



공개특허 10-2022-0029563



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0029563  
(43) 공개일자 2022년03월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07K 16/28* (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)  
*A61K 45/06* (2006.01) *A61P 21/00* (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
*C07K 16/2863* (2013.01)  
*A61K 45/06* (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2021-7040678  
(22) 출원일자(국제) 2020년05월29일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2021년12월10일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/035148  
(87) 국제공개번호 WO 2020/243448  
국제공개일자 2020년12월03일  
(30) 우선권주장  
62/854,625 2019년05월30일 미국(US)

(71) 출원인  
악셀레론 파마 인코포레이티드  
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 시드니 스트리트 128  
(72) 발명자  
쿠마, 라빈드라  
미국 매사추세츠 01720 액튼 알링턴 스트리트 431  
벨크, 조나단  
미국 뉴햄프셔 03766 레바논 루센트 드라이브 7  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인 광장리앤고

전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 ActRII 결합 단백질 및 이의 용도

### (57) 요약

본 개시내용은 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRIIA 및 항-ActRIIB 항체, 및 ActRII-결합 단백질을 제조하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII 활성을 억제 또는 길항한다. 또한, 본 개시내용은 근육 소모과 연관된 질환 및 병태; 섬유증 병태; 염증성, 심혈관, 폐, 근골격, 신경학, 안구, 골격, 자가면역, 또는 대사 질환 또는 병태; 상처 치유; 및 암, 및 다른 ActRII-매개된 질환 및 병태의 진단 및 치료를 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

*A61P 21/00* (2018.01)

*A61K 2039/505* (2013.01)

*C07K 2317/92* (2013.01)

(72) 발명자

**그린버그, 아시아**

미국 매사추세츠 02421 렉싱턴 폴렌 로드 37

**사코, 다이앤**

미국 매사추세츠 02155 메드포드 미스틱 스트리트

14

**캐스톤구아이, 로즐린**

미국 매사추세츠 02472 워터타운 다우니 스트리트

44

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트, 및/또는 VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하는 단리된 액티빈 수용체 유형 II (ActRII)-결합 단백질로서, 상기 CDR 및/또는 ABR은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL) 쌍에 존재하는, 단리된 액티빈 수용체 유형 II (ActRII)-결합 단백질:

(a) (i) 서열번호 20의 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 30의 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 액티빈 수용체 유형 IIB (ActRIIB)에 결합함;

(b) (i) 서열번호 20의 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 39의 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

(c) (i) 서열번호 49의 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 VL,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

(d) (i) 서열번호 20의 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 67의 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

(e) (i) 서열번호 77의 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 85의 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함; 및

(f) (i) 서열번호 2의 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 12의 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB 및 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA)에 결합함.

#### 청구항 2

VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하는 단리된 ActRII-결합 단백질로서, 상기 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는, 단리된 ActRII-결합 단백질:

(a) (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고;

(ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고;

(iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고;

(iv) VL-CDR1은 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖고;

(v) VL-CDR2는 서열번호 32의 아미노산 서열을 갖고;

(vi) VL-CDR3은 서열번호 33의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

- (b) (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1은 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2는 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3은 서열번호 42의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

- (c) (i) VH-CDR1은 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2는 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3은 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1은 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2는 서열번호 61의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3은 서열번호 62의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

- (d) (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1은 서열번호 68의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2는 서열번호 69의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3은 서열번호 70의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

- (e) (i) VH-CDR1은 서열번호 78의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2는 서열번호 79의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3은 서열번호 80의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1은 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2는 서열번호 87의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3은 서열번호 88의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는

- (f) (i) VH-CDR1은 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2는 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3은 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1은 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2는 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

### 청구항 3

제2항에 있어서,

다음의 CDR 세트를 포함하는, 단리된 ActRII-결합 단백질:

- (a) (i) VH-CDR1이 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2가 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3이 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1이 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2가 서열번호 32의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3이 서열번호 33의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;

- (b) (i) VH-CDR1이 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2가 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3이 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1이 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2가 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3이 서열번호 42의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;

- (c) (i) VH-CDR1이 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2가 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3이 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1이 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2가 서열번호 61의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3이 서열번호 62의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;

- (d) (i) VH-CDR1이 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2가 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3이 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1이 서열번호 68의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-CDR2가 서열번호 69의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-CDR3이 서열번호 70의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;

- (e) (i) VH-CDR1이 서열번호 78의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-CDR2가 서열번호 79의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-CDR3이 서열번호 80의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-CDR1이 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖고;

- (v) VL-CDR2가 서열번호 87의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-CDR3이 서열번호 88의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함; 또는
- (f) (i) VH-CDR1이 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-CDR2가 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-CDR3이 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-CDR1이 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-CDR2가 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-CDR3이 서열번호 15의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질이 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

#### 청구항 4

VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하는 단리된 ActRII-결합 단백질로서, 상기 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는, 단리된 ActRII-결합 단백질:

- (a) (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고;
- (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고;
- (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고;
- (iv) VL-ABR1은 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖고;
- (v) VL-ABR2는 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖고;
- (vi) VL-ABR3은 서열번호 36의 아미노산 서열을 가지며;

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

- (b) (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1은 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2는 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3은 서열번호 45의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
- (c) (i) VH-ABR1은 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2는 서열번호 54 또는 55의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3은 서열번호 56 또는 57의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1은 서열번호 63의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2는 서열번호 64의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3은 서열번호 65의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
- (d) (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고;

- (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1은 서열번호 71의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2는 서열번호 72의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3은 서열번호 73의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
- (e) (i) VH-ABR1은 서열번호 81의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2는 서열번호 82의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3은 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1은 서열번호 89의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2는 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3은 서열번호 91의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는
- (f) (i) VH-ABR1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2는 서열번호 7 또는 8의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1은 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2는 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

## 청구항 5

- 제4항에 있어서,
- 다음의 CDR 세트를 포함하는, 단리된 ActRII-결합 단백질:
- (a) (i) VH-ABR1이 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2가 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3이 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1이 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2가 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3이 서열번호 36의 아미노산 서열을 가지며;
- 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (b) (i) VH-ABR1이 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2가 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3이 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1이 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2가 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖고;

- (vi) VL-ABR3이 서열번호 45의 아미노산 서열을 가지며;  
 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (c) (i) VH-ABR1이 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2가 서열번호 54 또는 55의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3이 서열번호 56 또는 57의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1이 서열번호 63의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2가 서열번호 64의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3이 서열번호 65의 아미노산 서열을 가지며;  
 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (d) (i) VH-ABR1이 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2가 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3이 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1이 서열번호 71의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2가 서열번호 72의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3이 서열번호 73의 아미노산 서열을 가지며;  
 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (e) (i) VH-ABR1이 서열번호 81의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2가 서열번호 82의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3이 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1이 서열번호 89의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2가 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3이 서열번호 91의 아미노산 서열을 가지며;  
 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함; 또는
- (f) (i) VH-ABR1이 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖고;
  - (ii) VH-ABR2가 서열번호 7 또는 8의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iii) VH-ABR3이 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 갖고;
  - (iv) VL-ABR1이 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖고;
  - (v) VL-ABR2가 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖고;
  - (vi) VL-ABR3이 서열번호 18의 아미노산 서열을 가지며;  
 여기서 상기 단백질이 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

## 청구항 6

다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함하는 ActRII-결합 단백질:

- (a) (i) 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및  
 (ii) 서열번호 30에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
- (b) (i) 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및

- (ii) 서열번호 39에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
  - (c) (i) 서열번호 49에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및
    - (ii) 서열번호 59에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
  - (d) (i) 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및
    - (ii) 서열번호 67에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는
  - (e) (i) 서열번호 77에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및
    - (ii) 서열번호 85에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는
  - (f) (i) 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 VH, 및
    - (ii) 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 VL,
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

## 청구항 7

제6항에 있어서,

상기 VH 및 VL 쌍이 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, ActRII-결합 단백질:

- (a) 서열번호 20의 VH 서열, 및 서열번호 30의 VL 서열, 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (b) 서열번호 20의 VH 서열, 및 서열번호 39의 VL 서열, 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (c) 서열번호 49의 VH 서열, 및 서열번호 59의 VL 서열, 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (d) 서열번호 20의 VH 서열, 및 서열번호 67의 VL 서열, 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함;
- (e) 서열번호 77의 VH 서열, 및 서열번호 85의 VL 서열, 여기서 상기 단백질이 ActRIIB에 결합함; 또는
- (f) 서열번호 2의 VH 서열, 및 서열번호 12의 VL 서열, 여기서 상기 단백질이 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

## 청구항 8

다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함하는 ActRII-결합 단백질:

- (a) (i) 서열번호 20의 참조 VH 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VH 서열, 및
    - (ii) 서열번호 30의 참조 VL 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VL 서열,
- 여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;
- (b) (i) 서열번호 20의 참조 VH 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VH 서열, 및
    - (ii) 서열번호 39의 참조 VL 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

- (c) (i) 서열번호 49의 참조 VH 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VH 서열, 및
  - (ii) 서열번호 59의 참조 VL 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산

치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

(d) (i) 서열번호 20의 참조 VH 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 67의 참조 VL 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

(e) (i) 서열번호 77의 참조 VH 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 85의 참조 VL 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB에 결합함;

(f) (i) 서열번호 2의 참조 VH 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VH 서열, 및

(ii) 서열번호 12의 참조 VL 서열로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 개 미만 또는 0 개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 VL 서열,

여기서 상기 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

## 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 ActRII-결합 단백질과 동일한 에피토프에 결합하는 ActRII-결합 단백질.

## 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 ActRII-결합 단백질과 ActRII에 대한 결합에 대해 경쟁하는 ActRII-결합 단백질.

## 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 ActRII-결합 단백질이 ActRII 활성을 길항하는, ActRII-결합 단백질.

## 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 결합 단백질이 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는, ActRII-결합 단백질:

(a) ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 대한 결합에 대해 액티빈 A, 액티빈 B, BMP7, BMP9, BMP10, GDF8 (미오스타틴), GDF11 또는 Nodal과 경쟁함;

(b) ActRIIB 또는 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A)의 존재 하에 ActRIIB 및/또는 ActRIIA를 발현하는 세포에서 하나 이상의 Smad의 인산화를 감소시킴;

(c) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드의 존재 하에 ActRIIB 및/또는 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 인산화를 감소시킴; 및

(d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 결합함.

## 청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 ActRII-결합 단백질이 ActRII에 특이적으로 결합하는 항체인, ActRII-결합 단백질.

#### 청구항 14

제13항에 있어서,

상기 항체가 단클론 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 이중-특이적 항체, 다중-특이적 항체 또는 ActRII-결합 항체 단편인, ActRII-결합 단백질.

#### 청구항 15

제14항에 있어서,

상기 ActRII-결합 항체 단편이 Fab 단편, Fab' 단편,  $F(ab')_2$  단편, Fv 단편, 디아바디, 또는 단일 쇄 항체 분자인, ActRII-결합 단백질.

#### 청구항 16

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 추가로 포함하는, ActRII-결합 단백질:

- (a) 인간 IgA 불변 도메인;
- (b) 인간 IgD 불변 도메인;
- (c) 인간 IgE 불변 도메인;
- (d) 인간 IgG1 불변 도메인;
- (e) 인간 IgG2 불변 도메인;
- (f) 인간 IgG3 불변 도메인;
- (g) 인간 IgG4 불변 도메인; 및
- (h) 인간 IgM 불변 도메인.

#### 청구항 17

제13항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 추가로 포함하는, ActRII-결합 단백질:

- (a) 인간 Ig 카파 불변 도메인; 및
- (b) 인간 Ig 람다 불변 도메인.

#### 청구항 18

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 인간 람다 경쇄 불변 도메인을 추가로 포함하는, ActRII-결합 단백질.

#### 청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 ActRII-결합 단백질을 코딩하는 단리된 핵산 분자 또는 핵산 분자의 세트.

#### 청구항 20

제19항에 있어서,

cDNA인, 단리된 핵산 분자 또는 핵산 분자의 세트.

#### 청구항 21

제19항 또는 제20항에 따른 핵산 분자를 포함하는 벡터.

#### 청구항 22

제19항 또는 제20항의 핵산 분자, 또는 제21항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

#### 청구항 23

제22항에 있어서,

상기 숙주 세포가 포유동물 숙주 세포인 것인, 숙주 세포.

#### 청구항 24

제23항에 있어서,

상기 숙주 세포가 NS0 뮤린 골수종 세포, PER.C6® 인간 세포, 또는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포인 것인, 포유동물 숙주 세포.

#### 청구항 25

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 ActRII-결합 단백질을 제조하는 방법으로서, ActRII-결합 단백질을 생산하기에 적합한 조건 하에서 제22항, 제23항 또는 제24항에 따른 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

#### 청구항 26

제25항에 있어서,

상기 숙주 세포로부터 분비된 ActRII-결합 단백질을 단리하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 방법.

#### 청구항 27

제25항 또는 제26항의 방법을 사용하여 생산된 ActRII-결합 단백질.

#### 청구항 28

제1항 내지 제18항 또는 제27항 중 어느 한 항에 따른 ActRII-결합 단백질 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

#### 청구항 29

제28항에 있어서,

의약으로서 사용하기 위한 약학 조성물.

#### 청구항 30

ActRII 발현 또는 상승된 ActRII 신호화와 연관된 질환 또는 병태를 치료 및/또는 호전하기 위한 제29항의 약학 조성물의 용도.

#### 청구항 31

제30항에 있어서,

상기 질환 또는 병태가 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증, 근육 소모, 섬유증 병태 (간, 폐, 혈관 또는 안구 섬유증 병태), 심근 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 대사 질환, 유형 II 당뇨병, 비만, 염증성 질환, 자가면역 질환, 안구 질환, 연령-관련된 황반 변성 심혈관 질환, 울혈성 심부전, 고혈압, 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 골다공증, 신경근 질환, 퇴행성 질환, 상처 치유 및 암으로부터 선택된 구성원인, 용도.

**청구항 32**

제28항에 있어서,  
표지 기 또는 이펙터 기를 추가로 포함하는, 약학 조성물.

**청구항 33**

제32항에 있어서,  
상기 이펙터 기가 방사성 동위원소, 방사성 핵종, 독소, 치료제 및 화학요법제로부터 선택되는, 약학 조성물.

**청구항 34**

대상체에서 ActRII 발현 또는 상승된 ActRII-매개된 신호화와 연관된 질환 또는 병태를 치료 및/또는 호전하는 방법으로서, 제1항 내지 제18항 또는 제27항 중 어느 한 항의 ActRII-결합 단백질을 포함하는 조성물, 또는 제28항의 약학 조성물을 ActRII 발현 또는 상승된 ActRII-매개된 신호화와 연관된 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

**청구항 35**

제34항에 있어서,  
상기 질환 또는 병태가 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증, 근육 소모, 섬유증 병태 (간, 폐, 혈관 또는 안구 섬유증 병태), 심근 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 대사 질환, 유형 II 당뇨병, 비만, 염증성 질환, 자가면역 질환, 안구 질환, 연령-관련된 황반 변성 심혈관 질환, 울혈성 심부전, 고혈압, 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 골다공증, 신경근 질환, 퇴행성 질환, 상처 치유 및 암으로부터 선택된 구성원인 것인, 방법.

**청구항 36**

제34항에 있어서,  
상기 ActRII-결합 단백질 또는 약학 조성물이 단독으로 또는 병용 요법으로서 투여되는 것인, 방법.

**청구항 37**

대상체에서 ActRII 활성을 저하시키는 방법으로서, 제1항 내지 제18항 또는 제27항 중 어느 한 항에 따른 ActRII-결합 단백질, 또는 제28항의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

**발명의 설명****기술 분야**

[0001]

관련 출원

[0002]

본 특허 출원은 2019년 5월 30일에 출원된 미국 가특허 출원 제62/854,625호에 대한 우선권을 주장하며, 이는 그 전문이 참조로 본원에 원용된다.

[0003]

서열 목록

[0004]

본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 그 전문이 참조로 본원에 원용된다. 2020년 4월 14일에 생성된 상기 ASCII 사본은 APH-00925\_SL.txt로 명명되며, 57,075 바이트의 크기이다.

**배경 기술**

[0005]

형질전환 성장 인자-베타 (TGF-베타) 패밀리는 척추동물 및 무척추동물 둘 모두에서 매우 다양한 세포 유형에 대해 생물학적 효과를 발휘하는 것으로 알려진 다양한 성장 인자를 함유한다. TGF-베타 패밀리의 구성원은 패턴 형성 및 조직 특이화에서 배아 발달 동안 중요한 기능을 수행하고, 지질생성, 근생성, 연골형성, 심장발생, 혈액생성, 신경발생 및 상피 세포 분화를 비롯한 다양한 분화 과정에 영향을 줄 수 있다. 패밀리는 성장 및 분화 인자 (GDF), 골 형성 단백질 (BMP), 액티빈 및 인히빈으로서 다양하게 기재된 단백질을 포함한다.

[0006]

TGF-베타 패밀리 구성원은 다단계 과정을 포함하는 메카니즘을 통해 신호를 전달하는데, 여기서 TGF-베타 패밀

리 구성원은 세포 표면 상에 발현되는 유형 II 세린/트레오닌 키나제 수용체에 결합하고, 유형 II 수용체는 동족 유형 I 수용체와 혼다로며 복합체를 형성하고, 포스포릴화를 통해 유형 I 수용체를 활성화시키고, 활성화된 유형-I 수용체는 세포질로부터 핵으로 신호를 전달하는 Smad 단백질을 포스포릴화 및 활성화시키고, 핵 Smad 을 리고며는 DNA에 결합하고 전사 인자와 회합하여 표적 유전자의 발현을 조절한다.

[0007] 2 개의 관련된 유형 II TGF-베타 수용체 패밀리 구성원인, ActRIIB 및 ActRIIA는 액티빈 A 및 액티빈 B, 및 BMP7, BMP9, BMP10, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, 및 Nodal을 비롯한 다른 TGF-베타 패밀리 구성원에 대한 유형 II 수용체로서 식별되었다 (Yamashita 등, *J. Cell Biol.* 130:217-226 (1995); Lee 등, *PNAS* 98:9306-9311 (2001); Yeo 등, *Mol. Cell* 7:949-957 (2001); 및 Oh 등, *Genes Dev.* 16:2749-54 (2002)). ALK4 및 ALK7은 각자 액티빈 A 및 액티빈 B에 대한 일차 유형 I TGF-베타 수용체 패밀리 구성원 수용체이다.

[0008] TGF-베타 리간드 및 수용체 패밀리의 구성원의 발현 및 활성의 변경은 근육, 골, 신경학적, 및 대사 장애 및 병태, 및 암을 비롯한 다양한 장애 및 병태와 연관되어 있다고 제안되어 왔다. 추가적인 ActRII 길항제 및 이에 대한 용도는 ActRII 및/또는 ActRII 리간드와 연관된 질환 또는 병태의 진단 및 치료, 예방 및/또는 호전에 유용할 것이다.

### 발명의 내용

[0009] 간단한 요약

[0010] 본 개시내용은 액티빈 수용체 유형 II (ActRII)-결합 단백질 및 ActRII-결합 단백질의 사용 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 하나 이상의 동족 ActRII 리간드 및/또는 하나 이상의 동족 ActRI 수용체에 대한 ActRII의 결합을 억제 또는 차단할 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)에 대한 ActRII의 결합을 억제 또는 차단할 수 있다. 본 개시내용은 또한 ActRII 발현 및/또는 상승된 ActRII-매개된 신호화와 연관된 질환 또는 병태의 진단 또는 치료, 예방 및/또는 호전을 위해 ActRII-결합 단백질을 사용하는 방법을 제공한다. 이러한 질환 또는 병태는 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증, 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태; 염증성, 자가면역, 심혈관, 폐, 근골격, 골격, 안구, 신경학, 또는 대사 질환 또는 병태; 비만; 상처 치유; 및 암을 포함하나, 이로 제한되지 않는다.

[0011] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 제공된 ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIB에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8 (마이오스타틴))의 존재 하에 ActRIIB 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIB를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIB-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIB에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 항-ActRIIB 항체 또는 ActRIIB-결합 항체 단편이다.

[0012] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 제공된 ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8 (마이오스타틴))의 존재 하에, ActRIIB 및/또는 ActRIIA, 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIB 및/또는 ActRIIA를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRIIB- 및 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIB- 및 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된

ActRIIB- 및 ActRIIA 결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIB 및 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가 실시양태에서, ActRIIB- 및 ActRIIA-결합 단백질은 항-ActRIIB 및 ActRIIB 항체 또는 ActRIIB- 및 ActRIIB 결합 항체 단편이다.

[0013] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIA에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 제공된 ActRII-결합 단백질은 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIA에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8 (마이오스타틴))의 존재 하에 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIA를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIA에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIA-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 항-ActRIIA 항체 또는 ActRIIA-결합 항체 단편이다.

[0014] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 상보성 결정 영역 (CDR)의 세트: 중쇄 가변 영역 (VH)-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, 경쇄 가변 영역 (VL)-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3을 포함하고/하거나 항원 결합 영역 (ABR)의 세트: 중쇄 가변 영역 (VH)-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, 경쇄 가변 영역 (VL)-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3을 포함하며, 여기서 CDR 및/또는 ABR은 표 1에 개시된 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL) 쌍에 존재한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 VH 및 VL 쌍에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함한다: (a) 서열번호 20, 49 또는 77의 VH 서열, 및 서열번호 30, 39, 59, 67 또는 85의 VL 서열, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함, 및 (b) 서열번호 2의 VH 서열, 및 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 VL, 여기서 단백질은 ActRIIB 및 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA)에 결합함.

[0015] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0016] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 39의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0017] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0018] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 67의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0019] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 77의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 85의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0020] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIA 및 ActRIIB에 결합한다.

[0021] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (a)(i) VH-CDR1은 서열번호 21, 50 또는 78의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22, 51 또는 79의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23, 52 또는 80의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 31, 40, 60, 68 또는 86의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 32, 41, 61, 69 또는 87의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-CDR3은 서열번호 33, 42, 62, 70 또는 88의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는 (b)(i) VH-CDR1은 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-CDR3은 서

열번호 15의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

- [0022] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 32의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 33의 아미노산 서열을 가짐.
- [0023] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 41의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 42의 아미노산 서열을 가짐.
- [0024] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하고, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 61의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 62의 아미노산 서열을 가짐.
- [0025] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 68의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 69의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 70의 아미노산 서열을 가짐.
- [0026] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 78의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 79의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 80의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 87의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 88의 아미노산 서열을 가짐.
- [0027] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 14의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 가짐.
- [0028] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (a)(i) VH-ABR1은 서열번호 24, 53 또는 81의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25, 54, 55 또는 82의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26, 56, 57 또는 83의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 34, 43, 63, 71 또는 89의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 35, 44, 64, 72 또는 90의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-ABR3은 서열번호 36, 45, 65, 73 또는 91의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는 (b)(i) VH-ABR1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 7 또는 8의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖

고; (vi) VL-ABR3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

[0029] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 35의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 36의 아미노산 서열을 가짐.

[0030] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 44의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 45의 아미노산 서열을 가짐.

[0031] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 54 또는 55의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 56 또는 57의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 63의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 64의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 65의 아미노산 서열을 가짐.

[0032] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 71의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 72의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 73의 아미노산 서열을 가짐.

[0033] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 81의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 82의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 89의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 90의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 91의 아미노산 서열을 가짐.

[0034] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 7 또는 8의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 17의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 가짐.

[0035] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함한다: (a)(i) 서열번호 20, 49 또는 77에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 (ii) 서열번호 30, 39, 59, 67 또는 85에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함; (b)(i) 서열번호 2에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 (ii) 서열번호 12에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

[0036] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 30에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서

열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

- [0037] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 39에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0038] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 49에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 59에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0039] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 67에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0040] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 77에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 85에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0041] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, 서열번호 2에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 12에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0042] 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRII에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (미오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A 또는 GDF8)의 존재 하에 ActRII를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 인산화를 감소시킴; (c) ActRII 리간드의 존재 하에 ActRII 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 인산화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRII에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다.
- [0043] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 본원에 개시된 VH 및 VL 서열 쌍을 포함하는 항체와 ActRII에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRII-결합 단백질과 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0044] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하는 항체이다. 추가적인 실시양태에서, 항체는 단클론 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 이중-특이적 항체 또는 다중-특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII-결합 항체 단편이다. 일부 실시양태에서 항체는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 디아바디, DART 및 단일 쇄 항체 분자 (예컨대, BiTE)로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 단편이다.
- [0045] ActRII-결합 단백질을 코딩하는 핵산 및 핵산의 세트를 또한 제공한다. 핵산 및 핵산의 세트를 함유하는 벡터 및 벡터의 세트, 및 핵산 및 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 하이브리도마 또는 포유동물 숙주 세포, 예컨대, NS0 뮤린 골수종 세포, PER.C6® 인간 세포 또는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포이다. ActRII-결합 단백질을 생산하는 하이브리도마 및 포유동물 숙주 세포를 비롯한 숙주 세포를 또한 제공한다.
- [0046] ActRII-결합 단백질의 제조 방법을 또한 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 단백질을 발현하고, 임의로 발현된 ActRII-결합 단백질을 단리하기에 적합한 조건 하에서 ActRII-결합 단백질을 발현할 수 있는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 본원에 개시된 또는 그렇지 않으면 당업계에 알려진 방법을 사용하여 제조된 및/또는 단리된 ActRII-결합 단백질을 또한 제공한다.
- [0047] ActRII-결합 단백질 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 상승된 ActRII 발현 또는 ActRII-매개된 신호화와 연관된 대상체에서 병태를 치료 및/또는 호전하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 ActRII-매개된 신호화를 감소시킨다. 또한 의약의 제조 또는 준비에서의, 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB- 및/또는 ActRIIA-결합 항체)의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 의약은 상승된 ActRII 발현 또는 ActRII-매개된 신호화와 연관된

대상체에서 병태의 치료 및/또는 호전을 위한 것이다. 추가적인 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 질환 또는 병태의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0048] 제공된 방법을 사용하여 대상체에서 치료 및/또는 호전될 수 있는 병태는 다음을 포함하나, 이로 제한되지 않는다: 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증 (IPF)); 대사 질환 (예컨대, 유형 II 당뇨병 인슐린 저항성, 고혈당 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환 (예컨대, 울혈성 심부전 및 고혈압); 안구 질환, 예컨대, 연령-관련된 황반 변성; 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 예컨대, 골다공증; 신경학 질환; 신경근 질환, 퇴행성 질환, 상처 치유; 체중 손실; 및 암 (예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암).

[0049] 일부 실시양태에서, 개시된 방법은 유효량의 ActRII-결합 단백질을 포함하는 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 단독으로 투여된다. 다른 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 병용 요법으로서 투여된다. 추가 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 표준 케어 치료/요법에 대한 병용 요법으로서 투여된다.

[0050] ActRII 활성 (예컨대, 리간드 결합 및/또는 신호화)을 차단 또는 저하시키는 방법을 또한 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 ActRII-결합 단백질 및 상기 ActRII를 발현하는 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 예에서 방법은 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A)의 존재 하에 ActRII-결합 단백질 및 ActRII를 발현하는 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 생체내에서 수행된다. 다른 실시양태에서, 방법은 생체외에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 차단된 또는 저하된 ActRII 활성은 ActRI의 포스포릴화이다. 추가 실시양태에서, 차단된 또는 저하된 ActRII 활성은 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 ActRII 활성의 차단 또는 저하를 필요로 하는 대상체에 유효량의 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 ActRII 활성을 차단 또는 저하시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, ActRIIA 활성의 저하를 필요로 하는 대상체에 유효량의 ActRIIA-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 ActRIIA 활성을 저하시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, ActRIIB 활성의 저하를 필요로 하는 대상체에 유효량의 ActRIIB-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 ActRIIB 활성을 저하시키는 방법을 제공한다.

[0051] 증가된 ActRII 발현 및/또는 ActRII 신호화와 연관된 병리학적 병태, 또는 ActRII-리간드의 활성을 저하 또는 억제시킴으로써 치료 및/또는 호전될 수 있는 병리학적 병태에서 ActRII 활성을 차단 또는 저하시키는 방법을 또한 제공한다. 일부 예에서, 방법은 ActRII 또는 ActRII-리간드의 증가된 발현을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 근육 장애이다. 추가 실시양태에서, 근육 장애는 소모 또는 근디스트로피이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 대사 병태, 예컨대, 비만 또는 유형 II 당뇨병이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 또는 간의 섬유증 병태이다. 추가적인 실시양태에서, 병리학적 병태는 암이다. 추가 실시양태에서, 암은 골수섬유증, 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 뇌하수체암, 유방암, 위장암 또는 암종이다. 추가적인 실시양태에서, 병리학적 병태는 골-손실 유도암 (예컨대, 전립선암 및 유방암)이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 암 치료 유도된 골 손실과 연관된 병리학적 병태에서 ActRII 활성을 차단 또는 저하시키는 방법을 제공한다.

[0052] 일부 양태에서, 본 개시내용은 근육 장애의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 근육 장애를 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)를 투여하는 단계를 포함한다. 근육 장애, 예컨대, 소모 또는 근디스트로피의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 근육 장애, 예컨대, 소모 또는 근디스트로피의 발달 위험이 있다.

[0053] 일부 양태에서, 본 개시내용은 섬유증 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 섬유증 병태를 갖는 대상체에 (예컨대, 본원에 기재된 약학 조성물 중의) ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 섬유증 병태의 발달 위험이 있다. 일부 실시양태에서, 섬유증 병태는 만성이다. 섬유증 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

[0054] 일부 양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 섬유증을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 섬유증을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 또는 ActRII-결합

항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 섬유증은 간 또는 폐 섬유증이다. 섬유증의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

[0055] 다른 양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 섬유증에 의해 유발된 간 또는 폐 기능의 손실을 저하시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-AcTRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 이의 ActRII-결합 단편)을 섬유증에 의해 유발된 간 또는 폐 기능의 손실의 저하를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 간 기능의 손실을 저하시킨다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 폐 기능의 손실을 저하시킨다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0056] 본 개시내용은 단리된 재조합 ActRII-결합 단백질을 제공한다. 특정 실시양태에서 ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항-AcTRII 항체이다. ActRII-결합 단백질을 코딩하는 핵산, 핵산을 함유하는 벡터 및 숙주 세포, 및 ActRII-결합 단백질의 제조 방법 및 사용 방법을 또한 제공한다. 제공된 ActRII-결합 단백질은 증가된 ActRII 발현 및/또는 신호화와 연관된 질환 및 병태를 진단, 치료 및/또는 호전하는 데 용도를 갖는다. 이러한 용도는 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증 (IPF)); 대사 질환 (예컨대, 유형 II 당뇨병 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환 (예컨대, 울혈성 심부전 및 고혈압); 안구 질환, 예컨대, 연령-관련된 황반 변성; 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 신경학 질환, 예컨대, 골다공증; 상처 치유; 체중 손실; 및 암 (예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암)의 예방 및/또는 호전을 포함하나, 이로 제한되지 않는다.

### 정의

[0058] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 관련된 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press는 당업자에게 본 개시내용에서 사용된 많은 용어의 일반적인 사전을 제공한다. 본원에 제공된 표제는 다양한 양상(aspect)의 제한이 아니며, 이들은 전체로서 본 명세서에 참조될 수 있다. 게다가, 바로 아래에 정의된 용어는 그 전체가 본 명세서를 참조하여 더 완전히 정의된다.

[0059] 용어 "단수형"은 용어가 사용되는 문맥에서 달리 명백하게 지시되지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다. 용어 "단수형" (또는 "단수형")뿐만 아니라 용어 "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다. 더욱이, "및/또는"은 본원에서 사용되는 경우, 다른 특징 또는 구성요소의 유무에 관계없이 2 개 이상의 명시된 특징 또는 구성요소 각각의 구체적인 개시내용으로서 간주된다. 따라서, 어구에 사용된 바와 같은 용어 "및/또는", 예컨대, 본원의 "A 및/또는 B"는 "A 및 B," "A 또는 B," "A" (단독), 및 "B" (단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 어구에 사용된 바와 같은 용어 "및/또는", 예컨대, "A, B 및/또는 C"는 다음의 양상 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0060] 용어 "포함한다"는 일반적으로, 포함한다라는 의미로 사용되며, 즉, 하나 이상의 특징 또는 구성요소의 존재를 허용하는 것을 말한다. 본원에 언어 "포함하는"으로 양상이 기재될 때 언제든지, "이로 이루어지는" 및/또는 "본질적으로 이로 이루어지는"의 관점에서 기재된 다른 유사한 양상을 또한 제공한다.

[0061] 명세서 및 청구범위 전반에서 수치와 연계하여 사용된 바와 같은 용어 "약" 및 "대략"은 당업자에게 친숙하고 허용 가능한 정확도의 간격을 나타낸다. 일반적으로, 이러한 정확도의 간격은 ± 10%이다. 대안적으로, 특히 생물학적 시스템에서, 용어 "약" 및 "대략"은 주어진 값의 10 배 이내, 바람직하게는 ≤ 5 -배 및 더욱 바람직하게는 ≤ 2-배인 값을 의미할 수 있다.

[0062] 수치 범위는 그 범위를 한정하는 수를 포함한다.

[0063] ActRII-결합 단백질은 ActRII (즉, ActRIIB 및/또는 ActRIIA)에 특이적으로 결합하는, 바람직하게는 ActRII의 세포외 도메인에 결합하는 단백질을 지칭한다.

- [0064] 용어 "ActRII 액티빈 수용체 유형 II," 및 "ActRII"는 상호교환적으로 사용되며, 그 용어가 사용되는 문맥이 달리 명확하게 구술하지 않는 한 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA) 및/또는 액티빈 수용체 유형 IIB (ActRIIB)를 지칭한다.
- [0065] 용어 "액티빈 수용체 유형 IIA," "ActRIIA 수용체," 및 "ActRIIA"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, ActRIIA (또한 ACVR2A, ActRIIA, ActRII, 및 문헌에서 EC 2.7.11.30으로서 지칭됨)를 지칭한다. 인간 ActRIIA에 대한 참조 서열은 참조서열 번호:NP\_001607.1에 제공된다. 제공된 ActRIIA-결합 단백질은 서열번호 92의 아미노산 20-138에 상응하는 ActRIIA의 세포외 도메인에 결합한다.
- [0066] 용어 "액티빈 수용체 유형 IIB," "ActRIIB 수용체," 및 "ActRIIB"는 상호교환적으로 사용되며, ActRIIB (또한 ACVR2B, ActRIIB, HTX4, ErbB3 수용체, 및 문헌에서 EC 2.7.11.30으로서 지칭됨)를 지칭한다. 인간 ActRIIB에 대한 참조 서열은 NCBI 참조 서열 NP\_001097에 제공된다. 제공된 ActRIIB-결합 단백질은 서열번호 93의 아미노산 19-130에 상응하는 ActRIIB의 세포외 도메인에 결합한다.
- [0067] ActRII-결합 단백질 (예컨대, 중화 항체)과 관련하여 사용될 때 용어 "경쟁한다(competes)" 또는 "경쟁한다(competes)"는 테스트 중인 항원 결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체 또는 이의 ActRII-결합 단편)이 공통 항원 (예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB 세포외 도메인 또는 이의 단편)에 대한 참조 항원 결합 단백질 (예컨대, 리간드, 또는 참조 항체)의 특이적 결합을 예방 또는 억제하는 검정에 의해 결정되는 바와 같은 항원 결합 단백질 사이의 경쟁을 의미한다. 수많은 유형의 경쟁적 결합 검정, 예를 들어, 고체상 직접 또는 간접 방사면역검정 (RIA) (예컨대, Moldenhauer 등, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82 (1990) 및 Morel 등, *Molec. Immunol.* 25:7-15 (1988) 참고), 고체상 직접 또는 간접 효소 면역검정 (EIA), 고체상 직접 비오틴-아비딘 EIA (예컨대, Cheung, 등, *Virology* 176:546-552 (1990) and Kirkland 등, *J. Immunol.* 137:3614-3619 (1986) 참고) 및 샌드위치 경쟁 검정 (예컨대, Stahli 등, *Methods in Enzymology* 92:242-253 (1983) 참고)이 사용될 수 있다. 전형적으로, 이러한 검정은 표지화되지 않은 테스트 항원 결합 단백질 및 표지화된 참조 항원 결합 단백질 중 어느 하나를 보유하는 고체 표면 또는 세포에 결합된 정제된 항원의 사용을 포함한다.
- [0068] 경쟁적 억제는 테스트 항원 결합 단백질의 존재 하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정함으로써 측정될 수 있다. 일반적으로, 테스트 항원 결합 단백질은 과량으로 존재한다. 경쟁 검정에 의해 식별된 항원 결합 단백질 (경쟁하는 항원 결합 단백질)은 참조 ActRII-결합 단백질과 동일한 에피토프에 결합하는 ActRII-결합 단백질뿐만 아니라 참조 ActRII-결합 단백질에 의해 결합된 에피토프에 충분히 근위의 인접한 에피토프에 결합하여 입체 장해가 발생하는 ActRII-결합 단백질을 포함한다. 일반적으로, 경쟁하는 ActRII (예: ActRIIA 또는 ActRIIB) 결합 단백질이 과량으로 존재할 때, 이것은 ActRII (예: ActRIIA 또는 ActRIIB)에 대한 참조 ActRII-결합 단백질의 특이적 결합을 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75% 이상 억제할 것이다. 일부 경우에, 경쟁하는 항원 결합 단백질은 참조 ActRII-결합 단백질의 특이적 결합을 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상 억제한다.
- [0069] ActRII 단백질과 관련하여 사용될 때 용어 "에피토프"는 본 개시내용의 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항체)에 결합할 수 있는 ActRII (예컨대, 인간 ActRIIA, 인간 ActRIIB, 또는 뮤린 ActRIIA) 단백질 결정인자를 지칭한다. 에피토프는 일반적으로, 문자, 예컨대, 아미노산 또는 당 측쇄의 화학적으로 활성 표면 그룹화로 이루어지고, 일반적으로, 특이적 3-차원 구조적 특성화뿐만 아니라 특이적 전하 특징을 갖는다. 입체형태적 및 비-입체 형태적 에피토프는 변성 용매의 존재 하에 전자에 대해 결합하지만 후자에 대한 결합은 손실된다는 점에서 구별된다. ActRII-결합 단백질에 의해 결합된 ActRII 에피토프는 당업계에 알려진 기술을 사용하여 용이하게 결정될 수 있다.
- [0070] 본원에 개시된 항원 결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII-결합 항체 및 이들의 ActRII-결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 항원, 예컨대, 이들이 인식하거나 특이적으로 결합하는 표적 폴리펩ти드의 에피토프(들) 또는 부분(들)의 관점에서 기재되거나 명시될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 ActRII-결합 단백질의 항원 결합 도메인과 특이적으로 상호작용하는 ActRII의 부분은 "에피토프"이다. 에피토프는 단백질의 삼차 접힘에 의해 병치된 인접 아미노산 및 비인접 아미노산 둘 모두로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로, 변성 용매에 노출 시에 유지되는 반면, 삼차 접힘에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로, 변성 용매로 처리 시에 손실된다. 에피토프 결정인자는 문자, 예컨대, 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 살포닐 기의 화학적으로 활성 표면 그룹화를 포함할 수 있고, 특이적 3-차원 구조적 특징 및/또는 특이적 전하 특성화를 가질 수 있다. 에피토프는 전형적으로, 독특한 공간적 입체형태로 3, 4, 5, 6, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35 개 이상의 아미노산을 포함한다. 에피토프는 당업계에 알려진 방법을

사용하여 일상적으로 결정될 수 있다.

