혈 구루병으로부터 상염색체 우성 저인산혈 구루병, 그리고 고칼슘뇨를 동반한 유전성 저인산혈 구루병을 앓는다.

[0112]

[0113] **치료 방법**

[0114] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체, 소아, 청소년 또는 성인의 최소한 하나의 증상을 치료하거나 또는 개선하기 위한 방법이 본원에서 제공된다. 이런 치료는 이런 개체에서 상승된 PPi 농도를 감소시키기 위해, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 가령, 가용성 알칼리성 포스파타아제 (sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)가 소아, 청소년 또는 성인 개체에 대한 연령의 범위를 교차하여 투여될 수 있다.

[0115] 개체는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여에 앞서 근육 약화 질환 (가령, 본원에서 설명된 HPP, CPPD, 가족성 저인산혈증 등)으로 진단될 수 있다. 추가적으로, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료를 이전에 제공받지 않았던 미경험 개체일 수 있다.

[0116] 상기 방법은 일정한 기간에 걸쳐 단일 또는 복수 용량에서 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 투여하는 것을 수반한다. 특히, sALP, 예를 들면, 아스포타제 알

파는 상승된 무기 피로인산염 (PPi) 농도를 갖거나, 또는 근육 약화에 대한 최소한 하나의 미리 결정된 생물마커/점수, 예를 들면, 10보다 적은 평균 BOT-2 내구력 점수, 5보다 적은 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수, 약 0.8보다 큰 평균 CHAQ 지수 점수 및/또는 약 40보다 적은 평균 PODCI 점수, 예측된 6MWT 값의 약 80%보다 적은 평균 6MWT, 5보다 적은 근력 등급 및/또는 가령 예측된 HHD 값의 약 80%보다 적은 평균 HHD 값 (가령, 평균 HHD 근력 또는 악력 값)을 갖는 것으로 이전에 결정된 개체에게 투여될 수 있다. 가령, sALP는 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체)의 경우에 약 5.71 μM보다 큰; 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체)의 경우에 약 4.78 μM보다 큰; 또는 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)의 경우에 약 5.82 μM보다 큰 PPi의 농도를 갖는 것으로 이전에 결정된 개체에게 투여될 수 있다. 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 근육 약화 질환은 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PPi, PLP, PEA 등)의 상승된 농도에 의해 유발된다. 대안으로, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 예로서, ADL의 활성에서 증가, 통증에서 감소 및/또는 향상된 운동 발달을 허용하기 위해, 이런 점수 (가령, BOT-2 내구력 점수, BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수, CHAQ 지수 점수, BSID-III 척도화된 점수, PDMS-2 표준 점수, 근력 점수, 6MWT 값 및/또는 HHD 값)의 결정에 앞서 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 투여될 수 있다.

[0117] 추가적으로, 본원에서 설명된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 설명된 점수 (가령, BOT-2 내구력 점수, BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수, CHAQ 지수 점수, BSID-III 척도화된 점수, PDMS-2 표준 점수, 6MWT, 12- POMA-G, 변형된 성과-지향된 이동성 사정 (mPOMA-G, 예를 들면, Phillips et al. 2015 Bone Abstracts 4:P136에서 도해된 것), 또는 HHD 값) 각각은 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 이용한 치료 효력을 사정하는데 단독적으로 또는 임의의 조합으로 이용될 수 있는데, 여기서 일정한 검사 점수에 비하여 향상은 sALP가 이런 근육 약화 질환을 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다.

[0118] 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여가 BOT-2 내구력 점수에서 약 10 또는 약 10 이상까지 평균 증가를 유발할 때 (여기서 상기 개체는 이전에 약 10보다 적은 평균 BOT-2 내구력 점수를 가졌다), 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 치료는 예로서, 근육 약화 질환과 연관된 신체적 장애를 치료하는데 효과적이다. 대안으로, sALP의 투여가 BOT-2 내구력 점수에서 약 10 또는 약 10 이상까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 투여의 용량 및/또는 빈도가 개체에 대한 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0119] 추가적으로, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여가 개체의 근력 등급 범주화에서 하나 또는 그 이상의 향상 (가령, 이전의 더욱 낮은 근력 등급으로부터 1, 2, 3, 4 또는 5의 근력 등급까지 향상)을 유발할 때 (여기서 상기 개체는 이전에 약 5보다 적은 평균 근력 등급을 가졌다), 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 치료는 예로서, 근육 약화 질환과 연관된 신체적 장애를 치료하는데 효과적이다. 대안으로, sALP의 투여가 개체의 근력 등급 범주화에서 이전의 더욱 낮은 근력 등급으로부터 하나 또는 그 이상의 향상을 유발하지 않을 때, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 투여의 용량 및/또는 빈도가 개체에 대한 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 효과량을 결정하기 위해 변화 (가령, 증가)될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0120] *근육 약화 질환의 진단 및/또는 치료를 위한 생물마커/종결점*

[0121] 바람직한 구체예에서, 근육 약화 질환 (가령, 예로서, 본원에서 설명된 바와 같은 출생전후 HPP, 영아 HPP, 아

동기 HPP, 치아저인산증, CPPD, 그리고 가족성 저인산혈증을 비롯한 HPP)은 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료된다. 본원에서 설명된 방법은 또한, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체를 진단하거나, 개체를 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 특정한 아개체군에서 구성원으로서 확인하거나, 또는 근육 약화 질환의 치료의 효력을 검사하는데 유용하다. 가령, 개체는 이런 개체가 일정한 특징적인 생물마커를 보여주면, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 것으로 진단될 수 있다. 개체는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료될 수 있고, 반면 치료 효력 또는 효과는 일정한 특징적인 생물마커 또는 종결점을 이용하여 분석될 수 있다. 이런 생물마커는 예로서, 개체의 혈청, 뼈 또는 근육 조직, 또는 소변에서 상승된 무기 피로인산염 (PPi) 농도 및/또는 감소된 알칼리성 포스파타아제 (ALP)를 포함할 수 있다. 근육 약화 치료를 위한 본원에서 설명된 방법에서 유용한 예시적인 종결점은 다음을 포함할 수 있다: (1) 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2), (2) 아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ), (3) 소아 결과 데이터 수집 도구 (PODCI), (4) 베일리 영유아 발달검사, 제3판 (BSID-III), (5) 피바디 발달 운동 척도, 제2판 (PDMS-2), (6) 6분 보행 검사 (6MWT), (7) 근력 등급, 그리고 (8) 악력계 (HHD), 이들은 아래에 더욱 상세하게 설명된다.

[0122] *혈장 무기 피로인산염 (PPi) 및 알칼리성 포스파타아제 (ALP) 농도*

[0123] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 환자로부터 표본, 예를 들면, 혈장 또는 소변 표본 내에 무기 피로인산염 (PPi) 및/또는 알칼리성 포스파타아제 (ALP) 농도를 결정함으로써, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료에 대해 확인될 수 있다. 당업자에게 공지된 임의의 방법이 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 Whyte et al., 1995 (J. Clin. Invest. 95(4): 1440-1445)에서 상세하게 설명된 바와 같이, 혈장 표본 내에 또는 대안으로 소변 표본 내에 PPi 및/또는 ALP 농도를 정량하는데 이용될 수 있다. 혈장 또는 소변 표본에서 PPi 농도를 정량하는 방법 역시 Cheung et al., 1977 (Anal. Biochem. 83: 61-63), Cook et al., 1978 (Anal. Biochem. 91: 557-565) 및 Johnson et al, 1968 (Anal. Biochem. 26: 137-145)에서 설명되는데, 이들은 각각 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다.

[0124] 특히, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 약 6 μM까지의 혈장 PPi 농도 (가령, 약 4.5 μM, 약 5 μM 또는 약 5.5 μM, 또는 약 4.5 μM 내지 약 6 μM의 범위 내에 혈장 PPi 농도)를 갖는 것으로 이전에 결정된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)에게 투여될 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드는 예로서, 약 5.71 μM 또는 그 이상의 혈장 PPi 농도를 갖는 영아 또는 소아 (가령, 약 12 세보다 적은 개체); 약 4.78 μM 또는 그 이상의 혈장 PPi 농도를 갖는 청소년 (가령, 약 13 내지 약 18 세의 개체); 또는 약 5.82 μM 또는 그 이상의 혈장 PPi 농도를 갖는 성인 (가령, 약 18 세보다 많은 개체)에게 투여된다. 추가적으로, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드는 예로서, 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 90 U/L 또는 그 이하; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 134 U/L 또는 그 이하; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 156 U/L 또는 그 이하; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 141 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 62 U/L 또는 그 이하; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 127 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 54 U/L 또는 그 이하; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 89 U/L 또는 그 이하; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 48 U/L 또는 그 이하; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 59 U/L 또는 그 이하의 혈장 ALP 농도를 갖는 것으로 이전에 결정된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)에게 투여될 수 있다.

[0125] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)의 혈장 PPi 농도 및/또는 혈장 ALP 농도는 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)가 투여된 개체에서 치료 효과를 결정하기 위해, 정상적인 개체의 혈장

PPi 농도 및/또는 혈장 ALP와 비교될 수 있다. 특히, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드는 최소한 1 년 (가령, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 최소한 10 년, 또는 10 년 이상, 예를 들면, 환자의 일생 동안)의 치료 기간 동안 투여될 수 있다. 대안으로, 이들 방법은 개체에서 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료의 효과를 사정하기 위해, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드를 투여하기에 앞서 혈장 PPi 농도 및/또는 혈장 ALP 농도를 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0126] 이들 방법은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi에서 감소 및/또는 ALP 농도에서 증가를 야기한다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료는 환자로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 PPi 농도에서 약 1 μM, 약 1.5 μM, 약 2 μM, 약 2.5 μM 또는 약 3 μM, 또는 25% 또는 그 이상 (가령, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 또는 60% 이상)의 감소를 야기한다. 따라서, 개체는 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여 후, 예로서 약 2 μM 내지 약 5 μM, 약 3 μM 내지 약 5 μM, 약 2 μM 내지 약 4 μM, 또는 약 2 μM 내지 약 3 μM의 혈장 PPi 농도를 전시한다.

[0127] 유사하게, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료는 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여 이전의 개체에 비하여, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 ALP 농도에서 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 또는 60% 이상의 증가를 야기한다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여는 개체로부터 표본 (가령, 혈장 표본) 내에 ALP 농도를 예로서, 0 내지 14 일령의 개체의 경우에 약 273 U/L 또는 그 이상; 15 일령 내지 1 세 이하의 연령의 개체의 경우에 약 518 U/L 또는 그 이상; 약 1 세 내지 10 세 이하의 개체의 경우에 약 369 U/L 또는 그 이상; 약 10 세 내지 약 13 세 이하의 개체의 경우에 약 460 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 약 15 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 280 U/L 또는 그 이상; 약 13 세 내지 이하 약 15 세의 남성 개체의 경우에 약 517 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 여성 개체의 경우에 약 128 U/L 또는 그 이상; 약 15 세 내지 약 17 세 이하의 남성 개체의 경우에 약 365 U/L 또는 그 이상; 약 17 세 또는 그 이상의 여성 개체의 경우에 약 95 U/L 또는 그 이상; 또는 약 17 세 또는 그 이상의 남성 개체의 경우에 약 164 U/L 또는 그 이상까지 증가시킨다.

[0128] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)의 혈장 PPi에서 감소 및/또는 ALP 농도에서 증가는 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 가령, 혈장 PPi 농도는 sALP로 치료 동안 약 25% 감소하고 감소된 혈장 PPi 농도의 ± 10%에서 머무르고 및/또는 혈장 ALP 농도는 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료 동안 약 50% 증가하고 증가된 혈장 ALP 농도의 ± 10%에서 머무른다.

[0129] 대안으로, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여가 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, 인간)로부터 혈장 표본 내에 PPi 농도에서 약 25% 또는 그 이상의 평균 감소를 유발하지 않을 때, sALP 투여의 용량 및/또는 빈도가 상기 개체에 대한 sALP의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 유사하게, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여가 개체로부터 혈장 표본 내에 ALP 농도에서 약 50% 또는 그 이상의 평균 증가를 유발하지 않을 때, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 투여의 용량 및/또는 빈도가 상기 개체에 대한 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 용량은 예로서, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0130] *브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2)*

[0131] 예시적인 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2)은 본원에서 전체적으로 참조로서 편입되는

Bruininks, R. H. (2005). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, (BOT-2)*, Minneapolis, MN: Pearson Assessment에서 설명된다. 특히, BOT-2는 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에서 신체적 장애 및 이동성 제한을 평가하여 상기 개체에 대한 BOT-2 점수를 산출하는데 이용될 수 있다.

[0132] BOT-2는 개체의 신체적 장애를 평가하기 위한 다양한 검사를 포함하는데, 이들은 예로서, 이들 검사를 포함하는 키트로 수행될 수 있다. BOT-2는 다음 분야에서 복합 BOT-2 점수를 제공한다: 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형, 그리고 상지 협응. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 내구력 점수를 결정하기 위해 윗몸 일으키기, 브이업, 제자리 멀리뛰기, 윌싯 및/또는 푸시업을 수행할 수 있다; 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 결정하기 위해 평균대를 밟고 올라서고 및/또는 왕복 달리기, 두 다리 사이드 홉 및/또는 한 다리 사이드 홉을 수행할 수 있다; 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 소근육 운동 정밀도 점수를 결정하기 위해 원을 잘라내고 및/또는 반점을 연결할 수 있다; 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 소근육 운동 통합 점수를 결정하기 위해 별모양을 재현하고 및/또는 사각형을 재현할 수 있다; 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 손재주 점수를 결정하기 위해 동전을 이동시키고, 카드를 분류하고 및/또는 블록을 스트링할 수 있다; 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 양측성 협응 점수를 결정하기 위해 자신의 발과 손가락을 가볍게 두드리거나 및/또는 점핑잭을 수행할 수 있다; 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 균형 점수를 결정하기 위해 하나의 라인에서 앞으로 걸어가고 및/또는 평균대에서 한쪽 다리로 서 있을 수 있다; 그리고 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 상지 협응 점수를 결정하기 위해 공을 표적에 던지고 및/또는 던져진 공을 잡을 수 있다.

[0133] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 개체에서 신체적 장애를 지시하는 BOT-2 점수를 산출하기 위해 설명된 분야 (내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응) 중에서 하나 또는 그 이상에서 검사를 수행할 수 있었다. 각 BOT-2 분야 (내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응) 내에서, 이런 개체는 자신의 BOT-2 점수를 결정하기 위해 하나 또는 그 이상의 검사를 수행할 수 있었다, 가령, 상기 개체는 BOT-2 내구력 점수를 결정하기 위해 윗몸 일으키기, 브이업, 제자리 멀리뛰기, 윌싯 및 푸시업 중에서 하나 또는 그 이상을 수행할 수 있었다. 따라서, 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 BOT-2 점수 (가령, BOT-2 내구력 점수)를 결정하기 위해 단지 한 가지 검사 (가령, 윗몸 일으키기, 브이업, 제자리 멀리뛰기, 윌싯 및 푸시업의 군에서 선택되는 한 가지 검사)만 수행될 수 있다.

[0134] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 BOT-2 점수 (내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응) 각각은 예로서, BOT-2 점수의 표준 편차를 결정하기 위해 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓지 않는 개체의 BOT-2 점수와 비교될 수 있다. 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 BOT-2 점수 (가령, 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응) 각각은 예로서, 상기 개체에 대한 평균 BOT-2 점수를 결정하기 위해 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 다른 개체의 BOT-2 점수와 비교될 수 있다.

[0135] BOT-2 점수 (가령, 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응 점수)는 약 0 내지 약 25와 동등하거나 또는 그 이하의 범위에 있는데, 여기서 약 10 내지 약 20의 점수가 건강한 개체 (가령, 근육 약화 질환 (가령, HPP)이 없는 개체)를 나타내는 것으로 고려된다. 약 10보다 적은 평균 BOT-2 점수 (가령, 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응 점수)를 갖는 개체는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파로 치료될 수 있다.

[0136] 가령, 10보다 적은 (가령, 약 0, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)의 BOT-2 내구력 점수를 갖는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 환자의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료될 수 있다. 유사하게, 10보다 적은 (가령, 약 0, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)의 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 갖는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 이후, 상기 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열

동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료될 수 있다.

[0137] 이들 방법은 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 BOT-2 점수 (가령, 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및/또는 상지 협응 점수)에서 향상을 유발할 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료, 예를 들면, 일정한 기간 동안 sALP로 치료는 BOT-2 내구력 점수에서 약 10 내지 약 20 (가령, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 또는 약 20)까지 평균 증가를 유발할 수 있다. 추가적으로, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료는 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수에서 약 5 내지 약 20 (가령, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 또는 약 20)까지 평균 증가를 유발할 수 있다.

[0138] BOT-2 점수 (가령, 내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및/또는 상지 협응 점수)에서 증가는 예로서, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 유사하게, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여 후 근육의 신체적 장애에서 감소는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여 내내 지속될 수 있다.

[0139] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 BOT-2 점수 (내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응 점수)는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 이용한 치료 효력을 사정하기 위해 단독적으로 또는 다른 종결점과 조합으로 이용될 수 있는데, 여기서 일정한 검사 점수에 비하여 향상은 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드가 근육 약화 질환과 연관된 근육 장애를 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 sALP의 투여가 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수에서 약 5 또는 약 5 이상까지 평균 증가를 유발할 때 (여기서 상기 개체 이전에 약 5보다 적은 평균 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 가졌다), sALP는 예로서, 근육 약화 질환과 연관된 신체적 장애를 치료하는데 효과적인 것으로 고려된다.

[0140] 추가적으로, 각 BOT-2 분야 (내구력, 진행 속도와 민첩성, 소근육 운동 정밀도, 소근육 운동 통합, 손재주, 양측성 협응, 균형 및 상지 협응) 내에서, 근육 약화 질환 (가령, 본원에서 설명된 HPP, CPPD, 가족성 저인산혈증 등)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 자신의 BOT-2 점수를 결정하기 위한 하나 또는 그 이상의 검사를 수행할 수 있었다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 내구력 점수를 결정하기 위해, BOT-2 내구력 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 윗몸 일으키기, 브이업, 제자리 멀리뛰기, 월싯 및 푸시업 중에서 하나 또는 그 이상을 수행할 수 있었다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 평균대, 왕복 달리기, 두 다리 사이드 홉 및/또는 한 다리 사이드 홉 중에서 하나 또는 그 이상을 수행할 수 있다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 소근육 운동 정밀도 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 원을 잘라내고 및/또는 반점을 연결할 수 있다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 소근육 운동 통합 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 별모양을 재현하고 및/또는 사각형을 재현할 수 있다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 손재주 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 동전을 이동시키고, 카드를 분류하고, 블록을 스트링하는 것 중에서 하나 또는 그 이상을 수행할 수 있었다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 양측성 협응 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 자신의 발과 손가락을 가볍게 두드리고 및/또는 점핑잭을 수행할 수 있다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 균형 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 하나의 라인에서 앞으로 걸어가고 및/또는 평균대에서 한쪽 다리로 서 있을 수 있다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 BOT-2 상지 협응 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 공을 표적에 던지고 및/또는 던져진 공을 잡을 수 있다.

