

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 987 504**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/705** (2006.01)  
**C07K 16/22** (2006.01)  
**C07K 14/47** (2006.01)  
**C07K 16/28** (2006.01)  
**C07K 14/475** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 31/7088** (2006.01)  
**A61K 38/18** (2006.01)  
**G01N 33/53** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2017 PCT/US2017/021958**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.09.2017 WO17156488**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2017 E 17764253 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2024 EP 3426680**

54 Título: **Proteínas de unión al receptor de activina de tipo 2 y usos de las mismas**

30 Prioridad:

**10.03.2016 US 201662306354 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**15.11.2024**

73 Titular/es:

**ACCELERON PHARMA INC. (50.0%)**  
**128 Sidney Street**  
**Cambridge, MA 02139, US y**  
**ADIMAB, LLC (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KUMAR, RAVINDRA;**  
**BELK, JONATHAN;**  
**GRINBERG, ASYA;**  
**SAKO, DIANNE y**  
**CASTONGUAY, ROSELYNE**

74 Agente/Representante:

**ILLESCAS TABOADA, Manuel**

### Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 987 504 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Proteínas de unión al receptor de activina de tipo 2 y usos de las mismas

5 **Antecedentes**

La familia del factor de crecimiento transformante-beta (TGF-beta) contiene una variedad de factores de crecimiento que se sabe que ejercen efectos biológicos sobre una gran variedad de tipos de células tanto en vertebrados como en invertebrados. Los miembros de la familia de TGF-beta realizan funciones importantes durante el desarrollo embrionario en la formación de patrones y la especificación de tejidos y pueden influir en una variedad de procesos de diferenciación, incluyendo adipogénesis, miogénesis, condrogénesis, cardiogénesis, hematopoyesis, neurogénesis, y diferenciación de células epiteliales. La familia incluye proteínas que se describen de diferentes formas como factores de crecimiento y diferenciación (GDF), proteínas morfogenéticas óseas (BMP), activinas e inhibinas.

Los miembros de la familia de TGF-beta transducen señales a través de un mecanismo que incluye un procedimiento de múltiples etapas en el que el miembro de la familia de TGF-beta se une a un receptor de serina/treonina cinasa de tipo II expresado sobre la superficie celular, el receptor de tipo II forma un complejo heteromérico con un receptor de tipo I afín y activa el receptor de tipo I a través de fosforilación, el receptor de tipo I activado fosforila y activa proteínas Smad que transducen la señal desde el citoplasma hasta el núcleo, y los oligómeros nucleares de Smad se unen al ADN y se asocian con factores de transcripción para regular la expresión de genes diana.

Se han identificado dos miembros de la familia del receptor de TGF-beta de tipo II relacionados, ActRIIB y ActRIIA, como receptores de tipo II para activina A y activina B y otros miembros de la familia de TGF-beta incluyendo BMP7, BMP9, BMP10, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, y Nodal (Yamashita *et al.*, J. Cell Biol. 130:217-226 (1995); Lee *et al.*, PNAS 98:9306-9311 (2001); Yeo *et al.*, Mol. Cell 7:949-957 (2001); y Oh *et al.*, Genes Dev. 16:2749-54 (2002)). ALK4 y ALK7 son los principales receptores miembros de la familia del receptor de TGF-beta de tipo I para activina A y activina B, respectivamente. Lach-Triflieff *et al.*, MCB, 34:606-618 (2014), dan a conocer el AcM anti-ActRII bimagrumab, que se muestra que tiene una afinidad por ActRIIA de KD 434 pM y por ActRIIB de KD 0,3 pM.

Se han propuesto que las alteraciones en la expresión y la actividad de los miembros de las familias de receptores y ligandos de TGF-beta están asociadas con una variedad de trastornos y afecciones incluyendo trastornos y afecciones musculares, óseos, neurológicos y metabólicos, y cáncer. Un objeto de esta divulgación es proporcionar antagonistas de ActRII y usos de los mismos en el diagnóstico y tratamiento, la prevención y/o la mejora de una enfermedad o afección asociada con ligandos de ActRII y/o ActRII.

**Breve resumen**

La presente invención se define por las reivindicaciones. Por consiguiente, la presente invención se refiere a una proteína de unión a ActRII que comprende: (i) una VH que tiene la SEQ ID NO:165, y (ii) una VL que tiene la SEQ ID NO:172, en la que la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB.

Según una realización preferida, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo multispecífico, o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII.

Según una realización más preferida, el fragmento de anticuerpo de unión a ActRII se selecciona del grupo que consiste en un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fv, un diacuerpo, y una molécula de anticuerpo de cadena sencilla.

Según una realización preferida, el anticuerpo comprende además un dominio constante de inmunoglobulina de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en: (a) un dominio constante de IgA humana; (b) un dominio constante de IgD humana; (c) un dominio constante de IgE humana; (d) un dominio constante de IgG1 humana; (e) un dominio constante de IgG2 humana; (f) un dominio constante de IgG3 humana; (g) un dominio constante de IgG4 humana; y (h) un dominio constante de IgM humana.

Según otra realización preferida, el anticuerpo comprende además un dominio constante de inmunoglobulina de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en: (a) un dominio constante de Ig kappa humana; y (b) un dominio constante de Ig lambda humana.

Según una realización preferida, el anticuerpo comprende además un dominio constante de cadena pesada de IgG1 humana y un dominio constante de cadena ligera lambda humana.

La presente invención también se refiere a una molécula de ácido nucleico o un conjunto de moléculas de ácido

nucleico que codifica para una proteína de unión a ActRII de la invención.

La presente invención se refiere además a un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de la invención.

- 5 Además, la presente invención también se refiere a una célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico o el vector de la invención.

La presente invención también se refiere a un método de preparación de la proteína de unión a ActRII de la invención que comprende cultivar una célula huésped de la invención en condiciones adecuadas para producir la proteína de unión a ActRII.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

- 15 Además, la presente invención se refiere además a la composición farmacéutica de la invención para su uso como medicamento.

De manera similar, la presente invención se refiere a la composición farmacéutica de la invención para su uso en un método de tratamiento y/o mejora de una enfermedad o afección, en la que la enfermedad o afección es un miembro seleccionado del grupo que consiste en: una enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular, deterioro muscular, una afección fibrótica (una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular u ocular), fibrosis miocárdica, fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad metabólica, diabetes de tipo II, obesidad, enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad ocular, degeneración macular asociada a la edad, enfermedad cardiovascular, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión, enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética, osteoporosis, enfermedad neuromuscular, enfermedad degenerativa, cicatrización, y cáncer.

Finalmente, la presente invención se refiere a una proteína de unión a ActRII de la invención para su uso en un método de reducción de la actividad de ActRII en un sujeto que tiene un trastorno muscular, una afección metabólica, afección fibrótica del pulmón o el hígado, o cáncer.

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, a las composiciones farmacéuticas y a los medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

### 35 Breve descripción de los dibujos/figuras

Las figuras 1A-1N representan la caracterización cinética de la unión de anticuerpos de linaje A01 a hActRIIB y hActRIIA tal como se determina mediante análisis basado en BIACORE® a 37 °C. Se capturó hActRIIB o hActRIIA monomérico o dímérico sobre un chip y luego se expuso a concentraciones de anticuerpos de linaje A01. Las figuras 1A-1D representan la caracterización de la unión del anticuerpo A01 (original) a monómero de ActRIIB (figura 1A), dímero de ActRIIB (figura 1B), monómero de ActRIIA (figura 1C) y dímero de ActRIIA (figura 1D). Las figuras 1E y 1F representan la caracterización de la unión del anticuerpo B01 a monómero de ActRIIB (figura 1E) y dímero de ActRIIB (figura 1F). Las figuras 1G-1H representan la unión del anticuerpo C01 a monómero de ActRIIB (figura 1G) y dímero de ActRIIB (figura 1H). Las figuras 1I-1J representan la unión del anticuerpo D01 a monómero de ActRIIB (figura 1I) y dímero de ActRIIB (figura 1J). Las figuras 1K-1L representan la unión del anticuerpo E01 a monómero de ActRIIB (figura 1K) y dímero de ActRIIB (figura 1L). Las figuras 1M-1N representan la unión del anticuerpo F01 a monómero de ActRIIB (figura 1M) y dímero de ActRIIB (figura 1N).

La figura 2 representa la actividad neutralizante de anticuerpos de linaje A01 en un ensayo de gen indicador basado en células. Se incluyen respuestas de ensayo con activina A sola (2 ng/ml), y activina A combinada con 50 ng/ml de anticuerpos de linaje A01 A01, B01, C01, D01, E01 y F01.

Las figuras 3A-3F representan la caracterización cinética de la unión de los anticuerpos de linaje G02 a hActRIIB y hActRIIA tal como se determina mediante análisis basado en BIACORE® a 37 °C. Se capturó hActRIIB o hActRIIA monomérico o dímérico sobre un chip y luego se expuso al linaje G01. Las figuras 3A-3D representan la caracterización de la unión del anticuerpo G01 a monómero de ActRIIB (figura 3A), dímero de ActRIIB (figura 3B), monómero de ActRIIA (figura 3C) y dímero de ActRIIA (figura 3D). Las figuras 3E y 3F representan la caracterización de la unión del anticuerpo H01 a monómero de ActRIIB (figura 3E) y dímero de ActRIIB (figura 3F).

La figura 4 representa la actividad neutralizante de anticuerpos G01 original y H01 optimizado en un ensayo de gen indicador basado en células. Se incluyen respuestas de ensayo en ausencia de activina A, con activina A sola (2 ng/ml), y activina A combinada con 50 ng/ml de anticuerpos de linaje G01 G01 o H01.

Las figuras 5A-5P representan la caracterización cinética de la unión de los anticuerpos de linaje A02 a hActRIIB y hActRIIA tal como se determina mediante análisis basado en BIACORE® a 37 °C. Se capturó hActRIIB o hActRIIA

monomérico o dimérico sobre un chip y luego se expuso a anticuerpos de linaje A02. Las figuras 5A-5D representan la caracterización de la unión del anticuerpo A02 (original) a monómero de ActRIIB (figura 5A), dímero de ActRIIB (figura 5B), monómero de ActRIIA (figura 5C) y dímero de ActRIIA (figura 5D). Las figuras 5E-5H representan la caracterización de la unión del anticuerpo B02 a monómero de ActRIIB (figura 5E), dímero de ActRIIB (figura 5F), monómero de ActRIIA (figura 5G) y dímero de ActRIIA (figura 5H). Las figuras 5I-5L representan la caracterización de la unión del anticuerpo C02 a monómero de ActRIIB (figura 5I), dímero de ActRIIB (figura 5J), monómero de ActRIIA (figura 5K) y dímero de ActRIIA (figura 5L). Las figuras 5M-5P representan la caracterización de la unión del anticuerpo D02 a monómero de ActRIIB (figura 5M), dímero de ActRIIB (figura 5N), monómero de ActRIIA (figura 5O) y dímero de ActRIIA (figura 5P). Las figuras 5Q-5T representan la caracterización de la unión del anticuerpo D03 a monómero de ActRIIB (figura 5Q), dímero de ActRIIB (figura 5R), monómero de ActRIIA (figura 5S) y dímero de ActRIIA (figura 5T).

Las figuras 6A-6B representan la actividad neutralizante de anticuerpos de linaje A02 en un ensayo de gen indicador basado en células. Se incluyen respuestas de ensayo en ausencia de activina A, con activina A sola (2 ng/ml), y activina A combinada con 50 ng/ml de anticuerpos de linaje A02. La figura 6A representa la actividad neutralizante de A02 (original), B02, C02, y D02. La figura 6B representa la actividad neutralizante de D02 y D03.

Las figuras 7A-7F representan la caracterización cinética de la unión de anticuerpos E02 original y F02 variante a hActRIIB y hActRIIA tal como se determina mediante análisis basado en BIACORE® a 37 °C. Se capturó hActRIIB o hActRIIA monomérico o dimérico sobre un chip y luego se expuso a E02 y F02. Las figuras 7A-7D representan la caracterización de la unión del E02 original a monómero de ActRIIB (figura 7A), dímero de ActRIIB (figura 7B), monómero de ActRIIA (figura 7C) y dímero de ActRIIA (figura 7D). Las figuras 7E y 7F representan la caracterización de la unión del anticuerpo F02 a monómero de ActRIIB (figura 7E) y dímero de ActRIIB (figura 7F).

Las figuras 8A-8D representan la caracterización cinética de la unión del anticuerpo G02 a hActRIIB y hActRIIA tal como se determina mediante análisis basado en BIACORE® a 37 °C. Se capturó hActRIIB o hActRIIA monomérico o dimérico sobre un chip y luego se expuso a los anticuerpos anti-hActRII evaluados. Las figuras 8A-8D representan la caracterización de la unión del anticuerpo G02 a monómero de ActRIIB (figura 8A), dímero de ActRIIB (figura 8B), monómero de ActRIIA (figura 8C) y dímero de ActRIIA (figura 8D).

La figura 9 representa la actividad neutralizante de anticuerpos E02 original y F02 variante de unión a ActRIIB y anticuerpo G02 de unión a ActRIIA en un ensayo de gen indicador basado en células. Se incluyen respuestas de ensayo en ausencia de activina A, con activina A sola (2 ng/ml), y activina A combinada con 50 ng/ml de anticuerpo E02, F02, o G02.

### Descripción detallada

Aunque la presente invención se define por las reivindicaciones, la divulgación generalmente proporciona proteínas de unión a ActRII recombinantes aisladas. En determinados aspectos, las proteínas de unión a ActRII se unen específicamente a ActRIIB y/o ActRIIA. En aspectos adicionales, las proteínas de unión a ActRII son anticuerpos anti-ActRII. También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican para las proteínas de unión a ActRII, vectores y células huésped que contienen los ácidos nucleicos, y métodos de preparación y uso de las proteínas de unión a ActRII. Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas tienen usos en el diagnóstico, el tratamiento y/o la mejora de enfermedades y afecciones asociadas con la expresión y/o señalización de ActRII aumentadas. Tales usos incluyen, pero no se limitan a, prevención y/o mejora de trastornos musculares tales como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular, tal como fibrosis miocárdica y fibrosis pulmonar idiopática (FPI)); enfermedad metabólica (por ejemplo, diabetes de tipo II y obesidad); enfermedades o afecciones inflamatorias, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad cardiovascular (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva e hipertensión); enfermedad ocular tal como degeneración macular asociada a la edad; enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética, enfermedad neurológica, tal como osteoporosis; cicatrización; pérdida de peso; y cáncer (por ejemplo, un carcinoma, mieloma, un cáncer inductor de disminución de la masa ósea, cáncer hipofisario y cáncer gastrointestinal).

### Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la técnica con la que está relacionada esta divulgación. Por ejemplo, The Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2ª ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3ª ed., 1999, Academic Press; y The Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, revisado, 2000, Oxford University Press, proporcionan a un experto un diccionario general de muchos de los términos usados en esta divulgación. Los encabezados proporcionados en el presente documento no son limitaciones de los diversos aspectos que pueden tenerse por referencia a la memoria descriptiva en su conjunto. Además, los términos definidos inmediatamente a continuación se definen más completamente por referencia a la memoria descriptiva en su totalidad.

Los términos “un”, “una” y “el/la” incluyen los referentes en plural a menos que el contexto en el que se usa el término dicte claramente lo contrario. Los términos “un” (o “una”), así como los términos “uno o más” y “al menos uno” pueden usarse indistintamente en el presente documento. Además, “y/o” cuando se usa en el presente documento debe tomarse como una divulgación específica de cada una de las dos o más características o componentes especificados con o sin los otros. Por tanto, se pretende que el término “y/o” tal como se usa en una expresión tal como “A y/o B” en el presente documento incluya “A y B”, “A o B”, “A” (solo), y “B” (solo). Del mismo modo, se pretende que el término “y/o” tal como se usa en una expresión tal como “A, B y/o C” abarque cada uno de los siguientes aspectos: A, B, y C; A, B, o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

El término “comprender” se usa generalmente en el sentido de incluir, es decir, permite la presencia de una o más características o componentes. Siempre que se describan aspectos en el presente documento con el lenguaje “que comprende”, también se proporcionan aspectos por lo demás análogos descritos en términos de “que consiste en” y/o “que consiste esencialmente en”.

Los términos “aproximadamente” y “de manera aproximada” tal como se usan en relación con un valor numérico a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones indican un intervalo de precisión, familiar y aceptable para un experto en la técnica. En general, tal intervalo de precisión es de  $\pm$  el 10 %. Alternativamente, y particularmente en sistemas biológicos, los términos “aproximadamente” y “de manera aproximada” pueden significar valores que están dentro de un orden de magnitud, preferiblemente  $\leq 5$  veces y más preferiblemente  $< 2$  veces de un valor dado.

Los intervalos numéricos son inclusivos de los números que definen el intervalo.

Una proteína de unión a ActRII se refiere a una proteína que se une específicamente a ActRII (es decir, ActRIIB y/o ActRIIA), preferiblemente que se une al dominio extracelular de ActRII.

Los términos “receptor de activina de tipo II” y “ActRII” se usan indistintamente y se refieren al receptor de activina de tipo IIA (ActRIIA) y/o al receptor de activina de tipo IIB (ActRIIB) a menos que el contexto en el que se usa el término dicte claramente lo contrario.

Los términos “receptor de activina de tipo IIA”, “receptor ActRIIA” y “ActRIIA” se usan indistintamente en el presente documento, y se refieren a ActRIIA (también denominado ACVR2A, ActRIIA, ActRII y EC 2.7.11.30 en la bibliografía). La secuencia de referencia para ActRIIA humana se proporciona en RefSeq NO:NP\_001607.1. Las proteínas de unión a ActRIIA proporcionadas se unen al dominio extracelular de ActRIIA correspondiente a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:138.

Los términos “receptor de activina de tipo IIB”, “receptor ActRIIB” y “ActRIIB” se usan indistintamente y se refieren a ActRIIB (también denominado ACVR2B, ActRIIB, HTX4, receptor ErbB3 y EC 2.7.11.30 en la bibliografía). La secuencia de referencia para ActRIIB humana se proporciona en RefSeq NO:NP\_001097 del NCBI. Las proteínas de unión a ActRIIB proporcionadas se unen al dominio extracelular de ActRIIB correspondiente a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:139.