[0071] 용어 "억제한다," "차단한다," "저하시킨다," "감소시킨다," "억압한다," "길항한다" 및 "종화시킨다"는 상호교환적으로 사용되며, 활성의 완전 차단을 포함하여, 활성 (예컨대, ActRII 리간드 결합 및 ActRII 신호화)에서 임의의 통계적으로 유의한 감소를 지칭한다. 예를 들어, "억제" 또는 "억압"은 대조군과 비교하여 활성에서의 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%의 감소를 지칭할 수 있다.

[0072] 일부 실시양태에서, 용어 "감소시킨다"는, ActRII-결합 단백질과 접촉되지 않은 경우 세포에서 Smad 포스포릴화의 정도에 비해, ActRII 및 유형 I 수용체를 발현하는 세포를 ActRII 리간드, 예컨대, 액티빈 A과 접촉시킴으로써 유도되는 하나 이상의 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 통계학적으로 유의하게 (예컨대, 0.05 이하의 p 값으로) 감소시키는, ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항체 또는 이의 ActRII-결합 단편의 능력을 지칭할 수 있다. ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA)를 발현하는 세포는 자연 발생 세포 또는 세포주일 수 있거나, ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA)를 코딩하는 핵산을 숙주 세포에 도입함으로써 재조합적으로 생산될 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질, 예컨대, ActRII 항체 또는 이의 ActRII-결합 단편은, 예를 들어, 웨스턴 블로팅에 이어, 항-포스포티로신 항체를 이용한 탐침에 의해, 또는 ELISA에 의해, 본원에 기재된 또는 그렇지 않으면 당업계에 알려진 표준 기술 및 조건을 사용하여 결정된 바와 같이, 하나 이상의 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 ActRII 리간드 매개된 포스포릴화를 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 약 100% 감소시킨다.

[0073] 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은, 예를 들어, 웨스턴 블로팅에 이어, 항-포스포티로신 항체를 이용한 탐침에 의해, 또는 ELISA (예컨대, P-Smad ELISA) 또는 본원에 기재된 또는 그렇지 않으면 당업계에 알려진 기술을 사용한 Smad 의존적 리포터 유전자 검정에 의해 결정된 바와 같이, 하나 이상의 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A) 매개된 포스포릴화를 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상, 또는 약 100% 감소시킨다.

[0074] 추가적인 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은, 예를 들어, 웨스턴 블로팅에 이어, 항-포스포티로신 항체를 이용한 탐침에 의해, 또는 ELISA (예컨대, P-Smad ELISA) 또는 본원에 기재된 또는 그렇지 않으면 당업계에 알려진 표준 기술 및 조건을 사용한 Smad 의존적 리포터 유전자 검정에 의해 결정된 바와 같이, 하나 이상의 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 또는 GDF8)-매개된 포스포릴화를 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상, 또는 약 100% 감소시킨다.

[0075] 용어 "증가시킨다," "촉진한다" 및 "효능작용한다"는 상호교환적으로 사용되며, 활성 (예컨대, ActRII 리간드 결합 및/또는 ActRII 신호화)에서의 임의의 통계적으로 유의한 증가를 지칭한다. 예를 들어, "증가시킨다" 또는 "촉진한다"는 대조군과 비교하여 활성의 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 증가를 지칭할 수 있다.

[0076] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 전체 (전장) 항체 및 이의 항원 결합 단편 또는 단일 쇄를 포함한다. 전형적인 항체는 디설파이드 결합에 의해 상호연계된 2 개 이상의 중쇄 (H) 및 2 개의 경쇄 (L)를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로서 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3 개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로서 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FW)으로 명명된 더욱 보존되는 영역이 산재된, 상보적 결정 영역 (CDR)으로 명명된 초가변성의 영역으로 더욱 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단으로부터 카복시-말단으로 다음의 순서로 배열된 3 개의 CDR 및 4 개의 FW로 구성된다: FW1, CDR1, FW2, CDR2, FW3, CDR3, FW4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예컨대, 이팩터 세포) 및 고전적 보체계의 제1 구성요소 (C1q)을 포함하여, 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 예시적인 항체는 전형적인 항체, scFv, 및, 예를 들어, scFv가 전형적인 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 N 또는 C-말단에 (예를 들어, 웹타드 결합을 통해 또는 화학적 링커를 통해) 공유 연결되거나, 전형적인 항체의 중쇄 및/또는 경쇄에서 개재되는 이의 조합을 포함한다.

[0077] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 온전한 다클론 항체, 온전한 단클론 항체, 항체 단편 (예컨대, Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv 단편), 단일 쇄 Fv (scFv) 유도체 및 돌연변이체, 다중특이적 항체, 예컨대, 이중특이적 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간 항체, 항체의 항원 결정 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항체가 원하는 결합 활성을 나타내는 한 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 각자 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로서 지칭되는 이들의 중-쇄 불변 도메인의 아이덴티티(identity)에 기반

하여, 다음의 면역글로불린의 임의의 5 가지 주요 부류 중 하나일 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 또는 이들의 하위부류 (아이소타입) (예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2). 상이한 부류의 면역글로불린은 상이하고 잘-알려진 서브유닛 구조 및 3-차원 입체배열을 갖는다. 항체는 네이키드이거나, 다른 분자, 예컨대, 독소, 방사성동위원소 등에 컨쥬게이션될 수 있다. 용어 "IgG"는 인식된 면역글로불린 감마 유전자에 의해 실질적으로 코딩되는 항체의 부류에 속하는 폴리펩티드를 지칭한다. 인간에서, 이러한 부류는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함한다. 마우스에서, 이러한 부류는 IgG1, IgG2a, IgG2b 및 IgG3을 포함한다.

[0078] 용어 "ActRII 항체," "ActRII에 결합하는 항체," 또는 "항-ActRII 항체"는 항체가 각자 ActRIIB 및/또는 ActRIIA를 표적화하는 데 있어서 치료제 또는 진단 시약으로서 유용할 만큼 충분한 친화도로 ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA)에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다.

[0079] ActRII 단백질과 관련하여 사용될 때 "특이적으로 결합한다"는 결합 단백질이 관련되지 않은 대조군 단백질에 결합하는 친화도보다 더 큰 친화도로, ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA, 바람직하게는 인간 ActRIIA 및/또는 인간 ActRIIB, 바람직하게는 ActRIIB 및/또는 ActRIIA의 세포외 도메인)에 결합하는 결합 단백질, 예컨대, 항체의 능력인 것으로 일반적으로 의미된다. 일부 실시양태에서, 대조군 단백질은 암탉 달걀 백색 리소자임이다. 바람직하게는, 결합 단백질은 대조군 단백질에 대한 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRII에 결합한다. 바람직하게는, 결합 단백질은 당업계에 알려진 결합 검정을 사용하여 측정된 바와 같이  $\leq 1 \times 10^{-7} \text{ M}$  또는  $\leq 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 의 인간 ActRII에 대한 결합 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 결합 친화도는 방사면역검정 (RIA) 또는 BIACORE® (예컨대, 분석물로서 ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA) 및 리간드로서 ActRII-결합 단백질을 사용함, 또는 그 반대임)를 사용하여 측정된다.

[0080] 일부 실시양태에서, 관련되지 않은 비-ActRII 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)의 결합 정도는, 예를 들어, 방사면역검정 (RIA), BIACORE® (분석물로서 재조합 ActRII 및 리간드로서 ActRII-결합 단백질을 사용함, 또는 그 반대임), 동역학 배제 검정 (KINEXA®), 또는 당업계에 알려진 다른 결합 검정에 의해 측정된 바와 같이 ActRII에 대한 ActRII-결합 단백질의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $\leq 100 \text{nM}$ ,  $\leq 10 \text{nM}$ ,  $\leq 0.1 \text{nM}$ ,  $\leq 10 \text{ pM}$ ,  $\leq 1 \text{ pM}$  또는  $\leq 0.1 \text{ pM}$ 의 해리 상수 ( $K_D$ )를 갖는 전장 항체 또는 ActRII-결합 항체 단편이다.

[0081] 용어 "항원-결합 항체 단편" (예컨대, "ActRII-결합 항체 단편," "ActRIIA-결합 항체 단편" 및 "ActRIIB-결합 항체 단편")은 온전한 항체의 항원 결합 가변 영역 (예컨대, CDR3)의 전부 또는 일부를 함유하는 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 알려져 있다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv 단편, 선형 항체, 단일 쇄 항체, 및 하나 이상의 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 ActRII-결합 항체 단편을 제공하며, 여기서 항체 단편은 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편, 디아바디 또는 단일 쇄 항체 분자이다.

[0082] Fc 영역은 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인을 배제하고, 항체의 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, Fc는 IgA, IgD 및 IgG의 마지막 2 개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, IgE 및 IgM의 마지막 3 개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, 및 이들 도메인의 N-말단에 가요성 힌지를 지칭한다. IgA 및 IgM의 경우, Fc는 J 쇄를 포함할 수 있다. IgG의 경우, Fc는 면역글로불린 도메인 C $\gamma$ 2 및 C $\gamma$ 3, 및 C $\gamma$ 1 및 C $\gamma$ 2 사이에 힌지를 포함한다. 비록 Fc 영역의 경계가 변할 수 있긴 하지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 카복실-말단에 잔기 C226 또는 P230을 포함하는 것으로 정의되며, 여기서 넘버링은 Kabat (Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, Bethesda, Md. (1991))에 제시된 바와 같이 EU 색인에 따른다. Fc는 단리상태에서 이러한 영역, 또는 전체 항체, 항체 단편 또는 Fc 융합 단백질과 관련하여 이러한 영역을 지칭할 수 있다. 다형성은 EU 색인에 의해 넘버링되는 바와 같은 위치 270, 272, 312, 315, 356 및 358을 비제한적으로 포함하는 다수의 상이한 Fc 위치에서 관찰되었으며, 따라서 현재의 서열 및 선행 기술에서의 서열 사이에 약간의 상이함이 존재할 수 있다.

[0083] "단클론 항체"는 단일 항원 결정인자 또는 에피토프의 고도로 특이적인 인식 및 결합에 관련된 균질한 항체 집단을 지칭한다. 이것은 상이한 항원 결정인자에 대해 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 단클론 항체와 대조적이다. 용어 "단클론 항체"는 온전한 전장 단클론 항체 둘 모두뿐만 아니라 항체 부분을 포함하는 항체 단편 (예컨대, Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv), 단일 쇄 (scFv) 돌연변이체 및 융합 단백질), 및 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포함한다. 단클론 항체는 하이브리도마, 과지 선택, 재조합

발현 및 트랜스제닉 동물을 비제한적으로 포함하는 임의의 수의 방식으로 만들어질 수 있다.

[0084] 용어 "키메라 항체"는 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이 2 개 이상의 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 경쇄 및 중쇄 둘 모두의 가변 영역은 원하는 항원-결합 특이성, 친화도 및/또는 수용력을 갖는 포유류의 하나의 종 (예컨대, 마우스, 랙트, 토끼 등)으로부터 유래된 항체의 가변 영역에 상응하고, 반면 불변 영역은 해당 종에서 면역 반응을 이끌어내는 것을 방지하는 다른 종 (일반적으로 인간)으로부터 유래된 항체의 서열에 대해 상동이다.

[0085] 용어 "인간화된 항체"는 더욱 적은, 바람직하게는 최소의 비-인간 (예컨대, 뮤린) 서열을 함유하도록 조작된, 비-인간 (예컨대, 뮤린) 면역글로불린으로부터 유래된 항체를 지칭한다. 전형적으로, 인간화된 항체는 CDR로부터의 잔기가 원하는 항원-결합 특이성, 친화도 및/또는 수용력을 갖는 비-인간 종 (예컨대, 마우스, 랙트, 토끼 또는 햄스터)의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체되는 인간 면역글로불린이다 (Jones, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann, *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeyen, *Science* 239:1534-1536 (1988)). 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FW) 잔기는 원하는 항원-결합 특이성, 친화도 및/또는 수용력을 갖는 비-인간 종으로부터의 항체에서 상응하는 잔기로 대체된다. 인간화된 항체는 항체 특이성, 친화도 및/또는 수용력을 정밀화 및 최적화하기 위해, Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 대체된 비-인간 잔기 내에서 추가적인 잔기의 치환에 의해 추가로 변형될 수 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 비-인간 면역글로불린에 상응하는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역을 함유하는 하나 이상, 및 전형적으로 2 또는 3 개의 가변 도메인 중에서 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 반면에 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 것들이다. 인간화된 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc) 중에서 적어도 일부를 포함할 수 있다. 인간화된 항체를 생성하는데 사용된 방법의 예는 미국특허 제5,225,539호 및 제5,639,641호에 기재되어 있다.

[0086] 용어 "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체, 또는 당업계에 알려진 임의의 기술을 사용하여 만들어진 인간에 의해 생산된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다. 용어 "인간 항체"는 온전한 (전장) 항체, 이의 단편 및/또는 하나 이상의 인간 중쇄 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체, 예컨대, 뮤린 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체를 포함한다.

[0087] "길항체," "차단," 또는 "중화" 결합 단백질은 이것이 결합하는 항원, 예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA의 활성을 억제 또는 저하시키는 것이다. 일부 실시양태에서, 길항체 ActRII-결합 단백질은 ActRIIA 리간드, 예컨대, 액티빈 A에 의해 ActRIIA에 대한 결합을 저하 또는 억제한다. 일부 실시양태에서, 길항체 ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 리간드, 예컨대, 액티빈 A에 의해 ActRIIB에 대한 결합을 저하 또는 억제한다. 특정 실시양태에서, 길항체 ActRII-결합 단백질은 ActRII의 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제한다. 일부 실시양태에서, ActRII 활성은 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 저하된다. 특정 실시양태에서, 길항체 ActRII-결합 단백질은 항-ActRIIA 항체, 예컨대, 전장 항체 또는 ActRIIA-결합 항체 단편이다. 추가 실시양태에서, 길항체 항-ActRIIA 항체는 ActRIIA의 활성을 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% 이상 또는 심지어 100% 억제 또는 저하시킨다. 추가적인 실시양태에서, 길항체 ActRII-결합 단백질은 항-ActRIIB 항체, 예컨대, 전장 항체 또는 ActRIIB-결합 항체 단편이다. 추가 실시양태에서, 길항체 항-ActRIIB 항체는 ActRIIB의 활성을 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% 이상 또는 심지어 100% 억제 또는 저하시킨다.

[0088] "결합 친화도"는 일반적으로, 분자 (예컨대, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 파트너 (예컨대, 항원) 사이에 비-공유 상호작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, "결합 친화도"는 결합 쌍 (예컨대, 항체 및 항원)의 구성원 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화도를 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화도는 일반적으로, 해리 상수 ( $K_D$ )로 표현될 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것들을 포함하여 당업계에 알려진 일반적인 방법에 의해 측정될 수 있으며, 본 개시내용의 목적에 사용될 수 있다.

[0089] "효능"은 주어진 세기의 효과를 생산하는데 필요한 화합물의 양의 관점에서 표현된 화합물의 약리학적 활성의 척도이다. 이는 정의된 생물학적 효과를 달성하는데 필요한 화합물의 양을 지칭하며; 필요한 용량이 더욱 적을 수록, 약물은 더욱 강력하다. 효능은, 달리 언급되지 않는 한, nM의 IC<sub>50</sub> 값으로서 일반적으로 표현된다. IC<sub>50</sub>은 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 또는 항-ActRIIB 항체)의 중앙값 억제 농도이다. 기능적 검정에서, IC<sub>50</sub>은 생물학적 반응을 이의 최대의 50%로 저하시키는 농도이다. 리간드-수용체 결합 연구에서, IC<sub>50</sub>은 리간드-수용체 결합을 최대 특이적 결합 수준의 50%로 저하시키는 농도이다. IC<sub>50</sub>은 당업계에 알려진 임의의 수단에 의해 계산될 수 있다. 참조 항-ActRII 항체 또는 다른 ActRII-결합 단백질과 비교하여 본원에 제공된 항체

또는 다른 결합 단백질에 대한 효능의 배수적 개선은 2-배, 4-배, 6-배, 8-배, 10-배, 20-배, 30-배, 40-배, 50-배, 60-배, 70-배, 80-배, 90-배, 100-배, 110-배, 120-배, 130-배, 140-배, 150-배, 160-배, 170-배 이상 또는 180-배 이상일 수 있다.

[0090] "항체-의존적 세포-매개된 세포독성" 또는 "ADCC"는 특정 세포독성 세포 (예컨대, 자연 킬러 (NK) 세포, 호중구 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체 (FcR)에 결합된 분비된 Ig가 이들 세포독성 이팩터 세포가 항원-보유 표적 세포에 특이적으로 결합하고, 이어서 표적 세포를 세포독소로 사멸시킬 수 있게 하는 세포독성의 형태를 지칭한다. 표적 세포의 표면에 지향된 특이적인 높은-친화도 IgG 항체는 세포독성 세포를 "무장시키며(arm)", 이러한 사멸을 위해 절대적으로 필요하다. 표적 세포의 용해는 세포외이고, 직접적인 세포-대-세포 접촉을 필요로 하고, 보체를 수반하지 않는다. 항체 이외에, ActRII-보유 표적 세포에 특이적으로 결합하는 역량을 갖는, Fc 영역을 포함하는 다른 단백질, 특히 Fc 융합 단백질은 세포-매개된 세포독성을 가져올 수 있을 것으로 고려된다. 단순함을 위해, Fc 융합 단백질의 활성으로부터 초래되는 세포-매개 세포독성은 본원에서 ADCC 활성으로서 또한 지칭된다.

[0091] "단리된" ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRII-결합 단편을 포함하는 ActRII 항체, 및 이의 변이체 및 유도체), 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포, 또는 조성물은 자연에서 발견되지 않는 형태인 단백질 (예컨대, 항체), 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포, 또는 조성물이다. 단리된 단백질, 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포 또는 조성물은 이들이 더 이상 자연에서 발견되는 형태에 있지 않는 정도까지 정제된 것들을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리된 단백질, 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포 또는 조성물은 실질적으로 순수하다. 단리된 단백질 및 단리된 핵산은 이들이 자연적으로 연관되는 재료, 예컨대, 이들의 자연 환경에서 또는 이러한 제제가 생체외 또는 생체내에서 실시된 재조합 DNA 기술에 의할 때 이들이 제조되는 환경 (예컨대, 세포 배양액)에서 이들과 함께 발견되는 다른 폴리펩티드 또는 핵산이 없거나, 또는 실질적으로 없을 것이다. 단백질 및 핵산은 희석제 또는 아주반트로 제형화되고 여전히 실질적인 목적으로 단리될 수 있다 - 예를 들어, 단백질은, 면역검정에서 사용을 위해 미량 역가 플레이트를 코팅하는데 사용되는 경우 일반적으로 젤라틴 또는 다른 담체와 혼합될 것이거나, 진단 또는 요법에서 사용되는 경우 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 혼합될 것이다.

[0092] 용어 "대상체", "개체", "동물", "환자" 및 "포유류"는 진단, 예후 또는 요법이 요망되는 임의의 대상체, 특히 포유동물 대상체를 지칭한다. 포유동물 대상체는 특정 치료의 수용자인 인간, 비-인간 영장류, 가축, 경작용 동물 및 설치류 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0093] 용어 "약학 조성물"은 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 허용하는 형태이고, 조성물이 투여될 대상체에 받아들이기 어려울 정도로 독성인 농도의 추가적인 구성요소를 함유하지 않는 제제를 지칭한다. 이러한 조성물은 무균일 수 있다.

[0094] 본원에 개시된 바와 같은 폴리펩티드, 예컨대, 항체를 포함하는 항원 결합 단백질의 "유효량"은 구체적으로 언급된 목적을 수행하는데 충분한 양이다. "유효량"은 언급된 목적에 관련하여, 경험적으로 및 일상적인 방식으로 결정될 수 있다. 용어 "치료학적 유효량"은 대상체 (예컨대, 포유류, 예컨대, 인간)에서 질환 또는 병태를 "치료하는데" 효과적인 폴리펩티드, 예컨대, 항체를 포함하는 항원 결합 단백질, 또는 다른 약물의 양을 지칭하고, 질환 또는 병태를 앓는 대상체에 일부 개선 또는 이익을 제공한다. 따라서, "치료학적으로 유효한" 양은 ActRII-매개된 질환 또는 병태의 하나 이상의 임상적 증상에서 일부 경감, 완화 및/또는 감소를 제공하는 양이다. 본 개시내용의 방법에 의해 치료될 수 있는 질환 또는 병태와 연관된 임상적 증상은 널리 알려져 있다. 또한, 치료적 효과는 일부 이익이 대상체에 제공되는 한, 완전하거나 또는 치유적일 필요는 없다. 일부 실시양태에서, 용어 "치료학적으로 효과적인"은 ActRII 활성의 저하를 필요로 하는 환자에서 ActRII 활성을 저하시킬 수 있는 치료제의 양을 지칭한다. 투여된 실제량 및 투여의 속도 및 시간-경과는 치료되는 질환의 성질 및 중증도에 의존할 것이다. 치료의 처방, 예컨대, 투여량의 결정 등은 일반의 및 기타 의사의 책임 내에 있다. 항체 및 이의 항원 결합 단편의 적절한 용량은 일반적으로 알려져 있으며; Ledermann 등, *Int. J. Cancer* 47:659-664 (1991); Bagshawe 등, *Ant. Immun. and Radiopharm.* 4:915-922 (1991)를 참고한다.

[0095] ActRII-매개된 질환 또는 병태를 앓는 환자에서 "충분한 양" 또는 특정 결과를 달성"하는데 충분한 양"은 임의로 치료적 효과 (즉, 치료학적 유효량의 투여에 의한)인 원하는 효과를 생산하는데 효과적인 치료제 (예컨대, 본원에 개시된 바와 같은, 항체를 포함하는 항원 결합 단백질)의 양을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 이러한 특정 결과는 ActRII 활성의 저하를 필요로 하는 환자에서의 ActRII 활성의 저하이다.

[0096] 용어 "표지"는 "표지화된" 모이어티를 생성하기 위해 모이어티, 예컨대, 항-ActRII 항체에 직접적으로 또는 간접적으로 컨쥬게이션되는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 표지는 그 자체로 검출가능할 수 있거나

(예컨대, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지), 또는 효소적 표지의 경우에, 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변경을 촉매할 수 있다.

[0097] 용어, 예컨대, "치료하는" 또는 "치료", "치료하기 위한" 또는 "완화하는" 및 "완화하기 위한"은 (a) 진단된 병리학적 병태 또는 장애를 치유하고/하거나, 둔화시키고/시키거나, 이의 증상을 축소하고/하거나 이의 진행을 중단시키는 치료적 조치, 및 (b) 표적화된 질환 또는 병태를 예방하고/하거나 이의 발달을 늦추는 예방적 또는 방지적 조치 둘 모두를 지칭한다. 따라서, 치료를 필요로 하는 대상체는 이미 질환 또는 병태를 앓고 있는 대상체; 질환 또는 병태가 발달할 위험이 있는 대상체; 및 질환 또는 병태가 예방되어야 하는 대상체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 질환 또는 불용(disuse)으로 인한 근육 장애, 예컨대, 근육 소모를 치료하는 방법을 제공한다. 추가적인 실시양태에서, 본 개시내용은 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증 (IPF)); 대사 질환 (예컨대, 유형 II 당뇨병 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환, 골격 질환, 신경학 질환, 예컨대, 골다공증; 상처 치유; 체중 손실; 및 암 (예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암)으로부터 선택된 질환 또는 병태의 치료 방법을 제공한다. 추가 실시양태에서, 본 개시내용은 위의 질환 또는 병태 중 하나 이상의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0098] 본원에 사용된 바와 같이, "와 조합으로" 또는 "병용 요법"은 추가적인 요법 (예컨대, 제2, 제3, 제4 등)이 체내에서 여전히 효과적이도록 (예컨대, 다중 화합물이 대상체에서 이들 화합물의 상승작용 효과를 포함할 수 있는 동시에 효과적임) 하는 임의의 투여 형태를 지칭한다. 유효성은 혈액, 혈청 또는 혈장에 약제의 측정가능한 농도와 상관관계가 없을 수 있다. 예를 들어, 상이한 치료적 화합물은 동일한 제형에서 또는 별개의 제형에서, 병행적으로 또는 순차적으로, 및 상이한 일정에서 투여될 수 있다. 따라서, 이러한 치료를 받는 대상체는 상이한 요법의 병용 효과로부터 이익을 얻을 수 있다. 본 개시내용의 하나 이상의 ActRII-결합 단백질은 하나 이상의 다른 추가적인 약제 및/또는 지지 요법과 동시에, 이전에, 또는 이후에 투여될 수 있다. 일반적으로, 각각의 치료제는 해당 특정 약제에 대해 결정된 용량에서 및/또는 시간 일정에서 투여될 것이다. 양생법(regimen)에서 사용되는 특정 조합은 본 개시내용의 길항제와 요법 및/또는 원하는 결과의 양립성을 고려할 것이다.

[0099] 본 개시내용의 방법 및 기술은 일반적으로, 알려진 통상적인 방법에 따라서, 및 달리 나타내지 않는 한, 본 개시내용 전반에 걸쳐 인용되고 논의된 다양한 일반적인 참조문헌 및 더욱 구체적인 참조문헌에 기재된 바와 같이 수행된다. 예컨대, Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) and Ausubel 등, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), 및 Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990)를 참고하며, 이를 모두는 본원에 참조로 원용된다.

[0100] 용어 "암," "종양," "암성" 및 "악성"은 전형적으로, 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는, 포유류에서의 생리학적 병태를 지칭하거나 설명한다. 암의 예는 선암종, 림프종, 모세포종, 흑색종, 육종 및 백혈병을 비롯한 암종을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 암의 보다 특정 예는 편평상피 세포 암, 소-세포 폐암, 비-소세포 폐암, 위장암, 호지킨 및 비-호지킨 림프종, 췌장암, 교모세포종, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 예컨대, 간 암종 및 간세포암, 방광암, 유방암 (호르몬 매개된 유방암 포함, 예컨대, Innes 등, *Br. J. Cancer* 94: 1057-1065 (2006) 참고), 결장암, 결장직장암, 자궁내막 암종, 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 타액선 암종, 기저 세포 암종, 흑색종, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 고환암, 식도암, 다양한 유형의 두경부암 및 점액 기원의 암, 예컨대, 점액 난소암 및 담관암종 (간)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 암은 골수섬유증, 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 또는 뇌하수체암이다. 다른 실시양태에서, 암은 유방암, 위장암 또는 암종 (예컨대, 기저 및 편평상피 세포 암종)이다. 추가적인 실시양태에서, 암은 골-손실-유도암이다.

[0101] 용어 "폴리뉴클레오티드" 및 "핵산"은 상호교환적으로 사용되며, 단수 핵산뿐만 아니라 복수 핵산을 포함하는 것으로 의도되고, 단리된 핵산 분자 또는 작제물, 예컨대, 전령 RNA (mRNA), 상보적 DNA (cDNA) 또는 플라스미드 DNA (pDNA)를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 통상적인 포스포디에스테르 결합 또는 비-통상적인 결합 (예컨대, 웹티드 핵산 (PNA)에서 발견되는 것과 같은 아미드 결합)을 포함한다. 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오티드에 존재하는 하나 이상의 핵산 세그먼트, 예컨대, DNA, cDNA 또는 RNA 단편을 지칭한다. 핵산 또는 폴리뉴클레오티드에 적용될 때, 용어 "단리된"은 천연 환경으로부터 제거된 핵산 분자, DNA 또는 RNA를 지칭하며, 예를 들어, 벡터에 함유된 항원 결합 단백질을 코딩하는 재조합 폴리뉴클레오티드는 본 개시내용의 목

적을 위해 단리된 것으로 고려된다. 단리된 폴리뉴클레오티드의 추가 예는 이종 숙주 세포에 유지된 또는 용액 중 다른 폴리뉴클레오티드로부터 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 단리된 RNA 분자는 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드의 생체내 또는 생체외 RNA 전사체를 포함한다. 본 개시내용에 따른 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 합성적으로 생산된 이러한 분자를 추가로 포함한다. 또한, 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 조절 요소, 예컨대, 프로모터, 인핸서, 리보솜 결합 부위, 또는 전사 종결 신호를 포함할 수 있다.

[0102] 용어 "벡터"는 숙주 세포에서 관심있는 하나 이상의 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달하고, 일부 양상에서, 발현할 수 있는 작제물을 의미한다. 벡터의 예는 바이러스 벡터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 축합제와 연관된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 특정 진핵 세포, 예컨대, 생산자 세포를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0103] 용어 "숙주 세포"는 재조합 핵산을 보유하거나 또는 보유할 수 있는 세포 또는 세포 집단을 지칭한다. 숙주 세포는 원핵 (예컨대, 대장균(*E. coli*)), 또는 진핵일 수 있다. 숙주 세포는 효모, 예컨대, 사카로미세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*), 피치아 파스토리스(*Pichia pastoris*), 또는 쉬조사카로미세스 품베(*Schizosaccharomyces pombe*)를 포함하는 진균 세포일 수 있다. 숙주 세포는 또한 다양한 동물 세포, 예컨대, 곤충 세포 (예컨대, Sf-9) 또는 포유동물 세포 (예컨대, HEK293F, CHO, COS-7, NIH-3T3, NS0, PER.C6® 및 하이브리도마) 중 임의의 것일 수 있다. 추가 실시양태에서, 숙주 세포는 CHO-K, CHO-0, CHO-Lec10, CHO-Lec13, CHO-Lec1, CHO Pro<sup>-5</sup> 및 CHO dhfr<sup>-</sup>로 이루어진 군으로부터 선택된 CHO 세포이다. 특정 실시양태에서, 숙주 세포는 하이브리도마이다.

[0104] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 본원에서 상호교환적으로 사용되어, 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있으며, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 비-아미노산이 끼어들 수 있다. 용어는 또한 자연적으로 또는 개입에 의해; 예를 들어, 디설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대, 표지화 구성요소와의 컨쥬게이션에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 또한, 정의 내에는, 예를 들어, 아미노산의 하나 이상의 유사체 (예를 들어, 비자연적인 아미노산 등을 포함함)뿐만 아니라 당업계에 알려진 다른 변형을 함유하는 폴리펩티드가 포함된다. 일부 양상에서, 제공된 ActRII-결합 단백질이 항체에 기반하기 때문에, ActRII-결합 단백질은 단일 쇄 또는 연관된 쇄로서 발생할 수 있는 것으로 이해된다.

[0105] "재조합" 폴리펩티드, 단백질 또는 항체는 재조합 DNA 기술을 통해 생산된 폴리펩티드, 단백질 또는 항체를 지칭한다. 숙주 세포에서 발현된 재조합적으로 생산된 폴리펩티드, 단백질 및 항체는 임의의 적합한 기술에 의해 분리되거나, 분획되거나, 또는 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 천연 또는 재조합 폴리펩티드와 마찬가지로, 본 개시내용의 목적을 위해 단리된 것으로 고려된다.

[0106] 또한, 본 개시내용은 폴리펩티드의 단편, 변이체 또는 유도체, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다. 폴리펩티드 및 단백질을 지칭할 때 용어 "단편"은 참조 폴리펩티드 또는 단백질의 특성 중에서 적어도 일부를 유지하는 임의의 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 폴리펩티드의 단편은 단백질분해 단편뿐만 아니라 결실 단편을 포함한다.

[0107] 용어 "변이체"는 하나 이상의 아미노산 변형으로 인해 모 항체 또는 폴리펩티드 서열과 상이한 항체 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체 또는 폴리펩티드의 변이체는 단편을 포함하고, 또한, 아미노산 치환, 결실 또는 삽입으로 인해 변경된 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 폴리펩티드를 포함한다. 변이체는 자연 발생 또는 비-자연 발생일 수 있다. 비-자연 발생 변이체는 당업계에서 공지된 돌연변이유발 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 변이체 폴리펩티드는 보존적 또는 비-보존적 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 포함할 수 있다.

[0108] 항체 또는 폴리펩티드에 적용된 바와 같은 용어 "유도체"는 천연 항체 또는 폴리펩티드에서 발견되지 않는 추가적인 특징을 나타내기 위해 변경된 항체 또는 폴리펩티드를 지칭한다. "유도체" 항체의 예는 제2 폴리펩티드 또는 다른 분자 (예컨대, 중합체, 예컨대, PEG, 발색단 또는 형광단) 또는 원자 (예컨대, 방사성 동위원소)와의 융합체 또는 컨쥬게이트이다.

[0109] 용어 "아미노산 치환"은 모 서열에서 존재하는 아미노산 잔기를 다른 아미노산 잔기로 대체하는 것을 지칭한다. 아미노산은 모 서열에서, 예를 들어, 화학적 웹티드 합성을 통해 또는 알려진 재조합 방법을 통해 치환될 수 있다. 따라서, "위치 X에서 치환" 또는 "위치 X에서 치환"에 대한 언급은 위치 X에 존재하는 아미노산 잔기의 대안적인 아미노산 잔기로의 치환을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 치환 패턴은 도식 AXY에 따라 기재될 수 있으

며, 여기서 A는 위치 X에 자연적으로 존재하는 아미노산 잔기에 상응하는 단일 문자 코드이고, Y는 치환 아미노산 잔기이다. 다른 실시양태에서, 치환 패턴은 도식 XY에 따라 기재될 수 있으며, 여기서 Y는 위치 X에 자연적으로 존재하는 아미노산 잔기를 치환하는 아미노산 잔기에 상응하는 단일 문자 코드이다.

[0110] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 염기성 측쇄(예컨대, Lys, Arg, His), 산성 측쇄(예컨대, Asp, Glu), 하전되지 않은 극성 측쇄(예컨대, Gly, Asp, Gln, Ser, Thr, Tyr, Cys), 비극성 측쇄(예컨대, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, Trp), 베타-분지된 측쇄(예컨대, Thr, Val, Ile) 및 방향족 측쇄(예컨대, Tyr, Phe, Trp, His)를 포함하여, 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 이전에 정의되었다. 따라서, 폴리펩티드에서 아미노산 잔기가 동일한 측쇄 패밀리로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체되는 경우, 치환은 보존적인 것으로 고려된다. 다른 실시양태에서, 아미노산 잔기의 스트링은 측쇄 패밀리 구성원의 순서 및/또는 조성에서 상이한 구조적으로 유사한 스트링으로 보존적으로 대체될 수 있다.

[0111] 비-보존적 치환은 (a) 양전기성 측쇄를 갖는 잔기(예컨대, Arg, His 또는 Lys)가 음전기성 잔기(예컨대, Glu 또는 Asp)로 치환되거나, 또는 이에 의해 치환되는 것들, (b) 친수성 잔기(예컨대, Ser 또는 Thr)가 소수성 잔기(예컨대, Ala, Leu, Ile, Phe 또는 Val)로 치환되거나, 또는 이에 의해 치환되는 것들, (c) Cys 또는 Pro가 임의의 다른 잔기로 치환되거나, 또는 이에 의해 치환되는 것들, 또는 (d) 별기한 소수성 또는 방향족 측쇄를 갖는 잔기(예컨대, Val, His, Ile 또는 Trp)가 더 작은 측쇄를 갖는 잔기(예컨대, Ala 또는 Ser) 또는 측쇄가 없는 잔기(예컨대, Gly)로 치환되거나, 또는 이에 의해 치환되는 것들을 포함한다.

[0112] 다른 치환은 용이하게 식별될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 알라닌의 경우, 치환은 D-Ala, Gly, 베타-Ala, L-Cys 및 D-Cys 중 어느 하나로부터 취해질 수 있다. 리신의 경우, 대체는 D-Lys, Arg, D-Arg, 흐모-Arg, Met, D-Met, 오미틴, 또는 D-오르니틴 중 어느 하나일 수 있다. 일반적으로, 단리된 폴리펩티드의 특성에서 변화를 유도하는 것으로 예상될 수 있는 기능적으로 중요한 영역에서의 치환은 (a) 극성 잔기(예컨대, Ser 또는 Thr)가 소수성 잔기(예컨대, Leu, Ile, Phe 또는 Ala)로 (또는 이에 의해) 치환되는 것들; (b) Cys 잔기가 임의의 다른 잔기로 (또는 이에 의해) 치환되는 것들; (c) 양전기성 측쇄를 갖는 잔기(예컨대, Lys, Arg 또는 His)가 음전기성 측쇄를 갖는 잔기(예컨대, Glu 또는 Asp)로 (또는 이에 의해) 치환되는 것들; 또는 (d) 별기한 측쇄를 갖는 잔기(예컨대, Phe)가 이러한 측쇄를 갖지 않는 잔기(예컨대, Gly)로 (또는 이에 의해) 치환되는 것들이다. 전술한 비-보존적 치환 중 하나가 단백질의 기능적 특성을 변경할 가능성은 또한 단백질의 기능적으로 중요한 영역에 대한 치환 위치와 상관관계가 있으며: 따라서, 일부 비-보존적 치환은 생물학적 특성에 대한 효과가 거의 또는 전혀 없을 수 있다.

[0113] 용어 "아미노산 삽입"은 모 서열에 존재하는 2 개의 아미노산 잔기 사이에 새로운 아미노산 잔기를 도입하는 것을 지칭한다. 아미노산 잔기는, 예를 들어, 화학적 웹티드 합성을 통해 또는 당업계에 알려진 재조합 방법을 통해 모 서열에 삽입될 수 있다. 따라서, X 및 Y가 아미노산 잔기 위치에 상응하는 어구 "위치 X 및 Y 사이에 삽입" 또는 "Kabat 위치 X 및 Y 사이에 삽입"(예컨대, 위치 239 및 240 사이에 시스테인 아미노산 잔기 삽입)은 X 위치 및 Y 위치 사이에 아미노산 잔기의 삽입, 및 또한, 위치 X 및 Y의 아미노산 잔기를 코딩하는 코돈 사이에 아미노산 잔기를 코딩하는 코돈의 핵산 서열의 삽입을 지칭한다.