[0141] 대안으로, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP의 투

여가 BOT-2 진행 속도와 민첩성 점수에서 약 5 이상까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, 투여의 용량 및/또는 빈도가 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에 대한 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0142] *아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ)*

[0143] 아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ)는 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 Bruce & Fries (*J. Rheumatol.* 30(1): 167-178, 2003) 및 Klepper (*Arthritis & Rheumatism*, 49: S5-S14, 2003)에서 설명된 바와 같이, 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓는 소아의 건강 상태를 평가하여 이들 소아에 대한 CHAQ 지수 점수를 산출하기 위해 운영될 수 있다. CHAQ는 분장/손질, 일어나기, 식사, 보행, 위생, 뻗기, 움켜잡기 및 활동에 대한 문제의 8가지 범주를 포함하는데, 여기서 부모 또는 후견인은 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓는 소아가 개별 활동을 수행할 때 겪는 어려움의 양을 기록한다. 각 범주 내에 점수의 범위는 0 내지 3인데, 여기서 0의 점수는 어려움이 없음을 지시하고; 1의 점수는 일부 어려움을 지시하고; 2의 점수는 많은 어려움을 지시하고; 그리고 3의 점수는 소아가 활동을 수행할 수 없다는 것을 지시한다.

[0144] 약 0.8보다 큰 (가령, 약 0.8, 약 1, 약 1.2, 약 1.4, 약 1.6, 약 1.8, 약 2.0, 약 2.2, 약 2.4, 약 2.6, 약 2.8, 또는 약 3.0) 평균 CHAQ 지수 점수 (가령, 일상 생활 활동 (ADL)에서 장애 및/또는 통증을 지시함)를 갖는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 투여함으로써 치료될 수 있다. 가령, 약 0.8보다 큰 평균 CHAQ 지수 점수를 갖는 소아는 환자의 일생까지, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 투여함으로써 치료될 수 있다. 게다가, 본원에서 개시된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아는 평균 CHAQ 지수 점수에 도달하기 위해 8가지 범주 (분장/손질, 일어나기, 식사, 보행, 위생, 뻗기, 움켜잡기 및 활동) 중에서 하나 또는 그 이상에서 하나 또는 그 이상의 문제가 질문될 수 있었고, 그리고 평균 CHAQ 지수 점수가 약 0.8보다 크면, 상기 소아는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP를 투여함으로써 치료될 수 있다.

[0145] 본원에서 개시된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아의 CHAQ 지수 점수는 예로서, CHAQ 지수 점수의 표준 편차를 결정하기 위해, 이런 근육 약화 질환이 없는 소아의 CHAQ 지수 점수와 비교될 수 있다. 추가적으로, 본원에서 개시된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아의 CHAQ 지수 점수는 예로서, CHAQ 지수 점수의 표준 편차를 결정하기 위해, 본원에서 개시된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 다른 소아의 CHAQ 지수 점수와 비교될 수 있다.

[0146] 이들 방법은 본원에서 개시된 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아의 CHAQ 지수 점수 (가령, ADL에서 장애 및/또는 통증을 지시함)에서 향상을 유발할 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료, 예를 들면, 소아의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP로 치료는 HPP를 앓는 소아에서 CHAQ 지수 점수에서 약 0 내지 약 0.5와 동등하거나 또는 그 이하 (가령, 약 0, 약 0.1, 약 0.2, 약 0.4, 또는 약 0.5)까지 평균 감소를 유발할 수 있다.

[0147] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아의 CHAQ 지수 점수에서 감소는 예로서, 소아의 일생까지, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 유사하게, 소아의 ADL에서 증가 및/또는 통증에서 감소는 소아의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다.

[0148] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아의 CHAQ 지수 점수는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의

sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 이용한 치료 효력을 사정하는데 이용될 수 있는데, 여기서 일정한 검사 점수에 비하여 향상은 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드가 예로서, 일상 생활 활동(ADL)에서 장애 및 근육 약화 질환과 연관된 통증을 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다. 특히, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아는 평균 CHAQ 지수 점수에 도달하고, 그리고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 8가지 범주 (분장/손질, 일어나기, 식사, 보행, 위생, 뻗기, 움켜잡기 및 활동) 중에서 하나 또는 그 이상에서 하나 또는 그 이상의 문제가 질문될 수 있었다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아에게 sALP의 투여가 CHAQ 지수 점수에서 약 0.5와 동등하거나 또는 그 이하까지 평균 감소를 유발할 때 (여기서 상기 소아는 이전에 약 0.8보다 큰 평균 CHAQ 지수 점수를 가졌다), sALP는 예로서, 일상 생활 활동 (ADL)에서 장애 및 근육 약화 질환과 연관된 통증을 치료하는데 효과적이다. 대안으로, sALP의 투여가 CHAQ 지수 점수에서 약 0.5와 동등하거나 또는 그 이하까지 평균 감소를 유발하지 않을 때, sALP 투여의 용량 및/또는 빈도가 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아에 대한 sALP의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0149] *소아 결과 데이터 수집 도구 (PODCI)*

[0150] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 일정한 개체는 소아 결과 데이터 수집 도구 (PODCI)를 이용하여 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료에 대해 확인될 수 있다. PODCI는 Plint et al. (*J. Pediatr. Orthop. 23*(6): 788-790, 2003)에서 설명된 바와 같이, 소아의 건강 상태를 평가하여 이들 환자에 대한 PODCI 점수를 산출하기 위해 운영될 수 있다. PODCI는 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에 의해, 또는 상기 개체의 부모/후견인에 의해 완결될 수 있는 문제의 8가지 범주를 포함한다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 PODCI을 결정하는데 이용될 수 있는 범주는 다음을 포함한다: 1) 일일 개인 위생과 학생 활동을 수행할 때 목격되는 어려움을 계측하는 상지와 신체 기능 척도; 2) 일상 활동에서 일과적인 움직임 및 운동 활동을 수행할 때 경험되는 어려움을 계측하는 이전과 기본 이동성 척도; 3) 더욱 활발한 활동 또는 스포츠에 참여할 때 목격되는 어려움 또는 제약을 계측하는 스포츠/신체 기능 척도; 4) 지난 주 동안 경험된 통증의 수준을 계측하는 통증/편안함 척도; 5) 치료의 장기간 예상을 계측하는 치료 기대 척도; 6) 용색에 대한 전반적인 만족 및 자기 또래의 친구 등과의 동질감을 계측하는 행복 척도; 7) 현재 제약이 평생 동안 지속되는 상태이면, 이러한 제약의 환자 용인을 계측하는 증상에 대한 만족 척도; 그리고 8) 상기 열거된 첫 4가지 척도로부터 계산된 전반적인 조합된 척도인 전역 기능 척도. 이들 범주 각각에서, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에 대한 표준화된 점수가 결정되고, 그리고 이후, 0 내지 100 규모로 전환되는데, 여기서 0은 유의미한 장애를 나타내고 100은 더욱 적은 장애를 나타낸다.

[0151] 약 40보다 적은 (가령, 약 5, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 또는 약 39) 평균 PODCI 점수 (가령, ADL에서 장애 및/또는 통증을 지시함)를 갖는 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 투여함으로써 치료될 수 있다. 가령, 40보다 적은 평균 PODCI 점수를 갖는 개체는 환자의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP를 투여함으로써 치료될 수 있다. 게다가, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 평균 PODCI 점수에 도달하기 위해 앞서 설명된 8가지 척도 (가령, 이전과 기본 이동성, 스포츠/신체 기능, 그리고 통증/편안함 척도) 중에서 하나 또는 그 이상에서 하나 또는 그 이상의 문제가 질문될 수 있었고, 그리고 평균 PODCI 점수가 40보다 적으면, 환자는 sALP를 투여함으로써 치료될 수 있다.

[0152] 본원에서 설명된 방법은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 PODCI 점수 (가령, ADL에서 장애 및/또는 통증을 지시함)에서 증가를 유발할 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료, 예를 들면, 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP로 치료는 PODCI 점수에서 약 40 내지 약 50 (가령, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 또는 약 50)까지 평균 증가를 유발할 수 있

다.

[0153] PODCI 점수에서 증가는 예로서, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 유사하게, ADL에서 증가 및/또는 통증에서 감소는 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다.

[0154] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 PODCI 점수는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 이용한 치료 효력을 사정하는데 이용될 수 있는데, 여기서 일정한 검사 점수에 비하여 향상은 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드가 예로서, 일상 생활 활동 (ADL)에서 장애 및 근육 약화 질환과 연관된 통증을 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다. 특히, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 평균 PODCI 점수에 도달하고, 그리고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 8가지 척도 (상지와 신체 기능 척도, 이전과 기본 이동성 척도, 스포츠/신체 기능 척도, 통증/편안함 척도, 치료 기대 척도, 행복 척도, 증상에서 만족 척도, 그리고 전역 기능 척도) 중에서 하나 또는 그 이상에서 하나 또는 그 이상의 문제가 질문될 수 있었다.

[0155] 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 sALP의 투여가 PODCI 점수에서 약 40 또는 약 40 이상까지 평균 증가를 유발할 때 (여기서 상기 개체는 이전에 약 40보다 적은 평균 PODCI 점수를 가졌다), sALP는 예로서, 일상 생활 활동 (ADL)에서 장애 및 근육 약화 질환과 연관된 통증을 치료하는데 효과적이다. 대안으로, sALP의 투여가 PODCI 점수에서 약 40 또는 약 40 이상까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, sALP 투여의 용량 및 빈도가 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에 대한 sALP의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0156] *베일리 영유아 발달검사, 제3판 (BSID-III)*

[0157] 다른 종결점, 베일리 영유아 발달검사, 제3판 (BSID-III)은 Bayley. (2006). *Bayley scales of infant and toddler development: administration manual*. San Antonio, TX: Harcourt Assessment에서 설명된 바와 같이, 출생 때부터 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 건강 상태를 평가하여 상기 개체에 대한 BSID-III 점수를 산출하기 위해 운영될 수 있다. BSID-III는 미가공 BSID-III 점수를 결정하기 위해 개체에게 운영될 수 있는 일련의 발달 수행 과제를 포함한다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, HPP를 앓는 약 3 세 또는 그 이하의 영아)의 BSID-III 점수를 결정하기 위한 범주는 파악, 지각-운동 통합, 운동 계획과 속도, 시각 추적, 뻗기, 물체 움켜잡기, 물체 조작, 기능의수 기술, 촉각 정보에 대한 반응, 사지와 몸통의 움직임, 정적 위치설정, 동적 움직임, 균형, 그리고 운동 계획을 포함할 수 있다. BSID-III 치수는 이후, 척도화된 BSID-III 점수로 전환되는데, 이들은 건강한, 연령-조정된 개체와 비교하여 개체의 성과를 결정하는데 이용될 수 있다. 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체 (가령, HPP를 앓는 환자)의 BSID-III 척도화된 점수는 0 내지 14의 범위에서 변할 수 있는데, 여기서 약 7 내지 약 13의 점수가 건강한 개체의 정상 범위인 것으로 고려된다.

[0158] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 지연된 운동 발달을 지시하는 BSID-III 점수를 산출하기 위해, 영아로서 (가령, 약 3 세 또는 3 세 이하에서) 설명된 범주 (파악, 지각-운동 통합, 운동 계획과 속도, 시각 추적, 뻗기, 물체 움켜잡기, 물체 조작, 기능의수 기술, 촉각 정보에 대한 반응, 사지와 몸통의 움직임, 정적 위치설정, 동적 움직임, 균형, 그리고 운동 계획) 중에서 하나 또는 그 이상에서 검사를 수행할 수 있었다. 영아로서 설명된 범주 (파악, 지각-운동 통합, 운동 계획과 속도, 시각 추적, 뻗기, 물체 움켜잡기, 물체 조작, 기능의수 기술, 촉각 정보에 대한 반응, 사지와 몸통의 움직임, 정적 위치설정, 동적 움직임, 균형, 그리고 운동 계획) 중에서 하나 또는 그 이상에서 약 2보다 적은 평균 BSID-III 점수를 갖는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 투여함으로써 치료될 수 있

다. 특히, 영아로서 약 2보다 적은 평균 BSID-III 점수를 갖는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 상기 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP를 투여함으로써 치료될 수 있다.

[0159] 이들 방법은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 평균 BSID-III 점수 (가령, 지연된 운동 발달을 지시함)에서 향상을 유발할 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료, 예를 들면, 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP로 치료는 BSID-III 점수에서 약 5 이상 (가령, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 또는 약 13)까지 평균 증가를 유발할 수 있다.

[0160] BSID-III 점수에서 증가는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 유사하게, 운동 발달에서 증가는 예로서, 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다.

[0161] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 BSID-III 점수는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 이용한 치료 효력을 사정하는데 이용될 수 있는데, 여기서 일정한 검사 점수에 비하여 향상은 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드가 예로서, 근육 약화 질환과 연관된 지연된 운동 발달을 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다. 특히, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 평균 BSID-III 점수에 도달하고, 그리고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해, 영아로서 (가령, HPP를 앓는 약 3 세 또는 그 이하에서) 설명된 범주 (파악, 지각-운동 통합, 운동 계획과 속도, 시각 추적, 뻗기, 물체 움켜잡기, 물체 조작, 기능의수 기술, 촉각 정보에 대한 반응, 사지와 몸통의 움직임, 정적 위치설정, 동적 움직임, 균형, 그리고 운동 계획) 중에서 하나 또는 그 이상에서 검사를 수행할 수 있었다.

[0162] 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아에게 sALP의 투여가 BSID-III 척도화된 점수에서 약 5 이상까지 평균 증가를 유발할 때 (여기서 상기 소아는 이전에 영아로서 (가령, 약 3 세 또는 3 세 이하에서) 약 2보다 적은 평균 BSID-III 척도화된 점수를 가졌다), sALP는 예로서, HPP와 연관된 지연된 운동 발달을 치료하는데 효과적이다. 대안으로, sALP의 투여가 BSID-III 척도화된 점수에서 약 5 이상까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, sALP 투여의 용량 및/또는 빈도가 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아에 대한 sALP의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0163] *피바디 발달 운동 척도, 제2판 (PDMS-2)*

[0164] 다른 종결점, 피바디 발달 운동 척도, 제2판 (PDMS-2)은 van Hartingsveldt et al. (*Occup. Ther. Int.* 12(1): 1-13, 2005)에서 설명된 바와 같이, 출생 때부터 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 건강 상태를 평가하여 상기 개체에 대한 PDMS-2 점수를 산출하기 위해 운영될 수 있다. PDMS-2는 개체, 예를 들면, HPP를 앓는 환자의 운동 기술을 계측하기 위한 하위검사의 6가지 범주를 포함한다. 특히, PDMS-2 치수는 다음의 하위검사로부터 결정될 수 있다: 1) 한 장소로부터 다른 장소로 이동하는 개체의 능력을 계측하는 운동 하위검사 (계측은 네발기기, 걷기, 달리기, 호핑 및 앞으로 점핑을 포함한다); 2) 환경적 사건에 자동적으로 반응하는 개체의 능력을 계측하는 반사 하위검사; 3) 무게 중심 내에서 신체 제어를 지속하고 평형을 유지하는 개체의 능력을 계측하는 부동 하위검사; 4) 물체를 조작하는, 예를 들면, 공을 잡고, 던지고, 차는 개체의 능력을 계측하는 물체 조작 하위검사; 5) 자신의 손을 이용하는 개체의 능력, 예를 들면, 한 손으로 물체를 유지하는 능력 및 양손의 손가락의 제어된 이용을 필요로 하는 행위를 계측하는 움켜짐 하위검사; 그리고 6) 자신의 시각 지각 기술을 이용하여 복잡한 눈-손 협응 과제, 예를 들면, 물체에 손을 뻗어 움켜잡음, 블록으로 집짓기 및 디자인 모방을 수행하는 개체의 능력을 계측하는 시각 운동 통합 하위검사. PDMS-2 치수는 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에 대한 이들 범주 중에서 하나 또는 그 이상에 대해 결정되고, 그리고 이후, PDMS-2 점수, 예를 들면, 0 내지 13의 범위에서 변하는 PDMS-2 운동 표준 점수로 전환될 수 있는데, 여기

서 건강한 개체 (가령, 근육 약화 질환이 없는 개체)의 범위는 약 7 내지 약 13이다.

[0165] 평균 PDMS-점수 (가령, 지연된 운동 발달을 지시함)를 갖는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체는 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 투여함으로써 치료될 수 있다.

[0166] 본원에서 설명된 방법은 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 PDMS-2 점수 (가령, 지연된 운동 발달을 지시함)에서 향상을 유발할 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료는 PDMS-2 점수에서 약 7 내지 약 13 (가령, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 또는 약 13)까지 평균 증가를 유발할 수 있다.

[0167] PDMS-2 점수에서 증가는 연장된 시간 동안, 예를 들면, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 유사하게, 운동 발달에서 증가는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 일생까지, 일정한 기간 동안 sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다.

[0168] 근육 약화 질환 (가령, HPP)을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 PDMS-2 점수는 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들면, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 이용한 치료 효력을 사정하는데 이용될 수 있는데, 여기서 일정한 검사 점수에 비하여 향상은 알칼리성 포스파타아제, 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드가 예로서, 근육 약화 질환과 연관된 지연된 운동 발달을 치료하는데 효과적이라는 것을 증명한다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아는 평균 PDMS-2 점수에 도달하고, 그리고 sALP 투여의 치료 효력을 사정하기 위해 약 5 세 또는 5 세 이하에서 설명된 범주 (운동, 반사, 부동, 물체 조작, 움켜잡기 및 시각 운동) 중에서 하나 또는 그 이상에서 검사를 수행할 수 있었다.

[0169] 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 소아에게 sALP의 투여가 PDMS-2 표준 점수에서 약 7까지 평균 증가를 유발할 때 (여기서 상기 소아는 이전에 약 5의 평균 PDMS-2 표준 점수를 가졌다), sALP는 예로서, HPP와 연관된 지연된 운동 발달을 치료하는데 효과적이다. 대안으로, sALP의 투여가 PDMS-2 표준 점수에서 약 7까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, sALP 투여의 용량 및/또는 빈도가 소아에 대한 sALP의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 용량은 예로서, 약 3 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주로, 또는 약 6 mg/kg/주로부터 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0170] *6 분 보행 검사 (6MWT)*

[0171] 근육 약화 질환을 앓는 개체는 6MWT를 이용하여 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료에 대해 확인될 수 있다. 특히, 6MWT는 근육 약화 질환을 앓는 성인에서 보행 능력을 평가하여 상기 성인에 대한 6MWT 값을 산출하는데 이용될 수 있다. 6MWT는 딱딱한 표면을 갖는 편평하고, 곧고, 밀폐된 복도 (가령, 약 30 미터 길이의)를 이용하여 실내에서 또는 야외에서 수행될 수 있다. 스톱워치 또는 다른 타이머가 시간을 추적하는데 이용될 수 있고, 그리고 기계적 계수기 또는 다른 장치가 근육 약화 질환을 앓는 개체가 걷는 거리 (가령, 미터에서)를 결정하는데 이용될 수 있다. 가령, 복도의 길이는 근육 약화 질환을 앓는 개체가 걸은 미터의 숫자를 결정하기 위해 3 미터마다 표시될 수 있고, 30 미터에서 턴어라운드 포인트 및 출발선 또한 표시될 수 있다. 6 분 동안 근육 약화 질환을 앓는 개체가 걸은 거리는 이후, 예로서 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 동일한 신장의 정상적인 개체가 걸은 미터의 예측된 숫자와 비교되고, 그리고 상기 개체의 6MWT 값을 산출하기 위해 백분율 값으로서 표시될 수 있다. 근육 약화 질환을 앓는 개체의 6MWT 값은 상기 개체의 기준선에서 6MWT 값과 비교될 수 있다. 추가적으로, 근육 약화 질환을 앓는 개체의 6MWT 값은 정상적인 개체의 6MWT 값과 비교될 수 있다.