El término “compiten” o “compite” cuando se usa en el contexto de proteínas de unión a ActRII (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) significa competición entre proteínas de unión a antígeno tal como se determina mediante un ensayo en el que la proteína de unión a antígeno (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII o un fragmento de unión a ActRII del mismo) sometida a prueba impide o inhibe la unión específica de una proteína de unión a antígeno de referencia (por ejemplo, un ligando, o un anticuerpo de referencia) a un antígeno común (por ejemplo, un dominio extracelular de ActRIIA o ActRIIB o un fragmento del mismo). Pueden usarse numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo (RIA) directo o indirecto en fase sólida (véanse, por ejemplo, Moldenhauer *et al.*, Scand. J. Immunol. 32:77-82 (1990) y Morel *et al.*, Molec. Immunol. 25:7-15 (1988)), inmunoensayo enzimático (EIA) directo o indirecto en fase sólida, EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (véanse, por ejemplo, Cheung, *et al.*, Virology 176:546-552 (1990) y Kirkland *et al.*, J. Immunol. 137:3614-3619 (1986)) y un ensayo de competición de tipo sándwich (véase, por ejemplo, Stahli *et al.*, Methods in Enzymology 92:242-253 (1983)). Normalmente, un ensayo de este tipo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de una proteína de unión a antígeno de prueba no marcada y una proteína de unión a antígeno de referencia marcada.

La inhibición competitiva puede medirse determinando la cantidad de marcador unido a la superficie sólida o células en presencia de la proteína de unión a antígeno de prueba. Habitualmente, la proteína de unión a antígeno de prueba está presente en exceso. Las proteínas de unión a antígeno identificadas mediante ensayo de competición (proteínas de unión a antígeno en competición) incluyen proteínas de unión a ActRII que se unen al mismo epítipo que la proteína de unión a ActRII de referencia, así como proteínas de unión a ActRII que se unen a un epítipo adyacente suficientemente próximo al epítipo al que se une la proteína de unión a ActRII de referencia para que se produzca impedimento estérico. Habitualmente, cuando una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, ActRIIA o ActRIIB) en competición está presente en exceso, inhibirá la unión específica de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, ActRIIA o ActRIIB) de referencia en al menos el 40 %, el 45 %, el 50 %, el 55 %, el 60 %, el 65 %, el 70 % o el 75 %. En algunos casos, una proteína de unión a antígeno en competición inhibe la unión específica de una

proteína de unión a ActRII de referencia en al menos el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 % el 98 % o el 99 %.

El término “epítipo” cuando se usa en el contexto de una proteína ActRII se refiere a un determinante de proteína ActRII (por ejemplo, ActRIIA humana, ActRIIB humana, ActRIIA murina o ActRIIA murina) que puede unirse a una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo) de la divulgación. Los epítipos consisten habitualmente en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcares y habitualmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítipos conformacionales y no conformacionales se distinguen porque la unión al primero pero no al último se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes. El epítipo de ActRII al que se une una proteína de unión a ActRII puede determinarse fácilmente usando técnicas conocidas en la técnica.

Las proteínas de unión a antígeno tales como los anticuerpos de unión anti-ActRII y fragmentos de unión a ActRII, las variantes o los derivados de los mismos dados a conocer en el presente documento pueden describirse o especificarse en términos del/de los epítipo(s) o la(s) porción/porciones de un antígeno, por ejemplo, un polipéptido diana que reconocen o al que se unen específicamente. Por ejemplo, la porción de ActRII que interacciona específicamente con el dominio de unión a antígeno de una proteína de unión a ActRII dada a conocer en el presente documento es un “epítipo”. Los epítipos pueden formarse tanto a partir de aminoácidos contiguos como a partir de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por el plegamiento terciario de una proteína. Los epítipos formados a partir de aminoácidos contiguos se conservan normalmente tras la exposición a disolventes desnaturizantes, mientras que los epítipos formados por plegamiento terciario se pierden normalmente tras el tratamiento con disolventes desnaturizantes. Los determinantes epitópicos pueden incluir agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcares, grupos fosforilo o sulfonilo, y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. Un epítipo incluye normalmente al menos 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 aminoácidos en una conformación espacial singular. Los epítipos pueden determinarse de manera rutinaria usando métodos conocidos en la técnica.

Los términos “inhibir”, “bloquear”, “reducir”, “disminuir”, “suprimir”, “antagonizar” y “neutralizar” se usan indistintamente y se refieren a cualquier disminución estadísticamente significativa de la actividad (por ejemplo, unión a ligando de ActRII y señalización de ActRII), incluyendo el bloqueo total de la actividad. Por ejemplo, “inhibición” o “supresión” puede referirse a una disminución de aproximadamente el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 40 %, el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 % o el 100 % de la actividad en comparación con un control.

En algunos aspectos, el término “disminución” puede referirse a la capacidad de una proteína de unión a ActRII tal como un anticuerpo o fragmento de unión a ActRII del mismo para disminuir de manera estadísticamente significativa (por ejemplo, con un valor de p inferior o igual a 0,05) la fosforilación de una o más Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) inducida poniendo en contacto una célula que expresa ActRII y un receptor de tipo I con un ligando de ActRII tal como activina A, en relación con el grado de fosforilación de Smad en la célula cuando no se pone en contacto con la proteína de unión a ActRII. La célula que expresa ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) puede ser una línea celular o una célula que se produce de manera natural, o puede producirse de manera recombinante mediante la introducción de un ácido nucleico que codifica para ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) en una célula huésped. En un aspecto, la proteína de unión a ActRII, por ejemplo, un anticuerpo contra ActRII o fragmento de unión a ActRII del mismo, disminuye la fosforilación mediada por ligandos de ActRII de una o más Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en al menos el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 40 %, el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 % o el 95 %, o en aproximadamente el 100 %, tal como se determina, por ejemplo, mediante inmunotransferencia de tipo Western seguido de sondeo con un anticuerpo anti-fosfotirosina o mediante ELISA, usando técnicas y condiciones convencionales descritas en el presente documento o conocidas de otro modo en la técnica.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIA disminuye la fosforilación mediada por ligandos de ActRIIA (por ejemplo, activina A) de una o más Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en al menos el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 40 %, el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 % o el 95 %, o en aproximadamente el 100 %, tal como se determina, por ejemplo, mediante inmunotransferencia de tipo Western seguido de sondeo con un anticuerpo anti-fosfotirosina o mediante ELISA (por ejemplo, ELISA de P-Smad) o un ensayo de gen indicador dependiente de Smad usando técnicas descritas en el presente documento o conocidas de otro modo en la técnica.

En aspectos adicionales, una proteína de unión a ActRIIB disminuye la fosforilación mediada por ligandos de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8) de una o más Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en al menos el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 40 %, el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 % o el 95 %, o en aproximadamente el 100 %, tal como se determina, por ejemplo, mediante inmunotransferencia de tipo Western seguido de sondeo con un anticuerpo anti-fosfotirosina o mediante ELISA (por ejemplo, ELISA de P-Smad) o un ensayo de gen indicador dependiente de Smad usando técnicas y condiciones convencionales descritas en el presente documento o conocidas de otro modo en la técnica.

Los términos “anticuerpo” e “inmunoglobulina” se usan indistintamente en el presente documento, e incluyen

anticuerpos enteros (de longitud completa) y fragmentos de unión a antígeno o cadenas sencillas de los mismos. Un anticuerpo típico comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera está compuesta por un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones de entramado (FW). Cada VH y VL se compone de tres CDR y cuatro FW, dispuestas desde el extremo amino-terminal hasta el extremo carboxilo-terminal en el siguiente orden: FW1, CDR1, FW2, CDR2, FW3, CDR3, FW4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interacciona con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores huésped, incluyendo diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico. Los anticuerpos a modo de ejemplo incluyen anticuerpos típicos, scFv y combinaciones de los mismos en los que, por ejemplo, un scFv se une covalentemente (por ejemplo, a través de enlaces peptídicos o a través de un ligador químico) al extremo N-terminal o C-terminal de cualquiera de la cadena pesada y/o la cadena ligera de un anticuerpo típico, o se intercala en la cadena pesada y/o la cadena ligera de un anticuerpo típico.

Los términos “anticuerpo” e “inmunoglobulina” abarcan anticuerpos policlonales intactos, anticuerpos monoclonales intactos, fragmentos de anticuerpo (tales como fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv), derivados y mutantes de Fv de cadena sencilla (scFv), anticuerpos multiespecíficos tales como anticuerpos biespecíficos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, proteínas de fusión que comprenden una porción de determinación de antígeno de un anticuerpo, y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno siempre que los anticuerpos muestren la actividad de unión deseada. Un anticuerpo puede ser de cualquiera de las cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, o subclases (isotipos) de las mismas (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), basándose en la identidad de sus dominios constantes de cadena pesada denominados alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las diferentes clases de inmunoglobulinas tienen estructuras subunitarias y configuraciones tridimensionales diferentes y bien conocidas. Los anticuerpos pueden estar desnudos o conjugados con otras moléculas tales como toxinas, radioisótopos, etc. El término “IgG” se refiere a un polipéptido perteneciente a la clase de anticuerpos que están sustancialmente codificados por un gen de inmunoglobulina gamma reconocido. En seres humanos, esta clase comprende IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En ratones, esta clase comprende IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3.

Los términos “anticuerpo contra ActRII”, “anticuerpo que se une a ActRII” o “anticuerpo anti-ActRII” se refieren a un anticuerpo que puede unirse a ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) con afinidad suficiente de manera que el anticuerpo es útil como agente terapéutico o reactivo de diagnóstico en la selección como diana de ActRIIB y/o ActRIIA, respectivamente.

Por “se une específicamente a”, cuando se usa en el contexto de proteínas ActRII, se entiende generalmente la capacidad de una proteína de unión tal como un anticuerpo para unirse a ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA, preferiblemente ActRIIA humana y/o ActRIIB humana, preferiblemente un dominio extracelular de ActRIIB y/o ActRIIA), con mayor afinidad con la que la proteína de unión se une a una proteína de control no relacionada. En algunos aspectos, la proteína de control es lisozima de clara de huevo de gallina. Preferiblemente, la proteína de unión se une a ActRII con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad por una proteína de control. Preferiblemente, la proteína de unión tiene una afinidad de unión por ActRII humana  $\leq 1 \times 10^{-7}$  M o  $\leq 1 \times 10^{-8}$  M tal como se mide usando un ensayo de unión conocido en la técnica. En algunos aspectos, la afinidad de unión se mide usando un radioinmunoensayo (RIA) o BIACORE® (por ejemplo, usando ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) como analito y proteína de unión a ActRII como ligando, o viceversa).

En algunos aspectos, el grado de unión de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) a una proteína distinta de ActRII no relacionada es menor de aproximadamente el 10 % de la unión de la proteína de unión a ActRII a ActRII tal como se mide, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA), BIACORE® (usando ActRII recombinante como analito y proteína de unión a ActRII como ligando, o viceversa), ensayo de exclusión cinética (KINEXA®), u otros ensayos de unión conocidos en la técnica. En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII que tiene una constante de disociación ( $K_D$ )  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $\leq 100 \text{ nM}$ ,  $\leq 10 \text{ nM}$ ,  $\leq 1 \text{ nM}$ ,  $\leq 0,1 \text{ nM}$ ,  $\leq 10 \text{ pM}$ ,  $\leq 1 \text{ pM}$  o  $< 0,1 \text{ pM}$ .

El término “fragmento de anticuerpo de unión a antígeno” (por ejemplo, “fragmento de anticuerpo de unión a ActRII”, “fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIA” y “fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB”) se refiere a un fragmento que contiene la totalidad o una porción de una región variable de unión a antígeno (por ejemplo, CDR3) de un anticuerpo intacto. Se sabe que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv, anticuerpos lineales, anticuerpos de cadena sencilla, y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de uno o más fragmentos de anticuerpo. En algunos aspectos, la divulgación proporciona fragmentos de anticuerpo de unión a ActRII en los que el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab,

un fragmento Fab', un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fv, un diacuerpo, o una molécula de anticuerpo de cadena sencilla.

La región Fc incluye polipéptidos que comprenden la región constante de un anticuerpo excluyendo el primer dominio de inmunoglobulina de región constante. Por tanto, Fc se refiere a los últimos dos dominios de inmunoglobulina de región constante de IgA, IgD e IgG, y los últimos tres dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM, y la bisagra flexible N-terminal con respecto a estos dominios. Para IgA e IgM, Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, Fc comprende los dominios de inmunoglobulina C $\gamma$ 2 y C $\gamma$ 3 y la bisagra entre C $\gamma$ 1 y C $\gamma$ 2. Aunque los límites de la región Fc pueden variar, habitualmente se define que la región Fc de cadena pesada de IgG humana comprende los residuos C226 o P230 con respecto a su extremo carboxilo-terminal, donde la numeración es según el índice EU tal como se expone en Kabat (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed. Servicio de Salud Pública, NIH, Bethesda, Md. (1991)). Fc puede referirse a esta región de manera aislada, o a esta región en el contexto de un anticuerpo entero, un fragmento de anticuerpo o una proteína de fusión de Fc. Se han observado polimorfismos en varias posiciones de Fc diferentes incluyendo, pero sin limitarse a, las posiciones 270, 272, 312, 315, 356 y 358 tal como se enumera mediante el índice EU y, por tanto, pueden existir ligeras diferencias entre la secuencia presentada y las secuencias en la técnica anterior.

Un "anticuerpo monoclonal" se refiere a una población homogénea de anticuerpos implicada en el reconocimiento y la unión altamente específicos de un único determinante antigénico o epítipo. Esto contrasta con los anticuerpos policlonales que normalmente incluyen anticuerpos diferentes dirigidos contra determinantes antigénicos diferentes. El término "anticuerpo monoclonal" abarca tanto anticuerpos monoclonales intactos y de longitud completa, así como fragmentos de anticuerpo (tales como Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv), mutantes de cadena sencilla (scFv), y proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo, y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno. Un anticuerpo monoclonal puede prepararse de cualquier número de maneras incluyendo, pero sin limitarse a, hibridoma, selección en fago, expresión recombinante, y animales transgénicos.

El término "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que la secuencia de aminoácidos de la molécula de inmunoglobulina se deriva de dos o más especies. Normalmente, la región variable de las cadenas tanto ligera como pesada corresponde a la región variable de anticuerpos derivados de una especie de mamífero (por ejemplo, ratón, rata, conejo, etc.) con la especificidad, afinidad y/o capacidad de unión a antígeno deseadas, mientras que las regiones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos derivados de otra especie (habitualmente ser humano) para evitar provocar una respuesta inmunitaria en esa especie.

El término "anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo derivado de una inmunoglobulina no humana (por ejemplo, murina), que se ha modificado por ingeniería para contener una cantidad menor, preferiblemente mínima, de secuencias no humanas (por ejemplo, murinas). Normalmente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas en las que los residuos de las CDR se reemplazan por residuos de las CDR de una especie no humana (por ejemplo, ratón, rata, conejo o hámster) que tienen la especificidad, afinidad y/o capacidad de unión a antígeno deseadas (Jones, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann, Nature 332:323-327 (1988); Verhoeven, Science 239:1534-1536 (1988)). En algunos casos, los residuos de región de entramado (FW) de Fv de una inmunoglobulina humana se reemplazan por los residuos correspondientes en un anticuerpo de una especie no humana que tiene la especificidad, afinidad y/o capacidad de unión a antígeno deseadas. El anticuerpo humanizado puede modificarse adicionalmente mediante la sustitución de residuos adicionales en la región de entramado de Fv y/o dentro de los residuos no humanos reemplazados para refinar y optimizar la especificidad, afinidad y/o capacidad del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de al menos uno, y normalmente dos o tres, dominios variables que contienen la totalidad o sustancialmente la totalidad de las regiones CDR que corresponden a la inmunoglobulina no humana, mientras que la totalidad o sustancialmente la totalidad de las regiones FR son las de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de un dominio o una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. Se describen ejemplos de métodos usados para generar anticuerpos humanizados en las patentes estadounidenses n.ºs 5.225.539 y 5.639.641.

El término "anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo producido por un ser humano o un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a un anticuerpo producido por un ser humano preparado usando cualquier técnica conocida en la técnica. El término "anticuerpo humano" incluye anticuerpos intactos (de longitud completa), fragmentos de los mismos, y/o anticuerpos que comprenden al menos un polipéptido de cadena pesada y/o ligera humano tal como un anticuerpo que comprende polipéptidos de cadena ligera murina y cadena pesada humana.

Una proteína de unión "antagonista", "bloqueante" o "neutralizante" es una que inhibe o reduce la actividad del antígeno al que se une, tal como ActRIIB y/o ActRIIA. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII antagonista reduce o inhibe la unión a ActRIIA por un ligando de ActRIIA tal como activina A. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII antagonista reduce o inhibe la unión a ActRIIB por un ligando de ActRIIB tal como activina A. En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII antagonista inhibe de manera sustancial o completa la actividad de ActRII. En algunos aspectos, la actividad de ActRII se reduce en el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 40 %, el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 % o el 100 %.

el 50 %, el 70 %, el 80 %, el 90 %, el 95 % o el 100 %. En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII antagonista es un anticuerpo anti-ActRIIA, tal como un anticuerpo de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIA. En aspectos adicionales, el anticuerpo anti-ActRIIA antagonista inhibe o reduce la actividad de ActRIIA en al menos el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 50 %, el 70 %, el 80 %, el 90 %, el 95 % o incluso el 100 %. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII antagonista es un anticuerpo anti-ActRIIB, tal como un anticuerpo de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB. En aspectos adicionales, el anticuerpo anti-ActRIIB antagonista inhibe o reduce la actividad de ActRIIB en al menos el 10 %, el 20 %, el 30 %, el 50 %, el 70 %, el 80 %, el 90 %, el 95 % o incluso el 100 %.

“Afinidad de unión” se refiere generalmente a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su pareja de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, “afinidad de unión” se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su pareja Y puede representarse generalmente por la constante de disociación ( $K_D$ ). La afinidad puede medirse mediante métodos habituales conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en el presente documento, y pueden usarse para los propósitos de la presente divulgación.