[0114] 2 개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열 사이에 용어 "서열 동일성 퍼센트" 또는 "동일성 퍼센트"는 2 개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입되어야 하는 첨가 또는 결실(즉, 캡)을 고려하여, 비교 원도우 위에서 서열에 의해 공유된 동일한 매칭된 위치의 수를 지칭한다. 매칭된 위치는 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산이 표적 및 참조 서열 둘 모두에 제시되는 임의의 위치이다. 표적 서열에서 제시된 캡은 카운팅되지 않는데, 그 이유는 캡은 뉴클레오티드 또는 아미노산이 아니기 때문이다. 마찬가지로, 참조 서열에 제시된 캡은 카운팅되지 않는데, 그 이유는 표적 서열 뉴클레오티드 또는 아미노산이 카운팅되고, 참조 서열로부터의 뉴클레오티드 또는 아미노산은 카운팅되지 않기 때문이다. 서열 동일성의 백분율은 동일한 아미노-산 잔기 또는 핵산 염기가 두 서열 모두에서 발생하는 위치의 수를 결정하여 매칭된 위치의 수를 산출하고, 매칭된 위치의 수를 비교 원도우의 위치의 총수로 나누고, 결과에 100을 곱하여, 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다. 2 개의 서열 사이에 서열의 비교 및 서열 동일성 퍼센트의 결정은 용이하게 이용가능한 소프트웨어 프로그램을 사용하여 달성될 수 있다. 적합한 소프트웨어 프로그램은 다양한 공급원으로부터, 및 단백질 및 뉴클레오티드 서열 둘 모두의 정렬을 위해 이용가능하다. 서열 동일성 퍼센트를 결정하는데 적합한 하나의 프로그램은 U.S. 정부의 미국 국립생물공학 정보 센터 BLAST 웹사이트 ([blast.ncbi.nlm.nih.gov](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov))로부터 이용가능한 BLAST 프로그램 제품군의 일부인 bl2seq이다. Bl2seq는 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 2 개의 서열 사이의 비교를 수행한다. BLASTN은 핵산 서열을 비교하는데 사용되는 반면, BLASTP는 아미노산 서열을 비교하는데 사용된다. 다른 적합한

프로그램은, 예컨대, 생물정보학 프로그램의 EMBOSS 제품군의 일부이고, 또한, [www.ebi.ac.uk/Tools/psa](http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa)에서 유럽 생물정보학 연구소 (EBI)로부터 이용가능한 Needle, Stretcher, Water 또는 Matcher이다.

[0115] CDR 또는 CDR 세트를 운반하기 위한 구조는 일반적으로, 항체 중쇄 또는 경쇄 서열 또는 이의 실질적인 부분일 것이며, 여기서 CDR 또는 CDR 세트는 재배열된 면역글로불린 유전자에 의해 코딩된 자연 발생 VH 및 VL 항체 가변 도메인의 CDR 또는 CDR 세트에 상응하는 위치에 위치한다. 면역글로불린 가변 도메인 및 이들의 CDR의 구조 및 위치는 프로그램 및 알려진 가변 도메인 잔기 넘버링 시스템, 예컨대, Chothia, Chothia+ 및 Kabat를 사용하여 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있고, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는 Kabat (Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest. 4th Edition. U.S. DHHS. 1987), 및 인터넷에서 이용가능한 도구 (예컨대, [bioinf.org.uk/abysis/sequence\\_input/key\\_annotation/key\\_annotation.html](http://bioinf.org.uk/abysis/sequence_input/key_annotation/key_annotation.html); 및 [immuno.bme.nwu.edu](http://immuno.bme.nwu.edu))에서)를 참조하여 일상적으로 결정될 수 있다.

[0116] CDR은 또한, 다른 스캐폴드, 예컨대, 피브로넥틴, 시토크롬 B, 알부민 (예컨대, ALBUdAb (Domantis/GSK) 및 ALB-Kunitz (Dyax)), 3 또는 6 개의 아미노산의 비구조화된 반복 서열 (예컨대, PASylation® 기술 및 XTEN® 기술), 및 엘라스틴-유사 반복 도메인을 함유하는 서열 (예컨대, 미국특허 출원 제61/442,106호을 참고하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용됨)에 의해 운반될 수 있다.

[0117] 실질적으로 본원에 제시된 바와 같은 CDR 아미노산 서열은 인간 가변 도메인 또는 이의 실질적인 부분에서 CDR로서 운반될 수 있다. 실질적으로 본원에 제시된 바와 같은 HCDR3 서열은 본 개시내용의 실시양태를 대표하고, 이를 각각은 인간 중쇄 가변 도메인 또는 이의 실질적인 부분에서 HCDR3으로서 운반될 수 있다.

[0118] 본 개시내용에서 사용된 가변 도메인은 임의의 생식-계열 또는 재배열된 인간 가변 도메인으로부터 수득될 수 있거나, 알려진 인간 가변 도메인의 컨센서스 서열에 기반한 합성 가변 도메인일 수 있다. CDR 서열 (예컨대, CDR3)은 재조합 DNA 기술을 사용하여, CDR (예컨대, CDR3)이 결여된 가변 도메인의 레퍼토리에 도입될 수 있다.

[0119] 예를 들어, Marks 등 (*Bio/Technology* 10:779-783 (1992); 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용됨)은 가변 도메인 구역의 5' 단부에서 또는 이에 인접하게 지향된 컨센서스 프라이머가 인간 VH 유전자의 제3 프레임워크 영역에 대한 컨센서스 프라이머와 함께 사용되어, CDR3이 결여된 VH 가변 도메인의 레퍼토리를 제공하는 항체 가변 도메인의 레퍼토리를 생산하는 방법을 제공한다. Marks 등은 이러한 레퍼토리가 특정 항체의 CDR3과 어떻게 조합될 수 있는지를 추가로 설명한다. 유사한 기술을 사용하여, 본 개시내용의 CDR3-유래된 서열은 CDR3이 결여된 VH 또는 VL 도메인의 레퍼토리와 셔플링될 수 있으며, 셔플링된 완전한 VH 또는 VL 도메인은 동족 VL 또는 VH 도메인과 조합되어 항원 결합 단백질을 제공할 수 있다. 이어서, 레퍼토리는 적합한 항원 결합 단백질이 선택될 수 있도록, 적합한 숙주 시스템, 예컨대, 국제출원 공개공보 WO92/01047호의 파지 디스플레이 시스템, 또는 Kay 등, (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, San Diego: Academic Press를 포함하여 문헌의 후속적 많은 본문 중 임의의 것에 나타낼 수 있다. 레퍼토리는 104 개 초과의 개별 구성원으로부터, 예를 들어,  $10^6$  내지  $10^8$ , 또는  $10^{10}$  개의 구성원으로부터 무언가로 이루어질 수 있다. 다른 적합한 숙주 시스템은 효모 디스플레이, 박테리아 디스플레이, T7 디스플레이 및 리보솜 디스플레이를 포함한다. 리보솜 디스플레이의 검토를 위해, Lowe 등, *Curr. Pharm. Biotech.* 517-527 (2004) 및 국제출원 공개공보 WO92/01047호를 참고하며, 이를 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 유사한 셔플링 또는 조합 기술이 또한 Stemmer (*Nature* 370:389-391 (1994), 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용됨)에 의해 개시되며, 이는  $\beta$ -락타마제 유전자와 관련된 기술을 설명하나, 접근법이 항체의 생성을 위해 사용될 수 있다는 것을 관찰한다.

[0120] 용어 "항원-결합 영역" 또는 "ABR"은 항원 (Ag)을 인식하고 결합하는 항체 내의 잔기인 파라토프를 지칭한다. ABR 또는 ABR 세트는 일반적으로 ABR 또는 ABR 세트가 재배열된 면역글로불린 유전자에 의해 코딩된 자연 발생 VH 및 VL 항체 가변 도메인의 ABR 또는 ABR 세트에 상응하는 위치에 위치하는 항체 중쇄 또는 경쇄 서열 또는 이의 실질적인 부분일 것이다. 면역글로불린 가변 도메인 및 이들의 ABR의 구조 및 위치는 전문이 본원에 참조로 원용되는, 인터넷에서 이용가능한 프로그램 및 알려진 가변 도메인 잔기 넘버링 시스템 및 도구 (예컨대, Kunik V., 등, *Nucleic Acids Res.* 2012 Jul;40)를 사용하여 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0121] ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체 및 항-ActRIIB 항체)은 이것이 ActRII에 대한 참조 분자의 결합을 일부 정도까지 차단하는 정도로 ActRII에 결합하는 경우, ActRII (예컨대, 각자 ActRIIB 및/또는 ActRIIA)에 대한 결합에 대해 참조 분자와 "경쟁한다"고 일컬어진다. ActRII에 대한 결합에 대해 경쟁하고, 따라서, ActRII에 대한 다른 것의 결합을 간섭하거나, 차단하거나, "교차-차단"하는 단백질의 능력은, 예를 들어, 경쟁 ELISA 검정, 표면 플라스몬 공명 (SPR; BIACORE®, Biosensor, Piscataway, N.J.)을 포함하여 당업계에 알려진 임의의 표준 경쟁적 결합 검정에 의해, 또는 Scatchard 등 (*Ann. N.Y. Acad. Sci.* 51:660-672 (1949)에 의해 기재

된 방법에 따라 결정될 수 있다. ActRII-결합 단백질은 ActRII에 대한 참조 분자의 결합을, 예를 들어, 90% 이상, 80% 이상, 70% 이상, 60% 이상 또는 50% 이상 경쟁적으로 억제하는 것으로 일컬어질 수 있다. 일부 실시양태에 따르면, ActRII-결합 단백질은 ActRIIA에 대한 참조 분자의 결합을 90% 이상, 80% 이상, 70% 이상, 60% 이상 또는 50% 이상 경쟁적으로 억제한다. 다른 실시양태에 따르면, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 대한 참조 분자의 결합을 90% 이상, 80% 이상, 70% 이상, 60% 이상 또는 50% 이상 경쟁적으로 억제한다.

#### [0122] ActRII-결합 단백질

ActRII에 특이적으로 결합하는 단백질을 제공한다. 용어 "ActRII"는 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA) 및/또는 액티빈 수용체 유형 IIB (ActRIIB)를 지칭한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "ActRIIA"는 임의의 종으로부터의 액티빈 수용체 유형 IIA 단백질의 패밀리, 및 돌연변이유발 또는 다른 변형에 의한 이러한 ActRIIA 단백질로부터 유래된 변이체를 지칭한다. 본원에서 ActRIIA에 대한 참조는 현재 식별된 형태 중 어느 하나에 대한 참조인 것으로 이해된다. ActRIIA 패밀리의 구성원은 일반적으로, 세포외 리간드-결합 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 세린-트레오닌 키나제 도메인으로 구성된 막관통 단백질이다. 인간 ActRIIA의 다양한 자연 발생 아이소폼이 있다. 표준(canonical) 인간 ActRIIA 아이소폼 1 전구체 단백질의 서열 (NCBI 참조 서열 NP\_001265508.1)은 다음과 같다:

```

1 MGAAAKLAFA VFLISCSSGA ILGRSETQEC LFFNANWEKD RTNQTGVEPC YGDKDKRRHC
61 FATWKNSIGS IEIVKQGCWL DDINCYDRTD CVEKKDSPEV YFCCCEGNMC NEKF SYFPREM
121 EVTQPTSNPV TPKPYYNIL LYSLVPLMLI AGIVICAFWV YRHHKMAYPP VLVPTQDPGP
181 PPPSPLLGLK PLQLLEVKAR GRFGCVWKAQ LLNEYVAVKI FPIQDKQSWQ NEYEVYSLPG
241 MKHENILQFI GAEKRGTTSVD VDLWLITAFH EKGSLSDFLK ANVVSNELC HIAETMARGL
301 AYLHEDIPGL KDGHKPAISH RDIKSKNVLL KNNILTACIAD FGLALKFEAG KSAGDTHGQV
361 GTRRYMAPEV LEGAINFQRD AFLRIDMYAM GLVLWELASR CTAADGPVDE YMLPFEEEIG
421 QHPSLEDMQE VVVHKKKRPV LRDYWQKHAG MAMLCETIEE CWDHDAEARL SAGCVGERIT
481 QMQRLTNIIT TEDIIVVVTM VTNVDFPPKE SSL ( 서열번호 92)

```

[0125] 신호 펩티드는 단일 밑줄로 표시되고, 세포외 도메인은 굵은 글꼴로 표시된다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "ActRIIB"는 임의의 종으로부터의 액티빈 수용체 유형 IIB 단백질의 패밀리, 및 돌연변이유발 또는 다른 변형에 의한 이러한 ActRIIB 단백질로부터 유래된 변이체를 지칭한다. 본원에서 ActRIIA에 대한 참조는 현재 식별된 형태 중 어느 하나에 대한 참조인 것으로 이해된다. ActRIIB 패밀리의 구성원은 일반적으로, 세포외 리간드-결합 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 세린-트레오닌 키나제 도메인으로 구성된 막관통 단백질이다. 인간 ActRIIB의 다양한 자연 발생 아이소폼이 있다. 표준 인간 ActRIIB 아이소폼 1 전구체 단백질의 서열 (NCBI 참조 서열 NP\_001097.2)은 다음과 같다:

```

1 MTAPWVALAL LWGSLCAGSG RGEAETRECI YY NANWELER TNQSGLERCE GEQDKRLHCV
61 ASWRNSSGTI ELVKKGWLD DFNCYDRQEC VATEENPQVY FCCCEGNFCN ERFTHLPEAG
121 GPEVTYEPPP TAPTLTVLA YSLLPIGGLS LIVLLAFWMY RHRKPPYGHV DIHEDPGPPP
181 PSPLVGLKPL QLLEIKAGR FGCVWKAQLM NDFVAVKIFP LQDKQSWQSE REIFSTPGMK
241 HENLLQFIAA EKRGSNLEVE LWLITAFHD GSLTDYLKGN IITWNELCHV AETMSRGLSY
301 LHEDVPWCRG EGHKPSIAHR DFKSKNVLLK SDLTAVLADF GLAVRFEPGK PPGDTHGQVG
361 TRRYMAPEVL EGAINFQRD AFLRIDMYAM LVLWELSRC KAADGPVDEY MLPFEEEIGQ
421 HPSLEELQEV VVHKKMRPTI KDHWLKHPGL AQLCVTIEC WDHDAEARLS AGCVEERVSL
481 IRRSVNGTTS DCLVSLVTSV TNVDLPPKES SI ( 서열번호 93)

```

[0129] 신호 펩티드는 단일 밑줄로 표시되고, 세포외 도메인은 굵은 글꼴로 표시된다.

[0130] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 수용체 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRII에 결합한다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 결합하고,  $<1 \mu\text{M}$ ,  $<100 \text{nM}$ ,  $<10 \text{nM}$ ,  $<1 \text{nM}$ ,  $<0.1 \text{nM}$ ,  $<10 \text{pM}$ ,  $<1 \text{pM}$ , 또는  $<0.1 \text{pM}$ 의 해리 상수 ( $K_D$ )를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ , 또는  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 1 \text{pM}$ 의 범위 내의 인간 ActRII에 대한  $K_D$ 를 갖는다.

[0131] 일부 실시양태에서, BIACORE® 분석은 참조 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)과 ActRII 단백질의 결합에 대해 경쟁하거나/이를 차단하는 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)의 능력을 결정하는데 사용된다. BIACORE® 기기 (예를 들어, BIACORE® 3000)가 제조업체의 권장사항에 따라 작동되는 추가 양상에서, ActRII-Fc 융합 단백질은 ActRII-코팅된 표면을 생성하기 위해, 미리 부착된 항-niFc IgG에 의해 CM5 BIACORE® 칩 상에서 포획된다. 전형적으로, 200-800 공명 유닛의 ActRII-Fc (이량체)가 칩에 커플링될 것이다 (결합의

쉽게 측정가능한 수준을 제공하지만, 사용된 테스트 시약의 농도에 의해 용이하게 포화가능한 양).

[0132]

서로 경쟁하거나/차단하는 능력에 대해 평가되는 2 개의 ActRII-결합 단백질 ( $A^*$  및  $B^*$ 로 명명됨)은 테스트 혼합물을 생성하기 위해 적합한 완충액에서 결합 부위의 1 대 1 몰 비율에서 혼합된다. 결합 부위 기준에서 농도를 계산할 때, ActRII-결합 단백질의 분자량은 ActRII-결합 단백질 상에서 ActRII-결합 부위의 수로 나눈 ActRII-결합 단백질의 전체 분자량인 것으로 가정된다. 테스트 혼합물 중 각각의 ActRII-결합 단백질 (즉,  $A^*$  및  $B^*$ )의 농도는 BIACORE® 칩 상에서 포획된 ActRII-Fc 분자 상의 해당 ActRII-결합 단백질에 대한 결합 부위를 용이하게 포화시킬 만큼 높아야 한다. 혼합물 중  $A^*$  및  $B^*$  ActRII-결합 단백질은 (결합 기준에서) 동일한 몰 농도에 있고, 해당 농도는 전형적으로 (결합 부위 기준에서) 1.00 및 1.5 마이크로몰 사이일 것이다. ActRII-결합 단백질  $A^*$  단독 및 ActRII-결합 단백질  $B^*$  단독을 함유하는 별도의 용액이 또한 제조된다. 이들 용액 중 ActRII-결합 단백질  $A^*$  및 ActRII-결합 단백질  $B^*$ 는 테스트 혼합물에서와 동일한 완충액 중에 있어야 하며 동일한 농도여야 한다. 테스트 혼합물을 ActRII-Fc-코팅된 BIACORE® 칩 위로 통과시키고, 총 결합량을 기록한다. 이어서, 칩은 칩-결합된 ActRII-Fc를 손상시키지 않으면서, 결합된 ActRII-결합 단백질을 제거하는 방식으로 처리된다. 전형적으로, 이는 칩을 30 mM HCl로 60 초 동안 처리함으로써 수행된다. 이어서, ActRII-결합 단백질  $A^*$  단독의 용액을 ActRII-Fc-코팅된 표면 위로 통과시키고, 결합량을 기록한다. 칩은 칩-결합된 ActRII-Fc를 손상시키지 않으면서 결합된 항체를 제거하기 위해 다시 처리된다. 이어서, ActRII-결합 단백질  $B^*$  단독의 용액을 ActRII-Fc-코팅된 표면 위로 통과시키고, 결합량을 기록한다. ActRII-결합 단백질  $A^*$  및 ActRII-결합 단백질  $B^*$ 의 혼합물의 최대 이론적 결합이 그 다음 계산되며, 이는 단독으로 ActRII 표면 위에 통과될 때 각각의 ActRII-결합 단백질의 결합의 합이다. 혼합물의 실제 기록된 결합이 이러한 이론적 최대보다 적으면, 2 개의 ActRII-결합 단백질은 서로 경쟁하거나/차단한다. 따라서, 일반적으로, 차단 ActRII-결합 단백질은 위의 BIACORE® 차단 검정에서 ActRII에 결합하여, 검정 동안 및 제2 ActRII-결합 단백질의 존재 하에, 기록된 결합이 조합으로 2 개의 ActRII-결합 단백질의 최대 이론적 결합의 80% 및 0.1% 사이 (예컨대, 80% > 내지 4%), 구체적으로 최대 이론적 결합의 75% 및 0.1 % 사이 (예컨대, 75% 내지 4%), 더욱 구체적으로 (위에 정의된 바와 같은) 최대 이론적 결합의 70% 및 0.1% 사이 (예컨대, 70% 내지 4%)가 되도록 하는 것이다.

[0133]

위에 기재된 BIACORE® 검정은 2 개의 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체가 ActRII의 결합에 대해 서로 경쟁하거나/이를 차단하는지를 결정하는데 사용되는 예시적인 검정이다. 드문 경우에, 특정 ActRII-결합 단백질은 항-Fc IgG를 통해 CM5 BIACORE® 칩에 커플링된 ActRII-Fc에 결합할 수 없다 (이는 ActRII 상의 관련 결합 부위가 Fc에 대한 ActRII 연결에 의해 차폐되거나 파괴될 때 발생할 수 있음). 이러한 경우에, 차단은 ActRII의 태깅된 버전, 예를 들어, C-말단 His-태깅된 ActRII를 사용하여 결정될 수 있다. 이러한 특정 포맷에서, 항-His 항체가 BIACORE® 칩에 커플링될 것이고, 이어서, His-태깅된 ActRII이 칩의 표면 위에 통과되고 항-His 항체에 의해 포획될 것이다. 교차-차단 분석은 각각의 칩 재생 주기 후, 새로운 His-태깅된 ActRII이 항-His 항체로 코팅된 표면에 다시 부하될 것이라는 점을 제외하고, 본질적으로 위에 기재된 바와 같이 수행될 것이다. 게다가, 다양한 다른 알려진 태그 및 태그 결합 단백질 조합이 이런 차단 분석에 사용될 수 있다 (예컨대, 항-HA 항체와 함께 HA 태그; 항-FLAG 항체와 함께 FLAG 태그; 스트렙타비딘과 함께 비오틴 태그). 다음은 ActRII-결합 단백질이 ActRII에 대한 참조 ActRII-결합 단백질의 결합을 차단하거나 차단할 수 있는지를 결정하기 위한 ELISA 검정을 일반적으로 설명한다.

[0134]

일부 실시양태에서, ActRII에 대한 결합에 대해 참조 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체 또는 ActRII 리간드)과 경쟁하는 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)의 능력을 결정하는데 ELISA가 사용된다. 이러한 검정의 일반적인 원리는 ELISA 플레이트의 웰에 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)을 갖는 것이다. 과량의 제2의 잠재적으로 차단하는 테스트 ActRII-결합 단백질이 용액에 첨가된다 (즉, ELISA 플레이트에 결합되지 않음). 이어서, 제한된 양의 ActRII (또는 대안적으로 ActRII-Fc)이 웰에 첨가된다. 용액 중 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질 및 테스트 ActRII-결합 단백질은 제한된 수의 ActRII (또는 ActRII-Fc) 분자의 결합에 대해 경쟁한다. 플레이트를 세척하여, 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질에 의해 결합되지 않은 ActRII를 제거하고, 또한, 테스트 용액-상 ActRII-결합 단백질뿐만 아니라 테스트 용액-상 ActRII-결합 단백질 및 ActRII 사이에 형성된 임의의 복합체를 제거한다. 이어서, 결합된 ActRII의 양은 적절한 ActRII 검출 시약을 사용하여 측정된다. ActRII에 대한 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질의 결합을 차단할 수 있는 용액 중 테스트 ActRII-결합 단백질은, 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질이 제2의 용액-상 테스트 ActRII-결합 단백질의 부재 하에 결합할 수 있는 ActRII 분자의 수에 비해, 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질이 결합할 수 있는 ActRII

분자의 수의 감소를 유발할 수 있을 것이다. 검정에 대한 배경 신호는 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질, 용액-상 테스트 ActRII-결합 단백질, ActRII 완충액 단독 (즉, ActRII 없음) 및 ActRII 검출 시약을 포함하는 웰에서 수득된 신호로서 정의된다. 검정에 대한 양성 대조군 신호는 코팅된 참조 ActRII-결합 단백질, 용액-상 테스트 ActRII-결합 단백질 완충액 단독 (즉, 용액-상 테스트 ActRII-결합 단백질 없음), ActRII 및 ActRII 수용체 검출 시약을 포함하는 웰에서 수득된 신호로서 정의된다. ELISA 검정은 배경 신호의 3 배 이상의 양성 대조군 신호를 갖는 방식으로 실행된다. 방법론적 인공물에 대한 대조군으로서, 교차-차단 검정은 코팅된 항체로서 테스트 ActRII-결합 단백질 및 용액-상 항체로서 참조 ActRII-결합 단백질을 사용하여 방금 설명된 포맷으로 실행될 수 있으며, 또한 역전될 수 있다.

[0135] 일부 실시양태에서, 리포터 유전자 검정을 사용하여, ActRII (예컨대, ActRIIB)를 중화시키는 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)의 능력을 결정한다. 일부 실시양태에서, 리포터 유전자 검정을 재조합 A204 세포를 사용하여 수행하여, ActRII (예컨대, ActRIIB) 활성을 중화시키는 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)의 능력을 결정한다. 이러한 검정은 (CAGA)12 모티프를 함유하는 pGL3(CAGA)12 플라스미드로 형질주입된 인간 횡문근육종 세포주 (예컨대, Dennler 등, *EMBO* 17:3091-3100 (1998) 및 미국특허 제8,765,385호를 참고하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용됨)뿐만 아니라 형질주입 효율을 위한 대조군에 대한 ReniUa 리포터 플라스미드 (pRLCMV)를 기반으로 한다. CAGA12 모티프는 TGF-베타 반응성 유전자 (PAI-1 유전자)에 존재하여, 이러한 벡터는 일반적으로 Smad2 및 Smad3을 통한 신호화 인자에 사용된다. 이러한 검정을 사용하여 후보자 단백질의 ActRIIB-결합 활성을 측정하는 것과 관련하여, A204 세포주는 ActRIIB보다는 주로 ActRIIA를 발현하기 때문에, 잠재적인 ActRIIB 중화 능력에 대해 항체를 직접 테스트하는 것이 가능하지 않다. 대신에, 이러한 검정은 ActRIIB 및 ActRIIA 둘 모두에 대해 높은 친화도로 결합할 수 있는 리간드 (예컨대, 액티빈 A 또는 GDF11)에 의해 내인성 ActRIIA의 활성화에 대한 가용성 융합 단백질 ActRIIB-Fc의 억제 효과를 중화시키는 테스트 ActRII 단백질 결합 후보자의 능력을 검출하도록 설계된다. 따라서, 이러한 검정에서, ActRIIB-결합이 중화되면 ActRIIB-Fc의 존재에도 불구하고 ActRIIA의 리간드-매개된 활성화가 발생할 것이다.

[0136] 검정 제1 일차에, A204 세포 (ATCC HTB-82)를 웰당  $10^5$  개의 세포로 48-웰 플레이트에 분포시킨다. 제2 일차에, 10  $\mu\text{g}$  pGL3(CAGA)12, 1  $\mu\text{g}$  pRLCMV, 30  $\mu\text{l}$  Fugene 6 (Roche Diagnostics) 및 970  $\mu\text{l}$  OptiMEM (Invitrogen)을 함유하는 용액을 30 분 동안 사전항온처리한 다음, 맥코이 성장 배지를 첨가하고, 이를 실온에서 밤새 항온처리하기 위해 플레이팅된 세포 (500  $\mu\text{l}$ /웰)에 적용한다. 제3 일차에, 배지를 제거하고, 세포를 6 시간 동안 37°C에서 하기에 기재된 바와 같이 재조된 리간드 및 억제제의 혼합물과 함께 항온처리한다.

[0137] 일부 실시양태에 따르면, ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체의 중화 효능을 평가하고, 이에 의해 테스트 단백질의 연속 회석물을 48-웰 플레이트에서 검정 완충액 (맥코이 배지 + 0.1 % BSA)의 200  $\mu\text{l}$  부피로 제조한다. ActRIIB 활성을 중화시키는 후보자 단백질의 능력을 평가하는 검정을 위해, 이어서 검정 완충액 중의 동일 부피의 ActRIIB-Fc (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 첨가한다. 테스트 용액을 37°C에서 30 분 동안 항온처리한 다음, 400  $\mu\text{l}$ 의 액티빈 A (10 ng/ml)를 모든 웰에 첨가하고, 350  $\mu\text{l}$ 의 이 혼합물을 A204 세포의 48-웰 플레이트의 각각의 웰에 첨가한다. 테스트 단백질의 각각의 농도를 이중으로 테스트한다. ActRIIB 활성을 중화시키는 후보자 단백질의 능력을 평가하는 검정을 위해, ActRIIB-Fc의 최종 농도는 50 ng/ml (이는 액티빈 A의 최종 농도가 5 ng/ml인 경우 액티빈 A 신호화의 이러한 억제제에 대한 IC<sub>50</sub>임)이다. 테스트 용액과 6 시간 동안 항온처리한 후, 세포를 0.1% BSA를 함유하는 포스페이트-완충된 식염수로 행군 다음, 능동 용해 완충액 (Promega E1941)으로 용해시키고, 밤새 -70°C에서 저장한다. 제4 일차 및 마지막 날에, 플레이트를 약하게 진탕하면서 실온까지 가온시킨다. 세포 용해물을 이중으로 화학발광 플레이트 (96-웰)로 옮기고, 루미노미터에서 듀얼-루시퍼라제 리포터 검정 시스템 (Promega E1980)으로부터의 시약을 사용하여 분석하여 정규화된 루시퍼라제 활성을 결정한다.

[0138] ActRIIB 신호화에 의존적인 약력학적 파라미터는 ActRIIB를 중화시키고 치료적 이익을 제공할 수 있는 결합 단백질을 식별하기 위해, ActRIIB-결합 단백질의 생체내 테스트에 대한 엔드포인트로서 측정될 수 있다. ActRIIB 중화 결합제는 이러한 약력학적 파라미터에서, 비히클-치료된 동물과 비교하여 통계학적으로 유의한 변화를 유발할 수 있는 것으로서 정의된다. 이러한 생체내 테스트는 임의의 적합한 포유류 (예컨대, 마우스, 랙트 또는 원숭이)에서 수행될 수 있다.

[0139] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 수용체 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRIIA에 결합한다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 수용체 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRIIA에 결합한다. 특정 실시양태에서,

ActRIIA-결합 단백질은 ActRIIA에 결합하고,  $<1 \mu\text{M}$ ,  $<100 \text{nM}$ ,  $<1 \text{nM}$ ,  $<0.1 \text{nM}$ ,  $<10 \text{pM}$ ,  $<1 \text{pM}$  또는  $<0.1 \text{pM}$ 의 해리 상수 ( $K_D$ )를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ , 또는  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 1 \text{pM}$ 의 범위 내의 인간 ActRIIA에 대한  $K_D$ 를 갖는다.

[0140] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRIIB에 결합한다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 수용체 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRIIB에 결합한다. 특정 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 ActRIIB에 결합하고,  $<1 \mu\text{M}$ ,  $<100 \text{nM}$ ,  $<1 \text{nM}$ ,  $<0.1 \text{nM}$ ,  $<10 \text{pM}$ ,  $<1 \text{pM}$  또는  $<0.1 \text{pM}$ 의 해리 상수 ( $K_D$ )를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ , 또는  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 1 \text{pM}$ 의 범위 내의 인간 ActRIIB에 대한  $K_D$ 를 갖는다.

[0141] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합한다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 TGF-베타 수용체 패밀리 구성원이 아닌 대조군 단백질에 대한 ActRII-결합 단백질의 친화도보다 100, 500 또는 1000 배 이상 더 큰 친화도로 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합한다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합하고,  $<1 \mu\text{M}$ ,  $<100 \text{nM}$ ,  $<1 \text{nM}$ ,  $<0.1 \text{nM}$ ,  $<10 \text{pM}$ ,  $<1 \text{pM}$  또는  $<0.1 \text{pM}$ 의 해리 상수 ( $K_D$ )를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIA- 및 ActRIIB-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ , 또는  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 1 \text{pM}$ 의 범위 내의 인간 ActRIIB 및 ActRIIA에 대한  $K_D$ 를 갖는다.

[0142] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하는 항체이다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 전장 항-ActRIIA 항체 또는 전장 항-ActRIIB 항체이다. 추가적인 실시양태에서, 항체는 단클론 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 이중-특이적 항체, 다중-특이적 항체, 또는 이의 ActRII-결합 항체 단편이다. 추가적인 실시양태에서, 항체는 ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 특이적으로 결합한다.

[0143] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체 및 ActRII-결합 항체 단편)은 종에 걸쳐 ActRII 분자에 결합할 수 있다.

[0144] 인간 ActRIIA의 성숙한 ActRIIA 세포외 도메인 (서열번호 92의 아미노산 20-138)은 단지 2 개의 보존된 아미노산 치환 (즉, K19R 및 V72I)에 의한 마우스 ActRIIA 오쏘로그 (Ref. P27038)의 것과 상이하다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 인간 ActRIIA (hActRIIA) 및 뮤린 ActRIIA (murActRIIA)에 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항-ActRIIA 항체 (예컨대, 전장 ActRIIA-항체 및 ActRIIA-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)이고, BIACORE® 또는 KINEXA®에 의해 결정된 바와 같이,  $10^{-8} \text{ M}$  미만,  $10^{-9} \text{ M}$  미만 또는  $10^{-10} \text{ M}$  미만의 해리 상수 또는  $K_D$ 로 ActRIIA (예컨대, hActRIIA 또는 murActRIIA)에 특이적으로 결합할 수 있다. 추가 실시양태에서, 항-ActRIIA 항체는  $<1 \text{nM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIA에 결합한다. 추가 실시양태에서, 항-ActRIIA 항체는  $1 \text{nM}$ 의 한자릿수 또는  $1 \text{nM}$ 의 두자릿수 내의  $K_D$ 로 ActRIIA에 결합한다. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ , 또는  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 1 \text{pM}$ 의 범위 내의 인간 ActRIIA에 대한  $K_D$ 를 갖는다.

[0145] 인간 ActRIIB의 성숙한 세포외 도메인 (서열번호 93의 아미노산 19-130)은 하나의 아미노산 치환 (즉, A95P)에 의한 마우스 ActRIIB 오쏘로그 (NCBI 참조 서열 NP\_031423)의 상응하는 서열과 상이하다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 BIACORE® 또는 KINEXA®에 의해 결정된 바와 같이  $10^{-8} \text{ M}$  미만,  $10^{-9} \text{ M}$  미만 또는  $10^{-10} \text{ M}$  미만의 해리 상수 또는  $K_D$ 로 ActRIIB (예컨대, hActRIIB 또는 murActRIIB)에 특이적으로 결합하는 항-ActRIIB 항체 (예컨대, 전장 ActRIIB-항체 및 ActRIIB-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)이다. 추가 실시양태에서, 항-ActRIIB 항체는 BIACORE® 또는 KINEXA® 분석에 의해 결정된 바와 같은  $<1 \text{nM}$ 의  $K_D$ 로 ActRIIB에 결합한다. 추가 실시양태에서, 항-ActRIIB 항체는  $1 \text{nM}$ 의 한자릿수 또는  $1 \text{nM}$ 의 두자릿수 내의  $K_D$ 로 ActRIIB에 결합한다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은  $\leq 1 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  및  $\geq 0.1 \text{pM}$ , 또는  $\leq 1 \text{nM}$

및  $\geq 1$  pM의 범위 내의 인간 ActRIIB에 대한  $K_D$ 를 갖는다.

[0146] 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 ActRII-결합 항체 단편이다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 항체 단편은 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv 단편, 디아바디 또는 단일 쇄 항체 분자이다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-항체는 Fd, 단일 쇄 Fv (scFv), 디설파이드 연결된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgG $\Delta$ CH2, 미니바디, F(ab')<sub>3</sub>, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일-도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb<sup>2</sup>, (scFv)<sub>2</sub>, scFv-Fc 또는 비스-scFv이다.

[0147] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 VH 및 VL을 포함하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 중쇄 불변 영역 또는 이의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 면역글로불린 불변 영역을 포함한다: (a) 인간 IgA 불변 영역, 또는 이의 단편; (b) 인간 IgD 불변 영역, 또는 이의 단편; (c) 인간 IgE 불변 도메인, 또는 이의 단편; (d) 인간 IgG1 불변 영역, 또는 이의 단편; (e) 인간 IgG2 불변 영역, 또는 이의 단편; (f) 인간 IgG3 불변 영역, 또는 이의 단편; (g) 인간 IgG4 불변 영역, 또는 이의 단편; 및 (h) 인간 IgM 불변 영역, 또는 이의 단편. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 중쇄 불변 영역 또는 이의 단편, 예컨대, 인간 IgG 불변 영역 또는 이의 단편을 포함한다. 추가 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 변경된 이펙터 기능 및/또는 반감기를 갖거나, 갖도록 돌연변이된 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함한다.

[0148] 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 이펙터 기능을 감소시키는 돌연변이를 함유하는 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이다 (예컨대, Idusogie 등, *J. Immunol.* 166:2571-2575 (2001); Sazinsky 등, *PNAS USA* 105:20167-20172 (2008); Davis 등, *J. Rheumatol.* 34:2204-2210 (2007); Bolt 등, *Eur. J. Immunol.* 23:403-411 (1993); Alegre 등, *Transplantation* 57:1537-1543 (1994); Xu 등, *Cell Immunol.* 200:16-26 (2000); Cole 등, *Transplantation* 68:563-571 (1999); Hutchins 등, *PNAS USA* 92:11980-11984 (1995); Reddy 등, *J. Immunol.* 164:1925-1933 (2000); W097/11971, 및 W007/106585; U.S. Appl. Publ. 2007/0148167A1; McEarchern 등, *Blood* 109:1185-1192 (2007); Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); 및 Kumagai 등, *J. Clin. Pharmacol.* 47:1489-1497 (2007)을 참조하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용됨).

[0149] 일부 실시양태에서, 중쇄 불변 영역 또는 이의 단편은 야생형 IgG 불변 도메인과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 변형된 IgG는 야생형 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG의 반감기와 비교하여 감소된 ADCC를 갖는다. ADCC를 감소시키는 제공된 항체에 함유된 Fc 서열 조작 변형의 예는 다음에 상응하는 하나 이상의 변형을 포함하며: IgG1-K326W, E333S; IgG2-E333S; IgG1-N297A; IgG1-L234A, L235A; IgG2-V234A, G237A; IgG4-L235A, G237A, E318A; IgG4-S228P, L236E; IgG2-EU 서열 118-260; IgG4-EU 서열 261-447; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C220S, C226S, C229S, P238S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; 및 IgG1-L234F, L235E, P331S, 여기서 위치 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 색인에 따른다.

[0150] 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 저하된 CDC 활성을 갖거나, 갖도록 돌연변이된 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 CDC 활성을 감소시키는 돌연변이를 함유하는 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이다 (예컨대, W097/11971호 및 W007/106585호; 미국출원 공개공보 제 2007/0148167A1호; McEarchern 등, *Blood* 109:1185-1192 (2007); Hayden-Ledbetter 등, *Clin. Cancer* 15:2739-2746 (2009); Lazar 등, *PNAS USA* 103:4005-4010 (2006); Bruckheimer 등, *Neoplasia* 11:509-517 (2009); Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); 및 Sazinsky 등, *PNAS USA* 105:20167-20172 (2008)를 참고하며; 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용됨). CDC를 감소시키는 항-ActRII 항체에 함유된 Fc 서열 조작 변형의 예는 다음에 상응하는 하나 이상의 변형을 포함한다: IgG1-S239D, A330L, I332E; IgG2 EU 서열 118-260; IgG4-EU 서열 261-447; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; IgG1-L234F, L235E, P331S; 및 IgG1-C226S, P230S.

[0151] 추가 실시양태에서, 중쇄 불변 영역 또는 이의 단편은 야생형 IgG 불변 도메인과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 변형된 IgG는 야생형 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG의 반감기와 비교하여 증가된 반감기를 갖는다. 예를 들어, IgG 불변 도메인은 위치 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 및 428-436에서의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 함유할 수 있으며, 여기서 아미노산 위치 넘버링은 Kabat에 제시된 바와 같은 EU 색인에 따른다. 특정 실시양태에서, IgG 불변 도메인은 Kabat 위치 252의 아미노산의 Tyr, Phe, Trp 또는 Thr로의 치환; Kabat 위치 254의 아미노산의 Thr로의 치환; Kabat 위치 256의 아미노산의 Ser, Arg, Gln, Glu, Asp 또는 Thr로의 치환; Kabat 위치 257의 아미노산의 Leu로의 치환; Kabat 위치 309의 아미노산의

Pro로의 치환; Kabat 위치 311의 아미노산의 Ser로의 치환; Kabat 위치 428의 아미노산의 Thr, Leu, Phe 또는 Ser로의 치환; Kabat 위치 433의 아미노산의 Arg, Ser, Iso, Pro 또는 Gln으로의 치환; 또는 Kabat 위치 434의 아미노산의 Trp, Met, Ser, His, Phe 또는 Tyr로의 치환 중 하나 이상을 함유할 수 있다. 보다 구체적으로, IgG 불변 도메인은 Kabat 위치 252의 아미노산의 Tyr로의 치환, Kabat 위치 254의 아미노산의 Thr로의 치환, 및 Kabat 위치 256의 아미노산의 Glu로의 치환을 포함하여, 야생형 인간 IgG 불변 도메인과 비교하여 아미노산 치환을 함유할 수 있다.