[0172] 예측된 6MWT 값의 약 80%보다 적은 평균 6MWT을 갖는 근육 약화 질환을 앓는 개체 (가령, 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 동일한 신장의 정상적인 개체에 비하여)는 예로서, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드를 투여함으로써, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료될 수 있다. 가령, 예측된 6MWT 값의 약 80%보다 적은 (가령, 예측된 6MWT 값의 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 또는 약 75%) 평균 6MWT를 갖는 근육 약화 질환을 앓는 개체는 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료될 수 있다.

[0173] 이들 방법은 근육 약화 질환을 앓는 개체의 6MWT 값에서 향상을 유발할 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료, 예를 들면, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 일생; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료는 6MWT 값에서 상기 환자의 예측된 6MWT 값의 약 80% 또는 그 이상 (가령, 예측적 6MWT 값의 약 82%, 약 84%, 약 86%, 약 88%, 약 90%, 약 92%, 약 94%, 약 96%, 약 98%, 또는 그 이상)까지 평균 증가를 유발할 수 있다.

[0174] 근육 약화 질환을 앓는 개체의 6MWT 값에서 증가는 예로서, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 개체의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여 내내 지속될 수 있다. 가령, 6MWT 값은 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료 동안, 근육 약화 질환을 앓는 개체의 예측된 6MWT 값의 약 80% 이상까지 증가하고 증가된 6MWT 값의 ± 10%에서 머무른다.

[0175] 유사하게, 근육 약화 질환을 앓는 개체의 보행 능력에서 향상은 예로서, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 투여 내내 지속될 수 있다. 가령, 근육 약화 질환을 앓는 개체는 sALP로 치료 동안 이동 보조 장치, 예를 들면, 보행기, 휠체어, 고정기, 목발, 또는 보조기구에 대한 감소된 의존을 전시한다.

[0176] 대안으로, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여가 6MWT 값에서 예측된 6MWT 값 (가령, 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 신장의 정상적인 개체의)의 80% 이상까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, 알

칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 투여의 용량 및/또는 빈도가 근육 약화 질환을 앓는 개체에 대한 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 용량은 예로서, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0177] *악력계 (HHD)*

[0178] 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 악력과 근력은 악력계 (HHD)를 이용하여 사정될 수 있다. 가령, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 무릎 굽힘과 신전, 그리고 또한, 엉덩관절 굽힘, 신전 및 외전은 예로서, MICROFET2™ 검력계를 이용하여 계측될 수 있고, 반면 개체의 악력은 예로서, Jamar 악력계를 이용하여 계측될 수 있다. 특히, 운영자는 검력계를 움직이지 않게 유지하고, 그리고 개체는 검력계에 대항하여 최대한의 힘을 발휘한다. 피크 힘 데이터는 파운드에서 수집되고, 이후 뉴턴 (N)으로 전환된다. 이후, 토크 값이 N-미터에서 사지 길이를 이용하여 계산된다. 토크 값은 이후, 예로서 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 동일한 신장의 정상적인 개체의 토크 값과 비교되고, 그리고 개체의 HHD 값을 산출하기 위해 백분율 값으로서 표시될 수 있다.

[0179] 예측된 HHD 값의 약 80%보다 적은 평균 HHD 값을 갖는 근육 약화 질환을 앓는 개체 (가령, 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 동일한 신장의 정상적인 개체에 비하여)는 예로서, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드를 투여함으로써, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료될 수 있다. 가령, 예측된 HHD 값의 약 80%보다 적은 (가령, 예측된 HHD 값의 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 또는 약 75%) 평균 HHD를 갖는 근육 약화 질환을 앓는 개체는 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료될 수 있다.

[0180] 이들 방법은 근육 약화 질환을 앓는 개체의 HHD 값에서 향상을 유발할 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)로 치료, 예를 들면, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 환자의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료는 HHD 값에서 상기 환자의 예측된 HHD 값의 약 80% 또는 그 이상 (가령, 예측적 HHD 값의 약 83%, 약 85%, 약 87%, 약 90%, 약 93%, 약 95%, 약 97%, 또는 약 100%, 또는 약 100%)까지 평균 증가를 유발할 수 있다.

[0181] 근육 약화 질환을 앓는 개체의 HHD 값에서 증가는 예로서, 최소한 2 주 (가령, 최소한 3 주, 최소한 4 주, 최소한 5 주, 최소한 6 주, 최소한 7 주, 최소한 8 주, 최소한 9 주, 최소한 10 주, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월, 최소한 7 개월, 최소한 8 개월, 최소한 9 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 또는 최소한 10 년, 또는 개체의 생애; 특히 최소한 6 주)의 치료 기간 동안 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투

여 내내 지속될 수 있다. 가령, HHD 값은 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드로 치료 동안 근육 약화 질환을 앓는 개체의 예측된 HHD 값의 약 80% 이상까지 증가하고 증가된 HHD 값의 ± 10%에서 머무른다.

[0182] 대안으로, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 (가령, sALP, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 투여가 HHD 값에서 예측된 HHD 값 (가령, 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 신장의 근육 약화 질환을 앓는 개체의)의 80% 이상까지 평균 증가를 유발하지 않을 때, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드 투여의 용량 및/또는 빈도가 근육 약화 질환을 앓는 개체에 대한 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 효과량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 가령, 알칼리성 포스파타아제 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 폴리펩티드의 용량은 예로서, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주로 증가될 수 있다.

[0183] **알칼리성 포스파타아제**

[0184] 아스포타제 알파는 HPP의 치료용으로 조제된 인간 TNALP (hTNALP; 서열 번호: 1) 융합 단백질이다. 특히, 아스포타제 알파 (서열 번호: 1)는 연장된 기간 (가령, 최소한 하루, 최소한 1 주, 최소한 2 주, 최소한 3 주, 최소한 1 개월, 최소한 3 개월, 최소한 6 개월, 최소한 1 년, 최소한 2 년, 최소한 3 년, 최소한 4 년, 최소한 5 년, 최소한 6 년, 최소한 7 년, 최소한 8 년, 최소한 9 년, 최소한 10 년, 또는 10 년 이상 (가령, 개체의 일생 동안)) 동안, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에서 저인산증 (HPP), 이의 증상 및 이것과 연관된 신체적 장애를 치료하는데 효과적으로 이용될 수 있다.

[0185] 본원에서 설명된 결과를 고려하면, 본 발명은 특정 알칼리성 포스파타아제 (ALP) 또는 ALP를 인코딩하는 핵산 서열에 한정되지 않는다. 알칼리성 포스파타아제는 인산염 모이어티의 개열 (가령, 피로인산염, PP_i의 가수분해)을 촉매작용하는 효소의 군을 포괄한다. 4가지 공지된 포유류 알칼리성 포스파타아제 (ALP) 동질효소가 있다: 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNALP; 아래에 더욱 설명됨), 태반 알칼리성 포스파타아제 (PLALP) (가령, 수탁 번호 P05187, NP_112603 및 NP_001623), 생식 세포 알칼리성 포스파타아제 (GALP) (가령, 수탁 번호 P10696), 그리고 장관 알칼리성 포스파타아제 (IALP) (가령, 수탁 번호 P09923 및 NP_001622). 상기 논의된 예시적인 ALP에 더하여, 본 발명은 또한, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체를 치료하기 위한, ALP의 동일한 또는 유사한 촉매 부위 구조 및/또는 효소 활성을 갖는 임의의 폴리펩티드를 제공한다. sALP를 포함하는 뼈 전달 접합체는 PCT 공개 번호: WO 2005/103263 및 WO 2008/138131에서 더욱 설명된다.

[0186] 본원에서 설명된 방법에 따라서 이용될 수 있는 TNALP는 예로서, 인간 TNALP (수탁 번호 NP_000469, AAI10910, AAH90861, AAH66116, AAH21289 및 AAI26166); 붉은털 원숭이 TNALP (수탁 번호 XP_01109717); 쥐 TNALP (수탁 번호 NP_037191); 개 TNALP (수탁 번호 AAF64516); 돼지 TNALP (수탁 번호 AAN64273), 생쥐 (수탁 번호 NP_031457), 소 TNALP (수탁 번호 NP_789828, NP_776412, AAM 8209 및 AAC33858), 그리고 고양이 TNALP (수탁 번호 NP_001036028)를 포함한다. 특히, TNALP는 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 치료에 이용되는 재조합 인간 TNALP일 수 있다 (가령, 서열 번호: 1, 아스포타제 알파; 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 U.S. 특허 번호 7,763,712 및 7,960,529를 참조한다). TNALP는 또한, 상기-언급된 TNALP의 폴리펩티드 또는 핵산 서열과 최소한 약 95% 서열 동일성을 전시하는 것일 수 있다.

[0187] *가용성 알칼리성 포스파타아제*

[0188] 본 발명의 ALP는 본원에서 설명된 알칼리성 포스파타아제 중에서 한 가지의 가용성 (가령, 세포외 또는 비-막-결합된) 형태를 포함한다. 본 발명의 sALP는 예로서, 인간 조직 비특이적 알칼리성 포스파타아제 (인간 TNALP (hTNALP))의 가용성 형태일 수 있다. 본 발명은 특정 sALP에 한정되지 않고, 그리고 예로서, 포스포에탄올아민 (PEA), 무기 피로인산염 (PPi) 및 피리독살 5'-인산염 (PLP)을 향해 생리학적으로 활성인 임의의 sALP 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특히, 본 발명의 sALP는 뼈에서 골격 광화를 향상시키는데 촉매적으로 적격성이다. 본 발명은 예로서, HPP, CPPD, 가족성 저인산혈증 (가령, 상염색체 우성 저인산혈 구루병 (ADHR), 상염색체 열성 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈 구루병, X 연관된 저인산혈증 (XLH) 등) 등을 비롯하여, 본원에서 설명된 근육 약화 상태를 치료하는데 이용될 수 있는 본원에서 설명된 sALP를 인코딩하는 핵산을 더욱 포함한다.

[0189] TNALP는 C 말단에서 당지질 모이어티에 의해 고정된 막-결합된 단백질이다 (Swiss-Prot, P05186). 이러한 당지질 앵커 (GPI)는 소수성 C 말단 단부의 제거 후 번역후 부가되는데, 이것은 일시적인 막 앵커로서 뿐만 아니라

GPI의 부가를 위한 신호로서 역할한다. GPI 앵커는 세포막 내에 위치되는 반면, TNALP의 나머지 부분은 세포외이다. 특히, TNALP (가령, 인간 TNALP (hTNALP))는 소수성 C 말단 서열의 첫 번째 아미노산 (알라닌)을 종결 코돈으로 대체하도록 가공되고, 따라서 TNALP의 선천적 고정된 형태의 모든 아미노산 잔기를 내포하고 GPI 막 앵커를 결여하는 가공된 hTNALP가 생산될 수 있다. 당업자는 GPI 막 앵커의 위치가 상이한 ALP에서 서로 다를 것이고, 그리고 예로서, 폴리펩티드의 C 말단에서 마지막 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 45, 50개, 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 재조합 sTNALP는 예로서, 아미노산 1 내지 502 (분비될 때 18 내지 502), 아미노산 1 내지 501 (분비될 때 18 내지 501), 아미노산 1 내지 504 (분비될 때 18 내지 504), 아미노산 1 내지 505 (분비될 때 18-505), 또는 아미노산 1 내지 502를 포함할 수 있다. 따라서, 선천적 ALP의 C 말단 단부는 ALP 활성에 영향을 주지 않으면서 일정한 아미노산에 의해 절두될 수 있다.

[0190] C 말단 GPI 앵커에 더하여, TNALP는 또한, N 말단 신호 펩티드 서열을 갖는다. N 말단 신호 펩티드는 단백질이 합성될 때 합성된 단백질 상에 존재하지만, ER 내로 전위 후 TNALP로부터 개열된다. 본 발명의 sALP는 이들의 분비된 형태 (다시 말하면, N 말단 신호를 결여) 및 비-분비된 형태 (다시 말하면, N 말단 신호를 가짐) 둘 모두를 포함한다. 당업자는 N 말단 신호 펩티드의 위치가 상이한 알칼리성 포스파타아제에서 서로 다를 것이고, 그리고 예로서, 폴리펩티드의 N 말단에서 첫 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30개, 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 당업자는 예로서, 적절한 컴퓨터 알고리즘, 예를 들면, Bendtsen et al. (*J. Mol. Biol.* 340(4):783-795, 2004)에서 설명되고 www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/에서 웹 상에서 가용한 것에 의해 신호 서열 개열 부위의 위치를 예측할 수 있다.

[0191] 본 발명은 또한, ALP 동질효소 (가령, TNALP, PALP, GCALP, IALP 등)의 세포외 도메인으로부터 유래된 sALP 공통 서열을 포함한다. 따라서, 상기 논의된 sTNALP와 유사하게, 본 발명은 또한, 펩티드 신호가 없고, 바람직하게는 ALP의 세포외 도메인을 포함하는 다른 가용성 인간 ALP 동질효소를 제공한다. 본 발명의 sALP는 또한, 인간 ALP 동질효소 및 포유류 TNALP 오르소로그 (인간, 생쥐, 쥐, 소, 고양이 및 개)의 ALP 세포외 도메인으로부터 유래된 공통 서열, 또는 단지 포유류 TNALP 오르소로그 (인간, 생쥐, 쥐, 소, 고양이 및 개)의 ALP 세포외 도메인으로부터 유래된 공통 서열을 충족시키는 폴리펩티드 서열을 포함한다. 본 발명의 sALP는 또한, 이들 TNALP 오르소로그 또는 인간 ALP 동질효소의 다양한 조합으로부터 유래된 유사한 공통 서열을 충족시키는 것들을 포함한다. 이런 공통 서열은 가령, WO 2008/138131에서 제공된다.

[0192] 본 발명의 sALP는 앞서 설명된 sALP의 야생형 서열뿐만 아니라, 이들 알칼리성 포스파타아제에 최소한 50% (가령, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상) 서열 동일성을 갖는 임의의 폴리펩티드 (가령, 서열 번호: 1-24; 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함할 수 있다. ALP 서열 내로 도입될 수 있는 돌연변이의 실례는 본원에 전체적으로 참조로서 편입되는 US 공개 번호 2013/0323244에서 설명된다. sALP는 임의선택적으로, 임의의 적합한 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기에서 글리코실화될 수 있다. 이에 더하여, sALP는 본원에서 설명된 sALP 중에서 한 가지 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)에 최소한 50% (가령, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상) 서열 동일성을 가질 수 있다. sALP는 본원에서 설명된 sALP 중에서 한 가지 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)에 비하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 이상의 부가, 결실 또는 치환을 가질 수 있다.

[0193] *sALP 융합 폴리펩티드*

[0194] 본원에서 설명된 임의의 sALP 및 링커는 sALP 폴리펩티드, 예를 들면, A-sALP-B의 sALP 폴리펩티드에서 조합될 수 있는데, 여기서 A와 B는 각각 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)이다. 존재할 때, A 및/또는 B는 본원에서 설명된 임의의 링커일 수 있다. 일부 sALP 폴리펩티드에서, A가 부재하고, B가 부재하고, 또는 A와 B 둘 모두 부재한다. 본 발명의 sALP 폴리펩티드는 임의선택적으로, 본원에서 설명된 바와 같은 sALP 융합 폴리펩티드를 제공하기 위해 Fc 영역을 포함할 수 있다. sALP 폴리펩티드는 임의선택적으로, 본원에서 설명된 바와 같은 뼈-표적화 모이어티를 포함할 수

있다. 일부 sALP 폴리펩티드에서, 링커, 예를 들면, 유연한 링커, 예를 들면, 디펩티드 서열 (가령, 류신-리신 또는 아스파르트산-이소류신)이 뼈-표적화 모이어티 및 sALP 사이에 포함될 수 있다. 다른 예시적인 Fc 영역, 링커 및 뼈-표적화 모이어티는 아래에 설명된다.

[0195] 본원에서 설명된 임의의 sALP, 링커 및 Fc 영역은 융합 폴리펩티드, 예를 들면, 재조합 융합 폴리펩티드에서 조합될 수 있는데, 이것은 구조 Z-sALP-Y-스페이서-X-W_n-V, Z-W_n-X-스페이서-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-W_n-X-스페이서-V, 그리고 Z-W_n-X-sALP-Y-스페이서-V (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함한다. 특히, 상기 구조는 Z-sALP-Y-스페이서-X-W_n-V 또는 Z-W_n-X-스페이서-Y-sALP-V일 수 있다. sALP는 ALP의 전장 또는 기능적 단편, 예를 들면, 본원에서 설명된 바와 같은 ALP의 가용성 세포외 도메인 (가령, TNALP, PALP, GCALP 및 IALP)일 수 있다. X, Y, Z 및 V 중에서 한 가지 및/또는 스페이서는 부재하거나 또는 최소한 하나의 아미노산의 아미노산 서열일 수 있다. W_n은 예로서, 일련의 연속성 Asp 또는 Glu 잔기를 갖는 뼈-표적화 모이어티일 수 있는데, 여기서 n = 1 내지 50, 예를 들면, n = 3-30, 예를 들면, 5-15, 예를 들면, 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, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50이다. 뼈-표적화 모이어티는 존재하면, 융합 폴리펩티드 내에 어디든지, 예를 들면, N 말단 또는 C 말단 단부에서 또는 이와 가깝게 및/또는 링커 영역 내에 배치될 수 있다. 가령, 뼈-표적화 모이어티는 C 말단 단부에 존재한다. sALP 폴리펩티드 및 융합 폴리펩티드는 또한, 뼈-표적화 모이어티를 포함하지 않을 수 있다.

[0196] 본 발명의 sALP 융합 폴리펩티드는 구조 hTNALP-Fc-D_{10}일 수 있다. 특히, sALP 융합 폴리펩티드는 서열 번호: 1 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0197] 유용한 스페이서는 Fc를 포함하는 폴리펩티드, 그리고 말단 고도로 음성으로 하전된 펩티드 (가령, W_n)의 존재에 의해 유발된 반발력을 경감할 수 있는 친수성의 유연한 폴리펩티드를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 가령, sALP는 N 말단 또는 C 말단 도메인에서 면역글로불린의 Fc 영역을 포함하는 융합 폴리펩티드일 수 있다. 면역글로불린 분자는 당해 분야에서 널리 공지된 구조를 갖는다. 이것은 사슬간 이황화 결합에 의해 연결된 2개의 경쇄 (각각 ~23 kD) 및 2개의 중쇄 (각각 ~50-70 kD)를 포함한다. 면역글로불린은 Fab (경쇄 및 중쇄의 VH와 CH1 도메인을 내포) 및 Fc (인접하는 서열과 함께, 중쇄의 CH2와 CH3 도메인을 내포)로 단백질분해적으로 (가령, 파파인 개열에 의해) 쉽게 개열된다. 본원에서 설명된 바와 같은 유용한 Fc 단편은 임의의 포유동물 (가령, 인간)로부터, IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE, 그리고 이들의 다양한 하위부류 (가령, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2)를 비롯한 임의의 면역글로불린 분자의 Fc 단편을 포함한다. 가령, Fc 단편은 인간 IgG-1이다. 본 발명의 Fc 단편은 예로서, 중쇄의 CH2와 CH3 도메인, 그리고 힌지 영역의 임의의 부분을 포함할 수 있다. Fc 영역은 임의선택적으로, 당업자에게 공지된 임의의 적합한 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기에서 글리코실화될 수 있다. 특히, 융합 폴리펩티드의 Fc 단편은 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 갖거나, 또는 서열 번호: 20에 최소한 50% (가령, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상) 서열 동일성을 갖는다. 가공된, 예를 들면, 비자연발생 Fc 영역은 가령, 국제 출원 공개 번호 WO2005/007809에서 설명된 바와 같이, 본 발명의 방법에서 활용될 수 있는데, 이것은 본원에 참조로서 편입된다. 본원에서 설명된 바와 같은 Fc 단편은 본원에서 설명된 임의의 Fc 단편에 비하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50개, 또는 그 이상의 부가, 결실 또는 치환을 가질 수 있다.