La “potencia” es una medida de la actividad farmacológica de un compuesto expresada en términos de la cantidad del compuesto requerida para producir un efecto de intensidad dada. Se refiere a la cantidad del compuesto requerida para lograr un efecto biológico deseado; cuanto menor es la dosis requerida, más potente es el fármaco. La potencia se expresa normalmente como valor de  $Cl_{50}$ , en nM a menos que se indique lo contrario. La  $Cl_{50}$  es la mediana de la concentración inhibidora de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA o anti-ActRIIB). En ensayos funcionales, la  $Cl_{50}$  es la concentración que reduce una respuesta biológica en un 50 % de su máximo. En estudios de unión ligando-receptor, la  $Cl_{50}$  es la concentración que reduce la unión ligando-receptor en un 50 % del nivel máximo de unión específica. La  $Cl_{50}$  puede calcularse mediante cualquier número de medios conocidos en la técnica. La mejora en veces en la potencia para los anticuerpos u otra proteína de unión proporcionados en el presente documento en comparación con un anticuerpo anti-ActRII u otra proteína de unión a ActRII de referencia puede ser de al menos 2 veces, 4 veces, 6 veces, 8 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, 110 veces, 120 veces, 130 veces, 140 veces, 150 veces, 160 veces, 170 veces, o al menos 180 veces.

“Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos” o “ADCC” se refiere a una forma de citotoxicidad en la que la Ig secretada unida a receptores de Fc (FcR) presentes en determinadas células citotóxicas (por ejemplo, linfocitos citolíticos naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) permite que estas células efectoras citotóxicas se unan específicamente a una célula diana portadora de antígeno y posteriormente destruyan la célula diana con citotoxinas. Los anticuerpos IgG de alta afinidad específicos dirigidos a la superficie de células diana “arman” las células citotóxicas y son absolutamente necesarios para tal destrucción. La lisis de la célula diana es extracelular, requiere un contacto directo célula a célula, y no implica al complemento. Se contempla que, además de anticuerpos, otras proteínas que comprenden regiones Fc, específicamente proteínas de fusión Fc, que tienen la capacidad para unirse específicamente a un célula diana portadora de ActRII, podrán efectuar citotoxicidad mediada por células. Por simplicidad, la citotoxicidad mediada por células resultante de la actividad de una proteína de fusión Fc también se denomina en el presente documento actividad ADCC.

Una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo contra ActRII, incluyendo un fragmento de unión a ActRII, una variante y un derivado del mismo), un polinucleótido, un vector, una célula o una composición que está “aislado” es una proteína (por ejemplo, un anticuerpo), un polinucleótido, un vector, una célula o una composición que está en una forma que no se encuentra en la naturaleza. Las proteínas, los polinucleótidos, los vectores, las células o las composiciones aislados incluyen aquellos que se han purificado hasta un grado en el que ya no están en una forma en la que se encuentran en la naturaleza. En algunos aspectos, una proteína, un polinucleótido, un vector, una célula o una composición que está aislado es sustancialmente puro. Las proteínas aisladas y los ácidos nucleicos aislados estarán libres o sustancialmente libres de material con el que se asocian de manera natural, tal como otros polipéptidos o ácidos nucleicos con los que se encuentran en su entorno natural, o el entorno en el que se preparan (por ejemplo, cultivo celular) cuando tal preparación es mediante tecnología de ADN recombinante practicada *in vitro* o *in vivo*. Las proteínas y los ácidos nucleicos pueden formularse con diluyentes o adyuvantes y aun así aislarse con propósitos prácticos; por ejemplo, las proteínas se mezclarán normalmente con gelatina u otros portadores si se usan para recubrir placas de microtitulación para su uso en inmunoensayos, o se mezclarán con portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables cuando se usen en diagnóstico o terapia.

Los términos “sujeto”, “individuo”, “animal”, “paciente” y “mamífero” se refieren a cualquier sujeto, particularmente un sujeto mamífero, para el cual se desea diagnóstico, pronóstico o terapia. Los sujetos mamíferos incluyen, pero no se limitan a, seres humanos, primates no humanos, animales domésticos, animales de granja, roedores, y similares, que serán el receptor de un tratamiento particular.

El término “composición farmacéutica” se refiere a una preparación que está en una forma tal que permite que sea eficaz la actividad biológica del principio activo, y que no contiene componentes adicionales a concentraciones que sean inaceptablemente tóxicas para un sujeto al que se le administrará la composición. Tal composición puede ser

estéril.

Una "cantidad eficaz" de un polipéptido, por ejemplo, una proteína de unión a antígeno incluyendo un anticuerpo, tal como se da a conocer en el presente documento es una cantidad suficiente para llevar a cabo un propósito específicamente indicado. Una "cantidad eficaz" puede determinarse empíricamente y de manera rutinaria, en relación con el propósito indicado. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un polipéptido, por ejemplo, una proteína de unión a antígeno incluyendo un anticuerpo, u otro fármaco eficaz para "tratar" una enfermedad o afección en un sujeto (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano) y proporciona cierta mejora o beneficio a un sujeto que tiene la enfermedad o afección. Por tanto, una cantidad "terapéuticamente eficaz" es una cantidad que proporciona cierto alivio, mitigación y/o disminución en al menos un síntoma clínico de la enfermedad o afección mediada por ActRII. Los síntomas clínicos asociados con las enfermedades o afecciones que pueden tratarse mediante los métodos de la divulgación son bien conocidos. Además, no es necesario que los efectos terapéuticos sean completos o curativos, siempre que se proporcione cierto beneficio al sujeto. En algunas implementaciones, el término "terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente terapéutico que puede reducir la actividad de ActRII en un paciente que lo necesita. La cantidad real administrada y la velocidad y el transcurso temporal de la administración dependerán de la naturaleza y la gravedad de lo que esté tratándose. La prescripción de tratamiento, por ejemplo, decisiones sobre la dosificación, etc., está dentro de la responsabilidad de los médicos de cabecera y otros doctores médicos. Generalmente se conocen las dosis apropiadas de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos; véanse Ledermann *et al.*, Int. J. Cancer 47:659-664 (1991); Bagshawe *et al.*, Ant. Immun. and Radiopharm. 4:915-922 (1991).

Una "cantidad suficiente" o "una cantidad suficiente para" lograr un resultado particular en un paciente que tiene una enfermedad o afección mediada por ActRII se refiere a una cantidad de un agente terapéutico (por ejemplo, una proteína de unión a antígeno incluyendo un anticuerpo, tal como se da a conocer en el presente documento) que es eficaz para producir un efecto deseado, que es opcionalmente un efecto terapéutico (es decir, mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz). En algunas implementaciones, tal resultado particular es una reducción de la actividad de ActRII en un paciente que lo necesita.

El término "marcador" se refiere a un compuesto o una composición detectable que se conjuga directa o indirectamente con un resto tal como un anticuerpo anti-ActRII para generar un resto "marcado". El marcador puede ser detectable por sí mismo (por ejemplo, marcadores radioisotópicos o marcadores fluorescentes) o, en el caso de un marcador enzimático, puede catalizar la alteración química de un compuesto o una composición sustrato que es detectable.

Términos tales como "tratar" o "tratamiento", "para tratar" o "mejorar" y "para mejorar" se refieren tanto a (a) medidas terapéuticas que curan, ralentizan, reducen los síntomas de y/o detienen la progresión de una afección patológica o un trastorno diagnosticado como a (b) medidas profilácticas o preventivas que previenen y/o ralentizan el desarrollo de una enfermedad o afección objetivo. Por tanto, los sujetos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya tienen la enfermedad o afección; aquellos en riesgos de desarrollar la enfermedad o afección; y aquellos en los que debe prevenirse la enfermedad o afección. En determinados aspectos, un sujeto se "trata" con éxito según los métodos proporcionados en el presente documento si el sujeto muestra, por ejemplo, una mejora o eliminación total, parcial o transitoria de un síntoma asociado con la enfermedad o afección. En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para tratar un trastorno muscular, tal como deterioro muscular debido a una enfermedad o inactividad. En aspectos adicionales, la divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad o afección seleccionada de trastornos musculares tales como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular, tal como fibrosis miocárdica y fibrosis pulmonar idiopática (FPI)); enfermedad metabólica (por ejemplo, diabetes de tipo II y obesidad); enfermedades o afecciones inflamatorias, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad cardiovascular (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva e hipertensión); enfermedad ocular tal como degeneración macular asociada a la edad; enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética, enfermedad neurológica, tal como osteoporosis; cicatrización; pérdida de peso; y cáncer (por ejemplo, un carcinoma, mieloma, un cáncer inductor de disminución de la masa ósea, cáncer hipofisario y cáncer gastrointestinal). En aspectos adicionales, la divulgación proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una o más de las enfermedades o afecciones anteriores.

Tal como se usa en el presente documento, "en combinación con" o "terapias de combinación" se refiere a cualquier forma de administración de manera que terapias adicionales (por ejemplo, segunda, tercera, cuarta, etc.) todavía son eficaces en el cuerpo (por ejemplo, múltiples compuestos son eficaces simultáneamente en el sujeto, lo que puede incluir efectos sinérgicos de esos compuestos). La eficacia puede no correlacionarse con una concentración medible del agente en sangre, suero o plasma. Por ejemplo, los diferentes compuestos terapéuticos pueden administrarse o bien en la misma formulación o bien en formulaciones independientes, ya sea de manera concomitante o secuencial, y en diferentes pautas. Por tanto, un sujeto que recibe tal tratamiento puede beneficiarse de un efecto combinado de las diferentes terapias. Pueden administrarse una o más proteínas de unión a ActRII de la divulgación de manera concurrente con, antes de, o después de, uno o más de otros agentes adicionales y/o terapias de apoyo. En general, cada agente terapéutico se administrará a una dosis y/o en una pauta temporal

determinadas para ese agente particular. La combinación particular para emplear en un régimen tendrá en cuenta la compatibilidad del antagonista de la presente divulgación con la terapia y/o el desenlace deseado.

Los métodos y las técnicas de la presente divulgación se realizan generalmente según métodos convencionales conocidos y tal como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y comentan a lo largo de la presente divulgación a menos que se indique lo contrario. Véanse, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) y Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), y Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990).

Los términos “cáncer”, “tumor”, “canceroso” y “maligno” se refieren a, o describen, el estado fisiológico en mamíferos que normalmente se caracteriza por un crecimiento celular desregulado. Los ejemplos de cánceres incluyen, pero no se limitan a, carcinoma incluyendo adenocarcinomas, linfomas, blastomas, melanomas, sarcomas, y leucemias. Los ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer gastrointestinal, linfoma de Hodgkin y no Hodgkin, cáncer de páncreas, glioblastoma, glioma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado tal como carcinoma hepático y hepatoma, cáncer de vejiga, cáncer de mama (incluyendo cáncer de mama mediado por hormonas, véase, por ejemplo, Innes *et al.*, Br. J. Cancer 94:1057-1065 (2006)), cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial, mieloma (tal como mieloma múltiple), carcinoma de glándulas salivales, carcinoma de células basales, melanoma, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, cáncer de testículo, cáncer de esófago, diversos tipos de cáncer de cabeza y cuello y cánceres de orígenes mucinosos, tales como, cáncer de ovario mucinoso, y colangiocarcinoma (hígado). En un aspecto particular, el cáncer es mielofibrosis, mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), o cáncer hipofisario. En otro aspecto, el cáncer es cáncer de mama, cáncer gastrointestinal, o un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas). En un aspecto adicional, el cáncer es un cáncer inductor de disminución de la masa ósea.

Los términos “polinucleótido” y “ácido nucleico” se usan indistintamente y se pretende que abarquen un ácido nucleico singular, así como ácidos nucleicos plurales, y se refiere a una molécula o constructo de ácido nucleico aislado, por ejemplo, ARN mensajero (ARNm), ADN complementario (ADNc), o ADN plasmídico (ADNp). En determinados aspectos, un polinucleótido comprende un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo, un enlace amida, tal como se encuentra en ácidos peptidonucleicos (APN)). El término “ácido nucleico” se refiere a uno cualquiera o más segmentos de ácido nucleico, por ejemplo, fragmentos de ADN, ADNc o ARN, presentes en un polinucleótido. Cuando se aplica a un ácido nucleico o polinucleótido, el término “aislado” se refiere a una molécula de ácido nucleico, ADN o ARN, que se ha retirado de su entorno nativo, por ejemplo, un polinucleótido recombinante que codifica para una proteína de unión a antígeno contenida en un vector se considera aislado para los propósitos de la presente divulgación. Los ejemplos adicionales de un polinucleótido aislado incluyen polinucleótidos recombinantes mantenidos en células huésped heterólogas o purificados (de manera parcial o sustancial) a partir de otros polinucleótidos en una disolución. Las moléculas de ARN aisladas incluyen transcritos de ARN *in vivo* o *in vitro* de polinucleótidos de la presente divulgación. Los polinucleótidos o ácidos nucleicos aislados según la presente divulgación incluyen además tales moléculas producidas de manera sintética. Además, los polinucleótidos o ácidos nucleicos pueden incluir elementos reguladores tales como promotores, potenciadores, sitios de unión al ribosoma, o señales de terminación de transcripción.

El término “vector” significa un constructo que puede administrar, y en algunos aspectos expresar, uno o más gen(es) o secuencia(s) de interés en una célula huésped. Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, vectores virales, vectores de expresión de ADN o ARN desnudo, vectores de plásmidos, cósmidos o fagos, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónicos, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas, y determinadas células eucariotas, tales como células productoras.

El término “célula huésped” se refiere a una célula o población de células que alberga o puede albergar un ácido nucleico recombinante. Las células huésped pueden ser procariotas (por ejemplo, *E. coli*) o eucariotas. Las células huésped pueden ser células fúngicas incluyendo levadura tal como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, o *Schizosaccharomyces pombe*. Las células huésped también pueden ser cualquiera de diversas células animales, tales como células de insectos (por ejemplo, Sf-9) o células de mamíferos (por ejemplo, HEK293F, CHO, COS-7, NIH-3T3, NS0, PER.C6®, e hibridoma). En aspectos adicionales, la célula huésped es una célula CHO seleccionada del grupo que consiste en CHO-K, CHO-0, CHO-Lec10, CHO-Lec13, CHO-Lec1, CHO Pro-5, y CHO dhfr. En aspectos particulares, la célula huésped es un hibridoma.

Los términos “polipéptido”, “péptido” y “proteína” se usan indistintamente en el presente documento para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan polímeros de aminoácidos que se han modificado de manera natural o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación, o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de marcaje. Dentro de la definición también se incluyen, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se entiende que, dado que en algunos

aspectos las proteínas de unión a ActRII proporcionadas están basadas en anticuerpos, las proteínas de unión a ActRII pueden producirse como cadenas sencillas o cadenas asociadas.

Un polipéptido, una proteína o un anticuerpo "recombinante" se refiere a un polipéptido, una proteína o un anticuerpo producido a través de tecnología de ADN recombinante. Los polipéptidos, las proteínas y los anticuerpos producidos de manera recombinante expresados en células huésped se consideran aislados para el propósito de la presente divulgación, al igual que polipéptidos nativos o recombinantes que se han separado, fraccionado, o purificado de manera parcial o sustancial mediante cualquier técnica adecuada.

En la presente divulgación también se incluyen fragmentos, variantes o derivados de polipéptidos, y cualquier combinación de los mismos. El término "fragmento", cuando se refiere a polipéptidos y proteínas, incluye cualquier polipéptido o proteína que conserva al menos alguna de las propiedades del polipéptido o la proteína de referencia. Los fragmentos de polipéptidos incluyen fragmentos proteolíticos, así como fragmentos de delección.

El término "variante" se refiere a un anticuerpo o una secuencia de polipéptido que difiere de la de un anticuerpo o una secuencia de polipéptido original en virtud de al menos una modificación de aminoácido. Las variantes de anticuerpos o polipéptidos incluyen fragmentos, y también anticuerpos o polipéptidos con secuencias de aminoácidos alteradas debido a sustituciones, delecciones o inserciones de aminoácido. Las variantes pueden producirse de manera natural o no natural. Las variantes que se producen de manera no natural pueden producirse usando técnicas de mutagénesis conocidas en la técnica. Los polipéptidos variantes pueden comprender sustituciones, delecciones o adiciones de aminoácido conservadoras y no conservadoras.

El término "derivados", cuando se aplica a anticuerpos o polipéptidos, se refiere a anticuerpos o polipéptidos que se han alterado para mostrar características adicionales no encontradas en el anticuerpo o polipéptido nativo. Un ejemplo de un anticuerpo "derivado" es una fusión o un conjugado con un segundo polipéptido u otra molécula (por ejemplo, un polímero tal como PEG, un cromóforo, un fluoróforo) o un átomo (por ejemplo, un radioisótopo).

El término "sustitución de aminoácido" se refiere a reemplazar un residuo de aminoácido presente en una secuencia original por otro residuo de aminoácido. Un aminoácido en una secuencia original puede sustituirse, por ejemplo, a través de síntesis química de péptidos o a través de métodos recombinantes conocidos. Por consiguiente, las referencias a una "sustitución en la posición X" se refieren a la sustitución de un residuo de aminoácido presente en la posición X por un residuo de aminoácido alternativo. En algunas implementaciones, los patrones de sustitución pueden describirse según el esquema AXY, en el que A es el código de una sola letra correspondiente al residuo de aminoácido presente de manera natural en la posición X, e Y es el residuo de aminoácido de sustitución. En otros aspectos, los patrones de sustitución pueden describirse según el esquema XY, en el que Y es el código de una sola letra correspondiente al residuo de aminoácido que sustituye al residuo de aminoácido presente de manera natural en la posición X.

Una "sustitución de aminoácido conservadora" es una en la que el residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. Previamente se han definido familias de residuos de aminoácido que tienen cadenas laterales similares, incluyendo cadenas laterales básicas (por ejemplo, Lys, Arg, His), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, Asp, Glu), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, Gly, Asp, Gln, Ser, Thr, Tyr, Cys), cadenas laterales apolares (por ejemplo, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, Trp), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, Thr, Val, Ile) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, Tyr, Phe, Trp, His). Por tanto, si un residuo de aminoácido en un polipéptido se reemplaza por otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadena lateral, se considera que la sustitución es conservadora. En otro aspecto, una cadena de residuos de aminoácido puede reemplazarse de manera conservadora por una cadena estructuralmente similar que difiere en el orden y/o la composición de los miembros de la familia de cadena lateral.