[0152] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 경쇄 면역글로불린 불변 영역을 포함하는 항체이다. 추가 실시양태에서, 항체는 인간 Ig 카파 불변 영역 또는 인간 Ig 람다 불변 영역을 포함한다.

[0153] 본 개시내용은 액티빈 수용체 유형 II (ActRII)-결합 단백질 및 ActRII-결합 단백질을 사용하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 하나 이상의 동족 ActRII 리간드 및/또는 하나 이상의 동족 ActRI 수용체에 대한 ActRII의 결합을 억제 또는 차단할 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)에 대한 ActRII로의 결합을 억제 또는 차단할 수 있다. 본 개시내용은 또한 ActRII 발현 및/또는 상승된 ActRII-매개된 신호화와 연관된 질환 또는 병태의 진단, 또는 치료, 예방 및/또는 호전을 위해 ActRII-결합 단백질을 사용하는 방법을 제공한다. 이러한 질환 또는 병태는 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증, 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태; 염증성, 자가면역, 심혈관, 폐, 근골격, 골격, 안구, 신경학, 또는 대사 질환 또는 병태; 비만; 상처 치유; 및 암을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0154] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 제공된 ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIB에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8 (마이오스타틴))의 존재 하에 ActRIIB 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIB를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIB-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIB에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 항-ActRIIB 항체 또는 ActRIIB-결합 항체 단편이다.

[0155] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 제공된 ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8 (마이오스타틴))의 존재 하에, ActRIIB 및/또는 ActRIIA, 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIB 및/또는 ActRIIA를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRIIB- 및 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIB- 및 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIB- 및 ActRIIA 결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIB 및 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가 실시양태에서, ActRIIB- 및 ActRIIA-결합 단백질은 항-ActRIIB 및 ActRIIB 항체 또는 ActRIIB- 및 ActRIIA 결합 항체 단편이다.

[0156] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIA에 특이적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 제공된 ActRII-결합 단백질은 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIA에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8 (마이오스타틴))의 존재 하에 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의

포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIA를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIA에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIA-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 항-ActRIIA 항체 또는 ActRIIA-결합 항체 단편이다.

[0157] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 상보성 결정 영역 (CDR)의 세트: 중쇄 가변 영역 (VH)-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, 경쇄 가변 영역 (VL)-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3을 포함하고/하거나, 항원 결합 영역 (ABR)의 세트: 중쇄 가변 영역 (VH)-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, 경쇄 가변 영역 (VL)-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3을 포함하며, 여기서 CDR 및/또는 ABR은 표 1에 개시된 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL) 쌍에 존재한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 VH 및 VL 쌍에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함한다: (a) 서열번호 20, 49 또는 77의 VH 서열, 및 서열번호 30, 39, 59, 67 또는 85의 VL 서열, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함, 및 (b) 서열번호 2의 VH 서열, 및 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 VL, 여기서 단백질은 ActRIIB 및 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA)에 결합함.

[0158] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0159] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 39의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0160] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0161] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 67의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0162] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 77의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 85의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합한다.

[0163] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 VL에 존재하는 CDR 및/또는 ABR의 세트를 포함하고, 여기서 단백질은 ActRIIA 및 ActRIIB에 결합한다.

[0164] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (a)(i) VH-CDR1은 서열번호 21, 50 또는 78의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22, 51 또는 79의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23, 52 또는 80의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 31, 40, 60, 68 또는 86의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 32, 41, 61, 69 또는 87의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-CDR3은 서열번호 33, 42, 62, 70 또는 88의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는 (b)(i) VH-CDR1은 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-CDR3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

[0165] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 32의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 33의 아미노산 서열을 가짐.

[0166] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3,

VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 41의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 42의 아미노산 서열을 가짐.

[0167] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하고, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 61의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 62의 아미노산 서열을 가짐.

[0168] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 68의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 69의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 70의 아미노산 서열을 가짐.

[0169] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 78의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 79의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 80의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 87의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 88의 아미노산 서열을 가짐.

[0170] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3의 CDR 세트를 포함하며, 여기서 CDR 세트는 다음의 CDR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-CDR1은 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-CDR2는 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-CDR3은 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-CDR1은 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-CDR2는 서열번호 14의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-CDR3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 가짐.

[0171] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (a)(i) VH-ABR1은 서열번호 24, 53 또는 81의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25, 54, 55 또는 82의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26, 56, 57 또는 83의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 34, 43, 63, 71 또는 89의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 35, 44, 64, 72 또는 90의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-ABR3은 서열번호 36, 45, 65, 73 또는 91의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함; 또는 (b)(i) VH-ABR1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 7 또는 8의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖고; (vi) VL-ABR3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 가지며; 여기서 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

[0172] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 35의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 36의 아미노산 서열을 가짐.

[0173] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3,

VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 44의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 45의 아미노산 서열을 가짐.

[0174] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 54 또는 55의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 56 또는 57의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 63의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 64의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 65의 아미노산 서열을 가짐.

[0175] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 71의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 72의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 73의 아미노산 서열을 가짐.

[0176] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 81의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 82의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 89의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 90의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 91의 아미노산 서열을 가짐.

[0177] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, VH-ABR1, VH-ABR2, VH-ABR3, VL-ABR1, VL-ABR2 및 VL-ABR3의 ABR 세트를 포함하며, 여기서 ABR 세트는 다음의 ABR의 참조 세트와 동일하거나, 이로부터 총 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 개 미만의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다: (i) VH-ABR1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖고; (ii) VH-ABR2는 서열번호 7 또는 8의 아미노산 서열을 갖고; (iii) VH-ABR3은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 갖고; (iv) VL-ABR1은 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖고; (v) VL-ABR2는 서열번호 17의 아미노산 서열을 가지며; (vi) VL-ABR3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 가짐.

[0178] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함한다: (a)(i) 서열번호 20, 49 또는 77에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 (ii) 서열번호 30, 39, 59, 67 또는 85에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 단백질은 ActRIIB에 결합함; (b)(i) 서열번호 2에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 (ii) 서열번호 12에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL, 여기서 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 결합함.

[0179] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 30에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

[0180] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 39에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

[0181] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 49에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 59에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

[0182] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 20에 대해 90%, 95%, 97%,

98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 67에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

[0183] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 서열번호 77에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 85에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

[0184] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고, 서열번호 2에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VH, 및 서열번호 12에 대해 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.

[0185] 추가 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRII에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3, GDF8 (미오스타틴), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9 또는 BMP10)와 경쟁함; (b) ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A 또는 GDF8)의 존재 하에 ActRII를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 인산화를 감소시킴; (c) ActRII 리간드의 존재 하에 ActRII 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 인산화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRII에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다.

[0186] 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 본원에 개시된 VH 및 VL 서열 쌍을 포함하는 항체와 ActRII에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRII-결합 단백질과 동일한 에피토프에 결합한다.

[0187] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-ActRII는 ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 뮤린 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 단클론 항체, 다클론 항체, 재조합 항체, 다중특이적 항체, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 Fv 단편, Fab 단편, F(ab')2 단편, Fab' 단편, dsFv 단편, scFv 단편, 또는 sc(Fv)2 단편이다.

[0188] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII (예컨대, ActRIIA 및/또는 ActRIIB)에 특이적으로 결합하고, ActRII-리간드 (예컨대, GDF8 (마이오스타틴) 및/또는 액티빈)의 활성을 차단한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII (예컨대, 예 특이적으로 결합하고, ActRII 리간드 (예컨대, GDF8 (마이오스타틴 및/또는 액티빈))의 활성과 연관된 지방 형성의 증가 또는 근육 형성의 억제를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII에 특이적으로 결합하고, 근육 장애 또는 대사 장애와 연관된 하나 이상의 병태를 치료 또는 호전한다. 일부 실시양태에서, 근육 장애는 질환 또는 불용으로 인한 근육 소모이다. 일부 실시양태에서, 대사 장애는 당뇨병, 비만, 고혈당 또는 골 손실이다.

[0189] 특정 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체 또는 항-ActRIIB 및 ActRIIA 항체)은 GDF8 (마이오스타틴) 또는 GDF8-매개된 ActRIIB Smad 신호화에 의해 ActRIIB의 결합을 억제 또는 감소시킨다. 다른 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 근육 형성의 억제 또는 지방 형성의 증가를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 ActRIIB에 결합하고, 근육 장애 또는 대사 장애와 연관된 하나 이상의 병태를 억제 또는 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 근육 장애는 질환 또는 불용으로 인한 근육 소모이다. 일부 실시양태에서, 대사 장애는 당뇨병, 비만, 고혈당 또는 골 손실이고 대상체에서 근육 질량 또는 강도를 증가시킨다.

[0190] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체 및 항-ActRIIA 항체)에 의한 ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA) 활성의 차단은 근육 장애, 예컨대, 근육 소모와 연관된 하나 이상의 병태를 억제 또는 감소시킨다. 추가 실시양태에서, ActRII의 차단은 질환 또는 불용으로 인한 근육 소모와 연관된 하나 이상의 병태를 억제 또는 감소시킨다. 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체 또는 항-ActRIIB 및 ActRIIA 항체)은 GDF8에 의한 ActRIIB에 대한 결합을 억제 또는 감소시킨다. 다른 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 Smad-의존적 경로에 의한 근육 분화의 억제를 억제 또는 감소시킨다.

[0191] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, ActRIIB 리간드-매개된 활성을 차단한다. 손메(sonme) ActRIIB 리간드, 예컨대, GDF-8은 골격 근육 조직의 부정적인 조절자인 것으로 알려져 있으며, 마이오스타틴 신호화은 근육량으로 이어진다고 알려져 있다. ActRIIB 리간드-매개된 신호화은 또한 근육-특

이적 효소 (예컨대, 크레아틴 키나제)의 생산을 조정하고, 근아세포 증식을 자극하고, 지방세포로의 지방선구세포 분화를 조정할 수 있다. 증가된 마이오스타틴 활성은 근육 소모 장애, 불활성으로 인한 근육 손실, 및 당뇨병, 비만, 고혈당 및 골 손실을 비롯한 대사 장애와 연관되어 있다. 증가된 ActRIIB 리간드-매개된 활성은 또한 지방 대 근육 비율의 연령-관련된 증가 및 연령-관련된 근위측증과 연관되어 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 일부 ActRIIB 리간드-의 활성과 연관된 지방 형성의 증가 또는 근육 형성의 억제를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB에 특이적으로 결합하고, 근육 장애 또는 대사 장애와 연관된 하나 이상의 병태를 치료 또는 호전한다. 일부 실시양태에서, 근육 장애는 질환 또는 불용으로 인한 근육 소모이다. 일부 실시양태에서, 대사 장애는 당뇨병, 비만, 고혈당 또는 골 손실이다. ActRIIB 리간드-매개된 활성은 당업계에 인식된 방법, 예컨대, 본원에 기재된 것들을 사용하여 결정될 수 있다.

[0192] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체 및 항-ActRIIA 항체)에 의한 ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA) 활성의 차단은 섬유증과 연관된 하나 이상의 병태를 저하시킨다. 특정 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 섬유증 병변, 체중 손실 또는 다른 임상 증상의 ActRIIB-매개된 발달 및/또는 섬유증 병태의 발달과 연관된 생물학적 분자의 변경된 발현 (예컨대, mRNA 또는 단백질 발현)을 억제 또는 감소시킨다. 특정 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질은 섬유증 병변, 체중 손실 또는 다른 임상 증상의 ActRIIA-매개된 발달 및/또는 섬유증 병태의 발달과 연관된 생물학적 분자의 변경된 발현 (예컨대, mRNA 또는 단백질 발현)을 억제 또는 감소시킨다.

[0193] 위에 언급한 바와 같이, ActRII에 결합하는 VH 및/또는 VL 아미노산 서열을 함유하는 항-ActRII 항체 (예컨대, 전장 ActRIIB-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)는 본원에 제시된 서열에 대해 85%, 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII에 결합하는 VH 및/또는 VL 아미노산 서열(들)은 본원에 제시된 서열과 비교하여 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 개의 아미노산 첨가, 치환 (예컨대, 보존적 치환) 또는 결실을 포함한다. 추가적인 실시양태에서, ActRII에 결합하는 VH 및/또는 VL 아미노산 서열은 본원에 제시된 서열과 비교하여 1, 2, 3, 4 또는 5 개 이상의 아미노산 첨가, 치환 (예컨대, 보존적 치환) 또는 결실을 포함한다. VH 영역 또는 VL 영역에 특정 유사성 퍼센트를 갖는, 또는 하나 이상의 치환, 결실 및/또는 삽입 (예컨대, 보존적 치환)을 갖는 VH 및 VL 영역을 함유하는 항-ActRII 항체는, 본원에 기재된 VH 및/또는 VL 영역을 코딩하는 핵산 분자의 돌연변이유발 (예컨대, 부위-지향된 또는 PCR-매개된 돌연변이유발)에 이어서, ActRII에 대한 결합에 대해 코딩된 변경된 항체의 테스트, 및 임의로, 본원에 기재된 기능적 검정 또는 유지된 기능을 테스트하기 위해 일상적으로 변형될 수 있는 당업계에 알려진 검정을 사용하는 유지된 기능에 대한 테스트에 의해 수득될 수 있다.

[0194] hActRIIB, murActRIIB에 대한 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRIIB 항체 (예컨대, 전장 ActRIIB-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)의 친화도 또는 결합능은 당업계에 알려진 임의의 적합한 방법, 예컨대, 유세포분석법, 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA), 또는 방사면역검정 (RIA), 또는 동역학 (예컨대, BIACORE® 또는 KINEXA® 분석)을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다. 직접적인 결합 검정 및 경쟁적 결합 검정 포맷이 용이하게 사용될 수 있다. (예를 들어, Berzofsky 등, "Antibody-Antigen Interactions," In Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, N.Y. (1984); Kuby, Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, N.Y. (1992); 및 본원에 기재된 방법 참고). 특정 항체-항원 상호작용의 측정된 친화도는 상이한 조건 (예컨대, 염 농도, pH, 온도) 하에서 측정되는 경우 변할 수 있다. 따라서, 친화도 및 다른 ActRII-결합 파라미터 (예컨대,  $K_D$  또는  $K_d$ ,  $K_{on}$ ,  $K_{off}$ )의 측정은 ActRII-결합 단백질 및 ActRII의 표준화된 용액으로 만들어지고, 측정은 본원에 기재되거나 그렇지 않으면 당업계에 알려진 바와 같은 표준화된 조건 및 방법을 사용하여 수행된다.

[0195] 본 개시내용은 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 본원에 기재된 바와 같은 항-ActRIIB 항체 및/또는 항-ActRIIA 항체를 추가로 제공하며, 여기서 ActRII-결합 단백질은 이종 약제에 컨쥬게이션된다. 특정 실시양태에서, 이종 약제는 항미생물제, 치료제, 전구약물, 웨პ티드, 단백질, 효소, 지질, 생물학적 반응 개질제, 약학적 약제, 림포카인, 이종 항체 또는 항체 단편, 검출가능한 표지, 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)이다. 헤테로컨쥬게이트 ActRII-결합 단백질은 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 논의된다.

[0196] 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항-ActRII 항체가 아니다. 단백질 표적에 높은 친화도로 결합하는 비-항체 폴리펩티드를 식별하고 생산하기 위한 다양한 방법이 당업계에 알려져 있다. 예컨대, Skerra, *Curr. Opin. Biotech.* 18:295-304 (2007); Hosse 등, *Protein Science* 15:14-27 (2006); Gill 등, *Curr. Opin.*

*Biotechnol.* 17:653-658 (2006); Nygren, *FEBS J.* 275:2668-2676 (2008); 및 Skerra, *FEBS J.* 275:2677-2683 (2008)을 참고하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 일부 실시양태에서, 파지 디스플레이 기술은 ActRII-결합 단백질을 식별/생산하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 VASP 폴리펩티드, 조류 케장 폴리펩티드 (aPP), 테트라넥틴 (CTLD3에 기반함), 아필린 ( $\gamma$ B-크리스탈린/유비퀴틴에 기반함), 크노틴, SH3 도메인, PDZ 도메인, 텐다미스타트, 트랜스페린, 안키린 컨센서스 반복 도메인 (예컨대, DARPins), 리포칼린 단백질 폴드 (예컨대, 안티칼린 및 듀오칼린), 단백질 에피토프 모방체 (PEM), 맥시바디/아비머, 도메인 항체 피브로넥틴 도메인 (예컨대, 10 Fn3, 예컨대, 미국출원 공개공보 제2003/0170753호 및 제20090155275호를 참고하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용됨), 단백질 A의 도메인 (예컨대, 아피바디), 및 티오레독신으로 이루어진 군으로부터 선택된 유형에 기반한 단백질 스캐폴드를 포함한다.

[0197] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항-ActRIIA 항체와 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁하는 ActRIIA-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체, 예컨대, 전장 항-ActRIIA 항체 및 ActRIIA-결합 항체 단편)을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 ActRIIA-결합 단백질과 동일한 ActRIIA의 에피토프에 결합하는 ActRIIA-결합 단백질을 제공한다.

[0198] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항-ActRIIB 항체와 ActRIIB에 대한 결합에 대해 경쟁하는 ActRIIB-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체, 예컨대, 전장 항-ActRIIB 항체 및 ActRIIB-결합 항체 단편)을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 ActRIIB-결합 단백질과 동일한 ActRIIB의 에피토프에 결합하는 ActRIIB-결합 단백질을 제공한다. ActRIIB에 대한, 예를 들어, 참조 결합 단백질, 예컨대, 서열번호 40의 VH 서열 및 서열번호 9의 VL 서열, 또는 서열번호 119의 VH 서열 및 서열번호 91의 VL 서열을 포함하는 항체의 결합을 억제하는 테스트 ActRII-결합 단백질의 능력은, 테스트 ActRII-결합 단백질이 ActRIIB에 대한 결합에 대해 참조 항체와 경쟁할 수 있음을 입증한다. 이러한 ActRIIB-결합 단백질은 비-제한적인 이론에 따라, 경쟁하는 ActRIIB-참조 항체와 동일한 또는 관련된 (예컨대, 구조적으로 유사한 또는 공간적으로 근위의) ActRIIB 상의 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질은 서열번호 40의 VH 서열 및 서열번호 9의 VL 서열을 포함하는 항체와 동일한 ActRIIB 상의 에피토프에 결합한다.

[0199] ActRII 수용체, 예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA는 ActRII 수용체 (예컨대, Alk4 및 Alk7)를 포스포릴화시키고, Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 통해 신호를 보내는 것으로 알려져 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체 및 항-ActRIIA 항체)은 이의 동족 ActRII 수용체의 ActRII-매개된 포스포릴화를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체)은 ALK4 및/또는 ALK7의 ActRIIB-매개된 포스포릴화를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체)은 ALK4 및/또는 ALK7의 ActRIIA-매개된 포스포릴화를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII2-발현 세포에서 ActRII-매개된 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3) 포스포릴화를 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRIIB-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체)은 ActRIIB를 발현하는 세포에서 ActRIIB-매개된 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3) 포스포릴화를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRIIA-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체)은 ActRIIA를 발현하는 세포에서 ActRIIA-매개된 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3) 포스포릴화를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII 수용체 발현 세포는 인간이다.

[0200] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 다음으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIA 및/또는 ActRIIB에 대한 결합에 대해 엑티빈 A와 경쟁함; (b) ActRIIA 및/또는 ActRIIB 리간드 (예컨대, 엑티빈 A)의 존재 하에 ActRIIA 및/또는 ActRIIB를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드의 존재 하에 ActRIIA 및/또는 ActRIIB 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d) BIACORE® 또는 KINEXA®에 의해 결정된 바와 같이  $\leq 1$  nM 및  $\geq 1$  pM의  $K_D$ 로 ActRIIA 및/또는 ActRIIB에 결합함.

[0201] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체)은 세포-기반 검정을 사용하여 측정된 바와 같이 ActRII를 발현하는 세포에서 ActRII 수용체 (예컨대, ALK4 및/또는 ALK7)의 ActRII-매개된 포스포릴화 또는 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 억압한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 세포-기반 검정을 사용하여 측정된 바와 같이, 500 pM 미만, 350 pM 미만, 250 pM 미만, 150 pM 미만, 100 pM 미만, 75 pM 미만, 60 pM 미만, 50 pM 미만, 40 pM 미만, 30 pM 미만, 20 pM 미만, 15 pM 미만, 10 pM 미만, 또는 5 pM 미만의  $IC_{50}$ 으로 ActRII-매개된 포스포릴화를 억압한다.

[0202] **ActRII-결합 단백질의 제조**

[0203] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRII (예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA)의 세포외 도메인에 결합한다. 추가 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항-ActRIIA 항체 및/또는 항-ActRIIB 항체, 예컨대, 전장 항-ActRIIA 항체 및 전장 항-ActRIIB 항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체이다.

[0204] ActRII-결합 단백질은 알려진 기술을 사용하여 용이하게 제조될 수 있다. 단클론 항-ActRII (예컨대, ActRIIB 또는 ActRIIA) 항체는 하이브리도마 방법, 예컨대, Kohler and Milstein, *Nature* 256:495-497 (1975)에 의해 기재된 것들을 포함하여, 당업계에 알려진 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 방법을 사용하여, 마우스, 햄스터, 또는 다른 적절한 숙주 동물은 면역화 항원에 특이적으로 결합할 항체의 림프구에 의한 생산을 이끌어내기 위해 위에 기재된 바와 같이 면역화된다. 림프구는 또한 생체외에서 면역화될 수 있다. 면역화 이후, 림프구는 단리되고, 적합한 골수종 세포주와 융합되어, 하이브리도마 세포를 형성한 다음, 융합되지 않은 림프구 및 골수종 세포로부터 선택될 수 있다. 이어서, 면역침전, 면역블로팅, 또는 생체외 결합 검정 (예컨대, 방사면역검정 (RIA); 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA))에 의해 결정된 바와 같이, ActRII, 예컨대, hActRIIB 및 hActRIIA에 대해 특이적으로 지향된 단클론 항체를 생산하는 하이브리도마는, 표준 방법 (예컨대, Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press, 1986 참고)을 사용하여 생체외 배양액으로 또는 동물에서 생체내 복수 종양으로 증식될 수 있다. 이어서, 단클론 항체는 위의 다클론 항체에 대해 기재된 바와 같은 배양 배지 또는 복수액으로부터 정제될 수 있다.

[0205] 제공된 단클론 항체는 또한 미국특허 제4,816,567호에 기재된 바와 같은 재조합 DNA 방법을 사용하여 만들어질 수 있으며, 여기서 단클론 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는, 예컨대, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자를 특이적으로 증폭하는 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용한 RT-PCR에 의해 성숙 B-세포 또는 하이브리도마 세포로부터 단리되고, 이들의 서열은 알려진 절차를 사용하여 결정된다. 이어서, 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드는 적합한 발현 벡터에 클로닝되고, 이들이 숙주 세포, 예컨대, 대장균 세포, 유인원 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, Per.C6 세포, 또는 그렇지 않으면, 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 골수종 세포 (예컨대, NSO 세포)에 형질주입될 때, 단클론 항체가 숙주 세포에 의해 생성된다. 재조합 항-ActRII 단클론 항체는 또한 알려진 기술을 사용하여, 원하는 종의 CDR을 발현하는 파지 디스플레이 라이브러리로부터 용이하게 단리될 수 있다 (예컨대, McCafferty 등, *Nature* 348:552-554 (1990); Clackson 등, *Nature* 352:624-628 (1991); 및 Marks 등, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991) 참고).

[0206] 항-ActRII 항체는 임의로, ActRII 항원 (예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA)에 대한 높은 친화도 및 다른 유리한 생물학적 특성을 나타내도록 인간화되고, 표면치환되고(resurface), 조작될 수 있다. 예를 들어, 인간화된 (또는 인간) 항-ActRII 항체는 일반적으로 이용 가능한 3-차원 면역글로불린 모델링 및 원하는 항체 특성화, 예컨대, ActRII에 대한 증가된 친화도를 제공하는 프레임워크 (FW) 잔기, 컨센서스 서열 및 생식계열 서열을 선택하기 위한 알려진 절차를 사용하여 용이하게 설계되고 제조될 수 있다.

[0207] 친화도 성숙 전략 및 쇄 셔플링 전략은 당업계에 알려져 있으며, 높은 친화도 항-ActRII (예컨대, ActRIIB 및/ 또는 ActRIIA) 항체뿐만 아니라 본원에 개시된 ActRII-결합 단백질의 유도체 및 변이체를 생성하는데 사용될 수 있다. 예컨대, Marks 등, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992)을 참고하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 높은 친화도 항-ActRII (예컨대, ActRIIB 및/ 또는 ActRIIA) 항체뿐만 아니라 본원에 개시된 ActRII-결합 단백질의 유도체 및 변이체를 생성하기 위한 추가적인 전략은 전체 가변 도메인 내에서 돌연변이를 생성하는 하나 이상의 선택된 VH 및/ 또는 VL 유전자의 무작위 돌연변이유발을 사용하여, 본 개시내용의 CDR-유래된 서열을 운반하는 신규 VH 또는 VL 영역을 생성하는 것이다. 오류가-발생하기 쉬운(error-prone) PCR을 사용하는 이러한 기술은 Gram 등 (*PNAS USA* 89:3576-3580 (1992))에 의해 기재된다. 일부 실시양태에서, 1개 또는 2 개의 아미노산 치환이 VH CDR 및/ 또는 VL CDR 세트 내에서 만들어진다. 추가 전략은 본원에 개시된 항-ActRII 항체를 코딩하는 VH 또는 VL 유전자의 CDR 영역에 대한 직접적인 돌연변이유발을 사용하였다. 이러한 기술의 예는 Barbas 등 (*PNAS USA* 91:3809-3813 (1994)) 및 Schier 등 (*J. Mol. Biol.* 263:551-567 (1996))에 의해 개시된다.

[0208] 본 개시내용의 항-ActRII 항체의 인간화, 표면치환 또는 조작은 Jones 등, *Nature* 321:522 (1986); Riechmann 등, *Nature* 332:323 (1988); Verhoeyen 등, *Science* 239:1534 (1988)), Sims 등, *J. Immunol.* 151: 2296 (1993); Chothia 등, *J. Mol. Biol.* 196:901 (1987), Carter 등, *PNAS USA* 89:4285 (1992); Presta 등, *J. Immunol.* 151:2623 (1993), 미국특허 제5,639,641호, 제5,723,323호; 제5,976,862호; 제5,824,514호; 제5,817,483호; 제5,814,476호; 제5,763,192호; 제5,723,323호; 제5,766,886호; 제5,714,352호; 제6,204,023호; 제6,180,370호; 제5,693,762호; 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,225,539호; 제4,816,567호,

제7,557,189호; 제7,538,195호; 및 제7,342,110호; 국제출원 PCT/US98/16280호; PCT/US96/18978호; PCT/US91/09630호; PCT/US91/05939호; PCT/US94/01234호; PCT/GB89/01334호; PCT/GB91/01134호; PCT/GB92/01755호; 국제출원 공개공보 WO90/14443호; WO90/14424호; WO90/14430호; 및 EP 특허 공개공보 EP 229246호에 기재된 것들을 비제한적으로 포함하는 임의의 알려진 방법을 사용하여 수행될 수 있으며; 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 마찬가지로, 알려진 검정(예컨대, ActRII에 대한 결합 친화도를 결정하기 위한 검정; 교차-차단 검정, 예컨대, 본원에 기재된 BIACORE®-기반 인간 ActRII-결합 단백질 경쟁 결합 검정)이 바람직한 특징을 나타내는 ActRII-항체를 용이하게 선택하는데 이용가능하다.

[0209] 비-인간 또는 인간 항체를 조작하거나, 인간화하거나, 표면치환하기 위한 방법이 또한 사용될 수 있으며, 당업계에 알려져 있다. 인간화된, 표면치환된 또는 유사하게 조작된 항체는 비-인간인 공급원, 예컨대, 비제한적으로, 마우스, 랙트, 토끼, 비-인간 영장류 또는 다른 포유류로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 이러한 비-인간 아미노산 잔기는 "이입" 잔기로서 종종 지정되는 잔기에 의해 대체되며, 이들은 전형적으로, 알려진 인간 서열의 "이입" 가변, 불변 또는 다른 도메인으로부터 취해진다. 이러한 이입된 서열은 당업계에 알려진 바와 같이, 면역원성을 저하시키거나, 결합, 친화도, 온-속도(on-rate), 오프-속도(off-rate), 결합능, 특이성, 반감기, 또는 임의의 다른 적합한 특성화를 저하, 향상 또는 변형시키는데 사용될 수 있다. 바람직하게는, 비-인간 또는 인간 CDR 서열의 일부 또는 전부가 유지되는 반면, 가변 및 불변 영역의 비-인간 서열은 인간 또는 다른 아미노산으로 대체될 수 있다.

[0210] ActRII-결합 단백질, 예컨대, 전장 항-ActRIIA 또는 항-ActRIIB 항체를 코딩하는 핵산(들)은 대안적 항체를 생성하기 위해 재조합 DNA 기술을 사용한 다수의 상이한 방식으로 추가로 변형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 예를 들어, 마우스 단클론 항체의 경쇄 및 중쇄의 불변 도메인을 코딩하는 핵산(들)은 (a) 예를 들어, 키메라 항체를 생성하기 위해 인간 항체의 이를 코딩 영역에 대해, 또는 (b) 융합 항체를 생성하기 위해 비-면역글로불린 코딩 핵산(들)에 대해 치환될 수 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 단클론 항체의 원하는 항체 단편을 생성하기 위해 절두 또는 제거된다. 가변 영역 코딩 서열의 부위-지향된 또는 고-밀도 돌연변이유발은 단클론 항체의 특이성, 친화도 등을 최적화하는데 사용될 수 있다.

[0211] 항-ActRII 인간 항체는 당업계에 알려진 다양한 기술 중 임의의 것을 사용하여 직접적으로 제조될 수 있다. (예컨대, Cole 등, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer 등, *J. Immunol.* 147(1):86-95 (1991); 및 미국특허 제5,750,373호 참고). 유사하게, 인간 항-ActRII 항체는 생체외에서 면역화된 불멸화된 인간 B 림프구로부터 용이하게 수득되거나, ActRII (예컨대, ActRIIA 및 ActRIIB)에 대해 지향된 항체를 생산하는 면역화된 개체로부터 단리될 수 있다.

[0212] 인간 항-ActRII 항체는 또한 예를 들어, Vaughan 등, *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996), Sheets 등, *PNAS* 95:6157-6162 (1998), Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991), 및 Marks 등, *J. Mol. Biol.* 222:581 (1991)에 기재된 바와 같이 인간 항체를 발현하는 과자 라이브러리로부터 선택될 수 있다. 항체 과자 라이브러리의 생성 및 스크리닝을 위한 기술은 또한 미국특허 제5,969,108호; 제6,172,197호; 제5,885,793호; 제6,521,404호; 제6,544,731호; 제6,555,313호; 제6,582,915호; 제6,593,081호; 제6,300,064호; 제6,653,068호; 제6,706,484호; 및 제7,264,963호; 및 Rothe 등, *J. Mol. Biol.* 376(4):1182-1200 (2008)에 기재되어 있다 (이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용됨).

[0213] 인간 항-ActRII 항체는 또한 내인성 면역글로불린 생산의 부재 하에 인간 항체를 면역화시에 생산할 수 있는 인간 면역글로불린 유전자좌를 함유하는 트랜스제닉 마우스에서 만들어질 수 있다. 이러한 접근법은, 예를 들어, 미국특허 제5,545,807호; 제5,545,806호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 및 제5,661,016호에 기재되어 있다.

[0214] 인간 항-ActRII 항체는 또한 예를 들어, 이들 각각의 내용이 그 전문이 본원에 참조로 원용되는, WO012/009568호; WO09/036379호; WO10/105256호; WO03/074679호 및 미국출원 공개공보 US2002/0177170호에 개시된 바와 같이, 효모-기반 항체 제시 라이브러리로부터 선택되고/되거나 단리될 수 있다. 이러한 라이브러리는 인간 면역전(preimmune) 레퍼토리에 의해 제공된 다양성을 반영하기 위해 인 실리코에서(*in silico*) 설계된다.

[0215] 대안적으로, 항-ActRII 항체는 효모-디스플레이 항체 라이브러리로부터 선택될 수 있으며, 예를 들어, Blaise 등, *Gene* 342(2):211-218 (2004); Boder 등, *Nat Biotechnol.* 15(6):553-557 (1997); Kuroda 등, *Biotechnol. Lett.* 33(1):1-9 (2011). Review; Lauer 등, *J. Pharm. Sci.* 101(1):102-15 (2012); Orcutt K.D. and Wittrup K.D. Antibody Engineering, yeast display and selectios (2010), 207-233; Rakestraw 등, *Protein Eng. Des. Sel.* 24(6):525-30 (2011); 및 미국특허 제6,423,538호; 제6,696,251호; 및 제6,699,658호를 참고한다.

[0216]

항원-결합 항체 단편의 생산을 위한 다양한 기술이 알려져 있다. 전통적으로, 이를 단편은 온전한 항체의 단백질분해 소화를 통해 유래된다 (예컨대, Morimoto 등, *J. Biochem. Biophys. Meth.* 24:107-117 (1993); 및 Brennan 등, *Science* 229:81 (1985) 참고). 특정 실시양태에서, ActRII-결합 항체 단편은 재조합적으로 생산된다. Fab, Fv 및 scFv 항체 단편은 모두 대장균 또는 다른 숙주 세포에서 발현되고 이들로부터 분비될 수 있으며, 따라서 이를 단편의 대량 생산을 허용한다. 이러한 ActRII-결합 항체 단편은 위에 논의된 항체 파지 라이브러리로부터 추가적으로 단리될 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 항체 단편은 미국특허 제5,641,870호에서 기재된 바와 같은 선형 항체이다. 항원-결합 항체 단편의 생산을 위한 다른 기술은 당업계에 알려져 있다.

[0217]

공지 기술이 ActRII에 결합하는 단일-쇄 항체의 생산을 위해 용이하게 개작될 수 있다 (예컨대, 미국특허 제4,946,778호 참고). 또한, 알려진 방법은 Fab 빌현 라이브러리의 작제를 위해 일상적으로 개작될 수 있어 (예컨대, Huse 등, *Science* 246:1275-1281 (1989) 참고), ActRII에 대한 원하는 특이성을 갖는 단클론 Fab 단편의 신속하고 효과적인 식별을 허용할 수 있다. ActRII-결합 항체 단편은 다음을 비제한적으로 포함하는 당업계에 알려진 기술에 의해 생산될 수 있다: (a) 항체의 펩신 소화에 의해 생산된 F(ab')2 단편; (b) F(ab')2 단편의 디설파이트 브릿지를 환원시킴으로써 생성된 Fab 단편, (c) 파파인 및 환원제를 이용한 항-ActRII 항체의 처리에 의해 생성된 Fab 단편, 및 (d) Fv 단편.

[0218]

특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체 및/또는 항-ActRIIB 항체)은 혈청 반감기를 증가시키기 위해 변형될 수 있다. 이는, 예를 들어, ActRII-결합 단백질에서의 적절한 영역의 돌연변이에 의해 ActRII-결합 단백질로 구제 수용체 결합 에피토프의 혼입에 의해, 또는 어느 한쪽 단부에서 또는 중간에서 ActRIIB-결합 단백질에 이후 융합되는 (예컨대, DNA 또는 펩티드 합성에 의해) 펩티드 태그에 구제 수용체 에피토프를 혼입함으로써 달성될 수 있다. ActRII-결합 단백질의 혈청 반감기를 증가시키는 다른 방법, 예컨대, 이종 분자, 예컨대, PEG에 대한 컨쥬게이션은 당업계에 알려져 있다.

[0219]

헤테로컨쥬게이트 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체, 예컨대, 전장 항-ActRIIB 항체 및 ActRIIB-결합 항체 단편, 및 이들의 변이체 및 유도체)은 또한 본 개시내용의 범주 내에 있다. 헤테로컨쥬게이트 ActRII-결합 단백질은 2 개의 공유적으로 접합된 단백질로 구성된다. 헤테로컨쥬게이트 ActRII-결합 단백질은 가교체를 수반하는 것들을 포함하여, 합성 단백질 화학에서 알려진 방법을 사용하여 생체외에서 제조될 수 있는 것으로 고려된다. 예를 들어, 면역독소는 디설파이드 교환 반응을 사용하여 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 작제될 수 있다. 이러한 목적에 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르아미데이트를 포함한다.

[0220]

ActRII-결합 단백질은 ActRII (예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA)과 항체의 회합을 제공하는 임의의 유형의 가변 영역을 포함할 수 있다. 이러한 가변 영역은 체액 반응을 마운팅하고 ActRII 항원에 대한 면역글로불린을 생성하도록 유도될 수 있는 임의의 포유류를 포함하거나, 이로부터 유래될 수 있다. 항-ActRII 항체의 가변 영역은, 예를 들어, 인간, 뮤린, 비-인간 영장류 (예컨대, 시노몰구스 원숭이, 마카크 등) 또는 루嫔 기원일 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 항-ActRII 항체의 가변 영역 및 불변 영역 둘 모두는 인간이다. 다른 실시양태에서, 양립성 항체의 가변 영역 (일반적으로, 비-인간 공급원으로부터 유래됨)은 결합 특성을 개선시키거나, 분자의 면역원성을 저하시키기 위해 조작되거나 또는 특이적으로 맞춤화될(tailored) 수 있다. 이점에 관하여, 본 개시 내용에 따른 유용한 가변 영역은 인간화되거나, 그렇지 않으면, 친화도 성수, 돌연변이유발 절차, 쇄 셔플링 전략 및/또는 본원에 기재된 또는 그렇지 않으면, 당업계에 알려진 다른 방법을 사용하여 이입된 아미노산 서열의 포함을 통해 변경될 수 있다.

[0221]

특정 실시양태에서, 항-ActRII 항체의 중쇄 및 경쇄 둘 모두에서의 가변 도메인은 하나 이상의 CDR의 적어도 일부 대체에 의해 및/또는 부분적인 프레임워크 영역 대체 및 서열 변화에 의해 변경된다. 비록 CDR이 프레임워크 영역이 유래되는 항체와 동일한 부류 또는 심지어 하위부류의 항체로부터 유래될 수 있지만, CDR은 상이한 부류의 항체로부터 및 특정 양상에서, 상이한 종으로부터의 항체로부터 유래될 것으로 구상된다. 하나의 가변 도메인의 항원-결합 역량을 다른 가변 도메인에 전달하기 위해 모든 CDR을 공여자 가변 영역으로부터의 완전한 CDR로 대체하는 것이 반드시 필요한 것은 아니다. 오히려, 항원-결합 부위의 활성을 유지하는데 필요한 잔기를 전달하는 것만이 필요하다. 저하된 면역원성을 갖는 기능적 항체를 일상적으로 수득하는 것은 당업자의 능숙도 내에 있다. 예컨대, 미국특허 제5,585,089호, 제5,693,761호 및 제5,693,762호를 참고한다.