[0198] 본원에서 설명된 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 Fc 단편 사이에 펩티드 링커 영역을 포함할 수 있다. 이에 더하여, 펩티드 링커 영역은 Fc 단편 및 임의선택적 뼈-표적화 모이어티 사이에 포함될 수 있다. 링커 영역은 sALP가 생물학적으로 활성, 예를 들면, 입체적으로 방해되지 않은 상태로 남아있게 허용하는 임의의 서열과 길이일 수 있다. 예시적인 링커 길이는 1 내지 200개 아미노산 잔기, 예를 들면, 1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45, 46-50, 51-55, 56-60, 61-65, 66-70, 71-75, 76-80, 81-85, 86-90, 91-95, 96-100, 101-110, 111-120, 121-130, 131-140, 141-150, 151-160, 161-170, 171-180, 181-190, 또는 191-200개 아미노산 잔기이다. 가령, 링커는 유연한 부분, 예를 들면, 유의미한 고정된 이차 또는 삼차 구조가 없는 영역을 포함하거나 또는 이들로 구성된다. 예시적인 유연한 링커는 예로서, 최소한 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 심지어 100% 글리신 잔기를 내포

하는 글리신-풍부한 링커이다. 링커는 또한, 예로서 세린 잔기를 내포할 수 있다. 일부 경우에, 링커의 아미노산 서열은 단지 글리신과 세린 잔기로만 구성된다. 링커는 임의선택적으로, 임의의 적합한 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기에서 글리코실화될 수 있다. 추가적으로, 본원에서 설명된 바와 같은 링커는 공유적으로 또는 비공유적으로 부착된 임의의 다른 서열 또는 모이어티를 포함할 수 있다. 링커는 또한, 부재할 수 있는데, 여기서 Fc 단편 및 sALP는 개재성 잔기 없이, 함께 직접적으로 융합된다. 일정한 Fc-sALP 또는 sALP-Fc 융합 폴리펩티드는 본 발명에 따라서, 1) 링커를 갖지 않는 것으로서, 또는 2) sALP의 부분에 상응하는 링커를 갖는 것으로서 개관될 수 있다. 가령, hsTNALP (1-502)에 직접적으로 융합된 Fc는 예로서, 링커를 갖지 않는 것 (여기서 hsTNALP는 아미노산 1-502이다)으로서, 또는 17-아미노산 링커를 갖는 것 (여기서 hsTNALP는 (18-502)이다)으로서 개관될 수 있다.

[0199] 융합 폴리펩티드를 생산하는데 이용된 클로닝 전략에 따라서, 추가 아미노산 잔기가 폴리펩티드 내로 도입될 수 있다. 가령, 추가 아미노산 잔기는 폴리펩티드를 가용성 형태로 유지하기 위해 추가 GPI 정착 신호를 제공하지 않는다. 게다가, 본 발명의 폴리펩티드 내로 통합될 때, 임의의 이런 추가 아미노산 잔기는 숙주 세포의 엔도프로테아제에 대한 개열 부위를 제공하지 않는다. 설계된 서열이 숙주 세포의 엔도프로테아제에 의해 개열될 가능성은 가령, Ikezawa (*Biol. Pharm. Bull.* 25:409-417, 2002)에 의해 설명된 바와 같이 예측될 수 있다.

[0200] 본 발명의 sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 가령, 아스포타제 알파)는 이합체 또는 사합체로 연관될 수 있다. 가령, 2개의 sALP-Fc 단위체는 Fc 단편의 힌지 영역에서 위치된 2개의 이황화 결합을 통해 공유적으로 연결될 수 있다. 추가적으로, 본 발명의 폴리펩티드 또는 융합 폴리펩티드 (가령, sALP 폴리펩티드 또는 융합 폴리펩티드)는 글리코실화되거나 또는 페길화될 수 있다.

[0201] *핵산 및 폴리펩티드의 생산*

[0202] 본 발명의 sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 인코딩하는 핵산은 당해 분야에서 공지된 임의의 방법에 의해 생산될 수 있다. 전형적으로, 원하는 융합 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산은 분자 클로닝 방법을 이용하여 산출되고, 그리고 일반적으로, 벡터, 예를 들면, 플라스미드 또는 바이러스 내에 배치된다. 벡터는 핵산을 융합 폴리펩티드의 발현에 적합한 숙주 세포 내로 형질전환하는데 이용된다. 대표적인 방법은 가령, Maniatis et al. (Cold Springs Harbor Laboratory, 1989)에서 개시된다. 많은 세포 유형이 적절한 숙주 세포로서 이용될 수 있긴 하지만, 포유류 세포가 적절한 번역후 변형을 부여할 수 있기 때문에 바람직하다. 본 발명의 숙주 세포는 예로서, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, L 세포, C127 세포, 3T3 세포, BHK 세포, COS-7 세포, 또는 당해 분야에서 공지된 임의의 다른 적합한 숙주 세포를 포함할 수 있다. 가령, 숙주 세포는 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포 (가령, CHO-DG44 세포)이다.

[0203] sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 숙주 세포에서 sALP 폴리펩티드의 발현을 달성하는데 적합한 임의의 조건 하에 생산될 수 있다. 이런 조건은 완충액, 중탄산염 및/또는 HEPES, 이온, 예를 들면, 염화물, 인산염, 칼슘, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 철, 탄소원, 예를 들면, 단순당, 아미노산, 잠재적으로 지질, 뉴클레오티드, 비타민, 그리고 성장 인자, 예를 들면, 인슐린과 같은 성분으로 제조된 배지; 2-4 mM L-글루타민 및 5% 소 태아 혈청으로 보충된 정규적인 상업적으로 가용한 배지, 예를 들면, 알파-MEM, DMEM, Ham's-F12 및 IMDM; 2-4 mM L-글루타민으로 보충된 정규적인 상업적으로 가용한 동물 단백질 없음 배지, 예를 들면, Hyclone™ SFM4CHO, Sigma CHO DHFR$^-$, Cambrex POWER™ CHO CD의 적절한 선별을 포함한다. 이들 배지는 바람직하게는, 도태 압력을 유지하여 안정된 단백질-산물 발현을 허용하기 위해, 티미딘, 하이포크산틴 및 L-글리신 없이 제조된다.

[0204] **제약학적 조성물 및 제제**

[0205] 본 발명의 조성물 (가령, sALP 또는 sALP 융합 폴리펩티드, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파를 포함)은 당해 분야에서 공지된 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다. 당업자에 의해 인지되는 바와 같이, 투여의 루트 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라 달라질 것이다. 투여 루트는 다양한 인자, 예를 들면, 환경 및 치료적 목적에 의존할 수 있다. 특히, 본원에서 설명된 폴리펩티드 및 융합 폴리펩티드는 당해 분야에서 공지된 임의의 루트에 의해, 예를 들면, 피하 (가령, 피하 주사에 의해), 정맥내, 경구, 코, 근육내, 설하, 척수강내, 또는 피내 투여될 수 있다. 실례로서, 본 발명의 조성물은 액체, 용액, 현탁액, 알약, 캡슐, 정제,

젤라틴 캡슐, 분말, 겔, 연고, 크림, 분무제, 미스트, 미립화된 증기, 에어로졸, 또는 파이토솜의 형태일 수 있다.

[0206] *용량*

[0207] 임의의 양의 제약학적 조성물 (가령, sALP 또는 sALP 융합 폴리펩티드, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파를 포함)이 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 투여될 수 있다. 용량은 투여 방식 및 환자의 연령을 비롯한 많은 인자에 의존할 것이다. 전형적으로, 단일 용량 내에 내포된 조성물 (가령, sALP 또는 sALP 융합 폴리펩티드, 예를 들면, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 양은 유의미한 독성을 유도하지 않으면서 본원에서 설명된 바와 같은 질환 (가령, HPP)을 치료하는데 효과적인 양일 것이다.

[0208] 가령, 본원에서 설명된 sALP 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 예로서, 0.01 mg/kg 내지 500 mg/kg (가령, 0.05 mg/kg 내지 500 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 5 mg/kg 내지 500 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 10 mg/kg 내지 100 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.5 mg/kg 내지 25 mg/kg, 1.0 mg/kg 내지 10 mg/kg, 1.5 mg/kg 내지 5 mg/kg, 또는 2.0 mg/kg 내지 3.0 mg/kg) 또는 1 μg/kg 내지 1,000 μg/kg (가령, 5 μg/kg 내지 1,000 μg/kg, 1 μg/kg 내지 750 μg/kg, 5 μg/kg 내지 750 μg/kg, 10 μg/kg 내지 750 μg/kg, 1 μg/kg 내지 500 μg/kg, 5 μg/kg 내지 500 μg/kg, 10 μg/kg 내지 500 μg/kg, 1 μg/kg 내지 100 μg/kg, 5 μg/kg 내지 100 μg/kg, 10 μg/kg 내지 100 μg/kg, 1 μg/kg 내지 50 μg/kg, 5 μg/kg 내지 50 μg/kg, 또는 10 μg/kg 내지 50 μg/kg)의 범위에서 변하는 개별 용량에서, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 투여될 수 있다.

[0209] sALP의 예시적인 용량은 예로서, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 2.5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 또는 500 mg/kg; 또는 1, 2, 2.5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 900, 또는 1,000 μg/kg을 포함한다. 본원에서 언급된 모든 용량 또는 범위에 대해, 용어 "약"은 이들 용량을 언급된 값 또는 범위 종결점의 ±10%로 수식하는데 이용될 수 있다. 특히, 본 발명에 따른 조성물 (가령, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함)은 약 0.001 mg/kg/일 내지 약 500 mg/kg/일, 약 0.01 mg/kg/일 내지 약 100 mg/kg/일, 또는 약 0.01 mg/kg/일 내지 약 20 mg/kg/일의 범위에서 변하는 용량에서 환자에게 투여될 수 있다. 가령, sALP 조성물 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)은 예로서, 약 0.5 mg/kg/주 내지 약 140 mg/kg/주, 예를 들면, 약 0.8 mg/kg/주 내지 약 50 mg/kg/주, 또는 약 1 mg/kg/주 내지 약 10 mg/kg/주 (가령, 약 6 또는 약 9 mg/kg/주)의 범위에서 변하는 주간 용량에서 환자에게 투여될 수 있다. 특히, sALP (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 2 mg/kg 주 3회 (전체 용량 6 mg/kg/주), 1 mg/kg 주 6회 (전체 용량 6 mg/kg/주), 3 mg/kg 주 3회 (전체 용량 9 mg/kg/주), 0.5 mg/kg 주 3회 (전체 용량 1.5 mg/kg/주), 또는 9.3 mg/kg 주 3회 (전체 용량 28 mg/kg/주)의 용량에서 투여될 수 있다. 용량은 전통적인 인자, 예를 들면, 질환의 정도 및 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체로부터 상이한 파라미터에 따라서 임상의에 의해 조정될 것이다.

[0210] sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함하는 조성물의 용량은 단일 또는 복수 투약 섭생에서 제공될 수 있다. 용량은 예로서, 1 시간마다, 2 시간마다, 매일, 격일, 주 2회, 주 3회, 주 4회, 주 5회, 주 6회, 매주, 격주, 매월, 격월, 또는 연 1회 투여될 수 있다. 대안으로, 용량은 예로서, 하루에 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회, 11회, 또는 12회 투여될 수 있다. 특히, 투약 섭생은 주 1회이다. 투약 섭생의 지속 기간은 예로서, 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, 또는 30 일(들), 주(들), 또는 개월(들), 또는 심지어, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체의 남은 여생 동안 일 수 있다. 투약의 양, 빈도 및 지속 기간은 전통적인 인자, 예를 들면, 질환의 정도 및 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체로부터 상이한 파라미터에 따라서 임상의에 의해 조정될 것이다.

[0211] 가령, sALP 또는 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 주사용 용액으로서 조제될 수 있는데, 이것은 투명하고, 무색이거나 약간 황색의 수성 용액, pH 7.4이다. sALP 또는 sALP 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 12mg/0.3mL, 18mg/0.45mL, 28mg/0.7mL, 40mg/1ml, 또는 80mg/0.8mL의 농도에서 조제될 수 있다. 특히, 조성물은 주사용 40 mg/ml 용액으로서 조제될 수 있는데, 여기서 각 ml의 용액은 40 mg의 sALP 또는 sALP 폴리펩티드를 내포한다 (가령, 각 바이알은 0.3 ml 용액 및 12 mg의 sALP (40 mg/ml)를 내포하거나, 각 바이알은 0.45 ml 용액 및 18 mg의 sALP (40 mg/ml)를 내포하거나, 각 바이알은 0.7 ml 용액 및 28 mg의 sALP(40 mg/ml)를 내포하거나, 또는 각 바이알은 1.0 ml 용액 및 40 mg의 아스포타제 알파 (40 mg/ml)를 내포한다). sALP 또는 sALP 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 100 mg/ml의 농도에서 주사용 용액으로서 조제될 수 있는데, 여기서 각 1 ml의 용액은 100 mg의 sALP 또는 sALP 폴리펩티드를 내포한다 (가령, 각 바이알은 0.8 ml 용액 및 80 mg의 아스포타제 알파 (100 mg/ml)를 내포한다).

[0212] 가령, sALP 또는 sALP 융합 폴리펩티드 ((가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)의 권장된 용량은 주 3회 피하 투여된 2 mg/체중 kg, 또는 주 6회 피하 투여된 1 mg/체중 kg의 투약 섭생이다. 추가 용량 정보는 아래에 제공된다 (표 1).

[0213] **표 1. 아스포타제 알파의 투약**

표 1

체중 (kg)	주 3회 주사			주 6회 주사		
	주사되는 용량	주사되는 체적	주사에 이용된 바이알 유형	주사되는 용량	주사되는 체적	주사에 이용된 바이알 유형
3	6 mg	0.15 ml	0.3 ml			
4	8 mg	0.20 ml	0.3 ml			
5	10 mg	0.25 ml	0.3 ml			
6	12 mg	0.30 ml	0.3 ml	6 mg	0.15 ml	0.3 ml
7	14 mg	0.35 ml	0.45 ml	7 mg	0.18 ml	0.3 ml
8	16 mg	0.40 ml	0.45 ml	8 mg	0.20 ml	0.3 ml
9	18 mg	0.45 ml	0.45 ml	9 mg	0.23 ml	0.3 ml
10	20 mg	0.50 ml	0.7 ml	10 mg	0.25 ml	0.3 ml
11	22 mg	0.55 ml	0.7 ml	11 mg	0.28 ml	0.3 ml
12	24 mg	0.60 ml	0.7 ml	12 mg	0.30 ml	0.3 ml
13	26 mg	0.65 ml	0.7 ml	13 mg	0.33 ml	0.45 ml
14	28 mg	0.70 ml	0.7 ml	14 mg	0.35 ml	0.45 ml
15	30 mg	0.75 ml	1 ml	15 mg	0.38 ml	0.45 ml
16	32 mg	0.80 ml	1 ml	16 mg	0.40 ml	0.45 ml
17	34 mg	0.85 ml	1 ml	17 mg	0.43 ml	0.45 ml
18	36 mg	0.90 ml	1 ml	18 mg	0.45 ml	0.45 ml
19	38 mg	0.95 ml	1 ml	19 mg	0.48 ml	0.7 ml
20	40 mg	1.00 ml	1 ml	20 mg	0.50 ml	0.7 ml
25	50 mg	0.50 ml	0.8 ml	25 mg	0.63 ml	0.7 ml
30	60 mg	0.60 ml	0.8 ml	30 mg	0.75 ml	1 ml
35	70 mg	0.70 ml	0.8 ml	35 mg	0.88 ml	1 ml
40	80 mg	0.80 ml	0.8 ml	40 mg	1.00 ml	1 ml
50				50 mg	0.50 ml	0.8 ml
60				60 mg	0.60 ml	0.8 ml
70				70 mg	0.70 ml	0.8 ml
80				80 mg	0.80 ml	0.8 ml
90				90 mg	0.90 ml	0.8 ml (x2)
100				100 mg	1.00 ml	0.8 ml (x2)

[0214]

[0215] *제제*

[0216] sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함하는 조성물은 표준 방법에 따라서 조제될 수 있다. 제약학적 제제는 충분히 확립된 기술이고, 그리고 가령, Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," 20th Edition, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472); Ansel et al. (1999) "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems," 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727); 및 Kibbe (2000) "Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association," 3rd Edition (ISBN: 091733096X)에서 더욱 설명된다. 가령, sALP 조성물 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)는 예로서, 적합한 농도에서 완충된 용액으로서 조제되고 2-8℃ (가령, 4℃)에서 보관에 적합할 수 있다. 조성물은 또한, 0℃ 아래의 온도 (가령, -20℃ 또는 -80℃)에서 보관용으로 조제될 수 있다. 조성물은 2-8℃ (가령, 4℃)에서 최대 2 년 (가령, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 1 년,

1½ 년, 또는 2 년) 동안 보관용으로 더욱 조제될 수 있다. 따라서, 본원에서 설명된 조성물은 2-8℃ (가령, 4℃)에서 최소한 1 년 동안 보관에서 안정될 수 있다.

[0217] sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함하는 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이들 형태는 예로서, 액체, 반고체 및 고체 복용 형태, 예를 들면, 액체 용액 (가령, 주사가능 및 주입가능 용액), 분산액 또는 현탁액, 정제, 알약, 분말, 리포솜 및 좌약을 포함한다. 바람직한 형태는 부분적으로, 의도된 투여 방식 및 치료적 적용에 좌우된다.

[0218] 가령, 전신 또는 국부 전달용으로 의도된 조성물은 주사가능 또는 주입가능 용액의 형태일 수 있다. 따라서, 조성물 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)은 비경구 방식 (가령, 피하, 정맥내, 복막내, 또는 근육내 주사)에 의한 투여용으로 조제될 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, "비경구 투여," "비경구 투여된," 및 다른 문법적으로 동등한 관용구는 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식, 통상적으로 주사에 의한 투여 방식을 지칭하고, 그리고 제한 없이, 피하, 피내, 정맥내, 비내, 안구내, 폐, 근육내, 동맥내, 척수강내, 낭내, 안와내, 심장내, 피내, 폐내, 복막내, 경기관, 표피하, 관절내, 피막하, 거미막하, 척주내, 경막외, 뇌내, 두개내, 경동맥내, 그리고 흉골내 주사와 주입을 포함한다.