Las sustituciones no conservadoras incluyen aquellas en las que (a) un residuo que tiene una cadena lateral electropositiva (por ejemplo, Arg, His, o Lys) se sustituye por un residuo electronegativo (por ejemplo, Glu o Asp), (b) un residuo hidrófilo (por ejemplo, Ser o Thr) se sustituye por un residuo hidrófobo (por ejemplo, Ala, Leu, Ile, Phe, o Val), (c) Cys o Pro se sustituye por cualquier otro residuo, o (d) un residuo que tiene una cadena lateral aromática o hidrófoba voluminosa (por ejemplo, Val, His, Ile, o Trp) se sustituye por uno que tiene una cadena lateral más pequeña (por ejemplo, Ala o Ser) o que no tiene cadena lateral (por ejemplo, Gly).

Pueden identificarse fácilmente otras sustituciones. Por ejemplo, para el aminoácido alanina, puede tomarse una sustitución de uno cualquiera de D-Ala, Gly, beta-Ala, L-Cys y D-Cys. Para la lisina, un reemplazo puede ser uno cualquiera de D-Lys, Arg, D-Arg, homo-Arg, Met, D-Met, ornitina, o D-ornitina. Generalmente, las sustituciones en regiones funcionalmente importantes que puede esperarse que induzcan cambios en las propiedades de los polipéptidos aislados son aquellas en las que (a) un residuo polar (por ejemplo, Ser o Thr) se sustituye por un residuo hidrófobo (por ejemplo, Leu, Ile, Phe, o Ala); (b) un residuo Cys se sustituye por cualquier otro residuo; (c) un residuo que tiene una cadena lateral electropositiva (por ejemplo, Lys, Arg, o His) se sustituye por un residuo que tiene una cadena lateral electronegativa (por ejemplo, Glu o Asp); o (d) un residuo que tiene una cadena lateral voluminosa (por ejemplo, Phe) se sustituye por uno que no tiene una cadena lateral de este tipo (por ejemplo, Gly). La probabilidad de que una de las sustituciones no conservadoras anteriores pueda alterar las propiedades

funcionales de la proteína también se correlaciona con la posición de la sustitución con respecto a regiones funcionalmente importantes de la proteína: por consiguiente, algunas sustituciones no conservadoras pueden tener poco o ningún efecto sobre las propiedades biológicas.

5 El término "inserción de aminoácido" se refiere a introducir un nuevo residuo de aminoácido entre dos residuos de aminoácido presentes en la secuencia original. Un residuo de aminoácido puede insertarse en una secuencia original, por ejemplo, a través de síntesis química de péptidos o a través de métodos recombinantes conocidos en la técnica. Por consiguiente, las expresiones "inserción entre las posiciones X e Y" o "inserción entre las posiciones de Kabat X e Y", en las que X e Y corresponden a posiciones de residuo de aminoácido (por ejemplo, una inserción de  
10 residuo de aminoácido cisteína entre las posiciones 239 y 240), se refieren a la inserción de un residuo de aminoácido entre las posiciones X e Y, y también a la inserción en una secuencia de ácido nucleico de un codón que codifica para un residuo de aminoácido entre los codones que codifican para los residuos de aminoácido en las posiciones X e Y.

15 El término "porcentaje de identidad de secuencia" o "porcentaje de identidad" entre dos secuencias de polinucleótido o polipéptido se refiere al número de posiciones coincidentes idénticas compartidas por las secuencias a lo largo de una ventana de comparación, teniendo en cuenta adiciones o deleciones (es decir, huecos) que deben introducirse para una alineación óptima de las dos secuencias. Una posición coincidente es cualquier posición en la que un nucleótido o aminoácido idéntico está presente tanto en la secuencia objetivo como en la secuencia de referencia.  
20 Los huecos presentes en la secuencia objetivo no se cuentan, puesto que los huecos no son nucleótidos ni aminoácidos. Del mismo modo, los huecos presentes en la secuencia de referencia no se cuentan, puesto que se cuentan los nucleótidos o aminoácidos de la secuencia objetivo, no los nucleótidos o aminoácidos de la secuencia de referencia. El porcentaje de identidad de secuencia se calcula determinando el número de posiciones en las que aparece la base de ácido nucleico o el residuo de aminoácido idéntico en ambas secuencias para proporcionar el  
25 número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes entre el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para proporcionar el porcentaje de identidad de secuencia. La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad de secuencia entre dos secuencias pueden lograrse usando programas de software fácilmente disponibles. Los programas de software adecuados están disponibles de diversas fuentes, y para la alineación de secuencias tanto de proteínas como de nucleótidos. Un programa adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia es BI2seq, parte del conjunto de programas BLAST disponible del sitio web de BLAST del Centro Nacional para la Información Biotecnológica del gobierno de los EE. UU. ([blast.ncbi.nlm.nih.gov](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov)). BI2seq realiza una comparación entre dos secuencias usando el algoritmo BLASTN o BLASTP. BLASTN se usa para comparar secuencias de ácido nucleico, mientras que BLASTP se usa para comparar secuencias de aminoácidos. Otros programas adecuados son, por  
30 ejemplo, Needle, Stretcher, Water, o Matcher, parte del conjunto de programas informáticos EMBOSS y también disponibles del Instituto Europeo de Bioinformática (EBI) en [www.ebi.ac.uk/Tools/psa](http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa).

La estructura para portar una CDR o un conjunto de CDR será generalmente de una secuencia de cadena pesada o ligera de anticuerpo o una porción sustancial de la misma en la que la CDR o el conjunto de CDR está ubicado en  
40 una ubicación correspondiente a la CDR o el conjunto de CDR de dominios variables de anticuerpo de VH y VL que se producen de manera natural codificados por genes de inmunoglobulina reorganizados. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente las estructuras y las ubicaciones de los dominios variables de inmunoglobulina y sus CDR usando programas y sistemas de numeración de residuos de dominio variable conocidos tales como Chothia, Chothia+ y Kabat, que pueden determinarse de manera rutinaria por referencia a Kabat (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest. 4ª edición. U.S. DHHS. 1987, y herramientas disponibles en Internet (por ejemplo, en [bioinf.org.uk/abysis/sequence\\_input/key\\_annotation/key\\_annotation.html](http://bioinf.org.uk/abysis/sequence_input/key_annotation/key_annotation.html); y en [immuno.bme.nwu.edu](http://immuno.bme.nwu.edu))).

Otros armazones también pueden portar las CDR, tales como fibronectina, citocromo B, albúmina (por ejemplo, ALBUdAb (Domantis/GSK) y ALB-Kunitz (Dyax)), secuencias de repeticiones no estructuradas de 3 ó 6 aminoácidos (por ejemplo, tecnología PASylation® y tecnología XTEN®), y secuencias que contienen dominios de repeticiones similares a la elastina (véase, por ejemplo, la solicitud de patente estadounidense n.º 61/442.106).

Una secuencia de aminoácidos de CDR sustancialmente tal como se expone en el presente documento puede portarse como CDR en un dominio variable humano o una porción sustancial del mismo. Las secuencias de HCDR3  
55 sustancialmente tal como se exponen en el presente documento representan implementaciones de la presente divulgación, y cada una de estas puede portarse como HCDR3 en un dominio variable de cadena pesada humano o una porción sustancial del mismo.

Los dominios variables empleados en la presente divulgación pueden obtenerse a partir de cualquier línea germinal o dominio variable humano reorganizado, o pueden ser un dominio variable sintético basado en secuencias de consenso de dominios variables humanos conocidos. Una secuencia de CDR (por ejemplo, CDR3) puede introducirse en un repertorio de dominios variables que carecen de una CDR (por ejemplo, CDR3), usando tecnología de ADN recombinante.

65 Por ejemplo, Marks *et al.* (Bio/Technology 10:779-783 (1992)) proporcionan métodos de producción de repertorios de dominios variables de anticuerpo en los que se usan cebadores de consenso dirigidos a o adyacentes al extremo

5' del área de dominio variable junto con cebadores de consenso para la tercera región de entramado de genes de VH humanos para proporcionar un repertorio de dominios variables de VH que carecen de una CDR3. Marks *et al.* describen además cómo puede combinarse este repertorio con una CDR3 de un anticuerpo particular. Usando técnicas análogas, las secuencias derivadas de CDR3 de la presente divulgación pueden intercambiarse con repertorios de dominios de VH o VL que carecen de una CDR3, y combinarse los dominios de VH o VL completos intercambiados con un dominio de VL o VH afín para proporcionar proteínas de unión a antígeno. A continuación, puede presentarse el repertorio en un sistema huésped adecuado tal como el sistema de presentación en fago de la publicación de solicitud internacional n.º WO92/01047 o cualquiera de una gran cantidad de bibliografía posterior, incluyendo Kay *et al.*, (1996) Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, San Diego: Academic Press, de modo que pueden seleccionarse proteínas de unión a antígeno adecuadas. Un repertorio puede constar de 104 miembros individuales o más, por ejemplo, desde  $10^6$  hasta  $10^8$ , ó  $10^{10}$ , miembros. Otros sistemas huéspedes adecuados incluyen presentación en levadura, presentación en bacteria, presentación en T7, y presentación en ribosoma. Para una revisión de presentación en ribosoma, véanse Lowe *et al.*, Curr. Pharm. Biotech. 517-527 (2004) y la publicación de solicitud internacional n.º WO92/01047. También se dan a conocer técnicas de intercambio o combinatorias análogas por Stemmer (Nature 370:389-391 (1994)), que describe la técnica en relación con un gen de  $\beta$ -lactamasa. pero observa que el enfoque puede usarse para la generación de anticuerpos.

Se dice que una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA y un anticuerpo anti-ActRIIB) "compite" con una molécula de referencia por la unión a ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA, respectivamente) si se une a ActRII hasta el punto de que bloquea, en cierto grado, la unión de la molécula de referencia a ActRII. La capacidad de las proteínas para competir por la unión a ActRII y, por tanto, para interferir en, bloquear o "bloquear de manera cruzada" la unión unas de otras a ActRII puede determinarse mediante cualquier standard ensayo de unión competitiva convencional conocido en la técnica incluyendo, por ejemplo, un ensayo ELISA de competición, resonancia de plasmón superficial (SPR; BIACORE®, Biosensor, Piscataway, N.J.) o según los métodos descritos por Scatchard *et al.* (Ann. N. Y. Acad. Sci. 51:660-672 (1949)). Puede decirse que una proteína de unión a ActRII inhibe de manera competitiva la unión de la molécula de referencia a ActRII, por ejemplo, en al menos el 90 %, al menos el 80 %, al menos el 70 %, al menos el 60 %, o al menos el 50 %. Según algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII inhibe de manera competitiva la unión de la molécula de referencia a ActRIIA en al menos el 90 %, al menos el 80 %, al menos el 70 %, al menos el 60 %, o al menos el 50 %. Según otros aspectos, la proteína de unión a ActRII inhibe de manera competitiva la unión de la molécula de referencia a ActRIIB en al menos el 90 %, al menos el 80 %, al menos el 70 %, al menos el 60 %, o al menos el 50 %.

#### Proteínas de unión a ActRII

Se proporcionan proteínas que se unen específicamente a ActRII.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRII con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia del receptor de TGF-beta. En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRII y tiene una constante de disociación ( $K_D$ )  $<1 \mu\text{M}$ ,  $<100 \text{ nM}$ ,  $<10 \text{ nM}$ ,  $<1 \text{ nM}$ ,  $<0,1 \text{ nM}$ ,  $<10 \text{ pM}$ ,  $<1 \text{ pM}$ , o  $<0,1 \text{ pM}$ . En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene una  $K_D$  para ActRII humana dentro del intervalo de  $\leq 1 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ , o  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$ .

En algunos aspectos, se usa análisis BIACORE® para determinar la capacidad de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) para competir con/bloquear la unión a la proteína ActRII por una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) de referencia. En un aspecto adicional en el que se hace funcionar un instrumento BIACORE® (por ejemplo, BIACORE® 3000) según las recomendaciones del fabricante, se captura la proteína de fusión ActRII-Fc en un chip CM5 BIACORE® por una IgG anti-niFc previamente unida para generar una superficie recubierta con ActRII. Normalmente, se acoplarían 200-800 unidades de resonancia de ActRII-Fc (dimérica) al chip (una cantidad que proporciona fácilmente niveles medibles de unión, pero que puede saturarse fácilmente por las concentraciones de reactivo de prueba que están usándose).

Las dos proteínas de unión a ActRII (denominadas A\* y B\*) que van a evaluarse para determinar su capacidad para competir/bloquearse entre sí se mezclan en una razón molar uno a uno de sitios de unión en un tampón adecuado para crear una mezcla de prueba. Cuando se calculan las concentraciones basándose en los sitios de unión, se supone que el peso molecular de una proteína de unión a ActRII es el peso molecular total de la proteína de unión a ActRII dividido entre el número de sitios de unión a ActRII en esa proteína de unión a ActRII. La concentración de cada proteína de unión a ActRII (es decir, A\* y B\*) en la mezcla de prueba debe ser lo suficientemente alta como para saturar fácilmente los sitios de unión para esa proteína de unión a ActRII en las moléculas de ActRII-Fc capturadas en el chip BIACORE®. Las proteínas de unión a ActRII A\* y B\* en la mezcla están a la misma concentración molar (basándose en la unión), y esa concentración estará normalmente entre 1,00 y 1,5 micromolar (basándose en los sitios de unión). También se preparan disoluciones independientes que contienen proteína de unión a ActRII A\* sola y proteína de unión a ActRII B\* sola. La proteína de unión a ActRII A\* y la proteína de unión a ActRII B\* en estas disoluciones deben estar en el mismo tampón y a la misma concentración que en la mezcla de prueba. Se hace pasar la mezcla de prueba a lo largo del chip BIACORE® recubierto con ActRII-Fc y se registra la

cantidad total de unión. Luego se trata el chip de tal manera que se retiran las proteínas de unión a ActRII unidas sin dañar la ActRII-Fc unida al chip. Normalmente, esto se realiza tratando el chip con HCl 30 mM durante 60 segundos. Luego se hace pasar la disolución de proteína de unión a ActRII A\* sola a lo largo de la superficie recubierta con ActRII-Fc y se registra la cantidad de unión. Se trata nuevamente el chip para retirar el anticuerpo unido sin dañar la ActRII-Fc unida al chip. Luego se hace pasar la disolución de proteína de unión a ActRII B\* sola a lo largo de la superficie recubierta con ActRII-Fc y se registra la cantidad de unión. A continuación se calcula la unión teórica máxima de la mezcla de proteína de unión a ActRII A\* y proteína de unión a ActRII B\*, y es la suma de la unión de cada proteína de unión a ActRII cuando se hace pasar a lo largo de la superficie con ActRII sola. Si la unión registrada real de la mezcla es menor que este máximo teórico, entonces las dos proteínas de unión a ActRII están compitiendo/bloqueándose entre sí. Por tanto, en general, una proteína de unión a ActRII bloqueante es una que se unirá a ActRII en el ensayo de bloqueo BIACORE® anterior de manera que, durante el ensayo y en presencia de una segunda proteína de unión a ActRII, la unión registrada está entre el 80 % y el 0,1 % (por ejemplo, entre el 80 % y el 4 %) de la unión teórica máxima, específicamente entre el 75 % y el 0,1 % (por ejemplo, entre el 75 % y el 4 %) de la unión teórica máxima, y más específicamente entre el 70 % y el 0,1 % (por ejemplo, entre el 70 % y el 4 %) de la unión teórica máxima (tal como se definió anteriormente) de las dos proteínas de unión a ActRII en combinación.

El ensayo BIACORE® descrito anteriormente es un ensayo a modo de ejemplo usado para determinar si dos proteínas de unión a ActRII tales como anticuerpos anti-ActRII compiten/se bloquean entre sí por la unión a ActRII. En raras ocasiones, proteínas de unión a ActRII particulares pueden no unirse a ActRII-Fc acoplada a través de IgG anti-Fc a un chip CM5 BIACORE® (esto podría producirse cuando el sitio de unión relevante en ActRII está enmascarado o se destruye por la unión de ActRII a Fc). En tales casos, el bloqueo puede determinarse usando una versión etiquetada de ActRII, por ejemplo, ActRII etiquetada con His en el extremo C-terminal. En este formato particular, se acoplaría un anticuerpo anti-His al chip BIACORE® y luego se haría pasar la ActRII etiquetada con His a lo largo de la superficie del chip y sería capturado por el anticuerpo anti-His. El análisis de bloqueo cruzado se llevaría a cabo esencialmente tal como se describió anteriormente, excepto porque después de cada ciclo de regeneración del chip, nueva ActRII etiquetada con His se cargaría de nuevo sobre la superficie recubierta con anticuerpo anti-His. Además, pueden usarse diversas otras combinaciones de proteínas de unión a etiqueta y etiquetas conocidas para un análisis de bloqueo de este tipo (por ejemplo, etiqueta HA con anticuerpos anti-HA; etiqueta FLAG con anticuerpos anti-FLAG; etiqueta biotina con estreptavidina). Lo siguiente describe generalmente un ensayo ELISA para determinar si una proteína de unión a ActRII bloquea o puede bloquear la unión de una proteína de unión a ActRII de referencia a ActRII.