[0222]

가변 영역에 대한 변경에도 불구하고, 당업자는 본 개시내용의 변형된 항-ActRII가 천연 또는 변경되지 않은 불변 영역을 포함하는 거의 동일한 면역원성의 항체와 비교할 때 원하는 생화학적 특성화, 예컨대, 감소된 ADCC

또는 증가된 혈청 반감기를 제공하기 위해, 불변 영역 도메인 중 하나 이상의 적어도 일부가 결실되거나, 그렇지 않으면 변경된 항체를 포함할 것이라는 것을 인지할 것이다. 일부 실시양태에서, 변형된 항-ActRII 항체의 불변 영역은 인간 불변 영역을 포함한다. 불변 영역에 대한 변형은 하나 이상의 도메인에서 하나 이상의 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 변형된 항-ActRII 항체는 3 개의 중쇄 불변 도메인 (CH1, CH2, 또는 CH3) 중 하나 이상에 및/또는 경쇄 불변 도메인 (CL)에 변경 또는 변형을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 도메인이 부분적으로 또는 완전하게 결실되는 불변 영역을 포함하는 변형된 항-ActRII 항체가 고려된다. 일부 실시양태에서, 변형된 항-ActRII 항체는 전체 CH2 도메인이 제거된 도메인 결실된 작제물 ( $\Delta$ CH2 작제물) 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 누락된 불변 영역 도메인은 부재하는 불변 영역에 의해 전형적으로 부여되는 분자 가요성 중에서 일부를 제공하는 짧은 아미노산 스페이서 (예컨대, 10 개의 잔기)에 의해 대체될 수 있다.

[0223] 불변 영역은 여러 이펙터 기능을 매개하는 것으로 일반적으로 이해된다. 예를 들어, 항체에 대한 보체의 C1 구성요소의 결합은 보체계를 활성화한다. 보체의 활성화는 세포 병원체의 읍소닌화 및 용해에서 중요하다. 보체의 활성화는 또한 염증 반응을 자극하고, 또한 자가면역 과민성에 연루될 수 있다. 또한, 항체는 Fc 영역을 통해 세포에 결합하며, 항체 Fc 영역 상의 Fc 수용체 부위는 세포 상의 Fc 수용체 (FcR)에 결합한다. IgG (감마 수용체), IgE (에타 수용체), IgA (알파 수용체) 및 IgM (뮤 수용체)을 포함하여, 상이한 부류의 항체에 특이적인 다수의 Fc 수용체가 있다. 세포 표면 상의 Fc 수용체에 대한 항체의 결합은 항체-코팅된 입자의 탐식 (engulfment) 및 파괴, 면역 복합체의 클리어런스, 킬러 세포에 의한 항체-코팅된 표적 세포의 용해 (항체-의존적 세포-매개된 세포독성 또는 ADCC로 불림), 염증성 매개인자의 방출, 태반 전달, 및 면역글로불린 생산의 제어를 포함하는 다수의 중요하고 다양한 생물학적 반응을 촉발한다.

[0224] 특정 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 변경된 이펙터 기능을 갖고, 이는 결국에, 투여된 항-ActRII 항체의 생물학적 프로파일에 영향을 준다. 예를 들어, 불변 영역 도메인의 결실 또는 비활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환하는 변형된 항체의 Fc 수용체 결합을 저하시킬 수 있다. 다른 경우에, 불변 영역 변형은 보체 결합을 절제하며, 따라서, 컨쥬게이션된 세포독소의 혈청 반감기 및 비특이적 회합을 저하시킬 수 있다. 불변 영역의 또 다른 변형은 증가된 항원 특이성 또는 항체 가요성에 기인한 향상된 국소화를 허용하는 디설파이드 연결 또는 올리고당류 모이어티를 제거하는데 사용될 수 있다. 유사하게, 본 개시내용에 따른 불변 영역에 대한 변형은 당업자에게 알려진 생화학적 또는 분자 조작 기술을 사용하여 쉽게 만들어질 수 있다.

[0225] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 ActRIIB-결합 단백질은 하나 이상의 이펙터 기능을 갖지 않는 ActRII 항체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 항체-의존적 세포 세포독성 (ADCC) 활성이 없고/없거나 보체-의존적 세포독성 (CDC) 활성이 없다. 특정 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 Fc 수용체 및/또는 보체 인자에 결합하지 않는다. 특정 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 이펙터 기능이 없다. ADCC 및/또는 CDC 활성 및 Fc 수용체 및/또는 보체 인자 결합을 저하 또는 제거하는 Fc 서열 조작 변형의 예는 본원에 기재되어 있거나, 그렇지 않으면 이를 테스트하기 위한 검정 및 절차와 마찬가지로 당업계에 알려져 있다.

[0226] 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 CH3 도메인을 각자의 변형된 항체의 힌지 영역에 직접적으로 융합하도록 조작된다. 다른 작제물에서, 힌지 영역 및 변형된 CH2 및/또는 CH3 도메인 사이에 펩티드 스페이서가 삽입된다. 예를 들어, CH2 도메인이 결실되고, 나머지 CH3 도메인 (변형된 또는 변형되지 않은)이 5-20 개의 아미노산 스페이서를 이용하여 힌지 영역에 접합되는 양립성 작제물이 발현될 수 있다. 이러한 스페이서는, 예를 들어, 불변 도메인의 조절 요소가 자유롭고 접근 가능한 상태로 남아있거나, 힌지 영역이 가요성 상태로 남아있도록 보장하기 위해 첨가될 수 있다. 아미노산 스페이서는, 일부 경우에, 면역원성인 것으로 입증되고, 작제물에 대한 원치 않은 면역 반응을 이끌어낼 수 있다. 따라서, 특정 실시양태에서, 작제물에 첨가된 임의의 스페이서는 변형된 항-ActRII의 원하는 생화학적 품질을 유지하기 위해, 상대적으로 비-면역원성이거나, 또는 심지어 완전히 누락될 수 있다.

[0227] 추가적인 실시양태에서, 항-ActRII 항체는 불변 영역의 소수의 또는 심지어 단일 아미노산의 부분적인 결실 또는 치환에 의해 변형된다. 예를 들어, CH2 도메인의 선택된 구역에서 단일 아미노산의 돌연변이는 Fc 결합을 실질적으로 저하시키는데 충분할 수 있다. 유사하게, 이펙터 기능 (예컨대, 보체 C1Q 결합)을 제어하는 하나 이상의 불변 영역 도메인이 완전하게 또는 부분적으로 결실될 수 있다. 불변 영역의 이러한 부분적인 결실은 상응하는 불변 영역 도메인과 연관된 다른 바람직한 기능을 온전한 상태로 남겨두면서, 항-ActRII 항체의 선택된 특징 (예컨대, 혈청 반감기)를 개선시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-ActRII 항체의 불변 영역은 생성된 작제물의 프로파일을 향상시키는 하나 이상의 아미노산의 돌연변이 또는 치환을 통해 변형된다. 이점에 관하여, 변형된 항-ActRII 항체의 입체배열 및 면역원성 프로파일을 실질적으로 유지하면서, 보존된 결합 부위 (예컨대, Fc

결합)에 의해 제공되는 활성을 방해하는 것이 가능하다. 본 개시내용은 또한 바람직한 특성화를 향상시키기 위해, 예컨대, 이펙터 기능을 감소 또는 증가시키거나, 하나 이상의 세포독소, 표지화 또는 탄수화물 모이어티에 대한 부착 부위를 제공하기 위해 불변 영역에 하나 이상의 아미노산의 첨가를 함유하는 항-ActRII 항체를 제공한다. 이러한 실시양태에서, 선택된 불변 영역 도메인으로부터 유래된 특이적 서열을 삽입 또는 복제하는 것이 바람직할 수 있다.

[0228] 본 개시내용은 또한 본원에 제공된 ActRIIB 및 ActRIIA-결합 단백질에 대한 변이체인 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 뮤린, 키메라, 인간화된 및 인간 ActRII-결합 단백질)을 제공한다. 특정 실시양태에서, 변이체 ActRII-결합 단백질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다: (a) ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 대한 결합에 대해 액티빈 A와 경쟁함; (b) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A)의 존재 하에 ActRIIB 및/또는 ActRIIA를 발현하는 세포에서 Smad (예컨대, Smad2 및/또는 Smad3)의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 및/또는 ActRIIA 리간드의 존재 하에 ActRIIB 및/또는 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 결합함. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 추가 실시양태에서, 변이체는 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질과 비교하여 보존적 아미노산 잔기 치환 돌연변이를 함유한다.

[0229] 제공된 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체는 예를 들어, 용해도, 생물학적 반감기, 생체이용률을 개선시키기 위해, 및 ActRII-결합 단백질의 안정성, 제형 및/또는 치료적 특성을 달리 개선시키기 위해 당업계에 알려진 추가적인 화학 모이어티를 함유하도록 유도체화될 수 있다. 이러한 모이어티에 대한 철저하지 않은 개요가 예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000)에서 발견될 수 있다.

#### **ActRII-결합 단백질을 코딩하는 핵산 및 이들의 발현**

[0230] ActRII-결합 단백질을 코딩하는 핵산 문자 및 핵산 문자의 조합을 또한 제공한다. 일부 실시양태에서, 핵산 문자는 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 항-ActRII 항체 및 ActRII-결합 항체 단편을 코딩한다. 추가 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 전장 항-ActRII 항체 또는 ActRII-결합 항체 단편의 변이체 또는 유도체를 코딩하는 핵산 문자를 제공한다.

[0231] 본원에 개시된 핵산 문자는 RNA 형태 또는 DNA 형태일 수 있다. DNA는 cDNA, 계놈 DNA 및 합성 DNA를 포함하며; 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있고, 단일 가닥인 경우, 코딩 가닥/또는 비-코딩 (안티-센스) 가닥일 수 있다. 특정 실시양태에서, 핵산 문자는 단리된다. 추가적인 실시양태에서, 핵산 문자는 실질적으로 순수하다. 일부 실시양태에서, 핵산은 cDNA이거나, cDNA로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 핵산은 재조합적으로 생산된다.

[0232] 일부 실시양태에서, 핵산 문자는 숙주 세포에서 또는 생체외에서 코딩 서열의 발현을 제어하는 제어 서열에 작동가능하게 연결된 ActRII-결합 단백질 코딩 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 코딩 서열은 cDNA이다. 본 개시내용은 또한 숙주 세포에서 또는 생체외에서 코딩 서열의 발현을 제어하는 제어 서열에 작동가능하게 연결된 ActRII-결합 단백질 코딩 서열을 포함하는 핵산 문자를 함유하는 백터에 관한 것이다.

[0233] 일부 실시양태에서, 핵산 문자는 동일한 판독 프레임에서 이종 폴리뉴클레오티드 서열에 융합되는 성숙 ActRII-결합 단백질에 대한 코딩 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이종 폴리뉴클레오티드 서열은 ActRII-결합 단백질 코딩 핵산 문자(들)로 형질전환된 숙주 세포로부터의 발현된 단백질의 분비를 용이하게 하는 리더 웹티드 서열을 코딩한다. 리더 서열을 함유하는 단백질은 전구단백질로서 지칭되며, 리더 서열이 숙주 세포에 의해 절단되어 ActRII-결합 단백질의 성숙 형태가 형성될 수 있다. 이러한 리더 웹티드 서열 및 숙주 세포에서의 재조합 단백질의 분비를 용이하게 하는 이들의 용도는 당업계에 일반적으로 알려져 있다. 추가적인 실시양태에서, 이종 폴리뉴클레오티드 서열은, 예를 들어, 재조합적으로 발현된 ActRII-결합 단백질의 정체를 용이하게 하고, 이의 단백질 안정성 및/또는 치료적 또는 진단적 특성을 첨가 또는 개선시키는데 기능할 수 있는 추가적인 5' 아미노산 잔기를 코딩한다.

[0234] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 혼성화 프로브, PCR 프라이머 또는 시퀀싱 프라이머로서 사용하기에 충분한, 단리된 핵산, 예컨대, ActRII-결합 단백질 코딩 cDNA 단편을 제공한다.

[0235] 일부 실시양태에서, 핵산 문자는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는 ActRII-결합 단백질을 코딩한다: (a) ActRII에 대한 결합에 대해 ActRII 리간드와 경쟁함; (b) ActRII 리간드의 존재 하에

ActRII 및 동족 ActRI를 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRII 리간드의 존재 하에 ActRII를 발현하는 세포에서 하나 이상의 Smad의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRII에 결합함. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRII-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRII-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRII-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRII에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가적인 실시양태에서, 코딩된 ActRII-결합 단백질은 본원에 개시된 항체와 동일한 ActRII의 에피토프에 결합한다.

[0237]

일부 실시양태에서, 핵산 분자는 ActRIIA에 특이적으로 결합하고 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는 ActRII-결합 단백질을 코딩한다: (a) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3 또는 Nodal)와 경쟁함; (b) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A)의 존재 하에 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIA 리간드의 존재 하에 ActRIIA를 발현하는 세포에서 하나 이상의 Smad의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIA에 결합함. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIA-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIA-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가적인 실시양태에서, 코딩된 ActRIIA-결합 단백질은 본원에 개시된 항체와 동일한 ActRIIA의 에피토프에 결합한다. 추가 실시양태에서, 핵산 분자는 ActRII에 특이적으로 결합하고 VH 및 VL을 포함하는 ActRIIA-결합 단백질을 코딩한다.

[0238]

일부 실시양태에서, 핵산 분자는 ActRIIB에 특이적으로 결합하고 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는 ActRII-결합 단백질을 코딩한다: (a) ActRIIB에 대한 결합에 대해 액티빈 A 및/또는 GDF8과 경쟁함; (b) ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIB 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIB 리간드의 존재 하에 ActRIIB를 발현하는 세포에서 하나 이상의 Smad의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIB에 결합함. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIB-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIB에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가적인 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된 항체와 동일한 ActRIIB의 에피토프에 결합한다. 추가 실시양태에서, 핵산 분자는 ActRIIB에 특이적으로 결합하고 VH 및 VL을 포함하는 ActRIIB-결합 단백질을 코딩한다.

[0239]

일부 실시양태에서, 핵산 분자는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는 ActRII-결합 단백질을 코딩한다: (a) ActRIIB 및 ActRIIA에 대한 결합에 대해 액티빈 A 및/또는 GDF8과 경쟁함; (b) ActRIIA 및/또는 ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A 및/또는 GDF8)의 존재 하에 ActRIIA 및/또는 ActRIIB 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화를 감소시킴; (c) ActRIIA 및/또는 ActRIIB 리간드의 존재 하에 ActRIIA 및/또는 ActRIIB를 발현하는 세포에서 하나 이상의 Smad의 포스포릴화를 감소시킴; 및 (d)  $\leq 1 \text{ nM}$  및  $\geq 1 \text{ pM}$ 의  $K_D$  (예컨대, BIACORE® 분석에 의해 결정됨)로 ActRIIA 및 ActRIIB에 결합함. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB 및 ActRIIA-결합 단백질은 위의 특징 중 2, 3 또는 4 개를 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB-결합 단백질은 위의 특징 중 2 개 이상 또는 3 개 이상을 갖는다. 일부 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB 및 ActRIIA-결합 단백질은 본원에 개시된 ActRIIB 및 ActRIIA-결합 VH 및 VL 쌍을 갖는 항체와 ActRIIB 및 ActRIIA에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 추가적인 실시양태에서, 코딩된 ActRIIB-결합 단백질은 본원에 개시된 항체와 동일한 ActRIIA 또는 ActRIIB의 에피토프에 결합한다. 추가 실시양태에서, 핵산 분자는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하고 VH 및 VL을 포함하는 ActRIIB 및 ActRIIA-결합 단백질을 코딩한다.

[0240]

본 개시내용은 또한 본원에 제공된 ActRIIB-결합 단백질을 코딩하는 핵산 및 핵산의 세트를 함유하는 벡터 및 벡터의 세트를 제공한다. ActRII-결합 단백질을 사용하는 제조 방법에서와 같이, 이들 핵산, 핵산의 세트, 벡터, 및 벡터의 세트로 형질전환된 숙주 세포를 또한 제공한다.

[0241]

일부 실시양태에서, 본 개시내용은 위에 제공된 바와 같은 핵산 분자 또는 핵산 분자의 조합 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공하며, 여기서 숙주 세포는 일부 경우에, ActRII에 특이적으로 결합하는 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRIIB-항체 및 ActRII-결합 항체 단편)을 발현할 수 있다. 추가

실시양태에서, 본 개시내용은 위에 제공된 바와 같은 핵산 분자 또는 핵산 분자의 조합 또는 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 제공하며, 여기서 숙주 세포는 일부 경우에, ActRII에 특이적으로 결합하는 ActRII-결합 단백질을 발현할 수 있다. 이러한 숙주 세포는 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 제조 방법에서 활용될 수 있으며, 여기서 방법은 (a) 숙주 세포를 배양하는 단계 및 (b) 숙주 세포로부터 발현된 ActRII-결합 단백질을 단리하는 단계를 포함한다.

[0242] 본 개시내용은 또한 적합한 조건 하에서 ActRII-결합 단백질을 발현할 수 있는 숙주 세포 (예컨대, 하이브리도마 또는 형질전환된 포유동물 숙주 세포)를 배양하는 단계를 포함하는, ActRII-결합 단백질의 제조 방법을 제공하며, 임의로, 숙주 세포로부터 분비된 ActRII-결합 단백질을 단리하기 위한 방법을 제공한다. 그리고, 본 개시 내용은 개시된 방법을 사용하여 단리된 ActRII-결합 단백질을 추가적으로 제공한다.

[0243] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는, 예를 들어, 코딩된 폴리펩티드의 정제를 허용하는 마커 서열과 동일한 판독 프레임에서 융합된 성숙 ActRII-결합 단백질(들) (예컨대, ActRII-항체, 예컨대, 전장 항체 및 ActRII-결합 항체 단편)에 대한 코딩 서열(들)을 포함한다. 예를 들어, 마커 서열은 박테리아 숙주의 경우에 마커에 융합된 성숙 폴리펩티드의 정제를 제공하기 위한 pQE-9 벡터에 의해 공급된 헥사-히스티딘 태그 (서열번호 94)일 수 있거나, 마커 서열은 포유동물 숙주 (예컨대, COS-7 세포)가 사용될 때 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래된 헤마글루티닌 (HA) 태그일 수 있다.

[0244] ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체 및 ActRII-결합 항체 단편을 코딩하는 핵산 변이체를 또한 제공한다. 핵산 변이체는 코딩 영역, 비-코딩 영역, 또는 둘 모두에서 변경을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 핵산 변이체는 침묵 치환, 첨가 또는 결실을 생산하지만, 코딩된 폴리펩티드의 특성 또는 활성을 변경하지 않는 변경을 함유한다. 일부 실시양태에서, 핵산 변이체는 유전자 코드의 축퇴성에 기인한 침묵 치환에 의해 생산된다. 핵산 변이체는 다양한 이유로, 예컨대, 특정 숙주에 대한 코돈 발현을 최적화하기 위해 (인간 mRNA의 코돈을 박테리아 숙주, 예컨대, 대장균에 의해 선호되는 것들로 변화시키기 위해) 생산될 수 있다. 본원에 기재된 핵산을 포함하는 벡터 및 세포를 또한 제공한다.

[0245] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 항체 및 ActRII-결합 항체 단편)을 코딩하는 핵산 서열은 올리고뉴클레오티드 합성장치를 사용한 화학적 합성에 의해 작제된다. 이러한 올리고뉴클레오티드는 원하는 폴리펩티드의 아미노산 서열에 기반하여 설계되고 숙주 세포 선호에 기반하여 코돈 최적화될 수 있다. 표준 방법이 ActRII-결합 단백질을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드 서열을 합성하는데 일상적으로 적용될 수 있다.

[0246] (합성, 부위-지시된 돌연변이유발 또는 다른 방법에 의해) 일단 조립되면, ActRII-결합 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 원하는 숙주에서 ActRII-결합 단백질의 발현에 적절한 제어 서열에 일상적으로 작동가능하게 연결할 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질을 코딩하는 핵산 서열은 발현 벡터에 삽입되고, 원하는 숙주에서 단백질의 발현에 적절한 제어 서열에 작동가능하게 연결된다. 숙주에서 형질주입된 유전자의 높은 발현 수준을 수득하기 위해, 유전자는 선택된 발현 숙주에서 기능성인 전사 및 번역 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결되거나 이것과 연관될 수 있다.

[0247] 특정 실시양태에서, 재조합 발현 벡터는 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRIIB 항체, 항-ActRIIA 항체, ActRIIB-결합 항체 단편, 또는 ActRIIA-결합 항체 단편을 코딩하는 DNA를 증폭 및 발현하는 데 사용될 수 있다. 재조합 발현 벡터는 포유동물, 미생물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래된 적합한 전사 또는 번역 조절 요소에 작동가능하게 연결된 ActRII-결합 단백질의 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 합성 또는 cDNA-유래된 DNA 단편을 갖는 복제가능한 DNA 작제물이다. 전사 유닛은 일반적으로, (1) 유전자 발현에서 조절 역할을 갖는 유전자 요소 또는 요소들, 예를 들어, 전사 프로모터 또는 인핸서, (2) mRNA로 전사되고 단백질로 번역되는 구조적 또는 코딩 서열, 및 (3) 하기에 상세하게 설명된 바와 같이, 적절한 전사 및 번역 개시 및 종결 서열의 조립을 포함한다. 이러한 조절 요소는 전사를 제어하는 오퍼레이터 서열을 포함할 수 있다. 숙주에서 복제하는 능력이 일반적으로 복제 기점에 의해 부여되고, 형질전환체의 인식을 용이하게 하는 선택 유전자가 추가적으로 혼입될 수 있다. DNA 영역은 이들이 서로에 대해 기능적으로 관련될 때 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 신호 웨티드 (분비성 리더)에 대한 DNA가 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전구체로서 발현되는 경우, 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동가능하게 연결되거나; 프로모터가 서열의 전사를 제어하는 경우, 코딩 서열에 작동 가능하게 연결되거나; 리보솜 결합 부위가 번역을 허용하기 위해 배치되는 경우, 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 효모 발현 시스템에 사용하기 위해 의도된 구조적 요소는 숙주 세포에 의한 번역된 단백질의 세포외 분비를 가능하게 하는 리더 서열을 포함한다. 대안적으로, 재조합 단백질이 리더 또는 운반 서열 없이 발현되는 경우, 단백

질은 N-말단 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 잔기는 임의로, 최종 단백질을 제공하기 위해, 발현된 재조합 단백질로부터 이후에 절단될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 위에서 또는 본원의 다른 곳에서 기재된 바와 같은 핵산 또는 벡터를 포함하고, 임의로 하나 이상의 담체, 희석체, 부형체 또는 다른 첨가제를 추가로 포함하는 조성물, 예컨대, 약학 조성물을 제공한다.

[0248] 본원에 개시된 핵산 분자 또는 cDNA 분자 및/또는 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 또한 제공한다. 본 개시내용은 또한 제어 서열에 작동 가능하게 연결되고, 임의로 벡터에 삽입된 개시된 핵산 분자 또는 분자들로 형질전환된 숙주 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 숙주 세포이다. 추가 실시양태에서, 포유동물 숙주 세포는 NS0 뮤린 골수종 세포, PER.C6® 인간 세포, 또는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포이다. 다른 실시양태에서, 숙주 세포는 하이브리도마이다.

[0249] 추가적인 실시양태에서, 본 개시내용은 ActRII-결합 단백질을 생산하는데 적합한 조건 하에서 본원에 개시된 형질전환된 숙주 세포 또는 하이브리도마를 배양하는 단계를 포함하는, 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이들의 변이체 및 유도체)의 제조 방법을 제공한다. 본 개시내용은 임의로 숙주 세포로부터 분비된 ActRII-결합 단백질을 단리하는 것을 제공한다. 본 개시내용은 또한 임의로 이러한 방법을 사용하여 생산된 ActRII-결합 단백질, 및 ActRII-결합 단백질 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0250] 발현 제어 서열 및 발현 벡터의 선택은 숙주의 선택에 의존할 것이다. 매우 다양한 발현 숙주/벡터 조합을 사용할 수 있다. 진핵 숙주에 유용한 발현 벡터는, 예를 들어, SV40, 소 파필로마 바이러스, 아데노바이러스 및 사이토메갈로바이러스로부터의 발현 제어 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 박테리아 숙주에 유용한 발현 벡터는 pCR1, pBR322, pMB9 및 이들의 유도체를 포함하는 알려진 박테리아 플라스미드, 예컨대, 대장균으로부터의 플라스미드, 및 또한 더욱 넓은 숙주 범위 플라스미드, 예컨대, M13 및 필라멘트상 단일-가닥 DNA 과자를 포함한다.

[0251] ActRII-결합 단백질의 발현에 적합한 숙주 세포는 적절한 프로모터의 제어 하에서 원핵생물, 곤충 또는 고등진핵 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어, 대장균 또는 바실러스를 포함한다. 고등 진핵 세포는 하기에 기재된 바와 같이 포유동물 기원의 확립된 세포주를 포함한다. 무-세포 번역 시스템을 또한 사용할 수 있다. 항체 생산을 포함하는, 단백질 생산의 방법에 관한 추가적인 정보는, 예컨대, 미국출원 공개공보 제2008/0187954호, 미국특허 제6,413,746호 및 제6,660,501호, 및 국제출원 공개공보 WO04/009823호에서 찾아볼 수 있으며, 이를 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0252] 다양한 포유동물 또는 곤충 세포 배양 시스템이 또한 재조합 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이들의 변이체 및 유도체)을 발현하는데 유리하게 사용될 수 있다. 포유동물 세포에서 재조합 ActRII-결합 단백질의 발현이 수행될 수 있는데, 그 이유는 이러한 단백질이 일반적으로 정확하게 폴딩되고, 적절하게 변형되고, 완전하게 기능적이기 때문이다. 적합한 포유동물 숙주 세포주의 예는 HEK-293 및 HEK-293T, Gluzman (*Cell* 23:175 (1981))에 의해 기재된 원숭이 신장 세포의 COS-7 세포주, 및 예를 들어, L 세포, C127, 3T3, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO), HeLa 및 BHK 세포주를 포함하는 다른 세포주를 포함한다. 포유동물 발현 벡터는 비전사된 요소, 예컨대, 복제 기점, 발현되는 유전자에 연결된 적합한 프로모터 및 인핸서, 및 다른 5' 또는 3'에 플랭킹된 비전사된 서열, 및 5' 또는 3' 비번역된 서열, 예컨대, 필요한 리보솜 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 스플라이스 공여자 및 수용자 부위, 및 전사 종결 서열을 포함할 수 있다. 곤충 세포에서 이종 단백질의 생산을 위한 배콜로바이러스 시스템은 Luckow and Summers, *BioTechnology* 6:47 (1988)에 의해 검토된다.

[0253] 형질전환된 숙주 세포 또는 하이브리도마에 의해 생산된 ActRII-결합 단백질은 임의의 적절한 방법에 따라 정제될 수 있다. 이러한 표준 방법은 크로마토그래피 (예컨대, 이온 교환, 친화도 및 사이징(sizing) 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등적 용해도, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술을 포함한다. 친화도 태그, 예컨대, 혼사히스티딘 (서열번호 94), 말토스 결합 도메인, 인플루엔자 코트 서열 및 글루타티온-S-트랜스퍼라제가 단백질에 부착되어, 적절한 친화도 컬럼 위의 통과에 의한 쉬운 정제를 허용하도록 한다. ActRII-결합 단백질은 또한 단백질분해, 핵 자기 공명 및 x-선 결정학과 같은 이러한 기술을 사용하여 물리적으로 특성화될 수 있다.

[0254] 예를 들어, 배양 배지에 재조합 ActRII-결합 단백질을 분비하는 시스템으로부터의 상층액은 먼저, 상업적으로 이용가능한 단백질 농축 필터, 예를 들어, Amicon 또는 Millipore Pellicon 한외여과 유닛을 사용하여 농축될 수 있다. 농축 단계 이후에, 농축물을 적합한 정제 매트릭스에 적용될 수 있다. 대안적으로, 음이온 교환 수지, 예를 들어, 펜던트 디에틸아미노에틸 (DEAE) 기를 갖는 매트릭스 또는 기질이 사용될 수 있다. 매트릭스는 아크

릴아미드, 아가로스, 텍스트란, 셀룰로스 또는 단백질 정제에서 일반적으로 사용되는 다른 유형일 수 있다. 대안적으로, 양이온 교환 단계가 사용될 수 있다. 적합한 양이온 교환체는 설포프로필 또는 카복시메틸 기를 포함하는 다양한 불용성 매트릭스를 포함한다. 최종적으로, 소수성 RP-HPLC 배지, 예컨대, 웬던트 메틸 또는 다른 지방족 기를 갖는 실리카 겔을 사용한 하나 이상의 역-상 고성능 액체 크로마토그래피 (RP-HPLC) 단계가 ActRII-결합 단백질을 추가로 정제하는데 사용될 수 있다. 다양한 조합에서 전술한 정제 단계의 일부 또는 전부가 균질한 재조합 ActRII-결합 단백질을 제공하는데 또한 일상적으로 사용될 수 있다.

[0255] 박테리아 배양에서 생산된 재조합 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이들의 변이체 및 유도체)은, 예를 들어, 세포 펠렛으로부터의 초기 추출에 이어서, 하나 이상의 농축, 염석, 수성 이온 교환 또는 크기 배제 크로마토그래피 단계에 의해 단리될 수 있다. 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)가 최종 정제 단계에 사용될 수 있다. 재조합 단백질의 발현에 사용된 미생물 세포는 동결-해동 사이클링, 초음파처리, 기계적 교란, 또는 세포 용해제의 사용을 포함하는 임의의 편리한 방법에 의해 교란될 수 있다.

[0256] 표적 결합 단백질, 예컨대, 전장 항체 및 항원-결합 항체 단편을 정제하기 위한 당업계에 알려진 방법은, 예를 들어, 미국출원 공개공보 제2008/0312425호, 제2008/0177048호 및 제2009/0187005호에 기재된 것들을 또한 포함하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0257] 특정 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항체가 아니다. 단백질 표적에 높은 친화도로 결합하는 비-항체 폴리펩티드를 식별 및 생산하기 위한 다양한 방법이 알려져 있다. 예컨대, Skerra, *Curr. Opin. Biotechnol.* 18:295-304 (2007), Hosse 등, *Protein Science* 15:14-27 (2006), Gill 등, *Curr. Opin. Biotechnol.* 17:653-658 (2006), Nygren, *FEBS J.* 275:2668-2676 (2008), 및 Skerra, *FEBS J.* 275:2677-2683 (2008)을 참고하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 특정 실시양태에서, 파지 디스플레이 기술이 ActRII-결합 단백질을 식별/생산하는데 사용된다. 특정 실시양태에서, 폴리펩티드는 단백질 A, 리포칼린, 피브로넥틴 도메인 (예컨대, 피브로넥틴 III형 (Fn3)), 안키린 컨센서스 반복 도메인 및 티오레독신으로 이루어진 군으로부터 선택된 유형의 단백질 스캐폴드를 포함한다.

#### 사용 방법 및 약학 조성물

[0259] 제공된 ActRII-결합 단백질 (항체, 면역접합체 및 폴리펩티드를 포함함)은 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 및 ActRIIA 항체)을 이용하여 다양한 질환 및 병태를 치료 및/또는 호전하는 방법 및 진단 방법을 비제한적으로 포함하는 다양한 응용에서 유용하다. ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA) 신호화 및/또는 증가된 ActRII 발현과 연관된 질환 또는 병태를 갖는 대상체를 치료하기 위해 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, ActRII에 특이적으로 결합하는 전장 항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)을 사용하기 위한 방법을 제공한다. 추가적인 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 함유하는 약학 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 의약으로서 사용하기 위한, 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 함유하는 약학 조성물을 제공한다. 본 개시내용은 또한 ActRII, 증가된 ActRII 발현 및/또는 증가된 ActRII 신호화와 연관된 질환 또는 병태를 치료 및/또는 호전하기 위한 본원에 개시된 약학 조성물의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 약학 조성물을 사용하여 치료되는 질환 또는 병태는 질환 또는 불용으로 인한 근육 장애, 예컨대, 근육 소모이다. 추가적인 실시양태에서, 본원에 제공된 약학 조성물을 사용하여 치료되는 질환 또는 병태는 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태); 염증성, 심혈관, 폐, 근골격, 신경학, 또는 대사 질환 또는 병태; 상처 치유; 또는 암이다.

[0260] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 전장 항체 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 전장 항체) 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 함유하고, 표지 기 또는 이펙터 기를 추가로 포함한다. "표지"는 스크리닝시 검출을 할 수 있게 하기 위해 부착된 하나 이상의 요소, 동위원소 또는 화학적 화합물을 지칭한다. 표지는 일반적으로, 다음의 3 가지 부류에 속한다: (a) 동위원소 표지, 이는 방사성 또는 무거운 동위원소일 수 있음, (b) 소분자 표지, 이는 형광 및 비색 염료, 또는 다른 표지화 방법을 할 수 있게 하는 분자, 예컨대, 비오틴을 포함할 수 있음, 및 (c) 면역 표지, 이는 항체에 의해 인식되는 융합파트너로서 혼입된 에피토프일 수 있음. "표지화 기"는 임의의 검출 가능한 표지를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 표지화 기는 잠재적 입체 장해를 저하시키기 위해 스페이서 (예컨대, 펩티드 스페이서)를 통해 ActRII-결합 단백질에 커플링된다. 표지는 임의의 위치에서 화합물에 혼입될 수 있으며, 단백질 발현 동안 생체 외에서 또는 생체내에서 혼입될 수 있다. 단백질을 표지화하기 위한 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 제

공된 방법을 수행하는데 사용될 수 있다. 추가적인 실시양태에서, 표지화 기는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 동위원소 표지, 자성 표지, 산화환원 활성 모이어티, 광학적 염료, 비오텐화된 기 및 이차적인 리포터에 의해 인식된 폴리펩티드 에피토프. 일부 실시양태에서, 표지화 기는 형광 단백질, 예컨대, 녹색 형광 단백질 또는 이의 유도체 (예컨대, 향상된 GFP, 청색 형광 단백질 또는 이의 유도체 (예컨대, EBFP (향상된 청색 형광 단백질), EBFP2, 아주리트, mKalama1, 시안 형광 단백질 또는 이의 유도체 (예컨대, ECFP (향상된 시안 형광 단백질), 세루리안, CyPet), 황색 형광 단백질 또는 이의 유도체 (예컨대, YFP, 시트린(Citrine), 비너스, YPet)이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 에피토프는 비오텐 신호화 웨პ티드, 히스티딘 웨პ티드 (his), 헤마글루티닌 (HA), Flag, 금 결합 웨პ티드로부터 선택된 구성원이다. 추가적인 실시양태에서, 이펙터 기는 방사성 동위원소, 방사성뉴클레오티드, 독소, 치료제 및 화학요법제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0261] 본 개시내용의 ActRII-결합 단백질은 생체외 및 생체내 진단적 및 치료적 유용성에서의 적용을 갖는다. 예를 들어, ActRII-결합 단백질은 예컨대, 다양한 질환 또는 병태를 치료하거나, 예방하거나, 진단하기 위해, 생체외에서 또는 생체내에서 배양 중인 세포에, 또는 대상체에서의 세포에 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 인간 항체, 뮤린 항체 또는 인간화된 항체이다.

[0262] 또한 ActRII 활성을 차단하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 ActRII를 ActRII-결합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 예에서 방법은 생체내에서 수행된다. 다른 예에서, 방법은 생체외에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 차단된 ActRII 활성은 (a) ActRII 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, GDF3, BMP9 또는 BMP10)에 의한 결합; (b) 액티빈 A의 존재 하에 ActRII를 발현하는 세포에서의 하나 이상의 Smad의 포스포릴화; (c) ActRII 리간드의 존재 하에 ActRII 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서의 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화로부터 선택된다.

[0263] 일부 양태에서 ActRIIA 활성을 차단하는 방법을 제공한다. 추가 실시양태에서, 방법은 ActRIIA를 ActRIIA-결합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 예에서 방법은 생체내에서 수행된다. 다른 예에서, 방법은 생체외에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 차단된 ActRIIA 활성은 (a) ActRIIA 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF1, GDF3 또는 Nodal)에 의한 결합; (b) 액티빈 A의 존재 하에 ActRIIA를 발현하는 세포에서의 하나 이상의 Smad의 포스포릴화; (c) ActRIIA 리간드의 존재 하에 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서의 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화로부터 선택된다.

[0264] 일부 실시양태에서, ActRIIB 활성을 차단하는 방법을 제공한다. 추가 실시양태에서, 방법은 ActRIIB를 ActRIIB-결합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 예에서, 방법은 생체내에서 수행된다. 다른 예에서, 방법은 생체외에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 차단된 ActRIIB 활성은 (a) ActRIIB 리간드 (예컨대, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8 (마이오스타틴), GDF11, BMP6, GDF3, BMP9 또는 BMP10)에 의한 결합; (b) 액티빈 A의 존재 하에 ActRIIA를 발현하는 세포에서의 하나 이상의 Smad의 포스포릴화; (c) ActRIIB 리간드의 존재 하에 ActRIIA 및 ALK4 및/또는 ALK7을 발현하는 세포에서의 ALK4 및/또는 ALK7의 포스포릴화로부터 선택된다.

[0265] 일 양태에서, 본 개시내용은 ActRII 발현 및/또는 상승된 ActRII 신호화와 연관된 질환 또는 병태를 갖거나, 이의 발달 위험이 있는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 전장 항체 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 전장 항체)을 투여하는 것을 포함하는, 질환 또는 병태의 치료, 예방 및/또는 호전에 대해 제공한다. 일부 실시양태에서, 치료는 대상체로부터의 단리된 조직 또는 세포에 대한 ActRII-결합 단백질의 투여를 포함하며, 여기서 대상체는 ActRII 발현 또는 ActRII 신호화와 연관된 질환 또는 병태를 갖거나, 이의 발달 위험이 있다. ActRII 발현 또는 ActRII 신호화와 연관된 질환 또는 병태의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

[0266] 본 개시내용은 ActRII-결합 단백질 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질을 포함하는 유효량의 약학 조성물을 ActRII (예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB)-매개된 활성과 연관된 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 ActRII (예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB)-매개된 활성과 연관된 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 또한 제공한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 단독으로 투여된다. 다른 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 병용 요법으로서 투여된다. ActRII 활성의 저하를 필요로 하는 대상체에 유효량의 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 ActRII 활성을 저하시키는 방법을 또한 제공한다.

[0267] 본 개시내용은 또한 근육 장애와 연관된 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 근육 장애는 소모이다. 추가 실시양태에서, 소모는 질환 또는 불용으로 인한 것이다. 일부 실시양태에서, 방법은 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 항체, ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항

체, 또는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체)을 포함하는 유효량의 약학 조성물을, 근육 장애와 연관된 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 단독으로 또는 병용 요법으로서 투여된다.

[0268] 일부 실시양태에 따르면, 본 개시내용은 대상체에서 골격 근육의 형성을 유도하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 골격 근육의 형성의 유도를 필요로 하는 대상체에 ActRIIB-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체, 예컨대, 전장 ActRIIB-항체 및 ActRIIB-결합 항체 단편)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 근육량 또는 강도를 증가시킨다.