[0219] sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함하는 조성물은 높은 농도에서 안정된 보관에 적합한 용액, 마이크로유제, 분산액, 리포솜, 또는 다른 정연한 구조로서 조제될 수 있다. 무균 주사가능 용액은 적절한 용매에서 필요한 양의 본원에서 설명된 조성물을 필요에 따라, 상기 열거된 성분 중에서 한 가지 또는 조합과 통합하고, 그 이후에 여과 살균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 본원에서 설명된 조성물을 기초 분산 매체 및 상기 열거된 것들로부터 필요한 다른 성분을 내포하는 무균 운반제 내로 통합함으로써 제조된다. 무균 주사가능 용액의 제조를 위한 무균 분말의 경우에, 제조 방법은 진공 건조와 동결 건조를 포함하는데, 이들은 이전에 무균-여과된 용액으로부터 본원에서 설명된 조성물 + 임의의 추가 원하는 성분 (하기 참조)의 분말을 산출한다. 용액의 적절한 유동성은 예로서, 코팅, 예를 들면, 레시틴의 이용에 의해, 분산의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 이용에 의해 유지될 수 있다. 주사가능 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연하는 시약, 예를 들면, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 조성물 내에 포함함으로써 달성될 수 있다.

[0220] 본원에서 설명된 조성물은 또한, 면역리포솜 조성물에서 조제될 수 있다. 이런 제제는 당해 분야에서 공지된 방법, 예를 들면, 가령, Epstein et al. (1985) *Proc Natl Acad Sci USA* 82:3688; Hwang et al. (1980) *Proc Natl Acad Sci USA* 77:4030; 그리고 U.S. 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545에서 설명된 방법에 의해 제조될 수 있다. 증강된 순환 시간을 갖는 리포솜은 가령, U.S. 특허 번호 5,013,556에서 개시된다.

[0221] 또한, sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함하는 조성물, 예를 들면, 이식물 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 비롯한 제어된 방출 제제는 급속한 방출에 대항하여 상기 조성물 (가령, sALP 폴리펩티드 또는 sALP 융합 폴리펩티드)을 보호할 담체로 조제될 수 있다. 생물분해성, 생체적합성 중합체, 예를 들면, 에틸렌 비닐 아세트산염, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리유산이 이용될 수 있다. 이런 제제의 제조를 위한 많은 방법이 당해 분야에서 공지된다. 가령, J.R. Robinson (1978) "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems," Marcel Dekker, Inc., New York를 참조한다.

[0222] 조성물이 두 번째 활성제와 조합으로 이용될 때, 이들 조성물은 두 번째 작용제와 공동조제될 수 있거나, 또는 이들 조성물은 두 번째 작용제 제제와는 별개로 조제될 수 있다. 가령, 개별 제약학적 조성물은 예로서, 투여 직전에 혼합되고 함께 투여될 수 있거나, 또는 예로서, 동일하거나 상이한 시점에서 별개로 투여될 수 있다.

[0223] sALP 및 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 포함하는 조성물은 정맥내 감마 글로불린 요법 (IVIG), 혈장분리교환술, 혈장 대체, 또는 혈장 교환술과 함께, 환자에게, 또는 태아에게 투여되면 이런 태아를 임신한 여성에게 투여용으로 조제될 수 있다.

[0224] *담체/운반제*

[0225] sALP 또는 sALP 융합 폴리펩티드 (가령, TNALP, 예를 들면, 서열 번호: 1의 sALP 폴리펩티드 또는 서열 번호: 1의 서열에 최소한 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 변이체, 예를 들면, 아스포타제 알파)를 내포하는 제조물은 제약학적으로 허용되는 무균 수성 또는 비수성 용매, 현탁액 또는 유제와 조합으로, 근육 약화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 개체에게 제공될 수 있다. 비수성 용매의 실례는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 어류 오일, 그리고 주사가능 유기 에스테르이다. 수성 담체는 염화나트륨 용액, 링거의 덱스트로스 용액, 덱스트로스 + 염화나트륨 용액, 락토오스를 내포하는 링거액, 또는 고정유를 포함하는 식염수와 완충된 의학적 비경구 운반제를 비롯하여, 물, 물-알코올 용액, 유제 또는 현탁액을 포함한다. 가령, 제약학적으로 허용되는 담체는 염화나트륨 및/또는 인산나트륨을 포함할 수 있는데, 여기서 상기 조성물은 예로서, 약 150 mM 염화나트륨 및/또는 약 25 mM 인산나트륨, pH 7.4를 포함한다.

[0226] 정맥내 운반제는 유체와 영양소 보충물, 전해질 보충물, 예를 들면, 링거의 덱스트로스에 기초된 것들, 기타 등등을 포함할 수 있다. 제약학적으로 허용되는 염은 예로서, 무기질 산염, 예를 들면, 염산염, 브롬화수소산염, 인산염, 황산염 등; 그리고 유기 산의 염, 예를 들면, 아세트산염, 프로피온산염, 말론산염, 벤조산염 등이 그 안에 포함될 수 있다. 추가적으로, 보조 물질, 예를 들면, 적심제 또는 유화제, pH 완충 물질 등이 이런 운반제 내에 존재할 수 있다. 제약학적으로 허용되는 담체에 관한 상세한 논의는 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N.J. 1991)에서 가용하다.

[0227] 다음 실시예는 본 발명을 제한하기 보다는 예증하는 것으로 의도된다.

[0228] **실시예**

[0229] ***실시예 1. AKP2$^{-/-}$ 생쥐 연구***

[0230] *AKP2*$^{-/-}$ 녹아웃 생쥐는 인간 조직-비특이적 알칼리성 포스파타아제 (TNSALP)의 생쥐 대응물을 인코딩하는 유전자 *AKP2*를 비활성화시킴으로써 창출된다. *AKP2*$^{-/-}$ 녹아웃 생쥐는 영아기에서 도래하는 HPP를 개괄하는 인간 HPP의 모형으로서 이용되었다 (Narisawa et al. *Dev Dyn.* 1997; 208:432-446). 본 실시예는 야생형 (WT) 생쥐와 비교하여 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐에서 근섬유 조성과 강도를 조사하고, 그리고 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐에서 근육 약화 표현형을 교정함에 있어서 아스포타제 알파의 효과를 결정하기 위해 효과를 요약한다.

[0231] 구체적으로, 가자미근 및 장지신근 (EDL) 근육이 조사되었다. 근섬유 조성을 결정하기 위해, 섬유 크기와 유형이 계측되거나 또는 검출되었다. 근육은 수확되고, 절개되고, 그리고 이전 문헌에서 설명된 바와 같이, 라미닌 또는 미오신 중쇄 I, IIa 또는 IIB를 인식하는 항체를 이용한 면역조직화학에 종속되었다 (Barton et al. 2005 *J Orthop Res.* 23: 259-265; Barton et al. 2012 *Faseb J.* 26: 3691-3702; 및 Evans et al. 2008 *Physiol. Genomics* 35: 86-95를 참조한다). 이미지 획득은 OpenLab 소프트웨어를 이용하여 Leica DMR 에피형광 현미경에서 수행되었다. 섬유 크기와 유형은 MatLAB를 이용하여 결정되었는데, 여기서 라미닌 신호는 각 근섬유의 경계를 규정하였고, 그리고 항-미오신 항체는 섬유 유형을 검출하였다.

[0232] 근섬유 강도를 결정하기 위해, 생쥐의 가자미근 및 EDL 근육의 수축성 성질이 출생으로부터 약 2 주에 모니터링되었다. 계측되는 성질은 다음을 포함한다: 최대초과 자극 전류에서 120 및 100 Hz를 이용한 최대 힘 산출 능력; 특정한 힘 (횡단면적당 힘; 칼슘 취급 및/또는 섬유 유형 차이를 통한 힘 주파수; 그리고 1초마다 330 msec 자극 지속 시간을 이용한 피로 (33% 충격 계수). 가자미근 및 EDL 근육의 수축성 기능에 대한 PPi 수준의 효과는 절개된 근육을 다양한 PPi 농도 (가령, 2, 4, 8 및 10 μM)에 노출시킴으로써 계측되었다. 한 가지 예시적인 실험에서, 군 1 근육은 1과 8 μM 또는 4와 10 μM에 노출되었고, 그리고 군 2 근육은 4와 8 μM 또는 2와 10 μM에 노출되었다.

[0233] 결과로서, 섬유 유형 비율에서 차이 없음이 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 가자미근 및 야생형 (WT) 생쥐로부터 가자미근 사이에서 관찰되었다 (도면 1). 야생형 (WT) 생쥐로부터 근육과 비교하여, *AKP2*$^{-/-}$ 근육은 전반적으로 더욱 작은 섬유를 가졌다 (도면 2). 가령, *AKP2*$^{-/-}$ 근육은 더욱 많은 백분율의 유형 1 섬유 (도면 2B), 유형 IIa 섬유 (도면 2C), 그리고 짧은 크기 (가령, 260 μm^2보다 적은)의 유형 IIb 섬유 (도면 2D)를 가졌다. 흥미롭게도, *AKP2*$^{-/-}$ 근육은 더욱 큰 미오신 IIb 섬유의 작은 개체군을 가졌고, 반면 야생형 근육은 이런 섬유를 결여하였다 (도면 2D). 이것을 설명할 수 있는 한 가지 인자는 가자미근 내에 작은 비율의 IIb 섬유 (~2%)이다. 성숙 가자미근은 드물게 IIb 섬유를 갖지만, 미성숙 근육은 성숙 근육보다 더욱 빠른 근육 표현형을 갖고, 그리고 따라서 잔여

IIb 섬유는 이러한 연령에서 여전히 눈에 띈다. 종합하면, *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐는 섬유 유형에서 명확한 변동 없이 더욱 작은 섬유를 가졌다.

[0234] 격리된 근육 기능 검사가 2 주령 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 및 WT 대조로부터 EDL 및 가자미근에서 수행되었다. 수컷 및 암컷 둘 모두 성별에 따른 힘 산출에서 임의의 차이를 식별하기 위해 검사되었다.

[0235] 최대 힘 산출 능력은 최대초과 자극 전류에서 EDL 및 가자미근에 대해 120 및 100 Hz를 이용하여 검사되었다. 특정한 힘 (횡단면적당 힘)이 모든 근육에 대해 결정되었다. 상이한 계통 또는 상이한 성별 사이에 강도에서 통계학적 차이가 없었다. 힘 주파수 관계 또한, 칼슘 취급 및/또는 섬유-유형 차이의 사정으로서 결정되었다. 군 사이에 명확한 차이가 없었다. 피로 검사가 또한, 1초마다 330 msec 자극 지속 시간을 이용하여 수행되었다 (33% 충격 계수). 군 사이에 명확한 차이가 없었다. 도면 3에서 보여 지는 바와 같이, 체중 (도면 3A), 내구력 (도면 3B), 힘 주파수 (도면 3C), 또는 피로 파라미터 (도면 3D)에 대해 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 가자미근 및 야생형 (WT) 생쥐로부터 가자미근 사이에서 차이 없음이 관찰되었다. 유사하게, 체중 (도면 4A), 내구력 (도면 4B), 힘 주파수 (도면 4C), 또는 피로 파라미터 (도면 4D)에 대해 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 EDL 근육 및 야생형 (WT) 생쥐로부터 EDL 근육 사이에서 차이 없음이 관찰되었다. 주목할 것은 주파수 및 피로의 도면의 경우에, 오차 막대가 명료함을 위해 전시되지 않았다는 점이다. 비록 피로 및 힘 주파수 결과에 대한 N이 낮긴 하지만 (N=3), 군 사이에 임의의 명시적인 차이의 결여는 진정으로 차이가 없었다는 것을 암시한다. 이러한 결과는 이전에 계측된 섬유 유형 분포와 일치한다 (도면 2).

[0236] HPP 환자, CPPD 환자, 그리고 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐 모두 그들의 순환에서 상승된 PPi를 갖는다. 따라서, 이들 상승된 수준은 근육과 균형 상태를 유지할 가능성이 있다. 근육 수축성 기능에 대한 PPi 농도의 효과가 이후, 검사되었다. 예비실험이 10 μM PPi를 이용하여 수행되었는데, 여기서 야생형 (WT) 근육은 10 μM PPi에 노출될 때 힘 생산에서 가역적 상실을 전시하였다. WT 및 *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 근육에서 힘에 대한 높은 PPi의 효과는 이후, *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐에서 및 HPP 환자에서 발견되는 생리학적 수준을 일괄하는 다양한 농도 (2, 4, 8, 10 μM)에서 검사되었다. 근육의 초기 코호트는 2와 8 μM, 또는 4와 10 μM PPi 농도에 대해 검사되었다. 근육의 두 번째 코호트는 4와 8, 또는 2와 10 μM에서 검사되었다. 근육은 먼저, 정상적인 링거액에서, 그 이후에 각각 30 분 동안 2가지 검사 조건에서 검사되었고, 그리고 정상적인 링거로 복귀로 끝났다. 정상적인 링거에서 초기 힘 값으로 복귀하지 않은 근육으로부터 데이터는 폐기되었다. 도면 5B에서 보여 지는 바와 같이, *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 EDL 근육은 야생형 (WT) 생쥐로부터 EDL 근육보다 상승된 PPi에 더욱 민감하였다. 가령, 4 μM보다 많은 PPi는 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐로부터 EDL 근육의 상대적 힘을 감소시켰고, 반면 야생형 (WT) 생쥐로부터 EDL 근육의 상대적 힘은 PPi 농도가 최소한 10 μM가 아니면, 극적으로 변하지 않았다 (도면 5B). 이에 반하여, *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 및 야생형 (WT) 생쥐로부터 가자미근은 상승된 PPi에 유사한 정도로 민감하였다 (도면 5A).

[0237] PPi의 효과를 탐구하기 위한 장래 실험이 수행될 수 있다. 가령, 상승된 PPi에서, 힘 주파수 또는 피로성이 변경되어, 허약이 악화될 수 있다. 이것이 추구되면, 단일 PPi 농도 (가령, 8 μM)를 이용하는 것은 연구를 단순화할 것이다.

[0238] 이후, *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐에서 감소된 근력 및 증가된 PPi 순환 수준 사이에 상관이 있는 지를 결정하고, 그리고 관련된 표현형을 교정함에 있어서 아스포타제 알파 효력을 평가하기 위해, 아스포타제 알파가 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐에게 투여되었다. 치료되지 않은 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐가 전형적으로 약 12 일령에서 죽고 (피리독신으로 보충되면, 수명이 18-20 일까지 연장될 수 있긴 하지만, 이것은 근육 계측에 여전히 충분하지 않다), 그리고 생체내에서 근력을 계측하기에는 너무 어리기 때문에, 치료되지 않은 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐를 아스포타제 알파의 치료 효과를 분석하기 위한 대조로서 이용하는데 어려움이 있었다. 그 대신에, 금단 실험이 이용되었다. 구체적으로, *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐는 출생 때부터 35 일령 때까지 아스포타제 알파로 치료되었다. 상기 시점에서, 일부 생쥐는 치료로부터 철회되었고, 그리고 이들의 PPi 농도 및 근력이 계측되고 지속된 치료를 제공받는 생쥐의 것들과 비교되었다. 전체 연구 설계는 아래와 같이 요약된다:

[0239] **표 2. 병렬 및 무작위화 대조 연구 설계로 개방 표지 치료.**

표 2

[0240]

군 번호	군 설명	시험 물품	루트	아스포타제 알파로 치료 지속 기간 (일)	운반제로 치료 지속 기간 (일)	투약 간격	용량 수준 (mg/kg)	N= 출혈 및 악력 일자 (다시 말하면, 36, 39, 42 일자)마다
1	Homo_Tx-V	아스포타제 알파로 35 일, 그 이후에 운반제로 3 또는 6 일	SC 주사	35 (1 일자 내지 35 일자)	3 또는 6 (36 일자 내지 38 또는 41 일자)	하루 1 회	8.2	12 *Akp2*$^{-/-}$ (전체: 24*) *36일자는 수행되지 않을 것이다 (36 일자에서 군 2와 동등)
2	Homo_Tx-Tx	아스포타제 알파	SC 주사	35, 38 또는 41 (1 일자 내지 35, 38 또는 41 일자)	---	하루 1 회	8.2	12 *Akp2*$^{-/-}$ (전체: 36)
3	WT	---	---	---	---	---	---	12 WT (전체: 36)
4	WT_Tx-V	아스포타제 알파로 35 일, 그 이후에 운반제로 0, 3 또는 6 일	SC 주사	35 (1 일자 내지 35 일자)	0, 3 또는 6 (없음 또는 36 일자 내지 38 또는 41 일자)	하루 1 회	8.2	12 WT (전체: 36)

[0241] WT: *Akp2*$^{-/-}$ 생쥐의 야생형 한배 새끼를 나타낸다

[0242] 8.2 mg/kg 아스포타제 알파가 출생일로부터 출생 후 35 일자까지 하루 1 회 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐에게 피하 (SC) 투여되었다. 녹아웃 생쥐의 절반은 이후, 동일한 투약 섭생에서 아스포타제 알파의 피하 투여를 지속적으로 제공받았고, 반면 다른 절반은 동일한 투약 섭생에서 대조 운반제의 피하 투여를 제공받았다. 42 일자에, *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐의 양쪽 군뿐만 아니라 치료되지 않은 야생형 (WT) C57BL/6-129J 생쥐가 그들의 악력에 대해 검사되었다.

[0243] 5가지 시험이 수행되었다. 점수는 이들 시험 사이에서 평균화되고 체중에 대해 정규화되었다. 앞다리 및 뒷다리의 악력이 계측되고, 그리고 야생형 생쥐 (WT), 연속 치료를 제공받는 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 (Tx-Tx) 및 35 일자 후 치료가 중단된 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 (Tx-V) 사이에서 비교되었다. 연속 치료를 제공받는 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 (Tx-Tx)는 35 일자 후 치료가 중단된 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 (Tx-V)와 비교하여, 앞다리 및 뒷다리 둘 모두에 대해 더욱 강한 악력을 보여주었는데, 이것은 근육 약화 질환에 대한 연속적 아스포타제 알파 치료의 유익한 효과를 증명하였다 (도면 6).

[0244] 이들 생쥐 연구는 근육 약화 (HPP에서 관찰된)가 생쥐 모형에서 존재한다는 것을 암시한다. 더욱 놀랍게도, 이들은 HPP에서 근육 약화가 아마도 뼈 결함 (이것은 HPP의 특징적인 특질로서 간주된다)에 기인하지 않는다는 것을 암시하는데, 그 이유는 탈체에서 가자미근 섬유 유형 비율, 또는 가자미근 또는 EDL 근육 수축성 성질에서 야생형 (WT) 생쥐 및 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 사이에서 차이 없음이 관찰되었고, 심지어 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐도 어느 정도의 더욱 작은 근섬유를 가졌기 때문이다. 이에 반하여, HPP에서 근육 약화는 상승된 PPi 농도에 더욱 상관되었는데, 그 이유는 아스포타제 알파를 투여함으로써 PPi를 감소시키는 것이 *AKP2*$^{-/-}$ 생쥐 근육 악력을 향상시켰기 때문이다. 따라서, 다른 HPP 증상이 없거나 또는 아직 HPP로 진단되지 않은 경우에도, 상승된 PPi 농도에 의해 특징되는 근육 약화 질환을 앓는 인간 환자는 여전히, 아스포타제 알파에 의해 치료될 수 있다. 유사하게, 다른 근육 약

화 질환을 앓거나 또는 앓기 쉬운 환자, 예를 들면, CPPD 환자 및 가족성 저인산혈증 환자 역시 아스포타제 알파의 투여에 의해 상승된 PPi 또는 다른 알칼리성 포스파타아제 기질 (가령, PLP, PEA 등)을 감소시킴으로써 치료될 수 있다.