En algunos aspectos, se usa un ELISA para determinar la capacidad de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) para competir por la unión a la proteína ActRII con una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII o ligando de ActRII) de referencia. El principio general de un ensayo de este tipo es tener una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) de referencia recubierta sobre los pocillos de una placa de ELISA. Se añade una cantidad en exceso de una segunda proteína de unión a ActRII de prueba, potencialmente bloqueante, en disolución (es decir, no unida a la placa de ELISA). Luego se añade una cantidad limitada de ActRII (o alternativamente ActRII-Fc) a los pocillos. La proteína de unión a ActRII de referencia recubierta y la proteína de unión a ActRII de prueba en disolución compiten por la unión del limitado número de moléculas de ActRII (o ActRII-Fc). Se lava la placa para retirar la ActRII que no se ha unido por la proteína de unión a ActRII de referencia recubierta, y también para retirar la proteína de unión a ActRII de prueba en fase de disolución así como cualquier complejo formado entre la proteína de unión a ActRII de prueba en fase de disolución y ActRII. Luego se mide la cantidad de ActRII unida usando un reactivo de detección de ActRII apropiado. Una proteína de unión a ActRII de prueba en disolución que puede bloquear la unión de la proteína de unión a ActRII de referencia recubierta a ActRII podrá provocar una disminución del número de moléculas de ActRII a las que puede unirse la proteína de unión a ActRII de referencia recubierta en relación con el número de moléculas de ActRII a las que puede unirse la proteína de unión a ActRII de referencia recubierta en ausencia de la segunda proteína de unión a ActRII de prueba en fase de disolución. La señal de fondo para el ensayo se define como la señal obtenida en pocillos con la proteína de unión a ActRII de referencia recubierta, la proteína de unión a ActRII de prueba en fase de disolución, tampón de ActRII sólo (es decir, sin ActRII) y reactivos de detección de ActRII. La señal de control positivo para el ensayo se define como la señal obtenida en pocillos con la proteína de unión a ActRII de referencia recubierta, el tampón de proteína de unión a ActRII de prueba en fase de disolución sólo (es decir, sin proteína de unión a ActRII de prueba en fase de disolución), ActRII y reactivos de detección de ActRII. El ensayo ELISA debe ejecutarse de tal manera que la señal de control positivo sea al menos 3 veces la señal de fondo. Como control para los artefactos metodológicos, el ensayo de bloqueo cruzado puede ejecutarse en el formato que acaba de describirse y también invertirse, con la proteína de unión a ActRII de prueba como anticuerpo recubierto y la proteína de unión a ActRII de referencia como anticuerpo en fase de disolución.

En algunos aspectos, se usa un ensayo de gen indicador para determinar la capacidad de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) para neutralizar ActRII (por ejemplo, ActRIIB). En algunos aspectos, el ensayo de gen indicador se realiza usando células A204 recombinantes para determinar la capacidad de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) para neutralizar la actividad de ActRII (por ejemplo, ActRIIB). Este ensayo se basa en una línea celular de rhabdomyosarcoma humano transfectada con un plásmido pGL3(CAGA)12 que contiene un motivo (CAGA)12 (véanse, por ejemplo, Dennler *et al.*, EMBO 17:3091-3100 (1998) y la patente estadounidense n.º 8.765.385), así como un plásmido indicador ReniUa (pRLCMV) para

controlar la eficiencia de transfección. El motivo CAGA12 está presente en genes sensibles a TGF-beta (gen PAI-1), por lo que este vector es de uso general para la señalización de factores a través de Smad2 y Smad3. Con respecto a la medición de la actividad de unión a ActRIIB de una proteína candidata usando este ensayo, puesto que la línea celular A204 expresa principalmente ActRIIA en lugar de ActRIIB, no es posible someter a prueba directamente anticuerpos para determinar la posible capacidad de neutralización de ActRIIB. En su lugar, este ensayo está diseñado para detectar la capacidad de una proteína de unión a ActRII candidata de prueba para neutralizar el efecto inhibidor de la proteína de fusión soluble ActRIIB-Fc tras la activación de ActRIIA endógena por ligandos (tales como activina A o GDF11) que pueden unirse con alta afinidad tanto a ActRIIB como a ActRIIA. Por tanto, en este ensayo, se producirá activación de ActRIIA mediada por ligandos a pesar de la presencia de ActRIIB-Fc si la unión a ActRIIB es neutralizante.

El primer día del ensayo, se distribuyen células A204 (ATCC HTB-82) en placas de 48 pocillos a  $10^5$  células por pocillo. El segundo día, se incuba previamente una disolución que contiene 10  $\mu\text{g}$  de pGL3(CAGA)12, 1  $\mu\text{g}$  de pRLCMV, 30  $\mu\text{l}$  de Eugene 6 (Roche Diagnostics) y 970  $\mu\text{l}$  de OptiMEM (Invitrogen) durante 30 minutos, luego se añade a medio de crecimiento de McCoy, que se aplica a las células sembradas (500  $\mu\text{l}$ /pocillo) para su incubación durante la noche a temperatura ambiente. El tercer día, se retira el medio, y se incuban las células durante 6 horas a 37 °C con una mezcla de ligandos e inhibidores preparada tal como se describe a continuación.

Según un aspecto, se evalúa la potencia de neutralización de una proteína de unión a ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRII, mediante lo cual se prepara una dilución en serie de la proteína de prueba en una placa de 48 pocillos en un volumen de 200  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo (medio de McCoy + BSA al 0,1 %). Para los ensayos que evalúan la capacidad de una proteína candidata para neutralizar la actividad de ActRIIB, luego se añade un mismo volumen de ActRIIB-Fc (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) en tampón de ensayo. Se incuban las disoluciones de prueba a 37 °C durante 30 minutos, luego se añaden 400  $\mu\text{l}$  de activina A (10 ng/ml) a todos los pocillos, y se añaden 350  $\mu\text{l}$  de esta mezcla a cada pocillo de la placa de 48 pocillos de células A204. Se somete a prueba por duplicado cada concentración de proteína de prueba. Para los ensayos que evalúan la capacidad de una proteína candidata para neutralizar la actividad de ActRIIB, la concentración final de ActRIIB-Fc es de 50 ng/ml (que es la  $\text{CI}_{50}$  para este inhibidor de la señalización de activina A cuando la concentración final de activina A es de 5 ng/ml). Después de la incubación con disoluciones de prueba durante 6 horas, se enjuagan las células con solución salina tamponada con fosfato que contiene BSA al 0,1 %, luego se someten a lisis con tampón de lisis pasiva (Promega E1941) y se almacenan durante la noche a -70 °C. El cuarto y último día, se calientan las placas hasta temperatura ambiente con agitación suave. Se transfieren los lisados celulares por duplicado a una placa de quimioluminiscencia (de 96 pocillos) y se analizan en un luminómetro con reactivos de un sistema de ensayo de indicador de luciferasa dual (Promega E1980) para determinar la actividad luciferasa normalizada.

Pueden medirse parámetros farmacodinámicos dependientes de la señalización de ActRIIB como criterios de valoración para pruebas *in vivo* de proteínas de unión a ActRIIB con el fin de identificar aquellas proteínas de unión que pueden neutralizar ActRIIB y proporcionar un beneficio terapéutico. Un agente de unión neutralizante de ActRIIB se define como uno que puede provocar un cambio estadísticamente significativo, en comparación con animales tratados con vehículo, en un parámetro farmacodinámico de este tipo. Tales pruebas *in vivo* pueden realizarse en cualquier mamífero adecuado (por ejemplo, ratón, rata o mono).

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIA con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia del receptor de TGF-beta. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIA con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia del receptor de TGF-beta. En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRIIA se une a ActRIIA y tiene una constante de disociación ( $K_D$ )  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $< 100 \text{ nM}$ ,  $< 10 \text{ nM}$ ,  $< 1 \text{ nM}$ ,  $< 0,1 \text{ nM}$ ,  $< 10 \text{ pM}$ ,  $< 1 \text{ pM}$ , o  $< 0,1 \text{ pM}$ . En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene una  $K_D$  para ActRIIA humana dentro del intervalo de  $\leq 1 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ , o  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$ .

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia de TGF-beta. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia del receptor de TGF-beta. En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRIIB se une a ActRIIB y tiene una constante de disociación ( $K_D$ )  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $< 100 \text{ nM}$ ,  $< 10 \text{ nM}$ ,  $< 1 \text{ nM}$ ,  $< 0,1 \text{ nM}$ ,  $< 10 \text{ pM}$ ,  $< 1 \text{ pM}$ , o  $< 0,1 \text{ pM}$ . En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene una  $K_D$  para ActRIIB humana dentro del intervalo de  $\leq 1 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ , o  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$ .

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB y ActRIIA con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia de TGF-beta. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB y ActRIIA con una afinidad que es al menos 100, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad de la proteína de unión a ActRII por una proteína de control que no es un miembro de la familia del receptor de TGF-beta. En determinados

aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB y ActRIIA y tiene una constante de disociación ( $K_D$ )  $<1 \mu\text{M}$ ,  $<100 \text{ nM}$ ,  $<10 \text{ nM}$ ,  $<1 \text{ nM}$ ,  $<0,1 \text{ nM}$ ,  $<10 \text{ pM}$ ,  $<1 \text{ pM}$ , o  $<0,1 \text{ pM}$ . En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene una  $K_D$  para ActRIIB y ActRIIA humanas dentro del intervalo de  $\leq 1 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ , o  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$ .

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que se une específicamente a ActRII. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo anti-ActRIIA de longitud completa o un anticuerpo anti-ActRIIB de longitud completa. En aspectos adicionales, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo multispecífico, o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII de los mismos. En aspectos adicionales, el anticuerpo se une específicamente a ActRIIB y/o ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII) puede unirse a moléculas de ActRII entre especies.

El dominio extracelular maduro de ActRIIA humana (SEQ ID NO:138) difiere del del ortólogo de ActRIIA de ratón (ref. P27038) en sólo dos sustituciones conservadas de aminoácidos (es decir, K19R y V72I). En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII puede unirse a ActRIIA humana (hActRIIA) y ActRIIA murina (murActRIIA). En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo anti-ActRIIA (por ejemplo, un anticuerpo contra ActRIIA de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIA, y una variante y un derivado de los mismos) que puede unirse específicamente a ActRIIA (por ejemplo, hActRIIA o murActRIIA) con una constante de disociación o  $K_D$  de menos de  $10^{-8} \text{ M}$ , menos de  $10^{-9} \text{ M}$ , o menos de  $10^{-10} \text{ M}$ , tal como se determina mediante BIACORE® o KINEXA®. En aspectos adicionales, el anticuerpo anti-ActRIIA se une a ActRIIA con una  $K_D$   $<1 \text{ nM}$  (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En un aspecto adicional, el anticuerpo anti-ActRIIA se une a ActRIIA con una  $K_D$  dentro de un orden de magnitud de  $1 \text{ nM}$  o dentro de dos órdenes de magnitud de  $1 \text{ nM}$ . En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene una  $K_D$  para ActRIIA humana dentro del intervalo de  $\leq 1 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ , o  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$ .

El dominio extracelular maduro de ActRIIB humana (SEQ ID NO:139) difiere de la secuencia correspondiente del ortólogo de ActRIIB de ratón (RefSeq.: NP\_031423 del NCBI) en una sustitución de aminoácido (es decir, A95P). En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo anti-ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo contra ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB, y una variante y un derivado de los mismos) que se une específicamente a ActRIIB (por ejemplo, hActRIIB y murActRIIB) con una constante de disociación o  $K_D$  de menos de  $10^{-8} \text{ M}$ , menos de  $10^{-9} \text{ M}$ , o menos de  $10^{-10} \text{ M}$  tal como se determina mediante BIACORE® o KINEXA®. En aspectos adicionales, el anticuerpo anti-ActRIIB se une a ActRIIB con una  $K_D$   $<1 \text{ nM}$  tal como se determina mediante análisis BIACORE® o KINEXA®. En un aspecto adicional, el anticuerpo anti-ActRIIB se une a ActRIIB con una  $K_D$  dentro de un orden de magnitud de  $1 \text{ nM}$  o dentro de dos órdenes de magnitud de  $1 \text{ nM}$ . En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene una  $K_D$  para ActRIIB humana dentro del intervalo de  $\leq 1 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ ,  $\leq 100 \mu\text{M}$  y  $\geq 0,1 \text{ pM}$ , o  $\leq 1 \text{ nM}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$ .

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-ActRII es un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo de unión a ActRII es un Fab, un Fab', un  $\text{F(ab')}_2$ , un fragmento Fv, un diacuerpo, o una molécula de anticuerpo de cadena sencilla. En aspectos adicionales, el anticuerpo contra ActRII es un Fd, un Fv de cadena sencilla (scFv), un Fv unido por disulfuro, un dominio V-NAR, un IgNar, un intracuerpo, un IgGACH2, un minicuerpo, un  $\text{F(ab')}_3$ , un tetracuerpo, un triacuerpo, un diacuerpo, un anticuerpo de un solo dominio, un DVD-Ig, un Fcab, un  $\text{AcM}^2$ , un  $(\text{scFv})_2$ , un scFv-Fc o un bis-scFv.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que incluye una VH y una VL. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-ActRII incluye además una región constante de cadena pesada o un fragmento de la misma. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una región constante de inmunoglobulina de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en: (a) una región constante de IgA humana, o un fragmento de la misma; (b) una región constante de IgD humana, o un fragmento de la misma; (c) un dominio constante de IgE humana, o un fragmento del mismo; (d) una región constante de IgG1 humana, o un fragmento de la misma; (e) una región constante de IgG2 humana, o un fragmento de la misma; (f) una región constante de IgG3 humana, o un fragmento de la misma; (g) una región constante de IgG4 humana, o un fragmento de la misma; y (h) una región constante de IgM humana, o un fragmento de la misma. En determinados aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende una región constante de cadena pesada o un fragmento de la misma, por ejemplo, una región constante de IgG humana o un fragmento de la misma. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un dominio constante de inmunoglobulina de cadena pesada que tiene, o se ha mutado para tener, una función efectora y/o una semivida alteradas.

En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que comprende una región constante de cadena pesada de IgG1 que contiene una mutación que disminuye la función efectora (véanse, por ejemplo, Idusogie *et al.*, J. Immunol. 166:2571-2575 (2001); Sazinsky *et al.*, PNAS USA 105:20167-20172 (2008); Davis *et al.*, J. Rheumatol. 34:2204-2210 (2007); Bolt *et al.*, Eur. J. Immunol. 23:403-411 (1993); Alegre *et al.*, Transplantation

57:1537-1543 (1994); Xu *et al.*, Cell Immunol. 200:16-26 (2000); Cole *et al.*, Transplantation 68:563-571 (1999); Hutchins *et al.*, PNAS USA 92:11980-11984 (1995); Reddy *et al.*, J. Immunol. 164:1925-1933 (2000); los documentos WO97/11971 y WO07/106585; la publicación de solicitud estadounidense 2007/0148167A1; McEarchern *et al.*, Blood 109:1185-1192 (2007); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); y Kumagai *et al.*, J. Clin. Pharmacol. 47:1489-1497 (2007)).

En algunos aspectos, la región constante de cadena pesada o un fragmento de la misma incluye una o más sustituciones de aminoácido en relación con un dominio constante de IgG de tipo natural en el que la IgG modificada tiene una ADCC disminuida en comparación con la semivida de una IgG que tiene el dominio constante de IgG de tipo natural. Los ejemplos de modificaciones de secuencia de Fc por ingeniería contenidas en los anticuerpos proporcionados que disminuyen la ADCC incluyen una o más modificaciones correspondientes a: IgG1-K326W, E333S; IgG2-E333S; IgG1-N297A; IgG1-L234A, L235A; IgG2-V234A, G237A; IgG4-L235A, G237A, E318A; IgG4-S228P, L236E; IgG2-secuencia 118-260 según EU; IgG4-secuencia 261-447 según EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C220S, C226S, C229S, P238S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; e IgG1-L234F, L235E, P331S, en las que la numeración de posición es según el índice EU como en Kabat.

En determinados aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende un dominio constante de inmunoglobulina de cadena pesada que tiene, o se ha mutado para tener, una actividad CDC reducida. En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que comprende una región constante de cadena pesada de IgG1 que contiene una mutación que disminuye la actividad CDC (véanse, por ejemplo, los documentos WO97/11971 y WO07/106585; la publicación de solicitud estadounidense 2007/0148167A1; McEarchern *et al.*, Blood 109:1185-1192 (2007); Hayden-Ledbetter *et al.*, Clin. Cancer 15:2739-2746 (2009); Lazar *et al.*, PNAS USA 103:4005-4010 (2006); Bruckheimer *et al.*, Neoplasia 11:509-517 (2009); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); y Sazinsky *et al.*, PNAS USA 105:20167-20172 (2008)). Los ejemplos de modificaciones de secuencia de Fc por ingeniería contenidas en un anticuerpo anti-ActRII que disminuyen la CDC incluyen una o más modificaciones correspondientes a: IgG1-S239D, A330L, I332E; IgG2-secuencia 118-260 según EU; IgG4-secuencia 261-447 según EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; IgG1-L234F, L235E, P331S; e IgG1-C226S, P230S.

En aspectos adicionales, la región constante de cadena pesada o un fragmento de la misma incluye una o más sustituciones de aminoácido en relación con un dominio constante de IgG de tipo natural en el que la IgG modificada tiene una semivida aumentada en comparación con la semivida de una IgG que tiene el dominio constante de IgG de tipo natural. Por ejemplo, el dominio constante de IgG puede contener una o más sustituciones de aminoácido de residuos de aminoácido en las posiciones 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436, en el que la numeración de posición de aminoácido es según el índice EU tal como se expone en Kabat. En determinados aspectos, el dominio constante de IgG puede contener una o más de una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 252 por Tyr, Phe, Trp, o Thr; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 254 por Thr; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 256 por Ser, Arg, Gln, Glu, Asp, o Thr; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 257 por Leu; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 309 por Pro; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 311 por Ser; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 428 por Thr, Leu, Phe, o Ser; una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 433 por Arg, Ser, Iso, Pro, o Gln; o una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 434 por Trp, Met, Ser, His, Phe, o Tyr. Más específicamente, el dominio constante de IgG puede contener sustituciones de aminoácido en relación con un dominio constante de IgG humana de tipo natural que incluye una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 252 por Tyr, una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 254 por Thr, y una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 256 por Glu.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que comprende una región constante de inmunoglobulina de cadena ligera. En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende una región constante de Ig kappa humana o una región constante de Ig lambda humana.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3, en el que las CDR están presentes en un par de VH y VL dado a conocer en la tabla 1. En implementaciones adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR en el que las CDR están presentes en un par de VH y VL seleccionado del grupo que consiste en: (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34 ó 40, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b) una secuencia de VH de SEQ ID NO:63 ó 77, y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:70, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c) una secuencia de VH de SEQ ID NO:45 ó 57, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:50, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d) una secuencia de VH de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91, y en el que la proteína se une a ActRIIA, y (e) una secuencia de VH de SEQ ID NO:125, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:132, y en el que la proteína se une a ActRIIA.