[0269] 본 개시내용은 또한 대상체에서 근육 장애와 연관된 질환 또는 병태, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증 (IPF)); 대사 질환 (예컨대, 유형 II 당뇨병 인슐린 저항성, 고혈당 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환 (예컨대, 울혈성 심부전 및 고혈압); 안구 질환, 예컨대, 연령-관련된 황반 변성; 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 예컨대, 골다공증; 신경학 질환; 상처 치유; 체중 손실; 및 암 (예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암)의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 항체, ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체)을 포함하는 유효량의 약학 조성물을, 근육 장애와 연관된 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 추가적인 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 단독으로 또는 병용 요법으로서 투여된다. ActRII 발현 또는 ActRII 신호화와 연관된 질환 또는 병태를 갖거나, 이의 발달 위험이 있는 대상체를 치료하기 위한 용도를 위한 ActRII-결합 단백질을 추가로 제공한다.

[0270] 본 개시내용은 또한 대상체에서 ActRII (예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB) 활성, 예컨대, 신호화를 저하시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 유효량의 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 항체, ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체) 또는 ActRII-결합 단백질을 포함하는 유효량의 약학 조성물을 ActRII (예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB) 활성, 예컨대, 신호화의 저하를 필요로 하는 대상체 (예컨대, 근육 소모; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태); 염증성, 심혈관, 폐, 근골격 (즉, 골 및/또는 근육), 신경학, 또는 대사 질환 또는 병태; 상처 치유; 또는 암으로 진단된 대상체)에 투여하는 단계를 포함한다.

[0271] 일 양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 근육 장애의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 근육 장애를 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 항체, ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체)을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 근육 장애의 발달 위험이 있다. 일부 실시양태에서, 근육 장애 또는 병태는 근육 위축증이다. 추가 실시양태에서, 근육 위축증은 글루코코르티코이드 치료, 예컨대, 코티솔, 텍사메타손, 베타메타손, 프레드니손, 메틸프레드니솔론 또는 프레드니솔론을 이용한 치료와 연관된 병태이다. 추가적인 실시양태에서, 근육 위축증은 신경 외상, 또는 퇴행성, 대사 또는 염증성 신경병증 (예컨대, 길랭-바雷 증후군, 말초신경병증, 또는 환경 독소 또는 약물에 대한 노출)의 결과와 연관된 병태이다. 추가적인 실시양태에서, 근육 위축증은 성인 운동 뉴런 질환, 영아 척수 근육 위축증, 근위축성 측색 경화증, 청소년 척수 근육 위축증, 다초점성 컨덕터 블록을 갖는 자가면역 운동 신경병증, 뇌졸중 또는 척수 손상으로 인한 마비, 외상, 장기간 요양, 자발적 불활성, 비자발적 불활성, 대사 스트레스 또는 영양 불충분으로 인한 골격 고정화, 암, AIDS, 단식, 갑상선 장애, 당뇨병, 양성 선천성 저장력증, 중추성 질환, 화상, 만성 폐색성 폐 질환, 간 질환 (예컨대, 섬유증, 경화증), 폐혈증, 울혈성 심부전, 노화, 우주 여행 또는 무중력 환경에서의 시간 소모와 연관된 병태이다.

[0272] 일부 실시양태에서, 치료된 및/또는 호전된 근육 장애는 근육병과 연관된 근육 위축증이다. 추가 실시양태에서, 근육병은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 미토콘드리아 근육병; 예컨대, 글리코겐 또는 지질 저장 질환에 의해 유발되는 대사 근육병, 네말린 근육병, 다발심/미세심 근육병 및 근세관 (중심핵) 근육병을 포함하는 선천성 근육병; 근긴장증; 가족성 주기성 마비; 및 염증성 근육병. 추가적인 실시양태에서, 근육병은 근디스트로피 증후군과 연관된 병태, 예컨대, 뒤센, 베커, 근긴장성, 안면건강증, 후쿠야마, 지대, 견갑상완, 에머리-드라이퍼스(Emery-Dreifuss), 눈인두, 샤르코-마리-투스 질환 (CMT), 선천성 근디스트로피, 또는 유전성 원위 근육병이다. 제공된 ActRII-결합 단백질은 봉입체 근육염, 마이오플로빈뇨, 횡문근융해증, 골화 근육염, 다발성 근염 또는 피부근염을 치료하는 데 사용될 수 있다. 또한, 제공된 ActRII-결합 단백질은 글루코코르티코이드 치료, 근육감소증, 장기간 요양, 골격 고정화, 폐혈증 또는 울혈성 심부전으로부터 발생하는 근육 위축증을 치료

또는 예방할 수 있다.

[0273] 다른 양태에서, 본 개시내용은 근디스트로피의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 용어 "근디스트로피"는 콜격 근육 및 때로는 심근 및 호흡근의 점진적인 약화 및 악화로 특성화되는 퇴행성 근육 질환의 군을 지칭한다. 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 및 약학 조성물로 치료 및/또는 호전될 수 있는 예시적인 근디스트로피는 다음을 포함한다: 뒤판 근디스트로피 (DMD), 베커 근디스트로피 (BMD), 에미리-드라이포스 근디스트로피 (EDMD), 지대 근디스트로피 (LGMD), 안면건강상완 근디스트로피 (FSH 또는 FSHD) (란도르-디제린으로서 또한 알려짐), 근긴장성 근디스트로피 (MMD) (스타이너트 질환으로서 또한 알려짐), 눈인두 근디스트로피 (OPMD), 원위 근디스트로피 (DD), 선천성 근디스트로피 (CMD) 및 견갑상완 근디스트로피 (SMD).

[0274] 다른 양태에서, 본 개시내용은 섬유증 병태 (예컨대, 섬유증)의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 섬유증 병태를 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 항체, ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 ActRIIB 및 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체)을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 섬유증 병태의 발달 위험이 있다. 추가 실시양태에서, 섬유증 병태는 DN이다. 일부 실시양태에서, 치료되는 섬유증 병태는 일차성 섬유증이다. 일부 실시양태에서, 치료되는 섬유증 병태는 특발성이다. 일부 실시양태에서, 섬유증 병태는 만성이다. 일부 실시양태에서, 치료되는 섬유증 병태는 전신성이다. 다른 실시양태에서, 치료되는 섬유증 질환 또는 병태는 질환 (예컨대, 감염성 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환, 악성 또는 암성 질환, 및/또는 결합조직 질환); 독소; 인설트 (예컨대, 환경 위험 (예컨대, 석면, 석탄 가루, 폴리사이클릭 방향족 탄화수소), 담배 연기, 상처); 또는 의학적 치료 (예컨대, 수술 절개, 화학요법 또는 방사선)와 연관된 병태이다 (예컨대, 이에 대해 이차적이다).

[0275] 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질로 치료 및/또는 호전될 수 있는 섬유증 병태는 섬유증, 간 손상 (예컨대, 알콜, 및 바이러스 감염, 예컨대, B형 및 C형 간염 감염에 의해서 유발되는 간 손상), 폐 섬유증 (예컨대, 담배 연기, 환경 위험 및 화학요법 약물, 예컨대, 블레오마이신에 의해 유발되는 낭성 섬유증, IPF 또는 폐 섬유증), 방사선 유도된 섬유증, 주사 섬유증, 혈관 섬유증, 죽상경화증, 혀장 섬유증, 근골격 섬유증 (예컨대, 근육 섬유증), 심장 섬유증, 피부 섬유증, 피부경화증, 안과 섬유증 (예컨대, 연령-관련된 황반 변성, 당뇨병성 황반부종, 당뇨병성 망막증, 및 안구 건조 질환), 진행성 전신 경화증 (PSS), 만성 이식편-대-숙주 질환, 폐이로니 질환, 방광경-후 요도 협착증, 복막뒤 섬유증, 종격동 섬유증, 진행성 거대 섬유증, 증식성 섬유증, 신생물 섬유증, 듀피트렌 질환, 협착증, 늑막 섬유증, 사르코이드증, 척수 손상/섬유증, 및 골수섬유증을 포함하나, 이로 제한되지 않는다.

[0276] 대상체에서 섬유증을 감소시키는 방법을 또한 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 섬유증을 갖는 대상체에 (예컨대, 본원에 기재된 약학 조성물 중의) ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 섬유증을 감소시키는 방법을 제공한다. 이러한 감소된 섬유증은 예를 들어, 저하된 섬유증으로 반영될 수 있고, 예를 들어, 섬유증 병변의 감소된 발달, 체중 손실 또는 다른 임상적 증상의 감소, 및/또는 치료될 섬유증 병태의 발달과 연관된 생물학적 분자의 변경된 발현 (예컨대, mRNA 또는 단백질 발현)을 비롯한 섬유증과 연관된 정후 또는 병태를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 섬유증은 간, 근육 또는 폐 섬유증이다. 섬유증의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

[0277] 다른 양태에서, 본 개시내용은 세포 또는 조직에서 섬유증을 저하시키는 방법을 제공한다. 방법은 섬유증 세포 또는 조직을 섬유증을 감소 또는 억제하기에 충분한 양의 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 단일 약제로서 또는 다른 약제 또는 치료적 양상과 조합하여)과 접촉시키는 단계를 포함한다. 이러한 방법은 생체외에서 또는 생체내에서 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 생체내에서, 예를 들어, 포유동물 대상체 (예컨대, 동물 모델)에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 섬유증을 저하시키는 것은 다음을 포함한다: (a) 조직 섬유증의 형성 또는 침착을 저하 또는 억제하는 것; (b) 섬유증 병변의 크기, 세포질 (예컨대, 섬유아세포 또는 면역 세포 수), 조성; 또는 세포 내용물을 저하시키는 것; (c) 섬유증 병변의 콜라겐 또는 하이드록시프롤린 함량을 저하시키는 것; (d) 하나 이상의 피브로겐 단백질의 발현 또는 활성을 저하시키는 것; 및/또는 (e) 염증성 반응과 연관된 섬유증을 저하시키는 것. 일부 실시양태에서, 섬유증을 저하시키는 것은 다음을 포함한다: (a) 조직 섬유증의 형성 또는 침착을 저하 또는 억제하는 것; (b) 섬유증 병변의 크기, 세포질 (예컨대, 섬유아세포 또는 면역 세포 수), 조성; 또는 세포 내용물을 저하시키는 것; (c) 섬유증 병변의 콜라겐 또는 하이드록시프롤린 함량을 저하시키는 것; (d) 하나 이상의 피브로겐 단백질의 발현 또는 활성을 저하시키는 것; 및/또는 (e) 염증과 연관된 섬유증을 저하시키는 것.

[0278] 일부 실시양태에 따르면, 본 개시내용은 대상체에서 간 또는 폐 기능의 손실을 저하시키는 방법을 제공한다. 일

부 실시양태에서, 방법은 간 또는 폐 기능의 손실의 저하를 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 간 기능의 손실을 저하시킨다. 추가 실시양태에서, 방법은 간 섬유증 저하를 통해 대상체에서 간 기능의 손실을 저하시킨다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 폐 기능의 손실을 저하시킨다. 일부 실시양태에서, 방법은 폐 섬유증의 저하를 통해 대상체에서 폐 기능의 손실을 저하시킨다. 일부 실시양태에서, 방법은 특발성 폐 섬유증 (IPF)을 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에서 폐 기능 및/또는 폐 섬유증의 손실을 저하시킨다.

[0279] 추가적으로 대상체에서 섬유증 저하에 의한 간 또는 폐 기능 개선 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 섬유증 저하에 의한 간 또는 폐 기능의 개선을 필요로 하는 대상체에 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체) 또는 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 간 또는 폐 기능을 개선시키거나, 이의 손실을 저하시키는 것은 다음을 포함한다: (a) 상응하는 장기에서 조직 섬유증의 형성 또는 침착을 저하 또는 억제하는 것; (b) 상응하는 장기에서 섬유증 병변의 크기, 세포질 (예컨대, 섬유아세포 또는 면역 세포 수), 조직; 또는 세포 내용물을 저하시키는 것; (c) 상응하는 장기에서 섬유증 병변의 콜라겐 또는 하이드록시프롤린 함량을 저하시키는 것; (d) 상응하는 장기에서 피브로겐 단백질 (예컨대, 피브리노겐 및 콜라겐)의 발현 또는 활성을 저하시키는 것; (d) 상응하는 장기에서 세포외 매트릭스 및/또는 EMT의 발현을 저하시키는 것; 및/또는 (e) 상응하는 장기에서 염증성 반응과 연관된 섬유증을 저하시키는 것.

[0280] 인간 신체는 흉터에 의해 외상 및 손상에 반응한다. 과도한 흉터를 특성화하는 장애의 유형인 섬유증은 일반적인 상처 치유 반응이 방해된 경우에 발생한다. 섬유증 동안, 상처 치유 반응이 계속되어 콜라겐의 과도한 생산 및 침착을 유발한다. 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 치료적 유효량의 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB에 특이적으로 결합하는 항체 또는 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체)을 섬유증의 치료를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 섬유증의 치료 방법을 제공한다.

[0281] 일부 양태에서, 본 개시내용은 간 또는 폐 기능을 개선시키거나, 이의 손실을 저하시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 다음을 초래한다: (a) 상응하는 장기에서 조직 섬유증의 형성 또는 침착을 저하 또는 억제하는 것; (b) 상응하는 장기에서 섬유증 병변의 크기, 세포질 (예컨대, 섬유아세포 또는 면역 세포 수), 조직; 또는 세포 내용물을 저하시키는 것; (c) 상응하는 장기에서 섬유증 병변의 콜라겐 또는 하이드록시프롤린 함량을 저하시키는 것; (d) 상응하는 장기에서 하나 이상의 피브로겐 단백질 (예컨대, 피브리노겐 및 콜라겐)의 발현 또는 활성을 저하시키는 것; (d) 상응하는 장기에서 세포외 매트릭스 및/또는 EMT의 발현을 저하시키는 것; 및/또는 (e) 상응하는 장기에서 염증성 반응과 연관된 섬유증을 저하시키는 것.

[0282] 본 개시내용은 또한 폐의 섬유증 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 폐의 섬유증 병태를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, ActRII에 특이적으로 결합하는 항체, 및 이의 단편 및 변이체 및 유도체)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폐 섬유증은 특발성이거나, 약물학적으로-유도되거나, 방사선-유도되거나, 만성 폐색성 폐 질환 (COPD) 또는 만성 천식이다. 치료될 수 있는 폐의 섬유증 병태는 다음으로 이루어진 군 중 하나 이상의 구성원을 포함한다: 일반 간질성 폐렴 (UIP), 간질성 폐 질환, 잠인성 섬유성 폐포염 (CFA) 및 기관지 확장증. 일부 실시양태에서, 치료되는 폐의 섬유증 병태는 폐의 염증성 장애와 연관된 병태, 예컨대, 천식, 및/또는 만성 폐색성 폐 질환 (COPD)이다.

[0283] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 폐 섬유증을 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 폐 섬유증의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 폐 섬유증의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

[0284] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체 및 항-ActRIIB 항체)로 치료되는 폐의 섬유증 병태는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다: 급성 호흡 곤란 증후군, 만성 천식, 급성 폐 증후군, 기관지 폐 형성 이상, 폐 고혈압 (예컨대, 특발성 폐 고혈압 (IPH)), 조직구증 X 진폐증, 카플란 질환, 류마티스 질환 및 전신 경화증.

[0285] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIA 항체 및 항-ActRIIB 항체)로 치료되는 폐의 섬유증 병태는 자가면역 결합 조직 장애와 연관된 병태이다. 일부 실시양태에서, 자가면역 결합 조직 장애는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 사르코이드증 류마티스 관절염, 피부경화증 및 전신 홍반 루프스 (SLE). 추가적인 실시양태에서, 폐의 섬유증 병태는 질환, 독소, 인설트 또는 의학적 치료와 연관된 병태이

다. 따라서, 일부 실시양태에서, 폐의 섬유증 병태는 다음으로 이루어진 군 중 하나 이상의 구성원과 연관된 병태이다: 흡입성 작업장 위험물 (예컨대, 먼지, 석면, 실리카, 보크사이트, 철, 면, 탈크 및 석탄 가루), 독소 (예컨대, 아미오다론, 카무스틴, 클로람페니콜, 헥사메토늄), 담배 연기 및 환경 오염물을 비롯한 독소 및 자극물에 대한 노출. 추가적인 실시양태에서, 폐의 치료되는 섬유증 병태는 감염성 질환과 연관된 병태이다. 특정 실시양태에서, 감염성 질환은 만성 감염과 연관된 병태이다.

[0286] 추가적인 실시양태에서, 폐의 치료되는 섬유증 병태는 의학적 치료와 연관된 병태이다. 특정 실시양태에서 의학적 치료는 수술, 방사선 요법 및 약물 요법으로부터 선택된다. 추가 실시양태에서, 약물 요법은 화학요법이다. 추가 실시양태에서, 화학요법은 블레오마이신, 메토트렉세이트, 아미오다론, 부설판, 니트로소우레아 및 니트로푸란토인으로부터 선택된 화학치료제의 투여를 포함한다.

[0287] 폐 고혈압 또는 특발성 폐 섬유증 (IPF)의 치료 및/또는 호전 방법을 또한 제공한다. 일부 예에서, 방법은 폐 고혈압 또는 IPF를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 예에서, ActRII-결합 단백질 또는 ActRII-결합-단백질을 포함하는 약학 조성물은 폐 고혈압을 치료, 예방 및/또는 호전하기 위해 투여된다. 일부 예에서, ActRII-결합 단백질 또는 ActRII-결합 단백질을 포함하는 약학 조성물은 IPF를 치료, 예방 및/또는 호전하기 위해 투여된다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질 또는 ActRII-결합 단백질을 포함하는 약학 조성물을 폐 고혈압 또는 IPF를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 투여한다.

[0288] 본 개시내용은 또한 간의 섬유증 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 간의 섬유증 병태를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 또는 ActRII-결합 단백질을 포함하는 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 간의 섬유증 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질을 사용하여 치료될 수 있는 간의 섬유증 병태는 다음으로 이루어진 군 중 하나 이상의 구성원을 포함한다: 지방증 (예컨대, 비알콜성 지방간염 (NASH), 지방간 질환, 담즙정체성 간 질환 (예컨대, 원발성 담즙성 경화증 (PBC)), 간 경화증, 알콜 유도 간 섬유증, 감염-유도 간 섬유증, 담관 손상, 담즙 섬유증, 선천성 간 섬유증, 자가면역 간염 및 담관병변. 추가 실시양태에서, 감염-유도 간 섬유증은 박테리아-유도되거나, 바이러스-유도된다.

[0289] 추가적인 실시양태에서, 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질로 치료될 수 있는 간의 섬유증 병태는 다음으로 이루어진 군 중 하나 이상의 구성원이다: 바이러스 감염과 연관된 간 섬유증 (예컨대, 간염 (C형, B형 및 D형 간염), 자가면역 간염, 비-알콜성 지방간 질환 (NAFLD), 진행성 거대 섬유증, 알콜중독, 및 독소 또는 자극물 (예컨대, 알콜, 약학적 약물 및 환경 독소)에 대한 노출.

[0290] 본 개시내용은 또한 심장 섬유증의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 심혈관계의 섬유증 병태를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질 또는 ActRII-결합 단백질을 포함하는 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 심장 섬유증은 심내막심근 섬유증 또는 특발성 심근병증이다. 일부 실시양태에서, 피부 섬유증은 피부경화증, 외상-후, 수술성 피부 흉터, 켈로이드 또는 피부 켈로이드 형성이다. 일부 실시양태에서, 눈 섬유증은 녹내장, 눈의 경화증, 결막 흉터, 각막 흉터 또는 익상편이다. 일부 실시양태에서, 복막뒤 섬유증은 특발성이거나, 약물학적으로-유도되거나, 방사선-유도된다. 일부 실시양태에서, 낭성 섬유증은 췌장의 낭성 섬유증 또는 폐의 낭성 섬유증이다. 일부 실시양태에서, 주사 섬유증은 근육내 주사의 합병증으로서 발생한다. 심혈관계의 섬유증 병태의 섬유증 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

[0291] 안구 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 안구 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 안구 질환 또는 병태는 녹내장이다. 일부 실시양태에서, 안구 질환은 망막증이다. 추가 실시양태에서, 안구 질환은 당뇨병성 망막증이다.

[0292] 추가적인 실시양태에서, 본 개시내용은 눈의 섬유증 병태 (예컨대, 눈의 섬유증, 안과 섬유증, 및 망막 기능장애와 연관된 섬유증)의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 따라서, 일부 예에서, 방법은 눈의 섬유증 병태를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함한다. 심혈관계의 섬유증 병태의 섬유증 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.

- [0293] 본원에 제공된 방법에 따라 치료될 수 있는 눈의 섬유증 병태는 손상, 예컨대, 기계적 상처 (예컨대, 알칼리 화상과 연관된 섬유증) 또는 다양한 대사 기능부전에 대한 반응 (예컨대, 염증, 허혈 및 퇴행성 질환에 대한 반응을 포함함)으로 발생할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 안구 수술과 연관된 섬유증의 치료 방법을 제공한다. 추가 실시양태에서, 섬유증은 안구 병태에서 수술후 흉터와 연관된 병태이다. 추가 실시양태에서, 수술후 흉터는 망막 재유착술, 백내장적출술 또는 배수 절차에 관련된 수술과 연관된 병태이다.
- [0294] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 다음으로 이루어진 군 중 하나 이상의 구성원과 연관된 눈의 섬유증 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다: 황반 부종 (예컨대, 당뇨병성 황반 부종), 안구 건조 질환, 렌즈의 섬유증, 각막 기질 또는 내피의 섬유증, 각막 및 결막에서의 흉터, 섬유혈관 흉터, 망막 섬유증 및 망막 신경교증.
- [0295] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 황반 변성과 연관된 눈의 섬유증 병태의 치료 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 치료되는 섬유증 병태는 연령-관련된 황반 변성과 연관된 병태이다. 일부 실시양태에서 치료되는 병태는 습윤 황반 변성과 연관된 병태이다. 다른 실시양태에서 치료되는 병태는 건조 황반 변성과 연관된 병태이다.
- [0296] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 염증성 질환 또는 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 염증성 질환 또는 병태는 염증성 암, 섬유증과 연관된 염증, 죽상경화증과 연관된 염증, 천식 또는 자가면역 장애이다.
- [0297] 추가적으로 심혈관 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 심혈관 질환 또는 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 일부 예에서, 방법은 심혈관 질환 또는 병태의 치료 또는 호전을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여함으로써 심혈관 질환 또는 병태를 치료 또는 호전하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 심혈관 질환 또는 병태는 빈혈, 울혈성 심부전, 심실 기능장애, 혈관 석회화, 폐 고혈압, 동맥 재발협착증, 또는 심근 섬유증이다.
- [0298] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 폐 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 폐 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 폐 질환 또는 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다.
- [0299] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 근골격 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 유효 용량의 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 근골격 질환 또는 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 근골격 질환 또는 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 유효 용량의 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체)을 투여함으로써 치료 및/또는 호전될 수 있는 예시적인 ActRIIB-연관 병태는 신경근 장애 (예컨대, 근디스트로피 및 근육 위축증), 울혈성 폐색성 폐 질환 또는 폐기종 (및 연관된 근육 소모), 근육 소모 증후군, 근육감소증, 악액질, 지방질 조직 장애 (예컨대, 비만), 유형 2 당뇨병, 및 골 퇴행성 질환 (예컨대, 골다공증)을 포함한다. 본원은 이들 질환 또는 병태 각각의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 제공한다.
- [0300] 유효 용량의 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRIIB 항체)을 투여함으로써 치료 및/또는 호전될 수 있는 다른 예시적인 ActRII-연관 병태는 근퇴행성 및 신경근 장애, 및 콜다공증을 포함한다.
- [0301] 제공된 ActRII-결합 단백질은 근육 성장이 필요한 다른 신경근 질환 또는 병태에서 근육량을 증가시키기에 효과적인 수단을 제공한다. 예를 들어, 근위축성 측색 경화증 (ALS)에서, ActRII-결합 단백질이 유용할 수 있는 다른 신경근 질환은 척수 손상 또는 뇌졸중으로 인한 마비; 외상 또는 퇴행성, 대사, 또는 염증성 신경병증으로 인한 탈신경; 성인 운동 뉴런 질환; 다초점 컨덕터 블록을 갖는 자가면역 운동 신경병증; 및 영아 또는 청소년 척수 근육 위축증을 포함한다.
- [0302] 다른 양태에서, 본 개시내용은 골 및/또는 연골 형성을 유도하는 방법, 골 손실을 예방하는 방법, 골광화를 증가시키는 방법 또는 골의 탈회를 예방하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 제공된 ActRII-결합 단백질은 대상체 (예컨대, 인간 및 다른 동물)에서 콜다공증을 치료하고, 골절 및 연골 결합을 치유하는 데 있어서의 용도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 골절 또는 연골을 치유하는 방법을 제공한다. 일부 실시양

태에서, 제공된 방법 및 조성물을 투여하여, 골 손실을 유발하는 병태, 예컨대, 골다공증, 부갑상선 기능항진, 쿠싱 질환, 갑상선중독증, 만성 설사 상태 또는 흡수 불량 또는 신경성 식욕부진증을 치료한다.

[0303] 추가적인 양태에서, 본 개시내용은 신경학적 장애 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 신경학적 장애 또는 병태를 치료하는 방법을 제공한다. 신경학적 장애 또는 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 신경학적 장애 또는 병태는 뉴런 사멸과 연관된다. 일부 실시양태에서, 신경학적 장애 또는 병태는 파킨슨 질환, ALS; 뇌 위축증, 또는 치매이다.

[0304] 추가적인 양태에서, 본 개시내용은 대사 장애 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 대사 장애 또는 병태를 치료하는 방법을 제공한다. 대사 장애 또는 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 대사 장애 또는 병태는 당뇨병과 연관된 병태이다. 일부 실시양태에서 대사 장애 또는 병태는 비만이다. 추가 실시양태에서 대사 장애 또는 병태는 비대성 비만이다. 일부 실시양태에서, 대사 장애 또는 병태는 암 악액질 또는 근육 소모이다.

[0305] 다른 양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 신체 지방 함량을 조절하기 위한 포지션 및 방법, 및 이에 관련된 병태, 및 특히 이와 관련된 건강-손상 병태를 치료 또는 예방하기 위한 포지션 및 방법을 제공한다.

[0306] 본원에 제공된 바와 같이, 체중을 조절 (제어)하는 것은 체중을 저하 또는 증가시키거나, 체중 증가의 속도를 저하 또는 증가시키거나, 체중 손실의 속도를 증가 또는 저하시키는 것을 지칭할 수 있고, 또한 체중을 능동적으로 유지시키거나, (예컨대, 체중을 달리 증가 또는 감소시킬 수 있는 외부 또는 내부 영향에 대해) 체중을 유의하게 변화시키지 않는 것을 포함한다. 일 양태에 따르면, 본 개시내용은 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질을 체중의 조절을 필요로 하는 대상체 (예컨대, 인간)에 투여함으로써 체중을 조절하는 방법을 제공한다. 일 양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 체중을 저하시키고/시키거나 체중 증가를 저하시키는 방법, 보다 특히, 비만을 앓을 위험이 있거나, 비만을 앓고 있는 환자에서 비만을 치료 또는 호전하는 방법을 제공한다. 다른 양태에서, 본 개시내용은 체중을 증가 또는 유지할 수 없는 대상체 (예컨대, 소모 중후군을 갖는 동물)를 치료하기 위한 방법 및 화합물을 제공한다. 이러한 방법은 체중 및/또는 체질량을 증가시키거나, 체중 및/또는 체질량 손실을 저하시키거나, 바람직하지 않게 낮은 (예컨대, 건강하지 않은) 체중 및/또는 체질량과 연관되거나 이에 의해 유발되는 병태를 개선시키기에 효과적이다. 제공된 ActRIIB-결합 단백질은 유형 II 당뇨병 및 대사 중후군의 발달을 둔화시키거나 예방하기 위한 치료제로서 추가로 사용될 수 있다.

[0307] 특정 양태에서, 본 개시내용은 당뇨병 및/또는 당뇨병과 연관된 병태를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 당뇨병과 연관된 병태의 치료 및/또는 호전 방법을 제공한다. 당뇨병 또는 당뇨병과 연관된 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 당뇨병과 연관된 병태는 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장병, 당뇨병성 혈관병 또는 당뇨병성 미세혈관병이다.

[0308] 추가적인 양태에서, 본 개시내용은 상처 치유의 촉진을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 상처 치유를 촉진시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 상처 치유와 연관된 흉터 형성을 저하시키기 위해 대상체에 투여된다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 비대성 흉터 또는 켈로이드의 발달 위험이 있는 대상체에 투여된다.

[0309] 추가적으로 ActRII 발현 및/또는 ActRII 신호화와 연관된 병리학적 병태에서 ActRII 활성을 길항하는 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 ActRII 활성의 길항을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 항-ActRII-항체 또는 ActRII-결합 항체 단편)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 근골격 질환 또는 장애, 예컨대, 근육 위축증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 예를 들어, 폐 또는 간의 섬유증 질환이다. 추가 실시양태에서, 병리학적 병태는 당뇨병이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 비만 (예컨대, 비대성 비만)이다. 추가적인 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 고혈압 또는 특발성 폐 섬유증 (IPF)이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 안구 질환, 예컨대, 당뇨병성 망막증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 암, 예컨대, 암종 (예컨대, 피부의 기저 및 편평상피 세포 암종, 두경부 암종 및 신장 세포 암종), 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 결장직장암 또는 골-손실 유도암이다.

[0310] ActRIIB 발현 및/또는 증가된 ActRIIB 신호화와 연관된 병리학적 병태에서 ActRIIB 활성을 길항하는 방법을 또한 제공한다. 일부 예에서, 방법은 ActRIIB 활성의 길항을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대,

항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 항-ActRIIB-항체 및 ActRIIB-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 근골격 질환 또는 장애, 예컨대, 근육 위축증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 예를 들어, 폐 또는 간의 섬유증 질환이다. 추가 실시양태에서, 병리학적 병태는 당뇨병이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 비만 (예컨대, 비대성 비만)이다. 추가적인 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 고혈압 또는 특발성 폐 섬유증 (IPF)이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 안구 질환, 예컨대, 당뇨병성 망막증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 암, 예컨대, 암종 (예컨대, 피부의 기저 및 편평상피 세포 암종, 및 두경부 암종), 골수종, 신장 세포 암종, 결장직장암, 또는 골-손실 유도암이다.

[0311] 추가적으로 ActRIIA 발현 및/또는 증가된 ActRIIA 신호화와 연관된 병리학적 병태에서 ActRIIA 활성을 길항하는 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 ActRIIA 활성의 길항을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 항-ActRIIA-항체 또는 ActRIIA-결합 항체 단편)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 근골격 질환 또는 장애, 예컨대, 근육 위축증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 섬유증 질환이다. 일부 실시양태에서 병리학적 병태는 예를 들어, 폐 또는 간의 섬유증 질환이다. 추가 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 또는 간의 섬유증 질환이다. 추가 실시양태에서, 병리학적 병태는 당뇨병이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 비만 (예컨대, 비대성 비만)이다. 추가적인 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 고혈압 또는 특발성 폐 섬유증 (IPF)이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 안구 질환, 예컨대, 당뇨병성 망막증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 암, 예컨대, 암종 (예컨대, 피부의 기저 및 편평상피 세포 암종, 두경부 암종), 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 결장직장암 또는 골-손실 유도암이다.

[0312] 추가적으로 ActRIIB 및/또는 ActRIIA 발현, 및/또는 증가된 ActRIIB 및/또는 ActRIIA 신호화와 연관된 병리학적 병태에서 ActRIIB 및 ActRIIA 활성을 길항하는 방법을 제공한다. 일부 예에서, 방법은 ActRIIB 및 ActRIIA 활성의 길항을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 항-ActRII-항체 또는 ActRII-결합 항체 단편)을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 근골격 질환 또는 장애, 예컨대, 근육 위축증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 섬유증 질환이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 또는 간의 섬유증 질환이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 당뇨병이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 비만 (예컨대, 비대성 비만)이다. 추가적인 실시양태에서, 병리학적 병태는 폐 고혈압 또는 특발성 폐 섬유증 (IPF)이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 안구 질환, 예컨대, 당뇨병성 망막증이다. 일부 실시양태에서, 병리학적 병태는 암, 예컨대, 암종 (예컨대, 피부의 기저 및 편평상피 세포 암종, 두경부 암종), 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 결장직장암 또는 골-손실 유도암이다.

[0313] 추가적인 실시양태에서, 본 개시내용은 암 또는 암과 연관된 병태의 치료 및/또는 호전을 필요로 하는 대상체에 ActRII-결합 단백질 (예컨대, 항-ActRII 항체 또는 이의 ActRII-결합 단편)을 투여하는 단계를 포함하는, 암 또는 암과 연관된 병태의 치료 및/또는 호전 방법 또는 이의 치료를 제공한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항-ActRIIB 항체 또는 이의 ActRIIB-결합 단편이다. 암 또는 암과 연관된 병태의 치료 또는 호전을 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질의 용도를 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 항-ActRIIA 항체 또는 이의 ActRIIA-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 ActRIIB 및 ActRIIA 또는 ActRIIB 및 ActRIIA 이의 ActRIIB-결합 단편에 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 흑색종, 자궁암, 폐암, 난소암, 유방암, 결장암, 췌장암 및 육종으로부터 선택된 암을 갖는다. 특정 실시양태에서, 대상체는 암종 (예컨대, 피부의 기저 및 편평상피 세포 암종 및 두경부 암종), 골수종, 결장직장암 또는 골-손실 유도암을 갖는다.

[0314] 일부 실시양태에서, 방법은 암 세포, 종양 연관-기질 세포, 또는 ActRII (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA)를 발현하는 내피 세포를, ActRII에 특이적으로 결합하는 ActRII-결합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 예에서, 방법은 엑티빈 A를 ActRII-결합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다. 추가적인 실시양태에서, 종양 세포는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 암으로부터 유래된다: 골수섬유증, 골수종 (예컨대, 다발성 골수종), 뇌하수체암. 다른 실시양태에서, 암은 유방암, 위장암, 또는 암종 (예컨대, 기저 및 편평상피 세포 암종)이다. 추가적인 실시양태에서, 암은 골-손실-유도암이다. 일부 실시양태에서, 종양 세포는 암주(cancer line)로부터 유래된다.

[0315] 본 개시내용은 섬유증 병태를 갖거나, 이의 발달 위험을 갖는 대상체에 치료적 유효량의 ActRII-결합 단백질을, 단독으로 또는 하나 이상의 추가적인 요법 (예컨대, 하나 이상의 추가적인 치료제)와 조합하여 투여하는 단계를

포함하는 방법을 제공한다. 본 개시내용은 ActRII-매개된 질환 및/또는 병태 (예컨대, 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증 (IPF)); 대사 질환 (예컨대, 유형 II 당뇨병 인슐린 저항성, 고혈당 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환 (예컨대, 울혈성 심부전 및 고혈압); 안구 질환, 예컨대, 연령-관련된 황반 변성; 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 예컨대, 골다공증; 신경학 질환; 상처 치유; 체중 손실; 및 암 (예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암))를 치료 (예컨대, 예방) 및/또는 호전하는 데 사용하기 위한 하나 이상의 의약의 제조를 위해 ActRII-결합 단백질을 단독으로 또는 다른 약제와의 조합으로 사용하기 위한 조성물을 추가적으로 제공한다.

[0316] 예컨대, 주어진 치료 양생법의 효험을 결정하기 위해, 임상 테스트 절차의 부분으로서 혈액 또는 조직에서 단백질 수준 (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA 수준)을 진단적으로 모니터링하기 위한 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질의 용도를 또한 제공한다. 예를 들어, 검출은 ActRII-결합 단백질을 검출가능한 물질에 커플링시킴으로써 용이해질 수 있다. 검출가능한 물질의 예는 다양한 효소, 보결분자단, 형광 재료, 빌광 재료, 생물빌광 재료 및 방사성 재료를 포함한다. 적합한 효소의 예는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼라인 포스파타제,  $\beta$ -갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제를 포함하고; 적합한 보결분자단 복합체의 예는 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴을 포함하고; 적합한 형광 재료의 예는 웜벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 파이코에리트린을 포함하고; 형광 재료의 예는 루미놀을 포함하고; 생물빌광 재료의 예는 루시퍼라제, 루시페린 및 아에쿠오린을 포함하며; 적합한 방사성 재료의 예는  $^{125}$ I,  $^{131}$ I,  $^{35}$ S 또는  $^3$ H를 포함한다.

#### 약학 조성물 및 투여 방법

[0318] ActRII-결합 단백질을 제조하고 ActRII-결합 단백질을 필요로 하는 대상체에 투여하는 방법은 당업자에게 알려져 있거나, 당업자에 의해 용이하게 결정된다. ActRII-결합 단백질의 투여 경로는 예를 들어, 경구, 비경구, 흡입 또는 국부에 의해서일 수 있다. 용어 비경구는 예컨대, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 안내, 피하, 직장 또는 질 투여를 포함한다. 이를 모든 투여 형태는 본 개시내용의 범주 내에 있는 것으로서 명확하게 고려되고, 투여에 대한 형태의 다른 예는 주사, 특히 정맥내 또는 동맥내 주사 또는 드립(drip)을 위한 용액일 것이다. 보통, 적합한 약학 조성물은 완충액 (예컨대, 아세테이트, 포스페이트 또는 시트레이트 완충액), 계면활성제 (예컨대, 폴리소르베이트), 임의로 안정화제 (예컨대, 인간 알부민) 등을 포함할 수 있다. 본원의 교시와 상용성인 다른 방법에서, 본원에 제공된 바와 같은 ActRII-결합 단백질은 섬유증 또는 종양의 장기 및/또는 부위로 직접 전달되어, 치료제에 대한 질환이 있는 조직의 노출을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여는 예컨대, 흡입 또는 비강내 투여에 의한 직접적으로 기도에 대한 것이다.

[0319] 본원에 논의된 바와 같이, ActRII-결합 단백질은 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태 (예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증 (IPF)); 대사 질환 (예컨대, 유형 II 당뇨병 인슐린 저항성, 고혈당 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환 (예컨대, 울혈성 심부전 및 고혈압); 안구 질환, 예컨대, 연령-관련된 황반 변성; 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 예컨대, 골다공증; 신경학 질환; 상처 치유; 체중 손실; 및 암 (예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암)을 비제한적으로 포함하는 ActRII-매개된 질환 및 병태의 생체내 치료를 위해 약학적 유효량으로 투여될 수 있다. 이와 관련하여, 개시된 ActRII-결합 단백질은 투여를 용이하게 하고, 활성제의 안정성을 촉진시키도록 제형화될 수 있다. 본 개시내용에 따른 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한, 비-독성, 멸균 담체, 예컨대, 생리학적 식염수, 비-독성 완충액, 및 보존제 등을 포함할 수 있다. 본 응용의 목적을 위해, 접합된 또는 비접합된 ActRII-결합 단백질의 약학적 유효량은 ActRII에 대한 효과적인 결합을 달성하고, 이익을 달성하기에, 예컨대, 질환 또는 병태의 증상을 호전하거나, 물질 또는 세포를 검출하기에 충분한 양을 의미한다. 본원에 개시된 치료적 방법에서 사용하기에 적합한 제형은 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980)에 기재되어 있다.