[0245] ***실시예 2. 인간에서 근육 약화 치료***

[0246] 앞서 설명된 *AKP2*$^{-/-}$ 녹아웃 생쥐에서 연구에서 예시된 바와 같이, 상승된 PPi 순환 수준 (감소된 알칼리성 포스파타아제 활성으로 인해) 및 감소된 근력 사이에 상관이 있다. 이런 상관은 또한, HPP 환자에서 존재할 수 있다. 아스포타제 알파 치료는 또한, HPP 환자, 또는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성 및/또는 상승된 PPi 농도로 특징되는 다른 근육 약화 질환 (가령, CPPD 및/또는 가족성 저인산혈증에서)을 앓는 환자의 근육 약화 표현형을 교정하는데 효과적일 수 있다. 본 실시예는 낮은 알칼리성 포스파타아제 활성 및/또는 상승된 PPi 농도를 갖는 근육 약화 질환 (가령, HPP, CPPD, 가족성 저인산혈증 등)을 앓는 환자의 아개체군을 확인하는 방법, 그리고 이런 아개체군에서 환자의 근육 약화 표현형을 아스포타제 알파로 치료하거나 또는 개선하는 방법을 개시한다. 환자는 증가된 PPi 농도 (또는 최소한 하나의 알칼리성 포스파타아제 기질, 예를 들면, PLP 및 PEA의 증가된 농도) 및 근육 약화 표현형 (가령, 근력의 상실)을 가지면, 이런 아개체군 중에서 한 가지로서 확인될 수 있다. 추가적으로, 환자는 낮은 알칼리성 포스파타아제 농도를 갖는 것으로 확인될 수 있다 (표 4).

[0247] **표 3. 연령 군별로 남성 및 여성에서 낮은 및 정상적인 알칼리성 포스파타아제 농도.**

표 3

[0248]

연령	여성		남성	
	낮은 ALP (U/L)	정상적인 ALP (U/L)	낮은 ALP (U/L)	정상적인 ALP (U/L)
0 - 14 d	90	273	90	273
15 d - < 1 y	134	518	134	518
1 - < 10 y	156	369	156	369
10 - < 13 y	141	460	141	460
13 - < 15 y	62	280	127	517
15 - < 17 y	54	128	89	365
17 - < 19 y	48	95	59	164

[0249] 근육 약화 질환 또는 표현형의 확인은 당해 분야에서 공지된 일과적인 기술을 이용하여 행위될 수 있다. 이런 환자에서 PPi (또는 PLP, PEA, 또는 다른 알칼리성 포스파타아제 기질) 농도의 계측은 또한, 당해 분야에서 공지된 일과적인 기술을 이용하여 실행되고, 그리고 정상적인 개체 또는 이런 근육 약화 질환이나 표현형이 없는 개체의 PPi 농도와 비교될 수 있다 (표 3). 상승된 PPi 농도는 이후, 이러한 비교를 통해 확인될 수 있다.

[0250] **표 4. 영아와 소아, 청소년 및 성인에서 피로인산염 (PPi) 수준의 정상 범위.**

표 4

[0251]

범주	연령	표본 (N)	범위 (μM)
영아 & 소아	< 12	100	1.33 - 5.71
청소년	13-18	120	<0.75 - 4.78
성인	> 18	120	1.00 - 5.82

[0252] 더욱 통상적으로, 혈청 또는 혈장에서 알칼리성 포스파타아제 활성의 수준이 계측되고, 그리고 연령 및 성별 조정된 규범적인 데이터와 비교된다. 저혈압증에 대한 근원적인 병인을 이해하기 위해 *AKP2*$^{-/-}$ 녹아웃 생쥐 연구가 뮤린 가자미근 및 뮤린 EDL 근육에 대해 수행되었는데, 이들은 인간에서 수행되면, 과도하게 침습성 검사인 것으로 고려될 것이다. 추가적으로, 뮤린 근육 조직이 생리학적으로 가소성이기 때문에, 뮤린 근육으로부터 데이터는 상응하는 인간 근육 조직보다 적은 영향을 받는 것으로 예상될 것이다. 이런 이유로, 뮤린 반응에서 작은 변화는 인간 근육 조직에서 더욱 큰 반응과 상관할 것이다. 이에 더하여, PPi가 상업적으로 가용한 검정이 아니기 때문에, 알칼리성 포스파타아제 활성은 PPi 수준에 대한 인정되는 대용 마커이다 (그리고 역으로 상관된다).

[0253] 동일하거나 상이한 근육이 동물 또는 인간에서 근육 약화 질환 또는 표현형을 진단하기 위해 검사될 수 있다.

가령, 다른 골격근 또는 횡문근, 또는 심근 또는 평활근이 다양한 성질에 대해 검사될 수 있다. 가령, 근육 (가령, 비복근 및 아킬레스건)의 수동 기계적 성질 (가령, 밥굽골 체절 성질)이 당해 분야에서 공지된 방법으로 검사될 수 있다. 근육 경직의 점탄성 성질 역시 검사될 수 있다.

[0254] 아스포타제 알파는 HPP 환자를 치료하는데 효과적인 것으로 이전에 밝혀졌고, 그리고 3, 6 또는 9 mg/kg/주의 용량이 주 3회 또는 하루 1 회 피하 투여용으로 제안되었다. 동일한 투약 섭생, 또는 실시예 1에서 예시된 바와 같은 유사한 연구 후 상이한 투약 섭생이 근육 약화 표현형을 치료하기 위해, HPP 환자, CPPD 환자, 또는 HPP를 앓는 저인산혈증 환자에게 제공될 수 있다. 치료 효과를 검사하기 위해, 복수 종결점이 이용될 수 있다. HPP 치료에서 이용된 일부 이런 종결점은 예로서, 브로닝스-오세레츠키 운동 적합성 검사 제2판 (BOT-2), 변화의 전반적인 방사선 인상 (RGI-C) 척도 (7-포인트 척도, 여기서 -3의 순위평가는 심각한 악화를 나타내고 +3의 순위평가는 거의 또는 완전한 치유를 지시한다), 베일리 영유아 발달검사, 제3판 (BSID-III), 아동기 건강 사정 설문지 (CHAQ), 소아 결과 데이터 수집 도구 검사 (PODCI), 피바디 발달 운동 척도, 제2판 (PDMS-2), 6 분 보행 검사 (6MWT), 12-포인트 성과-정향된 이동성 사정 (POMA-G), 변형된 성과-지향된 이동성 사정 (mPOMA-G, 예를 들면, Phillips et al. 2015 *Bone Abstracts* 4:P136에서 도해된 것), 그리고 당해 분야에서 공지된 다른 방법 또는 검사를 포함한다. 미경험 환자 및 다른 알칼리성 포스파타아제 요법이 투여된 환자 둘 모두 아스포타제 알파 또는 알칼리성 포스파타아제 활성을 갖는 다른 관련된 폴리펩티드로 치료될 수 있다.

[0255] ***실시예 3. 환자 1에서 근육 약화 치료***

[0256] 한 환자가 낮은 ALP (높은 PPi와 상관됨), 상승된 PLP 및 상승된 소변 PEA와 함께 저혈압증을 앓는 것으로 확인되었다. 상기 6-세 환자는 알려지지 않은 병인의 저혈압증을 나타냈다. 상기 환자의 추가 상태는 소뇌 위축, 축삭돌기 감각 및 운동 말초 다발신경병증, 그리고 발달 지연을 포함하였고, 임상적 및 생화학적 조사 결과가 저인산증 (HPP)의 진단을 뒷받침하였다. 상기 환자는 출생 이후로 계속 진행 중인 물리 요법을 제공받았고, 그리고 지지물 없이는 결코 걷을 수 없었고 항상 휠체어를 이용하였다. 상기 환자는 스스로 먹을 수 없었고, G-튜브에 의존하여 단지 몇 모금의 우유만을 자급할 수 있고, 그리고 수용 언어와 표현 언어 지체 둘 모두를 보여주었다.

[0257] 초기 내분비 평가는 다영역 근이영양증 클리닉의 일부이었는데, 여기서 상기 환자는 전체 방문 동안 한마디의 말도 하지 못하였고 컴퓨터-기초된 통신 장치만을 이용하였다. 상기 환자가 신경학적 평가 동안 반복할 수 있었던 몇 마디 단어를 제외하고 본질적으로 발화가 없음을 복수 의사가 확증하였다. 상기 환자는 풀미코트 분무기를 이용하였다. 초기 실험실 조사 결과는 다음과 같았다: ALP 149 (정상 범위 150-420 U/L); PLP 172.4 (정상 범위 20-125 nmol/L); 및 소변 PEA 180 (정상 범위 0-106 nmol/mgCr).

[0258] 상기 환자의 초기 방문 후 3 개월에, 6 mg/kg/주에서 피하 아스포타제 알파 주사가 시작되었다. 3 개월 후속 지정에서, 부모는 치료를 시작한 후로, 상기 환자가 서 있을 때 더욱 큰 힘을 갖는 것처럼 보였고, 그리고 휠체어로부터 벗어나 보행기를 이용하기 시작했다고 보고하였다. 상기 환자는 비록 상기 환자가 유의미한 지지물을 여전히 필요로 하긴 하지만, 무게를 지탱하는 능력에서 향상을 보여주었다. 상기 환자는 자신의 다리를 움직일 수 있었고, 그리고 상당히 힘 있게 상지의 일부 이용을 보여주었다. 전반적으로, 상기 환자의 체간과 목의 향상된 자세 제어가 목격되었다. 이들 향상은 전반적인 근육 긴장도에서 및 근력에서 상기 환자의 전반적인 향상에 기인하였는데, 이것은 시험관내 뮤린 데이터에 의해 산출된 가설을 확증하였다.

[0259] 복수 의학적 전문가 및 부모는 상기 환자의 언어 능력에서 현저한 증가를 목격하였다. 향상은 또한, 더욱 많은 단어를 이용하고, 그리고 단어를 함께 조합하여 단순한 문장을 형성하는 것을 비롯하여, 상기 환자의 전반적인 언어 획득에서 목격되었다. 상기 환자의 증가된 말하는 능력 또한, 치료에 대한 응답으로 향상된 근육 긴장도 및 근력의 결과일 수 있었다.

[0260] 구체적으로, 3 개월 후속 지정은 아스포타제 알파 치료 후 다음의 향상을 목격하였다: 성장의 향상된 비율 (치료에 앞서 1.3 cm/년과 비교하여 5.8 cm/년); 향상된 힘; 향상된 언어 능력, 다시 말하면, 자발적으로 단어를 말하고 심지어 단순한 문장을 형성함; 그리고 요추골 내에 0.5 SD 향상된 골밀도.

[0261] 상기 환자는 아스포타제 알파 치료를 시작하기 한 달 전에 2개의 치아를 상실하였다. 방사선사진술 조사 결과에서, 손목의 X선은 감소된 뼈 광화를 보여주긴 하지만 다른 모든 면에서 정상적이었고, 무릎의 X선은 감소된 골밀도, 연약한 뼈 및 비정상적인 경골 골단을 보여주었다. 상기 환자는 낮은 골밀도의 증거를 보여주었다. 기준선에서, DXA 스캔은 요추골 및 척추와 전신에 대해 각각 -4.6 및 -3.3의 Z-점수를 보여주었다. 아스포타제 알파를 시작한 후 3 개월에 수행된 반복 DXA 스캔은 비록 Z-점수가 여전히 낮긴 하지만, 0.5 SD 향상된 LBD Z-점수

를 보여주었다. BMD Z-점수는 요추골 및 척추와 전신에 대해 각각 -4.1 및 -3.3이었다. 상기 환자는 치료를 시작한 후 약 1 개월에 상완골의 특발성 골절상을 입었다; 아스포타제 알파로 치료가 지속되었고, 그리고 골절이 잘 치유되었다. 신장 초음파 및 눈 검사는 기준선에서 정상적이었다.

[0262] ***실시예 4. 환자 2에서 근육 약화 치료***

[0263] 두 번째 환자는 낮은 ALP (높은 PPi와 상관됨), 상승된 PLP 및 상승된 소변 PEA와 함께 저혈압증을 앓는 것으로 확인되었다. 염색체 중복, 발달 지연, 자폐증 스펙트럼 장애 (아스퍼거 증후군) 및 감각 처리 어려움을 나타내는 상기 12 세 환자는 또한, 90 U/L에서 낮은 ALP 수준 (정상 범위 141-460)을 갖는 것으로 목격되었다. 반복된 수준은 91로 다시 한 번 낮았다 (4 일 후 검사될 때). 상기 환자는 매우 쉽게 피로감을 느꼈다, 다시 말하면, 최소한의 보행을 수반하는 정상적인 일상 활동 동안에도 휴식을 취해야만 했고, 그리고 장거리를 걷을 수 없었다. 상기 환자는 또한, 어깨, 등 위쪽 및 다른 부위에서 명확하지 않은 통증을 호소하였다. 상기 환자는 때때로 통증을 느끼며 깨어나고, 어깨가 아프고, 다리에 지속적인 통증이 있다는 의사를 표시하였다.

[0264] 상기 환자는 치아의 조기 상실 또는 골절의 전력이 없었다. 초기 직업 요법 사정은 13의 소근육 운동 점수 (1차 백분위수)를 목격하였다. 반응 속도에 대한 연령 등가는 6.2 년이었다. 시각 운동 제어는 여러 해 지연을 보여주었다, 다시 말하면, 7.9 년 수준이었다. 상지 속도 및 재주의 경우에, 상기 환자는 4.7 년 수준이었다. 하지만, 치아 상실의 경우에, 가족력은 한쪽 부모가 21 세 때에 의치를 착용하기 시작하였고, 그리고 유사하게, 모계 조부모 또한 영구치의 조기 상실을 가졌고 어린 연령에서 의치를 착용했다는 것을 보여주었다. 모친의 ALP 수준은 50 U/L (랩 (lab)에 대한 참고 범위 40-150)인 것으로 밝혀졌다. 상기 환자의 초기 실험실 조사 결과는 다음과 같았다: ALP 82 (정상 범위 150-420 U/L); PLP 210 (정상 범위 20-125 nmol/L); 및 소변 PEA 46 (정상 범위 0-44 nmol/mgCr).

[0265] 상기 환자는 조기 치아 상실의 전력이 없었지만, 여러 가족 구성원이 조기 치아 상실을 보여주었다. 방사선사진술 분석은 정상적인 손목 및 무릎 X선을 보여주었다. DXA 스캔을 통한 골밀도 분석은 정상적인 BMD (L1-L4 Z-점수 2.1, TBLH Z-점수 2.4)를 보여주었다. 상기 환자는 골절 병력이 없었다. 상기 환자는 수면을 방해할 만큼 충분히 빈번한 다리 통증, 5-10 분의 기립/보행으로도 발의 발바닥 표면에서 통증, 피로를 동반한 대퇴 사두근에서 긴장/통증, 양측성 무릎 통증, 그리고 명확하지 않은 어깨/흉부 통증을 비롯하여, 변동하는 시점에서 복수 부위에서 존재하는 통증을 보고하였다. 신장 초음파는 신석회증을 드러내지 않았다. 상기 환자는 일관되게, 신장의 경우 90% 백분위수에서 및 체중의 경우에 92% 백분위수에서 계측되었다.

[0266] 상기 환자는 완전히 안정될 때에는 어떤 유의미한 신체 활동 장애도 없었지만, 2 분 이상을 걸은 후에는 배굴 허약으로 인한 손상된 무릎 제어 및 양측성 푸트 슬랩으로 대퇴 사두근 피로를 보였다. 상기 환자는 발가락으로 걷을 수 있었지만, 발뒤꿈치로 걷으려고 시도할 때에는 현저한 대상 작용을 보였다. 상기 환자의 초기 6 분 보행 검사는 연령/성별 규범 = 672 + 55 미터보다 훨씬 낮은 320 미터이었다. 상기 환자는 피로 다음에, 벽에 기대어 서있는 휴식을 2회 필요로 하였다. 상기 환자는 배굴 허약으로 인해 대퇴 사두근 피로 및 푸트 슬랩을 비롯하여, 점진적으로 증가된 보행 장애를 보였고, 그리고 6MWT 이후에 착석된 휴식을 필요로 하였다. 상기 환자는 운동하는데 어려움이 있었고 쉽게 숨이 찼다.

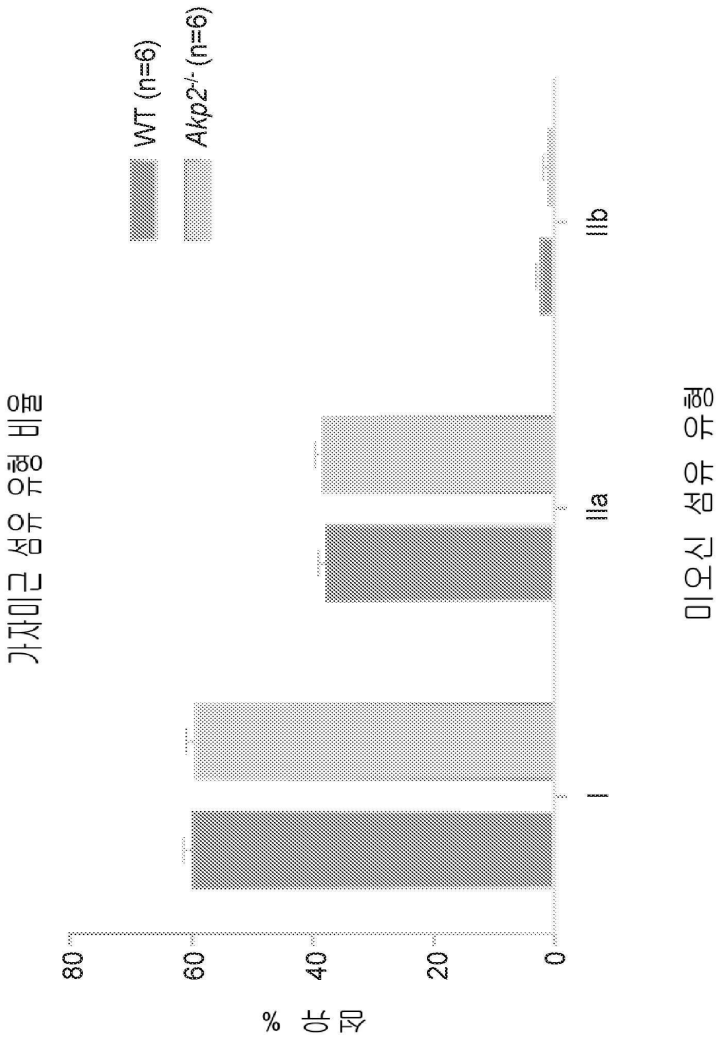
[0267] 상기 환자는 6 mg/kg/주에서 피하 아스포타제 알파 주사를 시작하였고, 그리고 4 개월의 치료 후 재평가되었다. 전반적으로, 상기 환자는 힘, 민첩성 및 지구력을 비롯한 여러 부분에서 향상을 보여주었다. 상기 환자의 6 분 보행 검사는 597 미터로 향상되었다 (320 미터의 초기 값으로부터). 전반적으로, 치료 후, 상기 환자는 훨씬 적은 통증 (이전 방문 동안 보고된 10 중에서 5 대신에, 10 중에서 2의 점수) 및 향상된 이동성을 가졌다. 이들 향상은 전반적인 근육 긴장도에서 및 근력에서 환자의 전반적인 향상에 기인하였는데, 이것은 시험관내 뮤린 데이터에 의해 산출된 가설을 확증한다.