En implementaciones adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR en el que las CDR están presentes en un par de VH y VL que tiene: (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO:144, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:151, y en el que la proteína se une a ActRIIB.

En implementaciones adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR en el que las CDR están presentes en un par de VH y VL que tiene: (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO:165, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:172, y en el que la proteína se une a ActRIIA y ActRIIB.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR: (a) VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, o (b) VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en una secuencia de VH o VL dada a conocer en la tabla 1.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un conjunto de CDR, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en un par de secuencias de VH y VL dado a conocer en la tabla 1.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, 17, 23, 29, 35 ó 41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 ó 78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 ó 79; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 u 80; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, 99, 106 ó 113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; o (e)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135; y en el que la proteína se une a ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que (i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:145; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:146; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:147; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:152; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:154; y en el que la proteína se une a ActRIIB. En aspectos

adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compite con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que (i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:166; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:167; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:168; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:173; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:174; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:175; y en el que la proteína se une a ActRIIA y ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compite con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un conjunto de CDR que tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de diez, o cero, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (e)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (f)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (g)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73; y en el que la proteína se une a ActRIIB; y (h)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:79; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (i)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO:52; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (j)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (k)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (l)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:99; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:100; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:101; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (m)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:106; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:107; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:108; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (n)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:114; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (o)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:120; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:121; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; o (p)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135; y en el que la proteína se une a ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, 17, 23, 29, 35 ó 41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36; y (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; y (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 ó 78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 ó 79; y (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 u 80. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c)(i)

VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (e)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (f)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (g)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (h)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:79; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (i)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; y en el que la proteína se une a ActRIIB; o (j)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; y en el que la proteína se une a ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (ii) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (iii) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b)(i) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (ii) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; y (iii) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73; y en el que la proteína se une a ActRIIB; o (c)(i) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (ii) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; y (iii) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; y en el que la proteína se une a ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, 99, 106 ó 113; VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120; y VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de

una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:99; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:100; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:101; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:106; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:107; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 108; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (d)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:114; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; o (e)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:120; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:121; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (ii) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (iii) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126; VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127; y VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133 VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134; y VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un

ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, 17, 23, 29, 35 ó 41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; o (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; o (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 ó 78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 ó 79; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 u 80; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; o (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH y una VL. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, 17, 23, 29, 35 ó 41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; o (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; o (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 ó 78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 ó 79; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 u 80; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; o (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH y una VL. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, 99, 106 ó 113; (b) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120; (c) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121; (d) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (e) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; o (f) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b)

disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que: (a) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, 99, 106 ó 113; (b) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120; (c) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121; (d) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (e) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; o (f) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126; (b) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127; (c) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128; (d) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133; (e) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134; o (f) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que: (a) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126; (b) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127; (c) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128; (d) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133; (e) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134; o (f) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un conjunto de CDR en el que: (a)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, 17, 23, 29, 35 ó 41; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 ó 78; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 ó 79; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 u 80; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, 99, 106 ó 113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; o (e)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135; y en el que la proteína se une a ActRIIA.

[illegible]

(vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (n)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:114; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; o (o)(i) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113; (ii) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:120; (iii) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:121; (iv) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (v) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; y (vi) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94; y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende una secuencia de VH-CDR3 o una secuencia de VL-CDR3 dada a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una secuencia de VH-CDR3 o una secuencia de VL-CDR3 dada a conocer en la tabla 1. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende una secuencia de VH-CDR3 y una secuencia de VL-CDR3 dadas a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una secuencia de VH-CDR3 y una secuencia de VL-CDR3 dadas a conocer en la tabla 1.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB que comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5, 46, 66 u 80. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4, 18, 24, 30 ó 36, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, 17, 23, 29, 35 ó 41. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:79. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:79, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:78. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB que comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12, 53 ó 73. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12 y una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12, una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11, y una VL-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53, una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, y una VL-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51. En

algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73 y una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73, una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72, y una VL-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA que comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121, y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, 101, 108, 115 ó 121, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, 100, 107, 114 ó 120, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, 99, 106 ó 113. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:101. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:101 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:100. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:101, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:100, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:99. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:108. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:108 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:107. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:108, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:107, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:106. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:114. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:114, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:121, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:120, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA que comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94 y una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94, una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93, y una VL-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica

seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB y/o ActRIIA que comprende un dominio de unión a antígeno 3 (ABD3) de VH que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:142. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un VH-ABD3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:142 y un dominio de unión a antígeno de VH 2 (VH-ABD2) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:141. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende un VH-ABD3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133, un VH-ABD2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:141, y un dominio de unión a antígeno de VH 1 (VH-ABD1) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:140. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIA que comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128 y una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VH-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:128, una VH-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:127, y una VH-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:126. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIA que comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135 y una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VL-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:135, una VL-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:134, y una VL-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:133. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende una VH o una VL que tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido en comparación con una VH o VL de referencia dada a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VH o una VL que tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido en comparación con una VH o VL de referencia dada a conocer en la tabla 1. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende un par de VH y VL que tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido en



[illegible]

En un aspecto adicional, la proteína de unión a ActRII comprende un par de VH y VL en el que la secuencia de VH tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a una secuencia de VH de referencia de SEQ ID NO:144; y la secuencia de VL tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a una secuencia de VL de referencia de SEQ ID NO:151, y en el que la proteína se une a ActRIIB.

En un aspecto adicional, la proteína de unión a ActRII comprende un par de VH y VL en el que la secuencia de VH tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a una secuencia de VH de referencia de SEQ ID NO:165; y la secuencia de VL tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a una secuencia de VL de referencia de SEQ ID NO:172, y en el que la proteína se une a ActRIIA y ActRIIB.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende una VH o una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con una VH o VL de referencia dada a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII comprende una VH o una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con una VH o VL de referencia dada a conocer en la tabla 1. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII comprende una VH y una VL que tienen al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con una VH y una VL de referencia dadas a conocer en la tabla 1. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un par de VH y VL seleccionado del grupo que consiste en: (a)(i) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34 ó 40, y (ii) una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b)(i) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:45 ó 57, y (ii) una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:50, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c)(i) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:63 ó 77, y (ii) una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:70, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d)(i) una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119, y (ii) una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:91, y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; y (e)(i) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:125, y (ii) una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:132, y en el que la proteína se une a ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB y comprende un par de VH y VL seleccionado de (i) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:144, y (ii) una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:151, y la proteína se une a ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:165, y (ii) una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:172, y la proteína se une a ActRIIA y ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica

seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1 \text{ nM}$  y  $\geq 1 \text{ pM}$  (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En un aspecto adicional, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende un par de VH y VL seleccionado del grupo que consiste en: (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34 ó 40, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b) una secuencia de VH de SEQ ID NO:45 ó 57, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:50; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c) una secuencia de VH de SEQ ID NO:63 ó 77, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:70; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d) una secuencia de VH de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; y en el que la proteína se une a ActRIIB; y (e) una secuencia de VH de SEQ ID NO:125, y una secuencia de VL de SEQ ID NO:132 y en el que la proteína se une a ActRIIA. En un aspecto adicional, la proteína de unión a ActRII comprende un par de VH y VL seleccionado del grupo que consiste en: (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO:2 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (b) una secuencia de VH de SEQ ID NO:16 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (c) una secuencia de VH de SEQ ID NO:22 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (d) una secuencia de VH de SEQ ID NO:28 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (e) una secuencia de VH de SEQ ID NO:34 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (f) una secuencia de VH de SEQ ID NO:40 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (g) una secuencia de VH de SEQ ID NO:45 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:50; (h) una secuencia de VH de SEQ ID NO:57 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:50; (i) una secuencia de VH de SEQ ID NO:63 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:70; (j) una secuencia de VH de SEQ ID NO:77 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:70; (k) una secuencia de VH de SEQ ID NO:84 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (l) una secuencia de VH de SEQ ID NO:98 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (m) una secuencia de VH de SEQ ID NO:105 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (n) una secuencia de VH de SEQ ID NO:112 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (o) una secuencia de VH de SEQ ID NO:119 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; y (p) una secuencia de VH de SEQ ID NO:125 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:132.

En un aspecto adicional, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:144 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:151, y la proteína se une a ActRIIB.

Según la presente invención, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:165 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:172, y la proteína se une a ActRIIA y ActRIIB.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende un par de VH y VL seleccionado del grupo que consiste en: (a) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:2 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9 y en el que la proteína se une a ActRIIB; (b) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:16 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9 y en el que la proteína se une a ActRIIB; (c) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:22 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (d) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:28 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (e) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:34 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (f) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:40 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (g) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:45 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:50, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (h) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:57 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:50, en la que la proteína se une a ActRIIB; (i) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:63 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:70, y en el que la proteína se une a ActRIIB; (j) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:77 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:70; y en el que la proteína se une a ActRIIB; (k) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:84 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91, y en el

que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (l) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:98 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91, y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (m) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:105 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91, y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (n) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:112 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91, y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; (o) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:119 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91, y en el que la proteína se une a ActRIIB y ActRIIA; y (p) una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:125 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:132, y en el que la proteína se une a ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:144 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:151; y la proteína se une a ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:165 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:172; y la proteína se une a ActRIIA y ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende un par de VH y VL seleccionado del grupo que consiste en: (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO:2 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (b) una secuencia de VH de SEQ ID NO:16 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (c) una secuencia de VH de SEQ ID NO:22 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (d) una secuencia de VH de SEQ ID NO:28 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (e) una secuencia de VH de SEQ ID NO:34 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (f) una secuencia de VH de SEQ ID NO:40 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9; (g) una secuencia de VH de SEQ ID NO:45 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:50; (h) una secuencia de VH de SEQ ID NO:57 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:50; (i) una secuencia de VH de SEQ ID NO:63 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:70; (j) una secuencia de VH de SEQ ID NO:77 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:70; (k) una secuencia de VH de SEQ ID NO:84 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (l) una secuencia de VH de SEQ ID NO:98 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (m) una secuencia de VH de SEQ ID NO:105 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (n) una secuencia de VH de SEQ ID NO:112 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; (o) una secuencia de VH de SEQ ID NO:119 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91; y (p) una secuencia de VH de SEQ ID NO:125 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:132.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:144 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:151.

Según la presente invención, la proteína de unión a ActRII comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:165 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34, 40, 45, 57, 63 ó 77. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:2. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:16. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:22. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:28. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:34. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:40. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:45. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:57. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:63. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:77. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9, 50 ó 70. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34 ó 40, y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:45 ó 57. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:50. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:45 ó 57, y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:50. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH y una VL, en la que, la VH tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:63 ó 77; y la VL tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:70. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:63 ó 77, y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:70. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:144. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:151. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH y una VL, en la que, la VH tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:144; y la VL tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:144 y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB

tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:165. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:172. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VH y una VL, en la que, la VH tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:165; y la VL tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:165 y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIA y/o ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA y/o ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIA y/o ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y/o ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA y/o ActRIIB; y (d) se une a cada de ActRIIA y ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:84. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:SEQ ID NO:98. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:SEQ ID NO:105. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:SEQ ID NO:112. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:SEQ ID NO:119. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119, y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:84, y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:98 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:105 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y/o ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:112 y una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII y ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB y ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende una VH que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:125. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende una VL que tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:132. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende una VH y una VL, en la que, la VH tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:125; y la VL tiene al menos el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:132. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, una proteína de unión a ActRII compete por la unión a ActRII con un anticuerpo que comprende un par de secuencias de VH y VL dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, una proteína de unión a ActRII compete por la unión a ActRII con un anticuerpo que comprende un par de secuencias de VH y VL dado a conocer en la tabla 1. En determinados aspectos, una proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo que una proteína de unión a ActRII dada a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, una proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo que una proteína de unión a ActRII dada a conocer en la tabla 1. La capacidad de una proteína de unión a ActRII para competir por la unión con y/o unirse al mismo epítipo de ActRII que una proteína de unión a ActRII de referencia puede determinarse fácilmente usando las técnicas dadas a conocer en el presente documento o conocidas de otro modo en la técnica.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH de SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34, 40, 45, 57, 63 ó 77. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VL de SEQ ID NO:9, 50 ó 70. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH de SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34, 40, 45, 57, 63 ó 77; y una VL de SEQ ID NO:9, 50 ó 70. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH de SEQ ID NO:144. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VL de SEQ ID NO:151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB, pero no se une específicamente a ActRIIA. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VH de SEQ ID NO:165. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB y comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB, pero no se une a ActRIIA. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB, pero no se une a ActRIIA. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB, pero no se une a ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en: (a) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB; (b) los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB; (c) los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161) de ActRIIA; y (d) los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a un polipéptido o un conjunto de polipéptidos seleccionado del grupo que consiste en: (a) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB; (b) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB; (c) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157), los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB; (d) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB y los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) de ActRIIA; (e) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157), los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) y los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB; (f)

los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB y los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161) de ActRIIA; (g) los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161), los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) y los residuos de aminoácido CWLDDINCYDRT (SEQ ID NO:163) de ActRIIA; (h) los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157), los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB y los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161), los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) y los residuos de aminoácido CWLDDINCYDRT (SEQ ID NO:163) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34, 40, 45, 57, 63, 77 ó 144, y una VL de SEQ ID NO:9, 50, 70 ó 151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y/o ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:2, 16, 22, 28, 34, 40, 45, 57, 63, 77 ó 144, y una VL de SEQ ID NO:9, 50, 70 ó 151.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB) comprende una VH de SEQ ID NO:2 y una VL de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:2 y una VL de SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:2 y una VL de SEQ ID NO:9.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:16 y una VL de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:16 y una VL de SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:16 y una VL de SEQ ID NO:9.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:22 y una VL de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:22 y una VL de SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:22 y una VL de SEQ ID NO:9.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:28 y una VL de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:28 y una VL de SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:28 y una VL de SEQ ID NO:9.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:34 y una VL de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:34 y una VL de SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:34 y una VL de SEQ ID NO:9.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:40 y una VL de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:40 y una VL de SEQ ID NO:9. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:40 y una VL de SEQ ID NO:9.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:45 y una VL de SEQ ID NO:50. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:45 y una VL de SEQ ID NO:50. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:45 y una VL de SEQ ID NO:50.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:57 y una VL de SEQ ID NO:50. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:57 y una VL de SEQ ID NO:50. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:57 y una VL de SEQ ID NO:50.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:63 y una VL de SEQ ID NO:70. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:63 y una VL de SEQ ID NO:70. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:63 y una VL de

SEQ ID NO:70.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:77 y una VL de SEQ ID NO:70. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:77 y una VL de SEQ ID NO:70. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:77 y una VL de SEQ ID NO:70.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIA compite por la unión a ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:144 y una VL de SEQ ID NO:151. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB no se une específicamente a ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII compite por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y/o ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119; y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB. En algunas implementaciones, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB. En implementaciones adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157), los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) de ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161) y los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CWLDDINCYDRT (SEQ ID NO:163) de ActRIIA. En implementaciones adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161), los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) y los residuos de aminoácido CWLDDINCYDRT (SEQ ID NO:163) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB y los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB y los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) de ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) y los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB y los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161) y los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) de ActRIIA. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159), los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB y los residuos de aminoácido CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161), los residuos de aminoácido ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162) y los residuos de aminoácido CWLDDINCYDRT (SEQ ID NO:163) de ActRIIA.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) y los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159) y los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159), los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA compite por la unión a los residuos de aminoácido CCEGNFCNER (SEQ ID NO:159), los residuos de aminoácido NANWELERT (SEQ ID NO:157) y los residuos de aminoácido GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160) de ActRIIB con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:165 y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína

de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH de SEQ ID NO:84, 98, 105, 112 ó 119; y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH de SEQ ID NO:165. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VL de SEQ ID NO:172. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH de SEQ ID NO:165; y una VL de SEQ ID NO:172.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:84 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:98 y una VL de SEQ ID NO:91. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:98 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:98 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:105 y una VL de SEQ ID NO:91. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:105 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:105 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:112 y una VL de SEQ ID NO:91. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:112 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:112 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:119 y una VL de SEQ ID NO:91. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB compite por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:119 y una VL de SEQ ID NO:91. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIB y ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:119 y una VL de SEQ ID NO:91.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA comprende una VH de SEQ ID NO:125 y una VL de SEQ ID NO:132. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIA compite por la unión a ActRIIA con un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:125 y una VL de SEQ ID NO:132. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une al mismo epítipo de ActRIIA que un anticuerpo que comprende una VH de SEQ ID NO:125 y una VL de SEQ ID NO:132.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, y VH-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (b) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; o (c) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compite con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (b) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o (c) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compite con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan

ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos

aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y comprende un conjunto de CDR: VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3, en el que el conjunto de CDR es idéntico a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o menos de diez, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, un conjunto de CDR de referencia en el que: (a) VH-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 ó 58; (b) VH-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 ó 59; (c) VH-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (d) VL-CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (e) VL-CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o (f) VL-CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende un conjunto de dominios de unión a antígeno (ABD) de VH: VH-ABD1, VH-ABD2, VH-ABD3, VL-ABD1, VL-ABD2, y VL-ABD3, en la que: (a) VH-ABD1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:140; (b) VH-ABD2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:141; (c) VH-ABD3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:142; (d) VL-ABD1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92; (e) VL-ABD2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93; o (f) VL-ABD3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB comprende una VH y una VL. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, BMP7, BMP9, o BMP10) por la unión a ActRIIB o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB y/o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIA y comprende una VH y una VL, en la que la secuencia de VH es idéntica a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido con respecto a, una secuencia de VH de referencia de SEQ ID NO:125, y en la que la secuencia de VL es idéntica a, o tiene un total de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, menos de quince, o cero, sustituciones, adiciones y/o deleciones de aminoácido con respecto a, una secuencia de VL de referencia de SEQ ID NO:132. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que se une específicamente a ActRII. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-ActRII se une específicamente a ActRIIB y/o ActRIIA. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-ActRII es un anticuerpo murino, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo multispecífico, o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-ActRII es un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fab', un fragmento dsFv, un fragmento scFv, o un fragmento sc(Fv)<sub>2</sub>.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII (por ejemplo, ActRIIA y/o ActRIIB) y bloquea una actividad de un ligando de ActRII (por ejemplo, GDF8 (miostatina) y/o activina). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII (por ejemplo, y disminuye la inhibición de

formación de músculo o el aumento de formación de grasa asociado con la actividad de un ligando de ActRII (por ejemplo, GDF8 (miostatina) y/o activina). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRII y trata o mejora una o más afecciones asociadas con un trastorno muscular o un trastorno metabólico. En algunos aspectos, el trastorno muscular es deterioro muscular debido a enfermedad o inactividad. En algunos aspectos, el trastorno metabólico es diabetes, obesidad, hiperglucemia, o disminución de la masa ósea.