[0320] 본원에 제공된 특정 약학 조성물은, 예컨대, 캡슐, 정제, 수성 혼탁액 또는 용액을 포함하여 허용가능한 투여량 형태로 경구 투여될 수 있다. 특정 약학 조성물은 또한, 코 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 이러한 조성물은 벤질 알콜 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용률을 향상시키기 위한 흡수 촉진제 및/또는 다른 통상적인 가용화제 또는 분산제를 사용하여, 식염수 중 용액으로서 제조될 수 있다.

[0321] 단일 투여량 형태를 생산하기 위해 담체 재료와 조합될 수 있는 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRIIB 및/또는 ActRIIA에 특이적으로 결합하는 항체)의 양은 치료되는 대상체 및 특정 투여 방식에 따라 변할 것이다. 조성물

은 단일 용량으로서, 다중 용량으로서 또는 주입시 확립된 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 투여량 양생법은 또한 최적의 원하는 반응(예컨대, 치료적 또는 예방적 반응)을 제공하기 위해 조정될 수 있다.

[0322] 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질은 치료적 효과를 생산하는데 충분한 양으로 앞서 언급한 치료 방법에 따라 인간 또는 다른 대상체에 투여될 수 있다. 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질은 알려진 기술에 따라 ActRII-결합 단백질을 통상적인 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 조합함으로써 제조된 통상적인 투여량 형태로 이러한 인간 또는 다른 동물에 투여될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제의 형태 및 특성화는 이것이 조합될 활성 성분의 양, 투여 경로 및 다른 잘-알려진 변수에 의해 좌우될 수 있다. 하나 이상의 상이한 ActRII-결합 단백질을 포함하는 각테일이 또한 사용될 수 있다.

[0323] ActRII-매개된 질환 또는 병태, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태; 염증성, 자가면역, 심혈관, 폐, 근골격, 골격, 안구, 신경학, 또는 대사 질환 또는 병태; 비만; 상처 치유; 및 암의 치료를 위한 ActRII-결합 조성물의 치료적 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 대상체의 생리학적 상태, 대상체가 인간인지 또는 동물인지의 여부, 투여되는 다른 의약, 및 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부를 비롯한 많은 상이한 인자에 따라 달라진다. 보통, 대상체는 인간이지만, 트랜스제닉 포유류를 비롯한 비-인간 포유류가 또한 치료될 수 있다. 치료 투여량은 안전성 및 효험을 최적화하기 위해 당업자에게 알려진 일상적인 방법을 사용하여 역가될 수 있다.

[0324] ActRII-결합 단백질의 투여에 의해 특정 질환 또는 병태의 증상을 호전하는 것은 ActRII-결합의 투여에 기인하거나, 이와 연관될 수 있는 영구적인지 또는 일시적인지, 지속적인지 또는 순간적인지의 여부에 관계없이 임의의 경감을 지칭한다.

[0325] 본 개시내용은 또한 예를 들어, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태; 염증성, 자가면역, 심혈관, 폐, 근골격, 골격, 안구, 신경학, 또는 대사 질환 또는 병태; 비만; 상처 치유; 및 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체의 용도를 제공한다.

#### 병용 요법

[0327] 일부 실시양태에서, ActRII-결합 단백질(예컨대, 항-ActRII 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 이의 변이체 및 유도체)은 하나 이상의 다른 요법과 병용하여 투여된다. 이러한 요법은 추가적인 치료제뿐만 아니라 다른 의학적 개입을 포함한다. 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질과 병용하여 투여될 수 있는 예시적인 치료제는 항-SDI-섬유증제, 코르티코스테로이드, 항-염증제, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 안지오텐신 수용체 차단제, 이뇨제, 항당뇨병제, 면역 억압제, 화학요법제, 항-대사물질 및 면역조정인자를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 다양한 실시양태에서, ActRII-결합 단백질은 외과 절제술/제거 절차 이전, 동안 및/또는 이후에 대상체에 투여된다.

#### 진단

[0329] 본 개시내용은 또한 ActRII-매개된 질환 및 병태(예컨대, 근육 장애, 예컨대, 퇴행성 근육 질환, 근디스트로피, 근육 위축증 또는 근육 소모 장애; 섬유증 병태(예컨대, 간, 폐, 혈관 및/또는 안구 섬유증 병태, 예컨대, 심근 섬유증, 및 특발성 폐 섬유증(IPF)); 대사 질환(예컨대, 유형 II 당뇨병 인슐린 저항성, 고혈당 및 비만); 염증성 질환 또는 병태, 자가면역 질환, 심혈관 질환(예컨대, 올혈성 심부전 및 고혈압); 안구 질환, 예컨대, 연령-관련된 황반 변성; 폐 질환, 근골격 질환, 골격 질환, 예컨대, 골다공증; 신경학 질환; 상처 치유; 체중 손실; 및 암(예컨대, 암종, 골수종, 골-손실 유도암, 뇌하수체암 및 위장암))의 진단 동안 유용한 진단 방법을 제공하며, 이는 개체로부터의 단백질 조직 또는 체액에서 ActRII(예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB)의 발현 수준을 측정하고, 측정된 발현 수준을 정상 조직 또는 체액에서의 표준 ActRII(예컨대, ActRIIA 또는 ActRIIB) 발현 수준과 비교하여, 이에 의해 표준에 비해 ActRII 발현 수준의 증가가 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 본원에 제공된 바와 같은 전장 항-ActRIIB 항체 및 항원-결합 항체 단편에 의해 치료가능한 장애를 나타내는 단계를 포함한다.

[0330] 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII 항체(예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이의 변이체 및 유도체)는 당업자에게 알려진 전통적인 면역조직학 방법을 사용하여 생물학적 샘플에서 ActRII(예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA) 수준을 검정하는 데 사용될 수 있다(예컨대, Jalkanen, 등, *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen 등, *J. Cell Biol.* 105:3087-3096 (1987) 참고). ActRII 단백질(예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA) 발현을 검출하기에 유용한 다른 항체-기반 방법은 면역검정, 예컨대, 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA), 면역침전 또는 웨스턴 블로팅을 포함한다.

- [0331] "ActRII 단백질의 발현 수준을 검정하는"은 제1 생물학적 샘플에서 ActRII 단백질의 수준을 직접적으로 (예컨대, 절대적 단백질 수준을 결정하거나 추정함으로써) 또는 상대적으로 (예컨대, 제2 생물학적 샘플에서 질환 연관된 폴리펩티드 수준과 비교함으로써) 정성적으로 또는 정량적으로 측정하거나 추정하는 것으로 의도된다. 제1 생물학적 샘플에서 ActRII 단백질 발현 수준은 측정되거나 추정되고 표준 ActRII 단백질 수준과 비교될 수 있으며, 표준은 장애를 갖지 않는 개체로부터 수득된 제2 생물학적 샘플로부터 취해지거나 장애를 갖지 않는 개체의 집단으로부터 수준을 평균화함으로써 결정된다. 당업계에서 인식되는 바와 같이, 일단 "표준" ActRII 단백질 수준이 알려지면, 이것은 비교를 위한 표준으로서 반복적으로 사용될 수 있다.
- [0332] "생물학적 샘플"은 개체, 세포주, 조직 배양액, 또는 ActRII를 잠재적으로 발현하는 세포의 다른 공급원으로부터 수득된 임의의 생물학적 샘플로 의도된다. 포유류로부터의 조직 생검 및 체액을 수득하기 위한 방법은 당업계에 알려져 있다.
- [0333] **ActRII-결합 단백질을 포함하는 키트**
- [0334] 본 개시내용은 적합한 패키징에서 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRII에 특이적으로 결합하는 항체, 예컨대, 전장 ActRII-항체 및 ActRII-결합 항체 단편, 및 이들의 변이체 및 유도체), 및 본원에 기재된 방법을 수행하는데 사용될 수 있는 서면 자료를 포함하는 키트를 추가로 제공한다. 서면 자료는 다음의 정보 중 임의의 것을 포함할 수 있다: 사용 설명서, 임상 연구의 논의, 부작용 목록, 과학 문헌 참조문헌, 패키지 삽입 재료, 임상 시험 결과 및/또는 이들의 요약 등. 서면 자료는 조성물의 활성 및/또는 이점을 나타내거나 확립할 수 있고/있거나 투약, 투여, 부작용, 약물 상호작용, 또는 건강 관리 제공자에게 유용한 다른 정보를 기재할 수 있다. 이러한 정보는 다양한 연구, 예를 들어, 생체내 모델을 수반하는 실험 동물을 사용한 연구 및/또는 인간 임상 시험에 기반한 연구의 결과에 기반할 수 있다. 키트는 다른 요법 (예컨대, 다른 약제) 및/또는 서면 자료, 예컨대, 다른 요법 (예컨대, 다른 약제)에 관한 정보를 제공하는 역할을 하는 위에 기재된 것을 추가로 함유할 수 있다.
- [0335] 특정 실시양태에서, 키트는 하나 이상의 용기에서 하나 이상의 정제된 ActRII-결합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 모든 대조군, 검정 수행 방향 및/또는 결과의 분석 및 제시를 위한 임의의 필요한 소프트웨어를 포함하여, 검출 검정을 수행하는데 필요한 및 충분한 모든 구성요소를 함유한다.
- [0336] **면역검정**
- [0337] ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRII에 특이적으로 결합하는 항체 및 ActRII에 특이적으로 결합하는 항체의 ACTRIIA/B-결합 단편, 및 이들의 변이체 또는 유도체)은 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해 면역특이적 결합에 대해 검정될 수 있다. 사용될 수 있는 면역검정은 웨스턴 블로트, 방사면역검정 (REA), ELISA (효소 연결된 면역흡착 검정), "샌드위치" 면역검정, 면역침전 검정, 침전소 반응, 겔 확산 침전 반응, 면역확산 검정, 응집 검정, 보체-고정 검정, 면역방사 검정, 형광 면역검정, 또는 단백질 A 면역검정과 같은 기술을 사용한 경쟁적 및 비-경쟁적 검정 시스템을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 검정은 일상적이며, 당업계에 알려져 있다 (예컨대, Ausubel 등, eds, (1994) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, Inc., NY) Vol. 1을 참고하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용됨).
- [0338] 본원에 제공된 ActRII-결합 단백질 (예컨대, ActRII에 특이적으로 결합하는 항체 및 ActRII에 특이적으로 결합하는 항체의 ActRII-결합 단편, 및 이들의 변이체 또는 유도체)은 ActRII (예컨대, ActRIIB 및 ActRIIA) 또는 이의 보존된 변이체 또는 펩티드 단편의 인 시츄(*in situ*) 검출을 위해, 면역형광, 면역전자 현미경검사 또는 비-면역학적 검정에서와 같이 조직학적으로 사용될 수 있다. 인 시츄 검출은 당업계에 알려진 방법에 따라 완수 할 수 있다. 당업자는 일상적인 실험을 사용함으로써, 각각의 결정을 위한 작업 조건 및 최적 검정 조건을 결정 할 수 있을 것이다. ActRII-결합 단백질의 결합 특징 결정에 적합한 방법은 본원에 기재되거나 그렇지 않으면 당업계에 알려져 있다. 이러한 동역학 분석을 위해 설계된 설비 및 소프트웨어는 상업적으로 이용가능하다 (예컨대, BIACORE®, BIAevaluation® 소프트웨어, GE Healthcare; KINEXA® 소프트웨어, Sapidyne Instruments).
- [0339] 달리 지시되지 않는 한, 본 개시내용의 실시는 당업계의 내에 있는, 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 트랜스제닉 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 통상적인 기술을 사용한다.
- [0340] 다음 실시에는 제한이 아닌 예시의 방식에 의해 제공된다.
- [0341] **실시예**
- [0342] 구체적인 실시양태의 전술한 설명은 본 개시내용의 일반적인 성질을 충분히 드러낼 것이며, 다른 사람들은 본 기술 분야 내의 지식을 적용함으로써, 과도한 실험 없이, 본 개시내용의 일반적인 개념으로부터 벗어나지 않으

면서, 이러한 구체적인 실시양태를 다양한 응용을 위해 용이하게 변형 및/또는 적응할 수 있을 것이다. 따라서, 이러한 적응 및 변형은 본원에 제시된 교시 및 지침에 기반하여, 개시된 실시양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 본원의 어법 또는 전문용어는 제한이 아닌 설명을 목적을 위한 것이며, 본 명세서의 전문용어 또는 어법이 교시 및 지침에 비추어 당업자에 의해 해석되도록 이해된다.

[0343] 본 개시내용의 폭 및 범주는 위에 기재된 예시적인 실시양태 중 임의의 것에 의해 제한되지 않아야 하고, 다음의 청구범위 및 이들의 등가물에 따라서만 정의되어야 한다.

[0344] 본 출원에서 인용된 모든 공개물, 특히, 특히 출원 및/또는 다른 문서는 각각의 개별 공개물, 특히, 특히 출원 및/또는 다른 문서가 모든 목적을 위해 참조로 원용되도록 개별적으로 표시되는 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 전체적으로 참조로 원용된다.

#### 실시예 1. ActRII-결합 항체의 선택, 특징 및 생산

[0346] 다중-라운드 선택 절차를 사용하여, 높은 친화도로 ActRII에 결합하고, 인간 ActRII에 대한 결합에 대해 액티빈 A와 경쟁하는 인간 IgG 항체를 선택하였으며, 이는 하기에 상세히 설명된다.

#### 재료 및 방법

[0348] 항원 (ActRIIA, ActRIIB, ActRIIA-Fc 및 ActRIIB-Fc)을 Pierce로부터의 EZ-링크 설포-NHS-비오틴화 키트를 사용하여 비오틴화하였다. 염소 항-인간 F(ab')<sub>2</sub> 카파-FITC (LC-FITC), 엑스트라비딘-PE (EA-PE) 및 스트렙타비딘-633 (SA-633)을 각자 Southern Biotech, Sigma 및 Molecular Probes로부터 수득하였다. 스트렙타비딘 마이크로비드 및 MACS LC 분리 칼럼을 Miltenyi Biotec로부터 구입하였다.

#### 나이브 발견

[0350] 8 개의 나이브 인간 합성 효모 라이브러리 각각 ~10<sup>9</sup> 개의 다양성을 이전에 기재된 바와 같이 증식시켰다 (예컨대, WO09/036379호; WO10/105256호; WO12/009568호 참고). 제1~2 개의 라운드의 선택을 위해, Miltenyi MACs 시스템을 활용하는 자성 비드 분류 기술을 기재된 바와 같이 수행하였다 (예컨대, Siegel 등, *J. Immunol. Meth.* 286(1-2):141-153 (2004) 참고). 간략하면, 효모 세포 (~10<sup>10</sup> 개의 세포/라이브러리)를 3 mL의 10 nM 비오틴화된 단량체 ActRII-Fc 항원 (ActRIIB-Fc 또는 ActRIIA-Fc)과 함께 15 분 동안 실온에서 FACS 세척 완충액 (포스페이트-완충된 식염수 (PBS)/0.1% 소 혈청 알부민 (BSA)) 중에서 항온처리하였다. 50 mL 얼음-냉각 세척 완충액으로 1 회 세척한 후, 세포 펠릿을 40 mL 세척 완충액 중에 재현탁하고, 스트렙타비딘 마이크로비드 (500 μL)를 효모에 첨가하고, 15 분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 다음으로, 효모를 펠릿화하고, 5 mL 세척 완충액 중에 재현탁하고, Miltenyi LS 칼럼에 로딩하였다. 5 mL를 로딩한 후, 칼럼을 3 mL FACS 세척 완충액으로 3 회 세척하였다. 이어서, 칼럼을 자기장으로부터 제거하고, 효모를 5 mL의 성장 배지로 용리시킨 다음, 밤새 성장시켰다. 그 다음 라운드의 분류를 유세포분석법을 사용하여 수행하였다. 대략적으로 1×10<sup>8</sup> 개의 효모를 펠릿화하고, 세척 완충액으로 3 회 세척하고, 실온에서 평형 조건 하에서 비오틴화된 단량체 또는 ActRII-Fc 융합 항원의 농도를 (100에서 1 nM로) 감소시키면서 항온처리하였다. 이어서, 효모를 2 회 세척하고, LC-FITC (1:100 희석됨) 및 SA-633 (1:500 희석됨) 또는 EA-PE (1:50 희석됨) 이차 시약 중 어느 하나로 15 분 동안 4°C에서 염색하였다. 얼음-냉각 세척 완충액으로 2 회 세척한 후, 세포 펠릿을 0.4 mL 세척 완충액 중에 재현탁하고, 스트레이너-캡핑된 분류 튜브로 옮겼다. 분류를 FACS ARIA 분류기 (BD Biosciences)를 사용하여 수행하고, 분류 게이트를 배정하여, 배경 대조군과 비교하여 특이적인 바인더를 선택하였다. CHO 세포로부터의 가용성 막 단백질을 활용하여 비-특이적 시약 바인더의 수를 저하시키기 위해 (예컨대, WO14/179363호 및 Xu 등, *Protein Eng. Des. Sel.* 26(10):663-670 (2013) 참고), 및 ActRII-Fc (각자 ActRIIB-Fc 및 ActRIIA-Fc 항원)를 사용하여 ActRII (ActRIIB 또는 ActRIIA)에 대해 개선된 친화도를 갖는 바인더를 식별하기 위해 후속 라운드의 선택을 사용하였다. 최종 라운드의 분류 후, 효모를 플레이팅하고, 개별 콜로니를 특징 및 친화도 성숙을 위한 클론의 지명을 위해 골랐다.

#### 친화도 성숙

[0352] 다음의 3 개의 성숙 전략을 활용하여 나이브 클론의 결합 최적화를 수행하였다: 경쇄 다양화; CDRH 및 CDRH2의 다양화; 및 순차적 VH 및 VL 돌연변이유발의 수행.

[0353] 경쇄 다양화: 중쇄 플라스미드를 나이브 산출물 (위에 기재됨)로부터 추출하고, 1 × 10<sup>6</sup> 개의 다양성을 갖는 경

쇄 라이브러리로 형질전환시켰다. 각자의 라운드에 대해 10 nM 또는 1 nM 비오틴화된 ActRII-Fc 항원 (ActRIIB-Fc 또는 ActRIIA-Fc)을 사용하여 하나의 라운드의 MACS 분류 및 2 개의 라운드의 FACS 분류를 사용하여 위에 기재된 바와 같이 선택을 수행하였다.

[0354] CDRH1 및 CDRH2 선택: 경쇄 다양화 절차로부터 선택된 클론으로부터의 CDRH3을  $1 \times 10^8$  개의 다양성의 CDRH1 및 CDRH2 변이체를 갖는 미리제조된 라이브러리에 재조합하고, 각자 ActRIIB 및 ActRIIA 항원을 사용하여 평행 선택을 수행하였다. 위에 기재된 바와 같음. 비오틴화된 항원-항체 효모 복합체를 최고 친화도 항체를 선택하기 위해 상이한 양의 시간 동안 비오틴화되지 않은 항원과 함께 항온처리함으로써 친화도 압력을 적용하였다.

[0355] VHmut/VKmut 선택: CDRH1 및 CDRH2 선택 절차로부터 수득된 클론을 중쇄 및/또는 경쇄의 실수 유발 PCR-기반 돌연변이유발을 통해 친화도 성숙의 추가적인 라운드에 적용하였다. 일반적으로 위에 기재된 바와 같지만 모든 선택 라운드를 위해 FACS 분류를 사용하는 것을 부가하여, 항원으로서 ActRIIB 또는 ActRIIA를 사용하여 선택을 수행하였다. 항원 농도를 저하시키고, 한랭 항원 경쟁 시간을 증가시켜, 최적의 친화도에 대해 추가로 압박하였다.

#### 항체 생산 및 정제

[0357] 추가의 특성화를 위한 충분한 양의 선택된 항체를 생산하기 위해, 효모 클론을 포화까지 성장시킨 다음, 진탕하면서 30°C에서 48 시간 동안 유도하였다. 유도 후, 효모 세포를 펠렛화하였고, 정제를 위해 상충액을 수화하였다. IgG는 단백질 A 컬럼을 사용하여 정제하였고, 아세트산, pH 2.0으로 용리시켰다. Fab 단편을 파파인 소화에 의해 생성하였고, KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences) 위에서 정제하였다.

#### ForteBio $K_D$ 측정

[0359] 선택된 항체의 ForteBio 친화도 측정을 일반적으로 이전에 설명한 바와 같이 수행하였다 (예컨대, Estep 등, *Mabs*, 5(2):270-278 (2013) 참고). 간단히 말하면, ForteBio 친화도 측정을 IgG를 AHQ 센서에 온-라인 로딩함으로써 수행하였다. 센서를 30 분 동안 검정 완충액에서 오프-라인 평형화한 다음, 기준선 확립을 위해 60 초 동안 온-라인 모니터링하였다. 로딩된 IgG를 포함하는 센서를 5 분 동안 100 nM 항원에 노출시키고, 그 후 이들을 오프-속도 측정을 위해 5 분 동안 검정 완충액으로 훔쳤다. 동역학은 1:1 결합 모델을 사용하여 분석하였다.

#### MSD-SET $K_D$ 측정

[0361] 선택된 항체의 평형 친화도 측정을 이전에 기재된 바와 같이 일반적으로 수행하였다 (Estep 등, *Mabs* 5(2):270-278 (2013)). 간략하면, 용액 평형 적정 (SET)을 10-100 pM에서 일정하게 유지되는 항원 (ActRIIB 단량체 또는 ActRIIA 단량체)을 갖는 PBS + 0.1% IgG-무함유 BSA (PBSF) 중에서 수행하고, 10 pM-10 nM에서 시작하는 Fab 또는 mAb의 3- 내지 5-배 연속 회석물과 함께 항온처리하였다. 항체 (PBS 중 20 nM)를 표준 결합 MSD-ECL 플레이트 상에 밤새 4°C에서 또는 실온에서 30 분 동안 코팅하였다. 이어서, 700rpm으로 진탕하면서 플레이트를 BSA에 의해 30 분 동안 차단하고, 이어서 세척 완충액 (PBSF + 0.05% 트윈 20)으로 3 회 세척하였다. SET 샘플을 플레이트 상에 적용하고, 700rpm에서 진탕하면서 150 초 동안 항온처리한 다음, 1 회 세척하였다. 플레이트 상에 포획된 항원을 3 분 동안의 플레이트 상에서의 항온처리에 의해 PBSF 중 250 ng/mL 설포태그-표지된 스트렙타비딘으로 검출하였다. 플레이트를 세척 완충액으로 3 회 세척한 다음, MSD 섹터 이미저 2400 기기 상에서 계면활성제를 포함하는 1x 판독 완충액 T를 사용하여 판독하였다. 유리(free) 항원 백분율을 프리즘 (Prism)에서 적정된 항체의 함수로서 플롯팅하고, 이차 방정식에 피팅하여,  $K_D$ 를 추출하였다. 처리량을 개선시키기 위해, 액체 취급 로봇을 SET 샘플 제조를 비롯한, MSD-SET 실험 전체에서 사용하였다.

#### Octet Red384 에피토프 비닝/리간드 차단

[0363] 선택된 항체의 에피토프 비닝/리간드 차단을 표준 샌드위치 포맷 교차-차단 검정을 사용하여 수행하였다. 대조군 항-표적 IgG를 AHQ 센서에 로딩하였고, 센서 상의 비점유된 Fc-결합 부위를 무관한 인간 IgG1 항체로 차단하였다. 이어서, 이들 센서를 100 nM 표적 항원, 그 이후에 제2 항-표적 항체 또는 리간드에 노출시켰다. 데이터를 ForteBio의 데이터 분석 소프트웨어 7.0을 사용하여 처리하였다. 항원 연관 후 제2 항체 또는 리간드에 의한 추가적인 결합은 비점유된 에피토프 (비-경쟁자)를 나타내는 반면, 결합 없음은 에피토프 차단 (경쟁자 또는 리간드 차단)을 나타낸다

#### 크기 배제 크로마토그래피

[0365] TSKgel SuperSW mAb HTP 컬럼 (22855)을 6 분/실행의 주기 시간으로 0.4 mL/분에서 효모-생산된 mAb의 빠른

SEC 분석에 사용하였다. 200 mM 소듐 포스페이트 및 250 mM 소듐 클로라이드를 이동상으로서 사용하였다.

[0366] 동적 스캐닝 형광측정법

[0367] 10 uL의 20x 시프로 오렌지를 20 uL의 0.2-1 mg/mL의 mAb 또는 Fab 용액에 첨가하였다. RT-PCR 기기 (BioRad CFX96 RT PCR)를 각각의 온도에서 2 분 평형화로, 0.5°C 증분으로 40°C에서 95°C까지 샘플 플레이트 온도를 높리는 데(ramp) 사용하였다. 원(raw) 데이터에 대한 일차 도함수의 음성을 Tm을 도출하는데 사용하였다.

[0368] 전술한 분석에 기반하여, 바람직한 특성화를 갖는 나이브 ActRII-결합 항체의 서열을 확인하고, 위에 기재된 성숙 전략을 사용하여 결합 최적화에 대해 선택하였다.

[0369] 생성된 예시적인 나이브 ActRII-결합 단백질은 표 1에 제시된 K01, L01, N01 및 P01이다. 생성된 예시적인 최적화된 ActRII-결합 단백질은 표 1에 제시된 J01 및 M01이다.

[0370] 실시예 2. ActRII-결합 나이브 항체 및 최적화된 항체의 특성화

[0371] 이전 실시예에 따라 생성된 예시적인 나이브 ActRII-결합 단백질 및 결합 최적화된 ActRII-결합 단백질을 서열, SPR 및 세포-기반 리포터 검정 분석에 의해 추가로 특성화하였다.

[0372] 실시예 1에 기재된 방법에 따라 생성된 예시적인 나이브 ActRII-결합 항체 및 결합 최적화된 ActRII-결합 항체의 서열은 표 1에 제시된다 (예시적인 CDR 서열은 밑줄 그어져 있다).

[0373] 표 1: 예시적인 ActRII-결합 단백질

*ActRIIB-결합 항체*

K01	
VH	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGAAGTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCACCTGC ACTGTCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACTCTGGGCTGGATTCCACCTCAAGCCCCAGGG AGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTCTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGCTCCCTCAAGA GTCGAGTCACCATATCCGAGACACGCTCAAAGAACAGCTCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGC CGCAGACACGGCGGTGACTACTGCGCCAGAGACAGAGTGGAGATACTGGAAATGGACGTATGGGCCA GGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA (서열번호 19)
VH QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTVIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTVAYYCARDSLRYGMVDWVGQTTVTVVSS (서열번호 20)	
CDR1: GSISSSYYWG (서열번호 21)	
CDR2: SISYSGSTYYNPSLKS (서열번호 22)	
CDR3: ARDSLRYGMDV (서열번호 23)	
ABR1: GSISSSYYWG (서열번호 24)	
ABR2: WIGSISYSGSTYY (서열번호 25)	
ABR3: RDSLRYGMDV (서열번호 26)	
H	
CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGAAGTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCACCTGC ACTGTCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACTCTGGGCTGGATTCCACCTCAACCCGCTCCCTCAAA GAGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTCTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGCTCCCTCAAA GAGTCGAGTCACCATATCCGAGACACGCTCAAAGAACAGCTCTGAAGCTGAGTTCTGTGAC CGCCGAGACACGGCGGTGACTACTGCGCCAGAGACAGTTGAGATACGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAAACACGGTACCGTCTCTCAAGCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCTGGCAC CCTCTCTCAAGAGCACCTGGGGGACAGCGGGCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCC AACCGGTGACGGTGTGGAACCTGAGCGCCCTGACCAAGGGCGTGCACACCTCCCGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTGGGACCC AGACACTACATGCAACACTGAAACAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAAGAGAGTTGAGGCC AAATCTGTGACAAAACATCACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCA GTCTCCCTCTCCCCCCTAAACCCAAGGGACACCCCTATGATCTCCGACCCCTGAGGTACATGC GTGGTGTGGAGCTGAGCGCAAGACCTGAGGTCAAGGTTACGTGGACGGCGTGG GGTGCATAATCGCAAGACAAGCGGGAGGAGGAGCAGTACACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGG TCCCTACCGCTCTGCAACCGAGACTGGCTGAATGGCAAGGGTACAATGCAAGGTCTCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCCTCCTAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGT GTACACCTGCCCCCATCGGGAGGAGGAGGAGCAAGAACAGGTGACCTGCTGGCTGGTCA AAGGCTCTATCCCAGCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGAC AAGAGCAGGGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGAGGCTCTGCACAAACCA CTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTAAATGA (서열번호 27)	
H QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTVIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTVAYYCARDSLRYGMVDWVGQTTVTVVSS (서열번호 28)	
V L GACATCGTGTGAGCCAGCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCCAGAGGGCCACCATCAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTITATACAGCTCAACAAATAAGAACACTTGTGGTACCGCAG AAACCAAGGACAGCCTCTAACGCTGTCTATTACTGGGCTACTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGAC CGATTCACTGTCAGCAGGGCTGGGAGCAGATTCTACTCACCATCAGCAGCTGCAGCTGAAGAT GTGGCAGTTTAACTGTCAGCAGTACGCCCTGCCCTCTAGGACTTTGGGGAGGGACCAAG GTTGAGATCAA (서열번호 29)	
VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPLIYWASTRESGVPDFRS GSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYALAPPRTFGGGTKVEIK (서열번호 30)	

[0374]

	CDR1: KSSQSVLYSSNNKNYLA (서열번호 31)
	CDR2: WASTRES (서열번호 32)
	CDR3: QQYALAPPRT (서열번호 33)
	ABR1: QSVLYSSNNKNYLA (서열번호 34)
	ABR2: LLIYWASTRES (서열번호 35)
	ABR3: QQYALAPPRT (서열번호 36)
L	GACATCGTAATGACTCAAAGCCCCGACAGTCTGGCGTGAGCTGGGGAGCGCGCTACAATCAA TTGTAAGTCAGTCAGTCTGTACTCTCTAACACAAGAATTACTGGCTGGTACCGAGCAG AAGCCCGGTCAAGGCCACCCAAACTGCTTACTGGGCATCTACTCGGGAAATCAGGAGTGCCTGAC AGGTTCAAGCAGGGAGTGTAGCGGAACCGATTAACTCCACCTAGGACCTTGGGGAGGCCAAAG GTGAAATCAAAGAACGTCAGCAGTCTGGCTCCACCTAGGACCTTGGGGAGGCCAAAG AGTCCGGCACCGCCTCTGGTGTCTGTGAACAACCTCTACCCGAGAGGCTAAGGTTCAAG TGGAAATGATAACGCACTGTAATTCTCAGGAGAGCGTTACAGAACAGGATAGCAA GGACAGCACATATTCACTGAGCAGTACCTCACCTGTAAGGCAGATTACGAAAAACACAAGG TATATGCTGCAAGTAACTCACCAAGGGACTCAGCAGTCCCCTGACAAAATCTTCAACCGAGGCG AATGCTAG (서열번호 37)
L	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPLIYWASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYALAPPRTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYEHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFRNGEC (서열번호 38)
L01	
VH	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGAAGTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGCTCTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGATCTCTATAGTGGGAGGACCTACTACAACCCGTCCTCA AGAGTCAGTCACCATATCGTAGACACGTCAGAACACAGTTCTCTGAAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCAGACACACGGCGGTACTACTGCCAGAGACAGTTGAGATACGGAATGGACGTATGG GCCAGGGAAACAATGTCACCGTCTCTCA (서열번호 19)
VH	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGSISSSYYWGWRQPPKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTVIS VDTSKNQFSLKLSVTAAADTVYYCARDSLRYGMDFVVGQGTTVTVSS (서열번호 20)
	CDR1: GSISSSYYWG (서열번호 21)
	CDR2: SISYSGSTYYNPSLKS (서열번호 22)
	CDR3: ARDSLRYGMDV (서열번호 23)
	ABR1: GSISSSYYWG (서열번호 24)
	ABR2: WIGSISYSGSTYY (서열번호 25)
	ABR3: RDLSLRYGMDV (서열번호 26)
H	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGAAGTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGCTCTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGATCTCTATAGTGGGAGGACCTACTACAACCCGTCCTCA AGAGTCAGTCACCATATCGTAGACACGTCAGAACACAGTTCTCTGAAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCAGACACACGGCGGTACTACTGCCAGAGACAGTTGAGATACGGAATGGACGTATGG GCCAGGGAAACAACGGTCACCGTCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTCCCTGGCA CCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGACAGCGGCCCTGGCTGCGTCAAGGACTACTCCCC GAACCGGTGACGGTGTGTTGAAACTCAGCGGCCCTGACCGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGCAC CCAGACCTACATGCAACCTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGGTGGACAAGAGAGTTGAGC CCAATCTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGTGACCGTGAACCTGAACCTCTGGGGACCG TCAGTCTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTAC TGCCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTCACCGTGTGGTC

[0375]

	AGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAA CAAAGCCCTCAGCCCCCATCAGAAAACCATCTCAAAGGGCAGCCCCGAGAACAC AGGTGTACACCTGCCCATCCGGAGAGATGACCAAGAACAGGTCAAGCTGACCTGCCTG GTCAAGGCTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACAA CTACAAGACCAAGCCTCCGTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGGGAAACGTCTCATGTCGGTGTGATGCAAGGCTGCACA ACCACTACACCGAGAAGAGCTCTCCCAGGGTAAATGA (서열번호 27)
H	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTVSSGSISSSYWGWIRQPPKGLEWISIYSGSTYYNPSLKSRT ISVDTSKNQFSKLSSVTAAADTAVYYCARDLRYGMDVWVGQGTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSNLTSVHFTPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICVNHN KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSITCLVKFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 28)
VL	GAAATAGTGACGCAGTCTCCAGGCCACCTGTCTGTGCTCCAGGGAAAGAGCCACCCCTCTCC TGCAGGGCCAGTCAGAGTTAGCAGCAACTTAGCCTGTGACAGCAGAAAACCTGGCAGGCTCCC AGGCTCTCATCTATGGTCATCCACCAAGGGCACTGGTATCCCAGGGCAGGTTAGTGGCAGTGGG TCTGGACAGACTCCTCACCATCAGCAGCCTGAGCTGAAGATTGCAAGTTAATACTGTC AGGTATAACATGCTGCCCTAGGACTTGGGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (서열번호 95)
VL	EIVMTQSPATLSPVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGST EFTLISSLQSEDFAVYYCQVYNNWPRTFGGGTKVEIK (서열번호 39)
	CDR1: RASQSVSSNLA (서열번호 40)
	CDR2: GASTRAT (서열번호 41)
	CDR3: QVYNVWPRT (서열번호 42)
	ABR1: QSVSSNLA (서열번호 43)
	ABR2: LLIYGASTRAT (서열번호 44)
	ABR3: QVYNVWPRT (서열번호 45)
L	GAAATGTCATGACGCCAGAGCCCAGCAACTCTCAGCGTTAGCCCAGGGAGAGCGCGCTACACTGTCT TGCAGAGCCTACAATCCGTGTCAGTAATCTCGTTGGTACAGCAAAGCCCGTCAAGCTCT CGGCTTCTCATCTATGGCGCAGTACTCTGCAACCGGCACTCTGCACGATCTCTGGGAGCGGAT CAGGAACAGAGTTCACTTACCATAGTAGCTGCAATCAGGAGATTGCAAGTCTATTACTGCCA AGTCTACAACGCTGGCAAGAACATTGGTGGCGCAACCAAGAGATCAAACGGACAGTAG CTGCACCCCTGTGTTTATATCCCTCCAGCGATGAGCAGCTGAAGTCTGGGACAGCTCAGTCG TTGCTTCTGAATAATTTTATCCCTCGCAGGGCAAGGTCAGTGGAAAGGTGATAACGCTCTCCAG TCAGGTAACTCAGGAGACTCGTGAGGAGCAGGATAGCAAGGATTCCACCTATTCCCTGAGCTCT ACTCTGACTCTGTCAAAGGCCATTACGAAAGCACAAGGTATGTCATGTGAGGTGACTCATCAG GGCCTGCTTCTCCAGTGACCAAGTCCTAACAGAGGGGAGTGCTGA (서열번호 46)
L	EIVMTQSPATLSPVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSTEF TLTISSLQSEDFAVYYCQVYNNWPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVIDFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFR NRGEC (서열번호 47)

M01	
VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCTG TGCAGCCTGGATTACCTTGGAGCTATGGCATGACTTGGTCCGCAGGCTCAGGGAAAGG GGCTGGAGTGGCTCTAGTTAGTGGAGTGGTGGTGGGACATACTACGCAGACTCCGTGAG GGCCGGTTACAATCTCAGAGACAATTCCAAGAACACCGTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCGGTGACTACTGCGCCAAGGGTCTAGAGTAGTGGGATGGATGTG GGCCAGGGAAACAAGTCACCGTCTCTCA (서열번호 48)
VH	EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFGSYGMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGGTYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGPRVVGMDWVQGTTVSS (서열번호 49)
	CDR1: SYGMT (서열번호 50)

[0376]

	CDR2: VISGSGGGTYYADSVKG (서열번호 51)
	CDR3: AKGPRVVGMDV (서열번호 52)
	ABRI: FTFGSYGMT (서열번호 53)
	ABR2: VISGSGGGTYYADSVKG (서열번호 54) 또는 WVSVISGSGGGTYY (서열번호 55)
	ABR3: AKGPRVVGMDV (서열번호 56) 또는 KGPRVVGMDV (서열번호 57)
VL	GACATCCAGATGCCAGCTTCCCATCTTCCGTGTCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCCCCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCGTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAGCTCTGATCTATGTCATCAGCTTGCAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGATTACACTCACCATCAGCAGCCTGAGCCTGAAGAATTITGCAACTTATTACTGTCAGCAGGTATTACGTACCCCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGGTIGAGATCAA (서열번호 58)
VL	DIQMTQSPSSVASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLIIYAASSLQSGVPSRFSQSGSGTDYTLLTISLQLQPEDFATYYCQQVFSYPLTFGGGTKVEIK (서열번호 59)
	CDR1: RASQGISSWLA (서열번호 60)
	CDR2: AASSLQS (서열번호 61)
	CDR3: QQVFSYPLT (서열번호 62)
	ABRI: QGISSWLA (서열번호 63)
	ABR2: LLIYAASSLQS (서열번호 64)
	ABR3: QQVFSYPL (서열번호 65)