[0268] **다른 구체예**

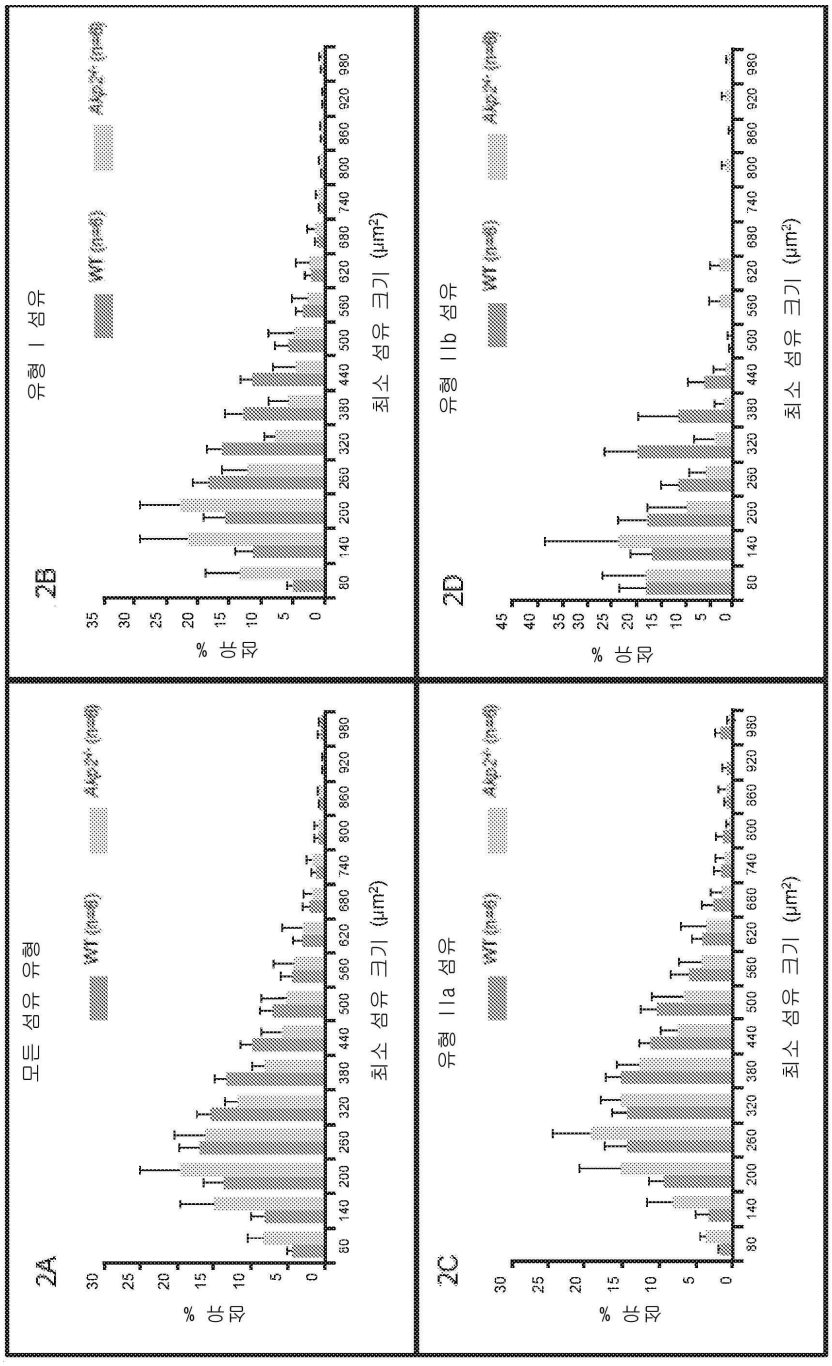
[0269] 상기 명세서에서 언급된 모든 간행물, 특허, 그리고 특허 출원은 마치 각 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 참조로서 편입되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시되는 것처럼 본원에 참조로서 편입된다. 본 발명의 설명된 방법, 제약학적 조성물 및 키트의 다양한 변형과 변이는 청구된 발명의 범위와 사상으로부터 벗어나지 않으면서 당업자에게 명백할 것이다. 비록 본 발명이 특정한 구체예와 관련하여 설명되긴 했지만, 본 발명은 더욱 변형될 수 있고, 그리고 청구된 바와 같은 발명은 이런 특정한 구체예에 부당하게 한정되지 않는 것으로 이해될 것이다.

도면

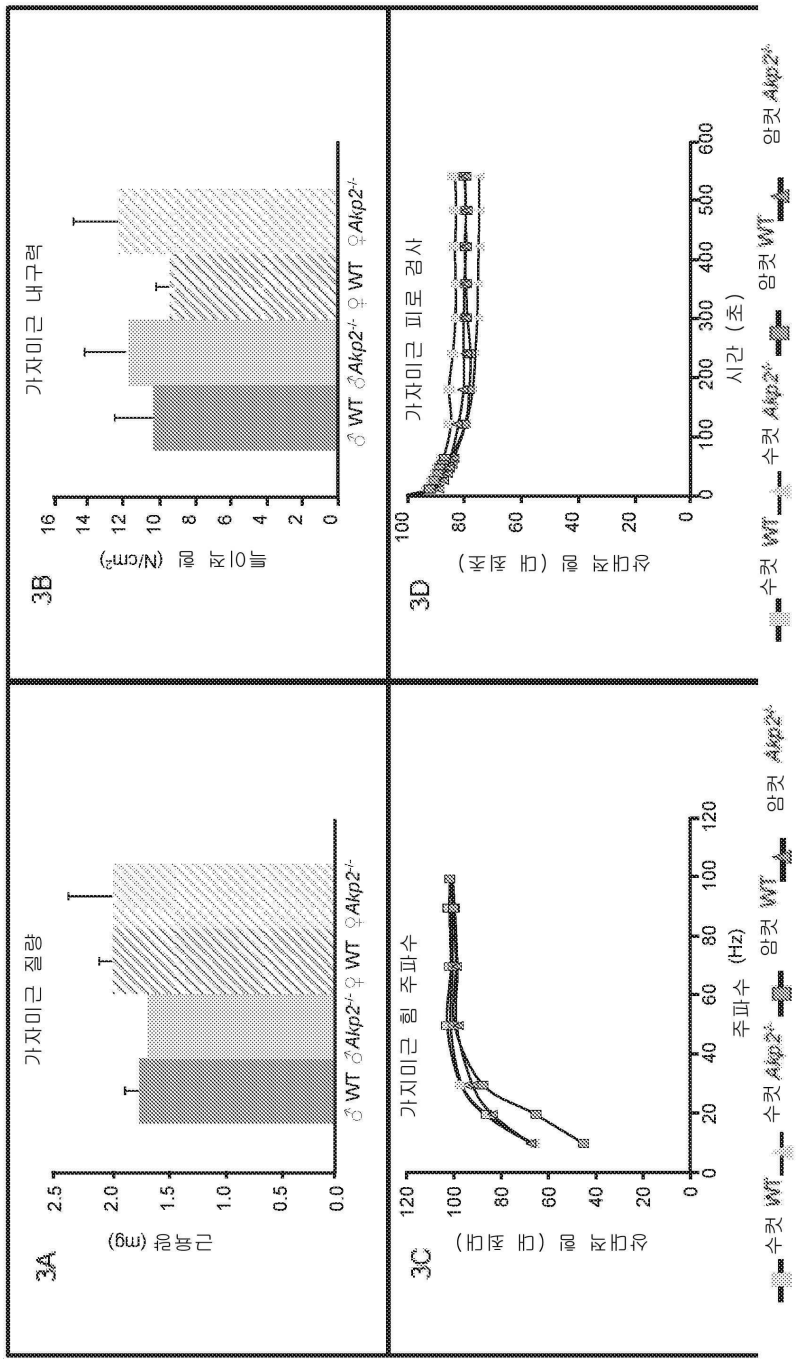
도면1



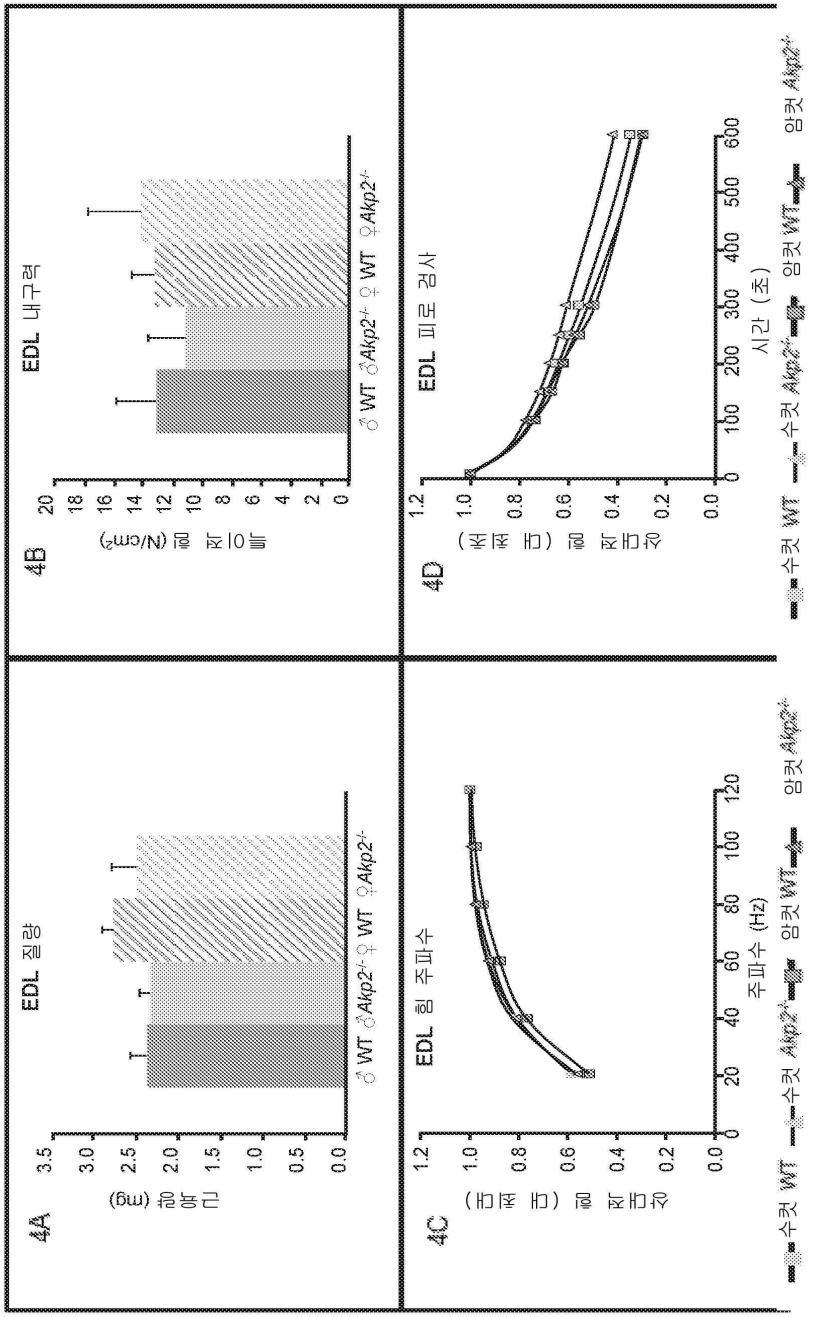
도면2


2A
모든 섬유 유형
WT (n=6)
Akp2-/- (n=6)
% 야 꾼
최소 섬유 크기 (μm²)
2B
유형 I 섬유
WT (n=6)
Akp2-/- (n=6)
% 야 꾼
최소 섬유 크기 (μm²)
2C
유형 IIa 섬유
WT (n=6)
Akp2-/- (n=6)
% 야 꾼
최소 섬유 크기 (μm²)
2D
유형 IIb 섬유
WT (n=6)
Akp2-/- (n=6)
% 야 꾼
최소 섬유 크기 (μm²)

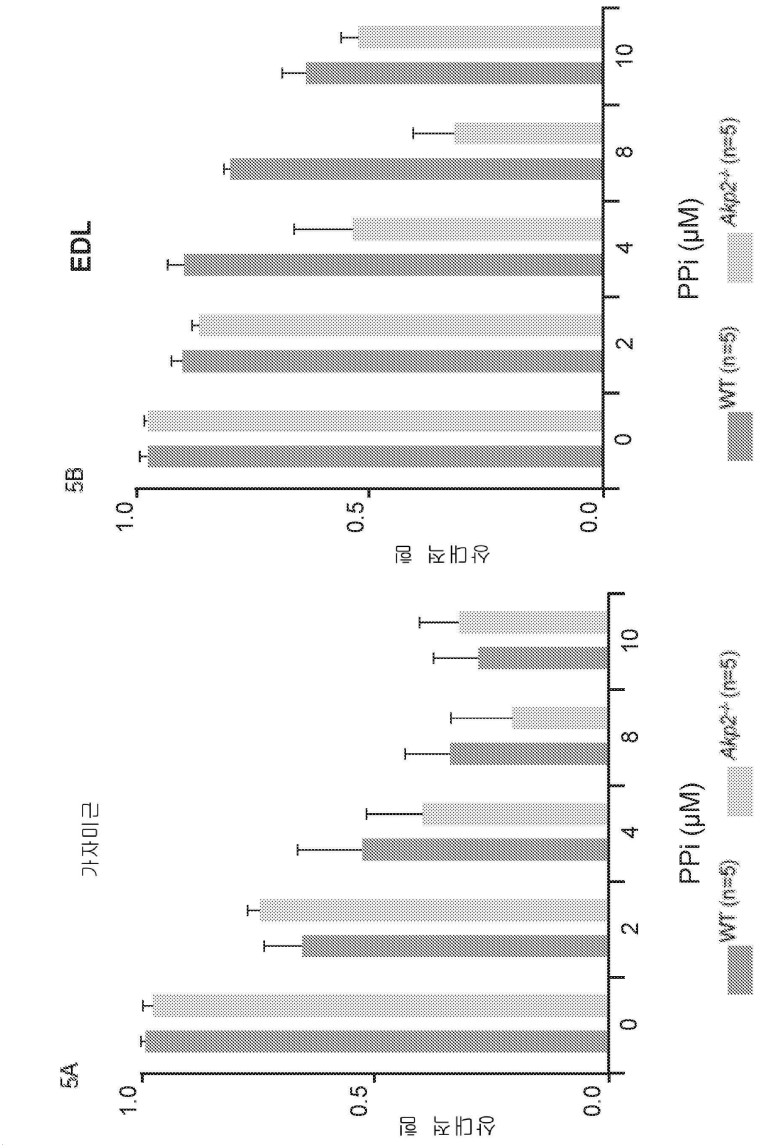
도면3


3A
가자미근 질량
근육량 (mg)
♂ WT ♂Akp2-/- ♀ WT ♀Akp2-/-
3B
가자미근 내구력
특이적 힘 (N/cm²)
♂ WT ♂Akp2-/- ♀ WT ♀Akp2-/-
3C
가자미근 힘 주파수
선대적 힘 (대 최대)
주파수 (Hz)
수컷 WT
수컷 Akp2-/-
암컷 WT
암컷 Akp2-/-
3D
가자미근 피로 검사
선대적 힘 (대 최초)
시간 (초)
수컷 WT
수컷 Akp2-/-
암컷 WT
암컷 Akp2-/-

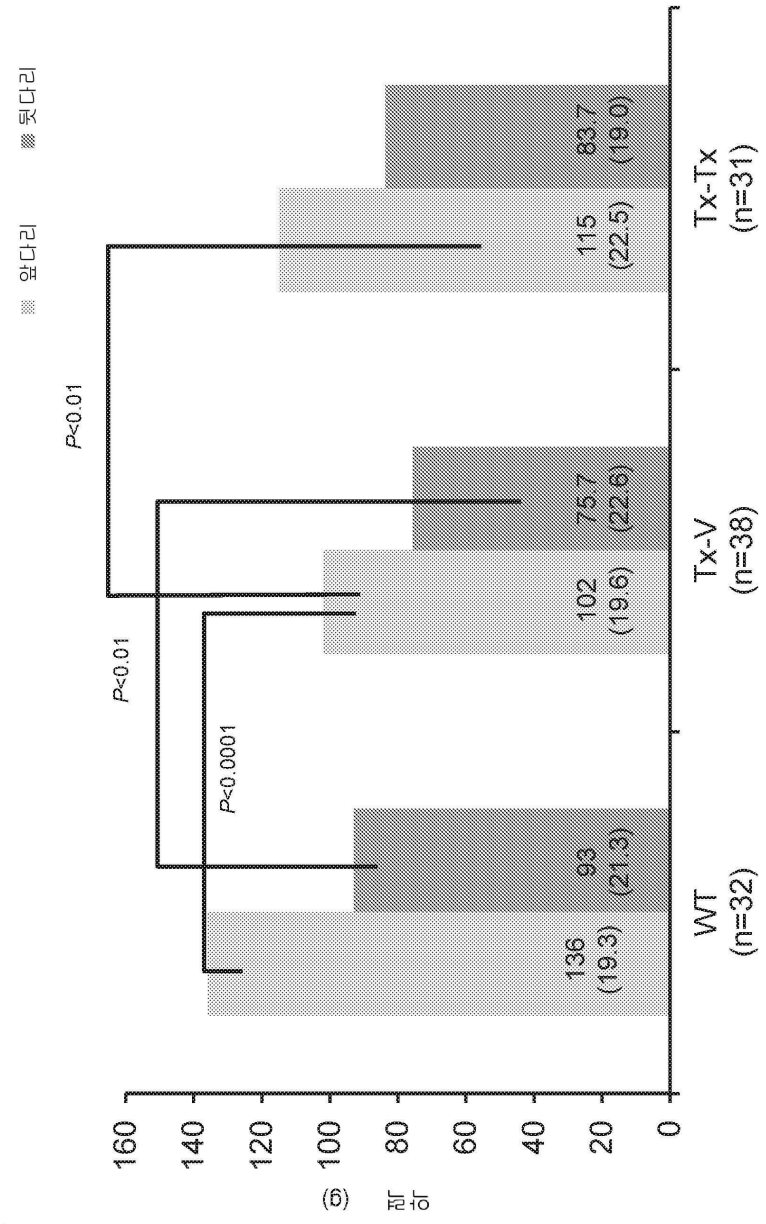
도면4


4A
EDL 질량
근육량 (mg)
♂ WT ♂Akp2-/- ♀ WT ♀Akp2-/-
4B
EDL 내구력
특이적 힘 (N/cm²)
♂ WT ♂Akp2-/- ♀ WT ♀Akp2-/-
4C
EDL 힘 주파수
상대적 힘 (대 최대)
주파수 (Hz)
수컷 WT
수컷 Akp2-/-
암컷 WT
암컷 Akp2-/-
4D
EDL 피로 검사
상대적 힘 (대 최초)
시간 (초)
수컷 WT
수컷 Akp2-/-
암컷 WT
암컷 Akp2-/-

도면5


5A
가자미근
상대적 힘
1.0
0.5
0.0
0
2
4
8
10
PPi (μM)
WT (n=5)
Akp2-/- (n=5)
5B
EDL
상대적 힘
1.0
0.5
0.0
0
2
4
8
10
PPi (μM)
WT (n=5)
Akp2-/- (n=5)

도면6



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Alexion Pharmaceuticals, Inc.