En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB o un anticuerpo anti-ActRIIB y anti-ActRIIA) inhibe o disminuye la unión de ActRIIB por GDF8 (miostatina) o la señalización de ActRIIB a través de Smad mediada por GDF8. En otro aspecto, la proteína de unión a ActRIIB disminuye la inhibición de formación de músculo o el aumento de formación de grasa. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB se une a ActRIIB e inhibe o disminuye una o más afecciones asociadas con un trastorno muscular o un trastorno metabólico. En algunos aspectos, el trastorno muscular es deterioro muscular debido a enfermedad o inactividad. En algunos aspectos, el trastorno metabólico es diabetes, obesidad, hiperglucemia, o disminución de la masa ósea.

En determinados aspectos, el bloqueo de la actividad de ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) por una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB y un anticuerpo anti-ActRIIA) descrita en el presente documento inhibe o disminuye una o más afecciones asociadas con un trastorno muscular, tal como deterioro muscular. En aspectos adicionales, el bloqueo de ActRII inhibe o disminuye una o más afecciones asociadas con deterioro muscular debido a enfermedad o inactividad. En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB o un anticuerpo anti-ActRIIB y anti-ActRIIA) inhibe o disminuye la unión a ActRIIB por GDF8. En otro aspecto, la proteína de unión a ActRIIB inhibe o disminuye la inhibición de diferenciación muscular por una ruta dependiente de Smad.

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y bloquea una actividad mediada por ligando de ActRIIB. Se sabe que algunos ligandos de ActRIIB tales como GDF-8 son un regulador negativo del tejido musculoesquelético y se sabe que la señalización a través de miostatina conduce a la masa muscular. La señalización mediada por ligando de ActRIIB también puede modular la producción de enzimas específicas de músculos (por ejemplo, creatina cinasa), estimular la proliferación de mioblastos y modular la diferenciación de preadipocitos a adipocitos. Una actividad de miostatina aumentada se ha asociado con trastornos por deterioro muscular, disminución de la masa muscular debido a inactividad, y trastornos metabólicos incluyendo diabetes, obesidad, hiperglucemia, y disminución de la masa ósea. Una actividad mediada por ligando de ActRIIB aumentada también se ha asociado con aumentos asociados a la edad de las razones de grasa con respecto a músculo, y atrofia muscular asociada a la edad. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y disminuye la inhibición de formación de músculo o el aumento de formación de grasa asociado con la actividad de algunos ligandos de ActRIIB. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une específicamente a ActRIIB y trata o mejora una o más afecciones asociadas con un trastorno muscular o un trastorno metabólico. En algunos aspectos, el trastorno muscular es deterioro muscular debido a enfermedad o inactividad. En algunos aspectos, el trastorno metabólico es diabetes, obesidad, hiperglucemia, o disminución de la masa ósea. La actividad mediada por ligando de ActRIIB puede determinarse usando métodos reconocidos en la técnica, tales como los descritos en el presente documento.

En determinados aspectos, el bloqueo de la actividad de ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) por una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB y un anticuerpo anti-ActRIIA) descrita en el presente documento reduce una o más afecciones asociadas con fibrosis. En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRIIB inhibe o disminuye el desarrollo mediado por ActRIIB de lesiones fibróticas, pérdida de peso u otros síntomas clínicos y/o la expresión alterada de moléculas biológicas (por ejemplo, expresión de ARNm o proteína) asociadas con el desarrollo de una afección fibrótica. En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRIIA inhibe o disminuye el desarrollo mediado por ActRIIA de lesiones fibróticas, pérdida de peso u otros síntomas clínicos y/o la expresión alterada de moléculas biológicas (por ejemplo, expresión de ARNm o proteína) asociadas con el desarrollo de una afección fibrótica.

Tal como se indicó anteriormente, un anticuerpo anti-ActRII (por ejemplo, un anticuerpo contra ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y una variante y un derivado de los mismos) que contiene una secuencia de aminoácidos de VH y/o VL que se une a ActRII puede tener al menos el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia expuesta en el presente documento. En algunos aspectos, la(s) secuencia(s) de aminoácidos de VH y/o VL que se une(n) a ActRII comprende(n) 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 adiciones, sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras) o delecciones de aminoácido en relación con una secuencia expuesta en el presente documento. En aspectos adicionales, la secuencia de aminoácidos de VH y/o VL que se une a ActRII comprende 1, 2, 3, 4, 5 o más adiciones, sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras) o delecciones de aminoácido en relación con una secuencia expuesta en el presente documento. Un anticuerpo anti-ActRII que contiene regiones VH y VL que tienen un determinado porcentaje de similitud con una región VH o una región VL, o que tienen una o más sustituciones, delecciones y/o inserciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), puede obtenerse mediante mutagénesis (por ejemplo, mutagénesis dirigida al sitio o mediada por PCR) de moléculas de ácido nucleico que codifican para las regiones de VH y/o VL descritas en el presente documento, seguido de realización de pruebas sobre el anticuerpo alterado codificado para

determinar la unión a ActRII y opcionalmente realización de pruebas para determinar la función retenida usando los ensayos funcionales descritos en el presente documento o un ensayo conocido en la técnica que puede modificarse de manera rutinaria para someter a prueba la función retenida.

- 5 La afinidad o avidez de una proteína de unión a ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo contra ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y una variante y un derivado de los mismos) por hActRIIB, murActRIIB, puede determinarse experimentalmente usando cualquier método adecuado conocido en la técnica, por ejemplo, citometría de flujo, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) o radioinmunoensayo (RIA), o cinética (por ejemplo, análisis BIACORE® o KINEXA®). Pueden emplearse fácilmente formatos de ensayos de unión competitiva y ensayos de unión directa (véanse, por ejemplo, Berzofsky *et al.*, "Antibody-Antigen Interactions", en Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: Nueva York, N.Y. (1984); Kuby, Immunology, W. H. Freeman and Company: Nueva York, N.Y. (1992); y los métodos descritos en el presente documento). La afinidad medida de una interacción anticuerpo-antígeno particular puede variar si se mide en condiciones diferentes (por ejemplo, concentración de sal, pH, temperatura). Por tanto, las mediciones de afinidad y otros parámetros de unión a ActRII (por ejemplo,  $K_D$  o  $K_d$ ,  $K_{on}$ ,  $K_{off}$ ) se realizan con disoluciones estandarizadas de ActRII y proteínas de unión a ActRII, y las mediciones se realizan usando condiciones y métodos estandarizados, tal como se describen en el presente documento o se conocen de otro modo en la técnica.
- 10
- 20 La divulgación proporciona además una proteína de unión a ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRIIB y/o un anticuerpo anti-ActRIIA tal como se describen en el presente documento, en la que la proteína de unión a ActRII se conjuga con un agente heterólogo. En determinados aspectos, el agente heterólogo es un agente antimicrobiano, un agente terapéutico, un profármaco, un péptido, una proteína, una enzima, un lípido, un modificador de respuesta biológica, un agente farmacéutico, una linfocina, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo heterólogo, un marcador detectable, o un polietilenglicol (PEG). Las proteínas de unión a ActRII heteroconjugadas se comentan con más detalle en otras partes en el presente documento.
- 25

En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII no es un anticuerpo anti-ActRII. En la técnica se conocen una variedad de métodos para identificar y producir polipéptidos que no son anticuerpos que se unen con alta afinidad a una diana proteica. Véanse, por ejemplo, Skerra, Curr. Opin. Biotech. 18:295-304 (2007); Hosse *et al.*, Protein Science 15:14-27 (2006); Gill *et al.*, Curr. Opin. Biotechnol. 17:653-658 (2006); Nygren, FEBS J. 275:2668-2676 (2008); y Skerra, FEBS J. 275:2677-2683 (2008). En algunos aspectos, puede usarse la tecnología de presentación en fago para identificar/producir una proteína de unión a ActRII. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII comprende un armazón proteico basado en un tipo seleccionado del grupo que consiste en polipéptidos VASP, polipéptido pancreático aviar (aPP), tetranectina (basada en CTLD3), afilina (basada en  $\gamma$ B-cristalina/ubiquitina), una knottina, un dominio SH3, un dominio PDZ, tendamistat, transferrina, un dominio de repeticiones de anquirina de consenso (por ejemplo, DARPin), un pliegue proteico de lipocalina (por ejemplo, anticallinas y duocalinas), un mimético epitópico proteico (PEM), un maxicuerpo/avímero, un anticuerpo de dominio, un dominio de fibronectina (por ejemplo, 10Fn3, véanse, por ejemplo, las publicaciones de solicitud estadounidense n.ºs 2003/0170753 y 20090155275), un dominio de proteína A (por ejemplo, aficuerpos), y tiorredoxina.

30

35

40

En algunos aspectos, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIA (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA tal como un anticuerpo anti-ActRIIA de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIA) que compete por la unión a ActRIIA con un anticuerpo anti-ActRIIA proporcionado en el presente documento. En algunos aspectos, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIA que se une al mismo epítipo de ActRIIA que una proteína de unión a ActRIIA proporcionada en el presente documento.

45

En algunos aspectos, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB tal como un anticuerpo anti-ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB) que compete por la unión a ActRIIB con un anticuerpo anti-ActRIIB proporcionado en el presente documento. En algunos aspectos, la divulgación proporciona una proteína de unión a ActRIIB que se une al mismo epítipo de ActRIIB que una proteína de unión a ActRIIB proporcionada en el presente documento. La capacidad de una proteína de unión a ActRII de prueba para inhibir la unión de, por ejemplo, una proteína de unión de referencia tal como un anticuerpo que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:40 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9, o una secuencia de VH de SEQ ID NO:119 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:91, a ActRIIB demuestra que la proteína de unión a ActRII de prueba puede competir con el anticuerpo de referencia por la unión a ActRIIB. Según la teoría no limitativa, una proteína de unión a ActRIIB de este tipo puede unirse al mismo epítipo o un epítipo relacionado (por ejemplo, estructuralmente similar o espacialmente próximo) en ActRIIB que el anticuerpo contra ActRIIB de referencia con el que compete. En un aspecto, la proteína de unión a ActRIIB se une al mismo epítipo en ActRIIB que un anticuerpo que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:40 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:9.

50

55

60

Se sabe que los receptores ActRII tales como ActRIIB y ActRIIA fosforilan los correceptores ActRI (por ejemplo, Alk4 y Alk7) y señalizan a través de la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3). En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB y un anticuerpo anti-ActRIIA) puede disminuir la fosforilación mediada por ActRII de su receptor ActRI afín. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB

65

(por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB) puede disminuir la fosforilación mediada por ActRIIB de ALK4 y/o ALK7. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIA (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA) puede disminuir la fosforilación mediada por ActRIIA de ALK4 y/o ALK7. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII puede inhibir la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) mediada por ActRII en células que expresan ActRII2. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB) puede disminuir la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) mediada por ActRIIB en células que expresan ActRIIB. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIA (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA) puede disminuir la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) mediada por ActRIIA en células que expresan ActRIIA. En algunos aspectos, las células que expresan el receptor ActRII son humanas.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII tiene al menos una característica seleccionada de: (a) competir con activina A por la unión a ActRIIA y/o ActRIIB; (b) disminuir la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIA y/o ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIA y/o ActRIIB (por ejemplo, activina A); (c) disminuir la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y/o ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) unirse a ActRIIA y/o ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM tal como se determina mediante BIACORE® o mediante KINEXA®.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) suprime la fosforilación mediada por ActRII de un receptor ActRI (por ejemplo, ALK4 y/o ALK7) o la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRII, tal como se mide usando un ensayo basado en células. En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII suprime la fosforilación mediada por ActRII con una  $CI_{50}$  inferior a 500 pM, inferior a 350 pM, inferior a 250 pM, inferior a 150 pM, inferior a 100 pM, inferior a 75 pM, inferior a 60 pM, inferior a 50 pM, inferior a 40 pM, inferior a 30 pM, inferior a 20 pM, inferior a 15 pM, inferior a 10 pM, o inferior a 5 pM, tal como se mide usando un ensayo basado en células.

#### Preparación de proteínas de unión a ActRII

En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se une al dominio extracelular de ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA). En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo anti-ActRIIA y/o un anticuerpo anti-ActRIIB, tal como un anticuerpo anti-ActRIIA de longitud completa y un anticuerpo anti-ActRIIB de longitud completa, y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos.

Las proteínas de unión a ActRII pueden prepararse fácilmente usando técnicas conocidas. Los anticuerpos monoclonales anti-ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA) pueden prepararse usando técnicas conocidas en la técnica, incluyendo métodos de hibridoma, tales como los descritos por Kohler y Milstein, Nature 256:495-497 (1975). Usando el método de hibridoma, se inmuniza un ratón, un hámster u otro animal huésped apropiado tal como se describió anteriormente para provocar la producción, por parte de los linfocitos, de anticuerpos que se unirán específicamente a un antígeno inmunizante. Los linfocitos también pueden inmunizarse *in vitro*. Tras la inmunización, se aíslan los linfocitos y se fusionan con una línea celular de mieloma adecuada para formar células de hibridoma que luego pueden seleccionarse a partir de células de mieloma y linfocitos no fusionados. Los hibridomas que producen anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra ActRII tal como hActRIIB y hActRIIA, tal como se determina mediante inmunoprecipitación, inmunotransferencia, o mediante un ensayo de unión *in vitro* (por ejemplo, radioinmunoensayo (RIA); ensayo de inmuoadsorción ligado a enzimas (ELISA)) pueden propagarse entonces o bien en cultivo *in vitro* usando métodos convencionales (véase, por ejemplo, Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) o bien *in vivo* como tumores ascíticos en un animal. Luego pueden purificarse los anticuerpos monoclonales a partir del medio de cultivo o fluido ascítico tal como se describió anteriormente para los anticuerpos policlonales.

Los anticuerpos monoclonales proporcionados también pueden prepararse usando métodos de ADN recombinante tal como se describe en la patente estadounidense n.º 4.816.567, en los que los polinucleótidos que codifican para un anticuerpo monoclonal se aíslan a partir de células maduras B o una célula de hibridoma, tal como mediante RT-PCR usando cebadores oligonucleotídicos que amplifican específicamente los genes que codifican para las cadenas pesada y ligera del anticuerpo, y se determina su secuencia usando procedimientos conocidos. Luego se clonan los polinucleótidos aislados que codifican para las cadenas pesada y ligera en vectores de expresión adecuados, que cuando se transfectan en células huésped tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO), células Per.C6 o células de mieloma (por ejemplo, células NS0) que de otro modo no producen la proteína inmunoglobulina, se generan anticuerpos monoclonales por parte de las células huésped. Los anticuerpos monoclonales anti-ActRII recombinantes también pueden aislarse fácilmente a partir de bibliotecas de presentación en fago que expresan las CDR de la especie deseada usando técnicas conocidas (véanse, por ejemplo, McCafferty *et al.*, Nature 348:552-554 (1990); Clackson *et al.*, Nature 352:624-628 (1991); y Marks *et al.*, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)).

Los anticuerpos anti-ActRII pueden humanizarse, someterse a remodelación superficial y modificarse por ingeniería opcionalmente para presentar alta afinidad por el antígeno ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA) y otras propiedades biológicas favorables. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII humanizado (o humano) puede diseñarse y prepararse fácilmente usando modelado de inmunoglobulinas tridimensional habitualmente disponible y

procedimientos conocidos para seleccionar residuos de entramado (FW), secuencias de consenso y secuencias de la línea germinal para proporcionar una característica de anticuerpo deseada, tal como afinidad aumentada por ActRII.

En la técnica se conocen estrategias de maduración por afinidad y estrategias de intercambio de cadenas y pueden emplearse para generar anticuerpos anti-ActRII (por ejemplo, anti-ActRIIA y/o anti-ActRIIB) de alta afinidad, así como derivados y variantes de las proteínas de unión a ActRII dadas a conocer en el presente documento. Véase, por ejemplo, Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992). Una estrategia adicional para generar anticuerpos anti-ActRII (por ejemplo, anti-ActRIIA y/o anti-ActRIIB) de alta afinidad, así como derivados y variantes de las proteínas de unión a ActRII dadas a conocer en el presente documento, es generar regiones de VH o VL novedosas que porten secuencias derivadas de CDR de la divulgación usando mutagénesis al azar de uno o más genes de VH y/o VL seleccionados para generar mutaciones dentro de todo el dominio variable. Una técnica de este tipo que usa PCR propensa a errores se describe por Gram *et al.* (PNAS USA 89:3576-3580 (1992)). En algunas implementaciones, se realizan una o dos sustituciones de aminoácido dentro de un conjunto de CDR de VH y/o CDR de VL. Una estrategia adicional usa mutagénesis directa en regiones CDR de genes de VH o VL que codifican para los anticuerpos anti-ActRII dados a conocer en el presente documento. Se dan a conocer ejemplos de tales técnicas por Barbas *et al.* (PNAS USA 91:3809-3813 (1994)) y Schier *et al.* (J. Mol. Biol. 263:551-567 (1996)).