No	
VH	CAGCTGCAGCTGCAGGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTACTACTGGGGCTGGATGCCAGCCCCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGAGTATGGGACTATCTCTATACTGGGGAGACCTACTAACCCGTCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCCTAGACAGCTCCAAGAACAGCTTCAGGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTG ACCGCCGAGACACGGGGTGTACTACTGCGCAGAGACAGTTGAGATAACGGATGGACGATG GGGCCAGGGAAACAACGGTCACCCCTCAGCCCTACCAAGGGCCCATCGCTTCCCCCTGG CACCTCTCCAAGACACCCTGGGGCAACAGGCCCTGGCTGCCCTGAAGGACTACTTC CCCGAACCGGTGACGGTGTGTTGAACTCAGGGCCCTGACCGCGCGTGCACACCTCCGGC TGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACGGTGCCTCCAGCAGCTGGG CACCCAGACCATCTGCAACGTAACATCACAGGCCAGCACACCAAGGGTGACAAGAGAGTT GAGGCCAAATCTTGACAAAACCTACATGCCACCGTGCCTGGCAGCTGAACACTCTGGGGGG ACCGTCAGTCTCTCTTCCCCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGT CACATCGCTGGTGTGGAGCTGAGGCCACAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACCTGGTACGTGGACG GGCTGGAGGTGCTATACTGCCAACAGAACGGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCTGGT
VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGSISSSSSYYWGWIROPPKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTVI SVDTSKNQFSKLSSLVTAAADTAVYYCARDLSRYGMMDVWVGQGTTVTVSS (서열번호 20)
	CDR1: GSISSSSSYYWG (서열번호 21)
	CDR2: SISYSGSTYYNPSLKS (서열번호 22)
	CDR3: ARDSLRYGMDV (서열번호 23)
	ABR1: GSISSSSSYYWG (서열번호 24)
	ABR2: WIGSISYSGSTYY (서열번호 25)
	ABR3: RDSLRYGMDV (서열번호 26)
H	CAGCTGCAGCTGCAGGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTACTACTGGGGCTGGATGCCAGCCCCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGAGTATGGGACTATCTCTATACTGGGGAGACCTACTAACCCGTCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCCTAGACAGCTCCAAGAACAGCTTCAGGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTG ACCGCCGAGACACGGGGTGTACTACTGCGCAGAGACAGTTGAGATAACGGATGGACGATG GGGCCAGGGAAACAACGGTCACCCCTCAGCCCTACCAAGGGCCCATCGCTTCCCCCTGG CACCTCTCCAAGACACCCTGGGGCAACAGGCCCTGGCTGCCCTGAAGGACTACTTC CCCGAACCGGTGACGGTGTGTTGAACTCAGGGCCCTGACCGCGCGTGCACACCTCCGGC TGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACGGTGCCTCCAGCAGCTGGG CACCCAGACCATCTGCAACGTAACATCACAGGCCAGCACACCAAGGGTGACAAGAGAGTT GAGGCCAAATCTTGACAAAACCTACATGCCACCGTGCCTGGCAGCTGAACACTCTGGGGGG ACCGTCAGTCTCTCTTCCCCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGT CACATCGCTGGTGTGGAGCTGAGGCCACAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACCTGGTACGTGGACG GGCTGGAGGTGCTATACTGCCAACAGAACGGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCTGGT

[0377]

	GGTCAGCGTCTCACCGTCGACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGGTCT CCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCCTCCAAAGGCCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGACACCCCTGCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCGGTGACCTGACCT GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGACAATGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCAAGCAGCCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGGCAGCAGGGAAACGTCTCATGTCGGATGATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCTGTCCCCGGTAAATGA (서열번호 27)
H	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSSYYWGIRQPQPKGLEWGISYSGSTYYNPSLKSRTVI SVDTKNQFLKLSSVTAAADTAVYYCARDSLRYGMDVWQGTTVTVSSASTKGPSPVFLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVWSNGALSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSLGTQTYICVNHNKP SNTKVDKRVEPKSCDRTHTCPPEAPELLGGPSVLFPPPKDITLMISRTPEVTVVVVDVSHEDPEVKF NWVYDGVEVNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG (서열번호 28)
VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGGACAGAGTCACCATCACTT GCCGGGCAGTCAGAGTATTGGTAGCTGGTGTGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA AGCTCTTGATCTATAAGCCTCCAGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGGGCAGGGCAGTGGAT CTGGGACAGAAATTCACCTCACCATCAGCAGCTGAGCCTGATGATTITGCAACTTAACTGCCA GGTATACGGCAGTTACTCTCTTAGGACTTGGCGAGGGACCAAGGTGAGATCAA (서열번호 66)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASQSIGSWLAQYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGTE FTLTISLQPDDFATYYCQVYGSYSPRTFGGKTKEIK (서열번호 67)
CDR1:	RASQSIGSWLA (서열번호 68)
CDR2:	KASSLES (서열번호 69)
CDR3:	QVYGSYSPRT (서열번호 70)
ABR1:	QSIGSWLA (서열번호 71)
ABR2:	LLIYKASSLES (서열번호 72)
ABR3:	QVYGSYSPR (서열번호 73)
L	GACATTAGATGACTCAATCCCCATCAACCTGAGTGCATCCGTGGGTGACCGCGTAACAAATTACA TGTGGGCCCTCCAAAAGCATCGTAGCTGGCTGGCATGGTACCCAGCAGAACGGCAGGTAAAGGCTCC TAAGCTCTGATCTATAAGGATCTCTCTGGAGCTGGGGTGCCTCTAGGTTTCAGGTTCAAGGC TCTGGCACAGAGTTACATTGACCATCTCTCTCTCAGCAGCAGACTTGTACATATTATTGCCC AGGTGTACGGGCATACCTCTCGGAGCTTCCGGCGGGAAACCAAGGTGAAATCACCGAC GTGGCTGACCCCTCGTGTITATTTCACCCCTCGACGAACAGCTGAAGTCCGGAAACGCCCTCC GTGGCTGCTCTCTAACATTCTCACCGAGGCAAAAGTGCAGTGGAAAGGGTGTAAACGCC CTTCAGAGTGGAAACTCTCAAGAGTCAGTAACCGAGCAGGACTCCAAGAACACTTACTTATTCCCTC AGCTCTACACTTACTTGAGTAAAGCTGACTACAGAAACATAAAAGTGTACGCCCTGCAGGGTGC CCATCAGGGCTTCCCTACCCCTGACAAATCATCAATAGAGCGAGTGTGA (서열번호 74)
L	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASQSIGSWLAQYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGTE FTLTISLQPDDFATYYCQVYGSYSPRTFGGKTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQEVSQEDSKDSTSYLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKS FNRGEC (서열번호 75)
P01	
VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCTGT GCAGCCTCTGGATTCACTTCTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGG CTGGAGTGGGCTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATCTACGAGACTCCGTGAAGGG CGGGTACCCATCTCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCTGAGAGC CGAGGACACGGGGTGTACTACTGCCAGACTTCTCAGTATTCAAGGCCCTCGACTATTGGGG ACAGGGTACATTGGTCAACCGCTCCCTCA (서열번호 76)
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIFTSSYAMSWRVRQAPGKGLEWVSAISGGGSTSYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLPQYSRPFYWGQGLTVSS (서열번호 77)

[0378]

	CDR1: GFTFSSY (서열번호 78)
	CDR2: AISGSGGSTSYADSVKG (서열번호 79)
	CDR3: ARLPQYSRPFDY (서열번호 80)
	ABR1: <u>FTFSSYAMS</u> (서열번호 81)
	ABR2: WVSAISGSGGSTSY (서열번호 82)
	ABR3: RLPOYSRPFDY (서열번호 83)
VL	GACATCCAGATGCCAGTCTCCATCTCCGTGTCATCTGAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCTGATCTGTCATCCAGTTGCAAAGTGCGTCCCATCAAGGTTCAAGGGCAGGGCAGTGGATCTGGAGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCTGCAGCCTGAAGAGATTTCACACTTACTGTCAGCAGGGACACAGTTCCCTCACTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAA (서열번호 84)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASOGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQGHSPPLTFGGGTKEIK (서열번호 85)
	CDR1: RASQGISSWLA (서열번호 86)
	CDR2: AASSLQS (서열번호 87)
	CDR3: QQGHSPPLT (서열번호 88)
	ABR1: QGISSWLA (서열번호 89)
	ABR2: LLIYAASSLQS (서열번호 90)
	ABR3: QQGHSPPL (서열번호 91)

**ActRIIB- 및 ActRIIA—결합 항체**

J01	
VH	CAGGTGCAGCTGGTCACTGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCACTGAGGTTTCTGCAAGGGCATCTGGATACACCTCGTACCGTACCGTACGGTGCAGCAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGAGATGGGATTATCTGCGCTAGTGGTTAGCAGCAAGCTACGGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGGAGACACGGCGGTGACTACTGCGCTAGAGTATCTAGGTACGCCAGAGCCAATGGACGTATGGGGCCAGGGAAACACTGTCACCGTCTCTCA (서열번호 1)
VH	QVQLVQSGAEVKPGAVSKVSKASGYTFTSYRHMHWVRQAPGQGLEWMGFIVPSGGSTSQAQKFQGRVTMTRDTSTVYMEMLSSLEDTAVYYCARVSRYAPEPMDVWQGQTTTVSS (서열번호 2)
	CDR1: SYRMH (서열번호 3)
	CDR2: FIVPSGGSTSQAQKFQG (서열번호 4)
	CDR3: VSRYAPEPMDV (서열번호 5)
	ABR1: YTFTSYRMH (서열번호 6)
	ABR2: FIVPSGGSTSQAQKFQG (서열번호 7) 또는 WMGFIVPSGGSTSQA (서열번호 8)
	ABR3: ARVSRYAPEPMDV (서열번호 9) 또는 RVSRYAPEPMDV (서열번호 10)
VL	GACATCCAGATGCCAGTCTCCATCTCCGTGTCATCTGAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTAGCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCTGATCTATGTCATCCAGTTGCAAAGTGCGTCCCATCAAGGTTCAAGGGCAGTGGATCTGGAGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCTGCAGCCTGAAGAGATTTCACACTTACTGTCAGCAGGCACTCTCCCACCCCTGGACTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAA (서열번호 11)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQAFSHPWTGGGTKEIK (서열번호 12)

[0379]

	CDR1: RASQGISRWLA (서열번호 13)
	CDR2: AASSLQS (서열번호 14)
	CDR3: QQAFSHPWT (서열번호 15)
	ABR1: QGISRWLA (서열번호 16)
	ABR2: LLIYAASSLQS (서열번호 17)
	ABR3: QQAFSHPWT (서열번호 18)

[0380]

[0381] SPR (BIACORE™-기반 분석) 및 세포-기반 리포터 검정을 사용하여, 표 1에 기재된 ActRII-결합 단백질의 결합을 보다 완전하게 특성화하였다.

[0382]

단량체 및 이합체 hActRIIB 및 hActRIIA에 결합하는 J01, K01, L01, M01, N01 및 P01 항체의 동역학 특성화를 표준 BIACORE®-기반 분석을 사용하여 37°C에서 수행하였다. 간략하면, 항체를 항-hFc IgG Biacore 칩 상에 포획하고, 상이한 농도의 이합체 및 단량체 ActRIIB 또는 ActRIIA를 포획된 항체 및 대조군 표면 위에 이중으로 주사하였다. 동역학 속도 상수를 수득하기 위해, 데이터를 이중 참조하고, BiaEvaluation 소프트웨어 (GE Healthcare)를 사용하여 1:1 상호작용 모델에 피팅하였다. 결합 속도 상수  $k_d/k_a$ 의 비에 의해 평형 결합 상수  $K_D$ 를 결정하였다.

[0383]

J01, K01, L01, M01, N01 및 P01 항체의 결합 파라미터 분석 결과는 표 2에 제시된다.

표 2: ActRIIB 및 ActRIIA에 결합하는 J01, K01, L01, M01, N01 및 P01 항체

mAb	ActRIIB 단량체			ActRIIB 이합체			ActRIIA 단량체			ActRIIA 이합체		
	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (pM)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (pM)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (pM)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (pM)
K01	$1.48 \times 10^5$	$2.37 \times 10^{-3}$	$1.60 \times 10^{-8}$	$1.04 \times 10^5$	$6.83 \times 10^{-4}$	$6.57 \times 10^{-9}$	테스트되지 않음			결합 없음		
L01	$9.21 \times 10^5$	$1.79 \times 10^{-2}$	$1.95 \times 10^{-8}$	$2.12 \times 10^5$	$3.65 \times 10^{-4}$	$1.72 \times 10^{-9}$	테스트되지 않음			결합 없음		
M01	$1.16 \times 10^6$	$8.72 \times 10^{-5}$	$7.55 \times 10^{-11}$	$3.04 \times 10^5$	$3.24 \times 10^{-5}$	$1.07 \times 10^{-10}$	테스트되지 않음			결합 없음		
N01	$4.16 \times 10^5$	$7.69 \times 10^{-3}$	$1.85 \times 10^{-8}$	$1.82 \times 10^5$	$3.35 \times 10^{-4}$	$1.84 \times 10^{-9}$	테스트되지 않음			결합 없음		
P01	결합 없음			$3.88 \times 10^5$	$1.45 \times 10^{-2}$	$3.74 \times 10^{-8}$	테스트되지 않음			결합 없음		
J01	$1.05 \times 10^6$	$2.20 \times 10^{-4}$	$2.09 \times 10^{-10}$	$4.52 \times 10^5$	$1.69 \times 10^{-5}$	$3.74 \times 10^{-11}$	$8.28 \times 10^5$	$2.59 \times 10^{-3}$	$3.13 \times 10^{-9}$	$4.84 \times 10^5$	$9.31 \times 10^{-5}$	$1.92 \times 10^{-10}$

[0386] J01, K01, L01, M01, N01 및 P01 항체 각각은 ActRIIB 및/또는 ActRIIA 단량체 및 이합체 결합에 대한 평형 해리 상수 (KD) 동역학 파라미터를 나타내었다.

[0387] ActRIIA의 ActRIIB 중화 능력을 293FT 세포의 CRISPE-Cas9 변형에 의해 수득된 F2.35 (IIA 녹아웃) 세포에서 세포-기반 액티빈 A 신호화 검정으로 평가하였다. 세포에 Smad2/3 반응 요소 pGL3(CAGA)12를 함유하는 실험적 루시퍼라제 리포터 플라스미드 및 대조군 루시퍼라제 리포터 플라스미드 pRL-CMV를 공동-형질주입하였다. 다음 날, mAb의 연속 희석물을 제조하고, 형질주입된 세포에 첨가하고, 30 분 동안 항온처리시킨 후, 활성화 인자, 예컨대, 액티빈 A를 추가적인 6 시간 항온처리 동안 첨가하였다 (최종 농도 5 ng/ml). 세포를 PBS 중에서 1x로 세척하고, 용해시키고, 제조사의 지침에 따라 듀얼-루시퍼라제 리포터 검정 시스템 (Promega)을 사용하여 검정하였다. 화학발광을 Infinite M200 플레이트 판독기를 사용하여 측정하였다. 실험적 리포터의 루시퍼라제 활성을 대조군 리포터로부터 수득된 루시퍼라제 활성을 의해 정규화하였다. 항-ActRIIA 중화 활성을 평가하기 위해, A204 세포를 동일한 리포터 유전자로 형질주입하였다. A204는 ActRIIA를 발현하고, 내인성 ActRIIB를 낮은 수준으로 발현한다. 형질주입된 세포를 위와 같이 검정하였다.

### 실시예 3. A204 세포에서의 리포터 유전자 검정

[0389] A204 세포에서의 리포터 유전자 검정을 사용하여, ActRII (예컨대, ActRIIB)를 중화시키는 ActRII-결합 단백질, 예컨대, 항-ActRII Fab 및 재조합 항체의 능력을 결정할 수 있다. 이러한 검정은 pGL3(CAGA)12 리포터 플라스미드 (Dennler 등, *EMBO* 17:3091-3100 (1998))뿐만 아니라 형질주입 효율을 위한 대조군에 대한 ReniUa 리포터 플라스미드 (pRLCMV)로 형질주입된 인간 횡문근육종 세포주를 기반으로 할 수 있다. CAGA12 모티프는 TGF-베타 반응성 유전자 (PAI-1 유전자)에 존재하여, 따라서 이러한 백터는 일반적으로 Smad2 및 Smad3을 통한 신호화 인자에 사용된다. A204 세포주는 ActRIIB보다는 주로 ActRIIA를 발현하기 때문에, 잠재적인 ActRIIB 중화 능력에 대해 항체를 직접 테스트하는 것이 가능하지 않다. 대신에, 이러한 검정은 ActRIIB 및 ActRIIA 둘 모두에 대해 높은 친화도로 결합할 수 있는 리간드 (예컨대, 액티빈 A, GDF11 또는 마이오스타틴)에 의해 내인성 ActRIIA의 활성화에 대한 가용성 융합 단백질 ActRIIB-Fc의 억제 효과를 중화시키는 테스트 물품의 능력을 검출하도록 설계될 수 있다.

[0390] 따라서, 이러한 검정에서, 항-ActRIIB Fab 또는 항체가 중화되는 경우 ActRIIB-Fc의 존재에도 불구하고 ActRIIA의 리간드-매개된 활성화가 발생할 것이다. 검정 제1 일차에, A204 세포 (ATCC HTB-82)를 웰당  $10^5$  개의 세포로 48-웰 플레이트에 분포시킨다. 제2 일차에, 10  $\mu$ g pGL3(CAGA)12, 1  $\mu$ g pRLCMV, 30  $\mu$ l Fugene 6 (Roche Diagnostics) 및 970  $\mu$ l OptiMEM (Invitrogen)을 함유하는 용액을 30 분 동안 사전항온처리한 다음, 맥코이 성장 배지를 첨가하고, 이를 실온에서 밤새 항온처리하기 위해 플레이팅된 세포 (500  $\mu$ l/웰)에 적용하였다. 제3 일차에, 배지를 제거하고, 세포를 6 시간 동안 37°C에서 하기에 기재된 바와 같이 제조된 리간드 및 억제제의 혼합물과 함께 항온처리하였다.

[0391] 테스트 ActRII-결합 단백질의 중화 효능을 평가하기 위해, 테스트 물품의 연속 희석물을 48-웰 플레이트에서 검정 완충액 (맥코이 배지 + 0.1 % BSA)의 200  $\mu$ l 부피로 제조하였다. 이어서, 검정 완충액 중의 동일 부피의 ActRIIB-Fc (200  $\mu$ g/ml)를 첨가하였다. 테스트 용액을 37°C에서 30 분 동안 항온처리한 다음, 400  $\mu$ l의

GDF11 (10 ng/ml) 또는 액티빈 A (10 ng/ml)를 모든 웰에 첨가하고, 350  $\mu$ l의 이 혼합물을 A204 세포의 48-웰 플레이트의 각각의 웰에 첨가하였다. 테스트 ActRII-결합 단백질의 각각의 농도를 이중으로 테스트하였다. ActRIIB-Fc의 최종 농도는 50 ng/ml (이는 액티빈 A의 최종 농도가 5 ng/ml인 경우 액티빈 A 신호화의 이러한 억제제에 대한 IC<sub>50</sub>임)이다. 테스트 용액과 6 시간 동안 항온처리한 후, 세포를 0.1% BSA를 함유하는 포스페이트-완충된 식염수로 헹군 다음, 능동 용해 완충액 (Promega E1 941)으로 용해시키고, 밤새 -70°C에서 저장하였다. 제4 일차 및 마지막 날에, 플레이트를 약하게 진탕하면서 실온까지 가온시켰다. 세포 용해물을 이중으로 화학발광 플레이트 (96-웰)로 옮기고, 루미노미터에서 듀얼-루시퍼라제 리포터 검정 시스템 (Promega E1 980)으로부터의 시약을 사용하여 분석하여, 정규화된 루시퍼라제 활성을 결정하였다. 테스트 물품 및 테스트 물품이 부재한 대조군 사이의 루시퍼라제 활성의 상이함은 테스트 물품의 존재로부터 기인된 세포 신호화의 상이함을 반영한다.

## 서 열 목 록

- <110> ACCELERON PHARMA INC.
  - <120> ACTIVIN TYPE 2 RECEPTOR BINDING PROTEINS AND USES THEREOF
  - <130> APH-00935
  - <140> KR 10-2021-7040678
  - <141> 2021-12-10
  - <150> PCT/US2020/035148
  - <151> 2020-05-29
  - <150> 62/854,625
  - <151> 2019-05-30
  - <160> 95
  - <170> PatentIn version 3.5
  - <210> 1
  - <211> 360
  - <212> DNA
  - <213> Artificial Sequence
  - <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
  - <400> 1
- |  |     |
|--|-----|
| cagggtgcagc tggtgcatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt  | 60  |
| tcctgcaagg catctggata caccttcacc tcgtaccgta tgcactgggt gcgcacaggcc | 120 |
| cctggacaag ggcttgagtg gatgggattt atcgtgccta gtggtggttag cacaagctac | 180 |
| gcacagaagt tccaggccag agtccccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac  | 240 |
| atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc tagagtatct  | 300 |
| aggtacgccc cagagccaaat ggacgtatgg ggccaggaa caactgtcac cgtctccctca | 360 |
|  | 360 |
- <210> 2
  - <211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Arg Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Phe Ile Val Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Val Ser Arg Tyr Ala Pro Glu Pro Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 3

Ser Tyr Arg Met His

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 4

Phe Ile Val Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 5

<211> 11

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 5

Val Ser Arg Tyr Ala Pro Glu Pro Met Asp Val

1	5	10
---	---	----

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 6

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Arg Met His

1	5
---	---

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 7

Phe Ile Val Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 8

<211> 15  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide  
<400> 8

Trp Met Gly Phe Ile Val Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala

1 5 10 15

<210> 9

<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide  
<400> 9

Ala Arg Val Ser Arg Tyr Ala Pro Glu Pro Met Asp Val

1 5 10

<210> 10

<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 10

Arg Val Ser Arg Tyr Ala Pro Glu Pro Met Asp Val

1 5 10

<210

> 11

<211> 321  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide  
<400> 11

gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc	60
atcaacttgtc gggcgagtca gggttattagc aggtggtag cctggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgct gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct	240

gaagatttg caacttatta ctgtcagcag gcattctccc accctggac tttggcggaa 300

gggaccaagg tttagatcaa a 321

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 12

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp

20	25	30
----	----	----

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35	40	45
----	----	----

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Phe Ser His Pro Trp

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100	105
-----	-----

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp Leu Ala

1	5	10
---	---	----

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 14

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 15

Gln Gln Ala Phe Ser His Pro Trp Thr

1 5

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 16

Gln Gly Ile Ser Arg Trp Leu Ala

1 5

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 17

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5 10

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 18

Gln Gln Ala Phe Ser His Pro Trp

1 5

<210> 19

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 19

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaagc cttcgagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggc ctccatcagc agtagtagtt actactgggg ctggatccgc 120

cagccccag ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct cctatagtgg gagcacctac 180

tacaaccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtac acacgtccaa gaaccagtcc 240

tccctgaagc tgagttctgt gaccggcga gacacggcgg tgtactactg cgccagagac 300

agtttgagat acggaatgga cgtatgggc caggaaacaa ctgtcaccgt ctcctca 357

<210> 20

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 20

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65                    70                    75                    80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
                       85                    90                    95  
 Cys Ala Arg Asp Ser Leu Arg Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly  
                       100                  105                  110  
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                       115

<210> 21  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 21  
Gly Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1                    5                    10  
<210> 22  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 22

Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1                    5                    10                    15  
<210> 23  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 23

Ala Arg Asp Ser Leu Arg Tyr Gly Met Asp Val

1                    5                    10  
<210> 24  
<211> 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 24

Gly Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5 10

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 25

Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 26

Arg Asp Ser Leu Arg Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 1350

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

&lt;400&gt; 27

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaagc cttcgagac cctgtccctc	60
acctgcactg tctcttgtgg ctccatcagc agtagtagtt actactgggg ctggattcgc	120
cagccccag ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct cctatagtgg gagcacctac	180
tacaaccgt ccctaagag tcgagtccacc atatccgtac acacgtccaa gaaccagttc	240
tccctgaagc tgagttctgt gaccgccgca gacacggcgg tgtactactg cgccagagac	300

agtggagat acggaatgga cgtatgggc caggaaaca cggtcaccgt ctccctagcc	360
tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctggggc	420

acagcggccc tggctgcct ggtcaaggac tactccccg aaccggtgac ggtgtcgtag	480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccg ctgtccata gtcctcagga	540
ctctactccc tcagcagcgt cgtgaccgt ccctccagca gcttggcac ccagacctac	600
atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtag acaagagagt tgagccaaa	660
tcttgtaca aaactcacac atgcccaccc tgcccaagcac ctgaactcct ggggggaccg	720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgcactcccg gacccttag	780
gtcacatgca tggtgtgga cgtgagccac gaagaccctg agtcaagtt caactggtag	840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	900
acgtaccgtg tggcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaaac catctccaa	1020
gccaaaggc agccccgaga accacagggt tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg	1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaaggct tctatccag cgacatgcgc	1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg	1200
gactccgacg gtccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1260

cagggaaacg tcitctcatg ctccgtatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1320
aagagcctct ccctgtcccc gggtaaatga	1350

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 449

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

&lt;400&gt; 28

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50	55	60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe		
65	70	75
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr		
85	90	95
Cys Ala Arg Asp Ser Leu Arg Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300

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

305                    310                    315                    320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325                    330                    335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340                    345                    350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355                    360                    365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370                    375                    380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385                    390                    395                    400

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

405                    410                    415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420                    425                    430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435                    440                    445

Lys

<210> 29

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 29

gacatcgta tgacctagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctggcga gagggccacc	60
atcaactgca agtccagcca gagtgttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct	120
tggtaccagg agaaaccagg acagcctct aagctgctca ttactggc atctaccgg	180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctacc	240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcagta cgccctgcc	300

cctccttagga ctttggcg aggaccaag gttgagatca aa 342

<210> 30

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 30

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20	25	30
----	----	----

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35	40	45
----	----	----

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50	55	60
----	----	----

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65	70	75	80
----	----	----	----

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Ile Lys

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 31

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

Ala

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 32

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 33

Gln Gln Tyr Ala Leu Ala Pro Pro Arg Thr

1 5 10

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 34

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 35

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5 10

<210> 36

<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide  
<400> 36

Gln Gln Tyr Ala Leu Ala Pro Pro Arg

1 5

<210> 37  
<211> 666

<

212> DNA

<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide  
<400> 37

gacatcgtaa tgactcaaag ccccgacagt ctggccgtga gcctggggga ggcgcgtaca	60
atcaattgtta agtccaggta gtctgttctg tactttcta acaacaagaa ttacttgct	120
tgttaccaggc agaagcccggtcagccaccc aaactgtctta tctactggc atctactcg	180
gaatcaggag tgcctgacag gttcagcggg agtggtagcg gaaccgattt taccctcacc	240
attagttctc ttcaaggctga ggatgttagct gtatactact gtcagcagta tgctctggct	300

ccaccttagga ccttggcgg aggccaccaag gtggaaatca aaagaaccgt cgccgcacca	360
tctgtttta tatttcccc tagtgacgag cagctgaagt ccggcaccgc ctctgtggct	420
tgcctgtga acaacttcta tcccccggag gctaagggttc agtggaaagt ggataacgca	480
ctgcaatctg gtaattctca ggagagcgtt acagaacagg atagcaagga cagcacat	540
tcactgagca gtaccctcac cttgtctaag gcagattacg aaaaacacaa ggtatatgcc	600
tgcgaagtaa ctaccaggactcagcgtt cccgtcacaa aatcttcaa ccgaggcgaa	660
tgctag	666

<210> 38  
<211> 221  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide  
<400> 38

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

1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser			
20	25	30	
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
35	40	45	
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val			
50	55	60	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
85	90	95	
Tyr Ala Leu Ala Pro Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu			
100	105	110	
Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser			
115	120	125	
Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn			
130	135	140	
Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala			
145	150	155	160
Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys			
165	170	175	
Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp			
180	185	190	
Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu			
195	200	205	
Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215	220	
<210>	39		
<211>	107		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide			

&lt;400&gt; 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Asn Val Trp Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 40

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 41

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

&lt;210&gt; 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 42

Gln Val Tyr Asn Val Trp Pro Arg Thr

1 5

<210> 43

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 43

Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 44

Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5 10

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 45

Gln Val Tyr Asn Val Trp Pro Arg

1 5

<210> 46

<211> 645

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

&lt;400&gt; 46

gaaatcgta tgaccagag cccagcaact ctcagcgta gcccaggaga ggcgcgtaca 60

ctgtttgca gagcctaca atccgtgtca agtaatctcg ctggtagcca gcaaaagccc 120

ggtaagctc ctcggcttct catctatggc gccagtagtc gtcaaccgg cattcctgca 180

cgattctcg ggagcggatc aggaacagag ttcaccctta ccatttagtag cctgcaatca 240

gaggattcg cagtctatta ctgccaagtc tacaacgtct ggccaagaac atttggtggc 300

ggcaccaaag tagagatcaa acggacagta gctgcacctt ctgtgtttat attccctccc 360

agcgatgagc agctgaagtc tggacagcc tcagtcgtt gccttctgaa taattttat 420

cctcgcgagg ccaaggtgca gtgaaaggc gataacgctc tccagtcagg taactcacag 480

gagtcgtga ccgagcagga tagcaaggat tccacctatt ccctgagctc tactctgact 540

ctgtcaaagg ccgattacga aaagcacaag gtctatgcat gtgaggtgac tcatcaggc 600

ctgtttctc cagtgaccaa gtccttcaac agaggggagt gctga 645

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

&lt;400&gt; 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Asn Val Trp Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 48

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 48

gaggtgcagc tttggagtc tggggaggc ttggtagcct ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtcagc cctctggatt caccttggg agctatggca tgacttggtt ccgcaggct 120

ccagggagg ggtctggatgt ggtctcagt attagtgaa gtgggtgg gacatactac 180

gcagactccg tgaaggccg gttcacaatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcggtgt actactgcgc caagggtcct 300

agagtagtgtt gcatggatgt gtggggccag ggaacaactg tcaccgtctc ctca 354

<210> 49

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 49

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr

20	25	30
----	----	----

Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
----	----	----

Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60
----	----	----

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
----	----	----

Ala Lys Gly Pro Arg Val Val Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Thr Val Thr Val Ser Ser

115
-----

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 50

Ser Tyr Gly Met Thr

1	5
---	---

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 51

Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 52

Ala Lys Gly Pro Arg Val Val Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 53

Phe Thr Phe Gly Ser Tyr Gly Met Thr

1 5

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 54

Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 55

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 55

Trp Val Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 56

Ala Lys Gly Pro Arg Val Val Gly Met Asp Val

1 5 10

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 57

Lys Gly Pro Arg Val Val Gly Met Asp Val

1 5 10

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 321

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

&lt;400&gt; 58

gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtccacc	60
atcaacttgtc gggcgagtca gggttattagc agctggtag cctggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgct gcatccagg tt tgcaaagtgg ggtcccatca	180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagagtttg caacttatta ctgtcagcag gtattcagg accctctcac ttttggcgg 300

gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20	25	30
----	----	----

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35	40	45
----	----	----

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Phe Ser Tyr Pro Leu

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100	105
-----	-----

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 60

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1	5	10
---	---	----

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 61

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 62

Gln Gln Val Phe Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 63

Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 64

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5 10

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 65

Gln Gln Val Phe Ser Tyr Pro Leu

1 5

<210> 66

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 66

gacatccaga tgaccaggc tccttccacc ctgtctgcatt ctgttaggaga cagagtacc	60
atcacttgcc gggccaggta gagtattggg agctgggtgg cctggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctctt gatctataaa gcctccagg tggaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gatgattttgc caacttatta ctgccaggta tacggcagg actctccttag gactttggc	300
ggagggacca agtttagat caaa	324

<210> 67

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 67

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Gly Ser Tyr Ser Pro  
 85 90 95  
 Arg Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
<210> 68  
<211> 11  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide  
<400> 68

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

<210> 69  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide  
<400> 69

Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 70  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 70  
Gln Val Tyr Gly Ser Tyr Ser Pro Arg Thr

1 5 10  
<210> 71  
<211> 8  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 71

Gln Ser Ile Gly Ser Trp Leu Ala

1 5

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 72

Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5 10

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 73

Gln Val Tyr Gly Ser Tyr Ser Pro Arg

1 5

<210> 74

<211> 648

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 74

gacattcaga tgactcaatc cccatcaacc ctgagtgcat ccgtgggtga ccgcgtaaca 60

attacatgtc gggctccca aagcatcggt agctggctgg catggtagcca gcagaaggcca 120

ggtaaggctc ctaagctcct gatctataag gcatcttcctc tggagcttgg ggtgccctct 180

aggtttcag gttcaggctc tggcacagag tttacattga ccatcttcctc tcttcagecca 240

gacgactttg ctacatatta ttgccaggtg tacgggtcat actcttcctcg gaccttcggc 300

ggcggaaacca aggtcgaaat caaacggaca gtggctgcac cctccgtgtt tattttcca 360

ccctccgacg aacagctgaa gtccggacc gcctccgtgg tctgccttct taacaattc 420  
 tatccacgag aggccaaagt gcagtggaaag gttgataacg cccttcagag tgaaaactct 480

caagagttag taaccgagca ggactccaaa gactctactt attcccttag ctctacactt 540  
 actttgagta aagctgacta cgagaaacat aaagtgtacg cctgcgaggt gaccatcag 600  
 gggcttcctt caccctgtac aaaatcattc aatagaggcg agtgctga 648

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 215

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

&lt;400&gt; 75

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Gly Ser Tyr Ser Pro

85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

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

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

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

210                          215

<210> 76

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 76

gagggtgcagc tttggagtc tgggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgagactc	60
tcctgtcgag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct	120
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgta gtggtagcacatctac	180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcggtgt actactgcgc cagacttct	300
cagtattcaa gcccttcga ctattggga caggatcat tggcacgt ctccca	357

<210> 77

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 77

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1                          5                          10                          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20                          25                          30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35                          40                          45

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

115

&lt;210&gt; 78

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 78

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

&lt;210&gt; 79

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 79

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 80

Ala Arg Leu Pro Gln Tyr Ser Arg Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 81

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 82

Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

&lt;400&gt; 83

Arg Leu Pro Gln Tyr Ser Arg Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt;

&gt; 84

&lt;211&gt; 321

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

&lt;400&gt; 84

gacatccaga tgaccttgc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc	60
atcacttgtc gggcgagtca gggattttgc agctggtag cctggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtc gcatccagg tgcaaagtgg ggtccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tggacagat ttcaactca ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagattttgc caacttatta ctgtcagcag ggacacagtt tccctctcac ttttggcgga	300

gggaccaagg ttgagatcaa a	321
-------------------------	-----

<210> 85

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 85

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20	25	30
----	----	----

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35	40	45
----	----	----

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100	105
-----	-----

<210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 86

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 87

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 88

Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 89

Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 90

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5 10  
<210> 91  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide  
<400> 91

Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu

1 5  
<210> 92  
<211> 513  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 92

Met Gly Ala Ala Ala Lys Leu Ala Phe Ala Val Phe Leu Ile Ser Cys

1 5 10 15

Ser Ser Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe  
20 25 30

Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu  
35 40 45

Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp  
50 55 60

Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu  
65 70 75 80

Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp

85 90 95

Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu  
100 105 110

Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn  
115 120 125

Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Tyr Tyr Asn Ile Leu Leu Tyr Ser Leu  
130 135 140

Val Pro Leu Met Leu Ile Ala Gly Ile Val Ile Cys Ala Phe Trp Val

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Tyr Arg His His Lys Met Ala Tyr Pro Pro Val Leu Val Pro Thr Gln

165	170	175
-----	-----	-----

Asp Pro Gly Pro Pro Pro Ser Pro Leu Leu Gly Leu Lys Pro Leu

180	185	190
-----	-----	-----

Gln Leu Leu Glu Val Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys

195	200	205
-----	-----	-----

Ala Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Ile Gln

210	215	220
-----	-----	-----

Asp Lys Gln Ser Trp Gln Asn Glu Tyr Glu Val Tyr Ser Leu Pro Gly

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Met Lys His Glu Asn Ile Leu Gln Phe Ile Gly Ala Glu Lys Arg Gly

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

Gly Ser Leu Ser Asp Phe Leu Lys Ala Asn Val Val Ser Trp Asn Glu

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

Glu Asp Ile Pro Gly Leu Lys Asp Gly His Lys Pro Ala Ile Ser His

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Asn Asn Leu Thr Ala

325	330	335
-----	-----	-----

Cys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Leu Lys Phe Glu Ala Gly Lys Ser

340	345	350
-----	-----	-----

Ala Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro

355	360	365
-----	-----	-----

Glu Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg

370	375	380
-----	-----	-----

Ile Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Ala Ser Arg

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

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

Ala Gly Met Ala Met Leu Cys Glu Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His  
 450 455 460  
 Asp Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Gly Glu Arg Ile Thr  
 465 470 475 480  
 Gln Met Gln Arg Leu Thr Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Ile Val Thr  
 485 490 495  
 Val Val Thr Met Val Thr Asn Val Asp Phe Pro Pro Lys Glu Ser Ser  
 500 505 510  
 Leu

<  
 210> 93  
 <211> 512  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 93

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

50 55 60  
 Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp  
 65 70 75 80  
 Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn

85	90	95
Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg		
100	105	110
Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro		
115	120	125
Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu		
130	135	140
Pro Ile Gly Gly Leu Ser Leu Ile Val Leu Leu Ala Phe Trp Met Tyr		
145	150	155
Arg His Arg Lys Pro Pro Tyr Gly His Val Asp Ile His Glu Asp Pro		
165	170	175
Gly Pro Pro Pro Ser Pro Leu Val Gly Leu Lys Pro Leu Gln Leu		
180	185	190
Leu Glu Ile Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys Ala Gln		
195	200	205
Leu Met Asn Asp Phe Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Leu Gln Asp Lys		
210	215	220
Gln Ser Trp Gln Ser Glu Arg Glu Ile Phe Ser Thr Pro Gly Met Lys		
225	230	235
240		
His Glu Asn Leu Leu Gln Phe Ile Ala Ala Glu Lys Arg Gly Ser Asn		
245	250	255
Leu Glu Val Glu Leu Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Asp Lys Gly Ser		
260	265	270
Leu Thr Asp Tyr Leu Lys Gly Asn Ile Ile Thr Trp Asn Glu Leu Cys		
275	280	285
His Val Ala Glu Thr Met Ser Arg Gly Leu Ser Tyr Leu His Glu Asp		
290	295	300
Val Pro Trp Cys Arg Gly Glu Gly His Lys Pro Ser Ile Ala His Arg		
305	310	315
320		
Asp Phe Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Ser Asp Leu Thr Ala Val		
325	330	335

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

340 345 350

Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu

355 360 365

Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg Ile

370 375 380

Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Val Ser Arg Cys

385 390 395 400

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

405 410 415

Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Glu Leu Gln Glu Val Val Val

420 425 430

His Lys Lys Met Arg Pro Thr Ile Lys Asp His Trp Leu Lys His Pro

435 440 445

Gly Leu Ala Gln Leu Cys Val Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His Asp

450 455 460

Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Glu Glu Arg Val Ser Leu

465 470 475 480

Ile Arg Arg Ser Val Asn Gly Thr Thr Ser Asp Cys Leu Val Ser Leu

485 490 495

Val Thr Ser Val Thr Asn Val Asp Leu Pro Pro Lys Glu Ser Ser Ile

500 505 510

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic 6xHis tag

<400> 94

His His His His His

1 5

<210> 95

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 95

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agcaacttag cctggtagca gcagaaacct	120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc	180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcaactctca ccatcagcag cctgcagtct	240
gaagatttt cagtttatta ctgtcaggta tacaatgtct ggcttaggac ttttggcgga	300
gggaccaagg ttgagatcaa a	321