<120> TREATING MUSCLE WEAKNESS WITH ALKALINE PHOSPHATASES

<130> 50694-070WO1

<150> US 62/317,125

<151> 2016-04-01

<160> 20

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 726

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 1

Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala
1 5 10 15
Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr Asn

20 25 30
Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser
35 40 45
Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro
50 55 60
Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala Leu
65 70 75 80
Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly Thr

85 90 95
Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val Gly
100 105 110
Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly Asn
115 120 125
Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser Val
130 135 140
Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala Ala

145 150 155 160
Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met Pro
165 170 175
Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu Met
180 185 190
His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys Tyr
195 200 205

Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu Lys

210 215 220

Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp Lys
225 230 235 240

Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg Thr
245 250 255

Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly Leu
260 265 270

Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val Thr

275 280 285

Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu Arg
290 295 300

Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp
305 310 315 320

His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala Val
325 330 335

Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser Glu

340 345 350

Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr Phe

355 360 365

Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Met
370 375 380

Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly Asn
385 390 395 400

Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser Met

405 410 415

Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro Leu

420 425 430

Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys Gly

435 440 445

Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val Pro

450 455 460

His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His Cys

465 470 475 480

Ala Pro Ala Ser Ser Leu Lys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

485 490 495

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

500 505 510

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

515 520 525

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

530 535 540

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

545 550 555 560

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

565 570 575

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

580 585 590

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

595 600 605

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

610 615 620

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

625 630 635 640

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

645 650 655

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

660 665 670

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

675 680 685

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

690 695 700

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Asp Ile Asp Asp Asp Asp
705 710 715 720
Asp Asp Asp Asp Asp Asp
725

<210> 2
<211> 524
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2
Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15
Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30
Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45
Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60
Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80
Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95
Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110
Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val

115 120 125
Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140
Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
145 150 155 160
Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met

180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu

195 200 205

Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys

210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu

225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp

245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg

260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly

275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val

290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu

305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala

340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser

355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr

370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly

405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser

420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro

435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val

465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His

485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu

500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe

515 520

<210> 3

<211> 524

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn

1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr

35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn

65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala

85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly

100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val

115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly

130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser

145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala

165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met

180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu

195 200 205

Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys

210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu

225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp

245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg

260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly

275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val

290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu

305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala

340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser

355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr

370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly

405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser

420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro

435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val

465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His

485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu

500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe

515 520

<210> 4

<211> 524

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn

1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45
Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60
Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80
Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala

85 90 95
Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110
Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125
Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140
Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser

145 150 155 160
Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175
Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205
Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys

210 215 220
Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu
225 230 235 240
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp
245 250 255
Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg
260 265 270
Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly

275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val

290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu

305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala

340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser

355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr

370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly

405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser

420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro

435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val

465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His

485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu

500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe

515 520

<210> 5

<211> 524

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn

1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr

35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn

65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala

85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly

100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val

115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly

130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser

145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala

165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met

180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu

195 200 205

Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys

210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu

225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp

245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg

260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly

275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val

290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu

305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala

340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser

355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr

370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly

405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser

420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro

435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
465 470 475 480
Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
485 490 495
Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
500 505 510
Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe

515 520

<210> 6
<211> 524
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 6
Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15
Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30
Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60
Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80
Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95
Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125
Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140
Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser

145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala

165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met

180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu

195 200 205

Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys

210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu

225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp

245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg

260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly

275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val

290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu

305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala

340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser

355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr

370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415
Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys
450 455 460
Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
465 470 475 480
Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
500 505 510
Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe
515 520

<210> 7
<211> 652
<212> PRT
<213> Macaca mulatta
<400> 7
Met Pro Thr Val Lys Thr Lys Gln Glu Ser His Ala Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15
Gly Pro Arg Leu Ala Glu Arg Lys Gly Arg Val Gly Ala Ala Arg Arg
20 25 30

Gln Ser Pro Arg Ala Pro Gly Gly Gly Leu Pro Gly Pro Arg Ser Gly
35 40 45
Pro Ala Ala Ala Phe Ile Arg Arg Arg Gly Arg Trp Pro Gly Pro Arg
50 55 60
Cys Ala Pro Ala Thr Pro Arg Pro Arg Ser Arg Leu Cys Ala Pro Thr
65 70 75 80
Arg Leu Cys Leu Asp Glu Pro Ser Ser Val Leu Cys Ala Gly Leu Glu

85 90 95

His Gln Leu Thr Ser Asp His Cys Gln Pro Thr Pro Ser His Pro Arg
100 105 110
Arg Ser His Leu Trp Ala Ser Gly Ile Lys Gln Val Leu Gly Cys Thr
115 120 125
Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
130 135 140
Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
145 150 155 160

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
165 170 175
Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
180 185 190
Ser Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
195 200 205
Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
210 215 220

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
225 230 235 240
Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
245 250 255
Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
260 265 270
Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
275 280 285

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
290 295 300
Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
305 310 315 320
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
325 330 335

Val His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
340 345 350

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ile Asp Glu
355 360 365
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asn Ile Trp
370 375 380
Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg
385 390 395 400
Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly
405 410 415

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Glu Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
420 425 430
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu
435 440 445
Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
450 455 460
Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
465 470 475 480

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Met Thr Ser Leu
485 490 495
Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
500 505 510
Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
515 520 525
Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
530 535 540

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
545 550 555 560
Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
565 570 575
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

580 585 590

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile

595 600 605

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His

610 615 620

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu

625 630 635 640

Leu Pro Leu Ala Leu Phe Pro Leu Ser Ile Leu Phe

645 650

<210> 8

<211> 524

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

Met Ile Leu Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Pro Cys Leu Thr Asn

1 5 10 15

Ser Phe Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Ser Tyr Trp Arg Gln Gln

20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Asn Ala Leu Lys Leu Gln Lys Leu Asn Thr

35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Ile Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn

65 70 75 80

Thr Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala

85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly

100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val

115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Thr Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly

130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
145 150 155 160
Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175
Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190
Arg Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205

Met His Asn Ile Lys Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220
Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
225 230 235 240
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Ile Ser Ile Trp
245 250 255
Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
260 265 270

Thr Glu Leu Leu Ala Leu Asp Pro Ser Arg Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285
Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Leu
290 295 300
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Val Ala Leu Arg Ile Leu
305 310 315 320
Thr Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350
Val Glu Met Asp Glu Ala Ile Gly Lys Ala Gly Thr Met Thr Ser Gln
355 360 365
Lys Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415
Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Asp Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430
Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
465 470 475 480
Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ser Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His
485 490 495
Cys Ala Trp Ala Ser Ser Ala Ser Ser Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu
500 505 510
Leu Pro Leu Ala Leu Phe Pro Leu Arg Thr Leu Phe
515 520

<210> 9

<211

> 502

<212> PRT

<213> Canis lupus familiaris

<400> 9

Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala Gln Gln Thr Leu Lys
1 5 10 15
Tyr Ala Leu Arg Leu Gln Asn Leu Asn Thr Asn Val Ala Lys Asn Val
20 25 30
Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Thr
35 40 45
Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro Gly Glu Glu Thr Arg

50 55 60

Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn
65 70 75 80
Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu
85 90 95
Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val Gly Val Ser Ala Ala Thr
100 105 110
Gln Arg Thr His Cys Asn Thr Thr Gln Gly Asn Glu Val Thr Ser Ile

115 120 125
Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser Val Gly Ile Val Thr Thr
130 135 140
Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala Ala Tyr Ala His Ser Ala
145 150 155 160
Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met Pro Pro Glu Ala Leu Ser
165 170 175
Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu Met His Asn Val Lys Asp

180 185 190
Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys Tyr Met Phe Pro Lys Asn
195 200 205
Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Met Asp Glu Lys Ser Thr Gly Ala Arg
210 215 220
Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp Lys Asn Phe Lys Pro Arg
225 230 235 240
His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu Leu Ala Leu

245 250 255
Asp Pro Tyr Thr Val Asp Tyr Leu Leu Gly Leu Phe Asp Pro Gly Asp
260 265 270
Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val Thr Asp Pro Ser Leu Ser
275 280 285
Glu Met Val Glu Ile Ala Ile Lys Ile Leu Ser Lys Lys Pro Arg Gly
290 295 300
Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His Gly His His Glu

305 310 315 320

Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala Val Glu Met Asp Arg Ala

325 330 335

Ile Gly Lys Ala Gly Val Met Thr Ser Leu Glu Asp Thr Leu Thr Val

340 345 350

Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr Phe Gly Gly Tyr Thr Pro

355 360 365

Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Met Val Ser Asp Thr Asp

370 375 380

Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro Gly Tyr Lys

385 390 395 400

Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser Met Val Asp Tyr Ala His

405 410 415

Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro Leu Arg His Glu Thr His

420 425 430

Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys Gly Pro Met Ala His Leu

435 440 445

Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile Pro His Val Met Ala Tyr

450 455 460

Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Gln Asp His Cys Ala Ser Ala Ser Ser

465 470 475 480

Ala Gly Gly Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu

485 490 495

Pro Val Gly Ile Leu Phe

500

<210> 10

<211> 252

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<400> 10

Ala Glu Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Thr Val Asp Tyr Leu Leu Gly

1 5 10 15

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
20 25 30
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu
35 40 45
Ile Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

50 55 60
Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
65 70 75 80
Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Glu Gln Ala Gly Ser Met Thr Ser Val
85 90 95
Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
100 105 110
Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

115 120 125
Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
130 135 140
Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
145 150 155 160
Met Val Asp Tyr Ala His Asp Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
165 170 175
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Ile Phe Ala Arg

180 185 190
Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
195 200 205
Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Val Gly Ala Asn Arg Asp His
210 215 220
Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu
225 230 235 240
Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ile Leu Phe

245 250

<210> 11

<211> 524

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 11

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Phe Val Pro Glu Lys Glu Arg Asp Pro Ser Tyr Trp Arg Gln Gln
20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Asn Ala Leu Lys Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80

Thr Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Thr Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205

Met His Asn Ile Lys Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Ile Ser Ile Trp
245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
260 265 270

Thr Glu Leu Leu Ala Leu Asp Pro Ser Arg Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Leu
290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Val Ala Leu Arg Ile Leu
305 310 315 320

Thr Lys Asn Leu Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350

Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Lys Ala Gly Ala Met Thr Ser Gln
355 360 365

Lys Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Asp Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile

465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ser Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His

485 490 495

Cys Ala Trp Ala Gly Ser Gly Ser Ala Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu

500 505 510

Leu Pro Leu Ala Val Leu Ser Leu Arg Thr Leu Phe

515 520

<210> 12

<211> 524

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 12

Met Ile Ser Pro Phe Leu Leu Leu Ala Ile Gly Thr Cys Phe Ala Ser

1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

20 25 30

Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Thr Leu Asn Thr

35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Ser

65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Lys Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala

85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly

100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val

115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Gln Arg Ser Gln Cys Asn Thr Thr Gln Gly

130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser

145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175
Ser Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205
Met His Asn Ile Lys Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220

Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
225 230 235 240
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp
245 250 255
Lys Ser Phe Lys Pro Lys His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
260 265 270
Thr Asp Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Ser Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Ala
290 295 300
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu
305 310 315 320
Asn Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335
Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350

Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ala Met Thr Ser Val
355 360 365
Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380
Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430
Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460
Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Arg Asp His
485 490 495
Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu
500 505 510
Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ser Leu Phe
515 520

<210> 13
<211> 524
<212> PRT
<213> Bos taurus
<400> 13
Met Ile Ser Pro Phe Leu Leu Leu Ala Ile Gly Thr Cys Phe Ala Ser
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30
Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Thr Leu Asn Thr
35 40 45
Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60
Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Ser
65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Lys Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala
85 90 95
Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110
Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125
Gly Val Ser Ala Ala Thr Gln Arg Ser Gln Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
145 150 155 160
Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175
Ser Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205

Met His Asn Ile Lys Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220
Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
225 230 235 240
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp
245 250 255
Lys Ser Phe Lys Pro Lys His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
260 265 270

Thr Asp Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Ser Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285
Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Ala
290 295 300
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu
305 310 315 320
Asn Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350
Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ala Met Thr Ser Val
355 360 365
Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380
Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415
Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430
Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
465 470 475 480
Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Arg Asp His
485 490 495
Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu
500 505 510
Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ser Leu Phe
515 520

<210> 14

<211

> 124

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 14

Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala

1 5 10 15

Leu Gly Leu Gln Lys Leu Asn Thr Lys Val Ala Lys Asn Val Ile Leu

20 25 30

Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile

35 40 45

Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu

50 55 60

Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn

65 70 75 80

Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly Thr Ala Pro His Pro Val Arg Val

85 90 95

Lys Ala Met Arg Ala Pro Trp Gly Glu Pro His Gln Arg Gln Cys Asn

100 105 110

Thr Arg Arg Ala Thr Ser Thr His Leu Leu Ala Gly

115 120

<210> 15

<211> 524

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 15

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn

1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

20 25 30

Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Lys Leu Asn Thr

35 40 45

Asn Val Val Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn

65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala

85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125
Gly Val Ser Ala Ala Thr Gln Arg Thr Gln Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140
Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ser Gly Lys Ser
145 150 155 160
Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205
Met His Asn Val Arg Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220
Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Met Asp Glu
225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Val Asp Ile Trp
245 250 255
Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
260 265 270
Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro Tyr Gly Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285
Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Ser Thr
290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Ile Ala Ile Lys Ile Leu
305 310 315 320
Ser Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335
Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala

340 345 350

Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Arg Ala Gly Ala Met Thr Ser Val

355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Ile Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr

370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ser Ile Leu Tyr Gly

405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser

420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro

435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys

450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile

465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His

485 490 495

Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ala Gly Gly Pro Ser Pro Gly Pro Leu Phe

500 505 510

Leu Leu Leu Ala Leu Pro Ser Leu Gly Ile Leu Phe

515 520

<210> 16

<211> 532

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu

1 5 10 15

Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn

20 25 30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala
35 40 45
Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly
50 55 60
Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp
65 70 75 80
Lys Leu Gly Pro Glu Thr Phe Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val
85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly
100 105 110
Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr
115 120 125
Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg
130 135 140
Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys
145 150 155 160

Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala
165 170 175
Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp
180 185 190
Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln
195 200 205
Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220

Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Tyr
225 230 235 240
Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp
245 250 255
Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu
260 265 270

Leu Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe
275 280 285

Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser Thr Leu Asp
290 295 300
Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ser Arg
305 310 315 320
Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His
325 330 335
Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu Thr Ile Met
340 345 350

Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp
355 360 365
Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly
370 375 380
Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys
385 390 395 400
Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro
405 410 415

Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu
420 425 430
Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Gly
435 440 445
Glu Thr His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln
450 455 460
Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val
465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala
485 490 495
Pro Arg Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Pro Ser Val Val
500 505 510
Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Thr

515 520 525

Ala Thr Ala Pro

530

<210> 17

<211> 535

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Leu Gly Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg

1 5 10 15

Leu Gln Leu Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp

20 25 30

Phe Trp Asn Arg Glu Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu

35 40 45

Gln Pro Ala Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp

50 55 60

Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln

65 70 75 80

Lys Lys Asp Lys Leu Gly Pro Glu Ile Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe

85 90 95

Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Lys His Val Pro

100 105 110

Asp Ser Gly Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn

115 120 125

Phe Gln Thr Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn

130 135 140

Thr Thr Arg Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys

145 150 155 160

Ala Gly Lys Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala

165 170 175

Ser Pro Ala Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser

180 185 190

Asp Ala Asp Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile

195 200 205

Ala Thr Gln Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly

210 215 220

Gly Arg Lys Tyr Met Phe Arg Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro

225 230 235 240

Asp Asp Tyr Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val

245 250 255

Gln Glu Trp Leu Ala Lys Arg Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg

260 265 270

Thr Glu Leu Met Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met

275 280 285

Gly Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser

290 295 300

Thr Leu Asp Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu

305 310 315 320

Leu Ser Arg Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg

325 330 335

Ile Asp His Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu

340 345 350

Thr Ile Met Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser

355 360 365

Glu Glu Asp Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe

370 375 380

Ser Phe Gly Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala

385 390 395 400

Pro Gly Lys Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly

405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr

420 425 430

Glu Ser Glu Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro

435 440 445

Leu Asp Glu Glu Thr His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg

450 455 460

Gly Pro Gln Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile

465 470 475 480

Ala His Val Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys

485 490 495

Asp Leu Ala Pro Pro Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Arg

500 505 510

Ser Val Val Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu

515 520 525

Leu Glu Thr Ala Thr Ala Pro

530 535

<210> 18

<211> 532

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu

1 5 10 15

Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn

20 25 30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala

35 40 45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly

50 55 60

Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp

65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Phe Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val

85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly

100 105 110

Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr

115 120 125

Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg

130 135 140

Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys

145 150 155 160

Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala

165 170 175

Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp

180 185 190

Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln

195 200 205

Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys

210 215 220

Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Tyr

225 230 235 240

Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp

245 250 255

Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu

260 265 270

Leu Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe

275 280 285

Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser Thr Leu Asp

290 295 300

Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ser Arg

305 310 315 320

Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His

325 330 335

Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu Thr Ile Met

340 345 350

Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp

355 360 365

Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly

370 375 380

Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys

385 390 395 400

Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro

405 410 415

Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu

420 425 430

Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Gly

435 440 445

Glu Thr His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln

450 455 460

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val

465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala

485 490 495

Pro Arg Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Pro Ser Val Val

500 505 510

Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Thr

515 520 525

Ala Thr Ala Pro

530

<210> 19

<211> 528

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu

1 5 10 15

Ser Leu Gly Val Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn
20 25 30
Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Asp Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile
35 40 45
Gln Lys Val Ala Lys Asn Leu Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Leu Gly
50 55 60
Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Asn Gly
65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Leu
85 90 95
Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala
100 105 110
Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Phe Gln Thr
115 120 125
Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg
130 135 140

Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Gln Ala Gly Lys
145 150 155 160
Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala
165 170 175
Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp
180 185 190
Met Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln
195 200 205

Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220
Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Ala Asp Ala
225 230 235 240
Ser Gln Asn Gly Ile Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp
245 250 255
Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Trp Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu

260 265 270

Met Gln Ala Ser Leu Asp Gln Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe
275 280 285
Glu Pro Gly Asp Thr Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Pro Thr Leu Asp
290 295 300
Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu Leu Ser Arg
305 310 315 320
Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His
325 330 335

Gly His His Glu Gly Val Ala Tyr Gln Ala Leu Thr Glu Ala Val Met
340 345 350
Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp
355 360 365
Thr Leu Thr Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly
370 375 380
Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Ser Lys
385 390 395 400

Ala Gln Asp Ser Lys Ala Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro
405 410 415
Gly Tyr Val Phe Asn Ser Gly Val Arg Pro Asp Val Asn Glu Ser Glu
420 425 430
Ser Gly Ser Pro Asp Tyr Gln Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ser Ser
435 440 445
Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln
450 455 460

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Ser Phe Val Ala His Val
465 470 475 480
Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala
485 490 495
Pro Pro Ala Cys Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Val Ala Ala Ser Leu
500 505 510

Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Ala Ser Ala Ala Pro
515 520 525

<210> 20
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 20
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly Lys

225