La humanización, remodelación superficial o modificación por ingeniería de los anticuerpos anti-ActRII de la divulgación puede realizarse usando cualquier método conocido incluyendo, pero sin limitarse a, los descritos en Jones *et al.*, *Nature* 321:522 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323 (1988); Verhoeven *et al.*, *Science* 239:1534 (1988); Sims *et al.*, *J. Immunol.* 151: 2296 (1993); Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 196:901 (1987); Carter *et al.*, *PNAS USA* 89:4285 (1992); Presta *et al.*, *J. Immunol.* 151:2623 (1993), las patentes estadounidenses n.ºs 5.639.641; 5.723.323; 5.976.862; 5.824.514; 5.817.483; 5.814.476; 5.763.192; 5.723.323; 5.766.886; 5.714.352; 6.204.023; 6.180.370; 5.693.762; 5.530.101; 5.585.089; 5.225.539; 4.816.567; 7.557.189; 7.538.195; y 7.342.110; las solicitudes internacionales n.ºs PCT/US98/16280; PCT/US96/18978; PCT/US91/09630; PCT/US91/05939; PCT/US94/01234; PCT/GB89/01334; PCT/GB91/01134; PCT/GB92/01755; las publicaciones de solicitud internacional n.ºs WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; y la publicación de patente europea n.º EP 229246. Del mismo modo, están disponibles ensayos conocidos para seleccionar fácilmente anticuerpos contra ActRII que presenten características deseables (por ejemplo, ensayos para determinar la afinidad de unión a ActRII; ensayos de bloqueo cruzado tales como los ensayos de unión competitiva de proteína de unión a ActRII humana basados en BIACORE® descritos en el presente documento).

También pueden usarse métodos para modificar por ingeniería, humanizar o someter a remodelación superficial anticuerpos humanos o no humanos y se conocen en la técnica. Un anticuerpo humanizado, sometido a remodelación superficial o modificado por ingeniería de manera similar puede tener uno o más residuos de aminoácido de una fuente no sea humana, por ejemplo, pero sin limitarse a, ratón, rata, conejo, primate no humano u otro mamífero. Estos residuos de aminoácido no humanos se reemplazan por residuos que a menudo se denominan residuos de "importación", que normalmente se toman de un dominio variable, un dominio constante u otro dominio de "importación" de una secuencia humana conocida. Tales secuencias importadas pueden usarse para reducir la inmunogenicidad o reducir, potenciar o modificar la unión, afinidad, velocidad de asociación, velocidad de disociación, avidez, especificidad, semivida o cualquier otra característica adecuada, tal como se conoce en la técnica. Preferiblemente, se mantiene parte o la totalidad de las secuencias de CDR humanas o no humanas, mientras que las secuencias no humanas de las regiones variables y constantes pueden reemplazarse por aminoácidos humanos u otros aminoácidos.

Los ácidos nucleicos que codifican para una proteína de unión a ActRII, tal como un anticuerpo anti-ActRIIA o anti-ActRIIB de longitud completa, pueden modificarse adicionalmente de varias maneras diferentes usando tecnología de ADN recombinante para generar anticuerpos alternativos. En algunos aspectos, pueden sustituirse los ácidos nucleicos que codifican para los dominios constantes de las cadenas ligera y pesada de, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal de ratón (a) por las regiones codificantes de, por ejemplo, un anticuerpo humano para generar un anticuerpo quimérico o (b) por ácidos nucleicos no codificantes de inmunoglobulina para generar un anticuerpo de fusión. En algunos aspectos, las regiones constantes se truncan o eliminan para generar el fragmento de anticuerpo deseado de un anticuerpo monoclonal. Puede usarse mutagénesis dirigida al sitio o de alta densidad de la secuencia codificante de la región variable para optimizar la especificidad, afinidad, etc., de un anticuerpo monoclonal.

Los anticuerpos anti-ActRII humanos pueden prepararse directamente usando cualquiera de las numerosas técnicas conocidas en la técnica (véanse, por ejemplo, Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, pág. 77 (1985); Boemer *et al.*, *J. Immunol.* 147(1):86-95 (1991); y la patente estadounidense n.º 5.750.373). De manera similar, los anticuerpos anti-ActRII humanos pueden obtenerse fácilmente a partir de linfocitos B humanos inmortalizados inmunizados *in vitro* o aislados a partir de un individuo inmunizado que produce un anticuerpo dirigido contra ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA).

Los anticuerpos anti-ActRII humanos también pueden seleccionarse a partir de una biblioteca de fagos que expresa anticuerpos humanos, tal como se describe, por ejemplo, en Vaughan *et al.*, *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996), Sheets *et al.*, *PNAS* 95:6157-6162 (1998), Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991), y Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*

222:581 (1991). También se describen técnicas para la generación y selección de bibliotecas de fagos de anticuerpos en las patentes estadounidenses n.ºs 5.969.108; 6.172.197; 5.885.793; 6.521.404; 6.544.731; 6.555.313; 6.582.915; 6.593.081; 6.300.064; 6.653.068; 6.706.484; y 7.264.963; y Rothe *et al.*, J. Mol. Biol. 376(4): 1182-1200 (2008).

Los anticuerpos anti-ActRII humanos también pueden prepararse en ratones transgénicos que contienen loci de inmunoglobulina humana que, tras la inmunización, pueden producir anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena. Este enfoque se describe, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.ºs 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016.

Los anticuerpos anti-ActRII humanos también pueden seleccionarse y/o aislarse a partir de bibliotecas de presentación de anticuerpos basadas en levaduras, tal como se da a conocer, por ejemplo, en los documentos WO012/009568; WO09/036379; WO10/105256; WO03/074679 y la publicación de solicitud estadounidense n.º US2002/0177170. Tales bibliotecas se diseñan *in silico* para reflejar la diversidad proporcionada por el repertorio preinmunitario humano.

Alternativamente, los anticuerpos anti-ActRII pueden seleccionarse a partir de una biblioteca de anticuerpos presentada en levadura. Véanse, por ejemplo: Blaise *et al.*, Gene 342(2):211-218 (2004); Boder *et al.*, Nat Biotechnol. 15(6):553-557 (1997); Kuroda *et al.*, Biotechnol. Lett. 33(1):1-9 (2011). Review; Lauer *et al.*, J. Pharm. Sci. 101(1):102-15 (2012); Orcutt K.D. y Wittrup K.D. Antibody Engineering, yeast display and selection (2010), 207-233; Rakestraw *et al.*, Protein Eng. Des. Sel. 24(6):525-30 (2011); y las patentes estadounidenses n.ºs 6.423.538; 6.696.251; y 6.699.658.

Se conocen diversas técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno. Tradicionalmente, estos fragmentos se derivan a través de la digestión proteolítica de anticuerpos intactos (véanse, por ejemplo, Morimoto *et al.*, J. Biochem. Biophys. Met. 24:107-117 (1993); y Brennan *et al.*, Science 229:81 (1985)). En determinados aspectos, los fragmentos de anticuerpo de unión a ActRII se producen de manera recombinante. Los fragmentos de anticuerpo Fab, Fv y scFv pueden expresarse todos ellos en, y secretarse por, células huésped de *E. coli* u otras células huésped, permitiendo así la producción de grandes cantidades de estos fragmentos. Un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII de este tipo puede aislarse adicionalmente a partir de las bibliotecas de fagos de anticuerpos comentadas anteriormente. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo de unión a ActRII es un anticuerpo lineal tal como se describe en la patente estadounidense n.º 5.641.870. En la técnica se conocen otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno.

Las técnicas conocidas pueden adaptarse fácilmente para la producción de anticuerpos de cadena sencilla que se unen a ActRII (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.946.778). Además, los métodos conocidos pueden adaptarse de manera rutinaria para la construcción de bibliotecas de expresión de Fab (véase, por ejemplo, Huse *et al.*, Science 246:1275-1281 (1989)) para permitir una identificación rápida y eficaz de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada para ActRII. Los fragmentos de anticuerpo de unión a ActRII pueden producirse mediante técnicas conocidas en la técnica incluyendo, pero sin limitarse a: (a) un fragmento F(ab')<sub>2</sub> producido mediante digestión con pepsina de un anticuerpo; (b) un fragmento Fab generado mediante la reducción de los puentes disulfuro de un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, (c) un fragmento Fab generado mediante el tratamiento del anticuerpo anti-ActRII con papaína y un agente reductor, y (d) fragmentos Fv.

En determinados aspectos, puede modificarse una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA y/o un anticuerpo anti-ActRIIB) con el fin de aumentar su semivida sérica. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante la incorporación de un epítipo de unión al receptor de rescate en la proteína de unión a ActRII por mutación de una región apropiada en la proteína de unión a ActRII o mediante la incorporación del epítipo de unión al receptor de rescate en una etiqueta peptídica que luego se fusiona con la proteína de unión a ActRIIB en cualquier extremo o en la parte central (por ejemplo, mediante síntesis de ADN o péptido). En la técnica se conocen otros métodos para aumentar la semivida sérica de una proteína de unión a ActRII, por ejemplo, conjugación con una molécula heteróloga tal como PEG.

Las proteínas de unión a ActRII heteroconjugadas (por ejemplo, anticuerpos anti-ActRIIB, tales como anticuerpos anti-ActRIIB de longitud completa y fragmentos de anticuerpo de unión a ActRIIB, y variantes y derivados de los mismos) también están dentro del alcance de la divulgación. Las proteínas de unión a ActRII heteroconjugadas están compuestas por dos proteínas unidas covalentemente. Se contempla que las proteínas de unión a ActRII heteroconjugadas pueden prepararse *in vitro* usando métodos conocidos en la química de proteínas sintéticas, incluyendo los que implican agentes de reticulación. Por ejemplo, pueden construirse inmunotoxinas usando una reacción de intercambio de disulfuro o mediante la formación de un enlace tioéter. Los ejemplos de reactivos adecuados para este propósito incluyen iminotiolato y metil-4-mercaptopbutirimidato.

Las proteínas de unión a ActRII pueden comprender cualquier tipo de región variable que proporcione la asociación del anticuerpo con ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA). Tal región variable puede comprender o derivarse de cualquier mamífero que pueda inducirse para provocar una respuesta humoral y generar inmunoglobulinas contra el antígeno ActRII. La región variable de un anticuerpo anti-ActRII puede ser, por ejemplo, de origen humano, murino,

primate no humano (por ejemplo, macacos cangrejeros, macacos, etc.) o lupino. En algunos aspectos, las regiones tanto variables como constantes de los anticuerpos anti-ActRII modificados son humanas. En otros aspectos, las regiones variables de anticuerpos compatibles (habitualmente derivados de una fuente no humana) pueden modificarse por ingeniería o personalizarse específicamente para mejorar las propiedades de unión o reducir la inmunogenicidad de la molécula. A este respecto, las regiones variables útiles según la divulgación pueden humanizarse o alterarse de otro modo mediante la inclusión de secuencias de aminoácidos importadas usando maduración por afinidad, procedimientos de mutagénesis, estrategias de intercambio de cadenas y/u otros métodos descritos en el presente documento o conocidos de otro modo en la técnica.

En determinados aspectos, los dominios variables en las cadenas tanto pesada como ligera de un anticuerpo anti-ActRII se alteran mediante reemplazo al menos parcial de una o más CDR y/o mediante reemplazo parcial de la región de entramado y cambio de secuencia. Aunque las CDR pueden derivarse de un anticuerpo de la misma clase o incluso subclase que el anticuerpo a partir del cual se derivan las regiones de entramado, se prevé que las CDR se derivarán de un anticuerpo de clase diferente y, en determinados aspectos, de un anticuerpo de una especie diferente. No es necesario reemplazar la totalidad de las CDR por las CDR completas de la región variable del donante para transferir la capacidad de unión a antígeno de un dominio variable a otro. Más bien, sólo es necesario transferir aquellos residuos que son necesarios para mantener la actividad del sitio de unión a antígeno. Está bien dentro de la competencia de los expertos habituales en la técnica obtener de manera rutinaria un anticuerpo funcional con inmunogenicidad reducida. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 5.585.089, 5.693.761 y 5.693.762.

A pesar de las alteraciones en la región variable, los expertos habituales en la técnica apreciarán que los anticuerpos anti-ActRII modificados de la divulgación comprenderán anticuerpos en los que al menos una fracción de uno o más de los dominios de región constante se ha delecionado o alterado de otro modo para proporcionar características bioquímicas deseadas, tales como ADCC disminuida o semivida sérica aumentada, en comparación con un anticuerpo de aproximadamente la misma inmunogenicidad que comprende una región constante nativa o inalterada. En algunos aspectos, la región constante de los anticuerpos anti-ActRII modificados comprende una región constante humana. Las modificaciones en la región constante pueden incluir adiciones, delecciones o sustituciones de uno o más aminoácidos en uno o más dominios. Los anticuerpos anti-ActRII modificados dados a conocer en el presente documento pueden comprender alteraciones o modificaciones en uno o más de los tres dominios constantes de cadena pesada (CH1, CH2 o CH3) y/o en el dominio constante de cadena ligera (CL). En algunos aspectos, los anticuerpos anti-ActRII modificados comprenden regiones constantes en las que se contemplan uno o más dominios delecionados de manera parcial o completa. En algunos aspectos, los anticuerpos anti-ActRII modificados comprenden constructos o variantes con dominios delecionados en los que se ha eliminado el dominio CH2 completo (constructos  $\Delta$ CH2). En algunos aspectos, el dominio de región constante omitido puede reemplazarse por un espaciador de aminoácidos corto (por ejemplo, de 10 residuos) que proporciona parte de la flexibilidad molecular conferida normalmente por la región constante ausente.

Se entiende generalmente que la región constante media en varias funciones efectoras. Por ejemplo, la unión del componente C1 del complemento a anticuerpos activa el sistema del complemento. La activación del complemento es importante en la opsonización y la lisis de patógenos celulares. La activación del complemento también estimula la respuesta inflamatoria y también puede estar implicada en la hipersensibilidad autoinmunitaria. Además, los anticuerpos se unen a las células a través de la región Fc, uniéndose un sitio de receptor de Fc en la región Fc del anticuerpo a un receptor de Fc (FcR) en una célula. Hay varios receptores de Fc que son específicos para las diferentes clases de anticuerpo, incluyendo IgG (receptores gamma), IgE (receptores eta), IgA (receptores alfa) e IgM (receptores mu). La unión del anticuerpo a receptores de Fc en las superficies celulares desencadena varias respuestas biológicas importantes y diversas, incluyendo el engullimiento y la destrucción de partículas recubiertas con anticuerpo, el aclaramiento de inmunocomplejos, la lisis de células diana recubiertas con anticuerpo por parte de linfocitos citolíticos (denominada citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, o ADCC), la liberación de mediadores inflamatorios, la transferencia placentaria y el control de la producción de inmunoglobulinas.

En determinados aspectos, un anticuerpo anti-ActRII tiene una función efectora alterada que, a su vez, afecta al perfil biológico del anticuerpo anti-ActRII administrado. Por ejemplo, la delección o inactivación (a través de mutaciones puntuales u otros medios) de un dominio de región constante puede reducir la unión al receptor de Fc del anticuerpo modificado circulante. En otros casos, las modificaciones de la región constante pueden moderar la unión al complemento y, por tanto, reducir la semivida sérica y la asociación inespecífica de una citotoxina conjugada. Pueden usarse aún otras modificaciones de la región constante para eliminar los enlaces disulfuro o restos oligosacáridos que permitan una localización mejorada debido a una mayor especificidad de antígeno o flexibilidad del anticuerpo. De manera similar, las modificaciones en la región constante según esta divulgación pueden realizarse fácilmente usando técnicas bioquímicas o de ingeniería molecular conocidas por los expertos habituales en la técnica.

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRIIB proporcionada en el presente documento es un anticuerpo contra ActRII que no tiene una o más funciones efectoras. Por ejemplo, en algunos aspectos, el anticuerpo anti-ActRII no tiene actividad de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o no tiene actividad de

citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). En determinados aspectos, el anticuerpo anti-ActRII no se une a un receptor de Fc y/o factores del complemento. En determinados aspectos, el anticuerpo anti-ActRII no tiene función efectora. Los ejemplos de modificaciones de secuencia de Fc por ingeniería que reducen o eliminan la actividad ADCC y/o CDC y la unión al receptor de Fc y/o factor del complemento se describen en el presente documento o se conocen de otro modo en la técnica, así como ensayos y procedimientos para someter a prueba las mismas.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-ActRII se modifica por ingeniería para fusionar el dominio CH3 directamente con la región bisagra del anticuerpo modificado respectivo. En otros constructos, se inserta un espaciador peptídico entre la región bisagra y los dominios CH2 y/o CH3 modificados. Por ejemplo, pueden expresarse constructos compatibles en los que el dominio CH2 se ha delecionado y el dominio CH3 restante (modificado o no modificado) se une a la región bisagra con un espaciador de 5-20 aminoácidos. Un espaciador de este tipo puede añadirse, por ejemplo, para garantizar que permanecen libres y accesibles los elementos reguladores del dominio constante o que permanece flexible la región bisagra. En algunos casos, los espaciadores de aminoácidos resultan ser inmunogénicos y provocan una respuesta inmunitaria no deseada contra el constructo. Por consiguiente, en determinados aspectos, cualquier espaciador añadido al constructo puede ser relativamente no inmunogénico, o incluso omitirse por completo, para mantener las cualidades bioquímicas deseadas del anticuerpo anti-ActRII modificado.

En aspectos adicionales, los anticuerpos anti-ActRII se modifican mediante la delección o sustitución parcial de algunos o incluso un único aminoácido en una región constante. Por ejemplo, la mutación de un único aminoácido en zonas seleccionadas del dominio CH2 puede ser suficiente para reducir sustancialmente la unión a Fc de ese modo. De manera similar, pueden deleccionarse de manera total o parcial uno o más dominios de región constante que controlan la función efectora (por ejemplo, unión al complemento C1q). Tales delecciones parciales de las regiones constantes pueden mejorar características seleccionadas del anticuerpo anti-ActRII (por ejemplo, la semivida sérica) mientras dejan intactas otras funciones deseables asociadas con el dominio región constante correspondiente. En algunos aspectos, las regiones constantes de los anticuerpos anti-ActRII se modifican a través de la mutación o sustitución de uno o más aminoácidos que mejora el perfil del constructo resultante. A este respecto, es posible alterar la actividad proporcionada por un sitio de unión conservado (por ejemplo, unión a Fc) mientras se mantiene sustancialmente la configuración y el perfil inmunogénico del anticuerpo anti-ActRII modificado. La divulgación también proporciona un anticuerpo anti-ActRII que contiene la adición de uno o más aminoácidos a la región constante para mejorar características deseables tales como disminuir o aumentar la función efectora o proporcionar sitios de unión para uno o más restos de citotoxina, marcaje o hidrato de carbono. En tales aspectos, puede ser deseable insertar o replicar secuencias específicas derivadas de dominios de región constante seleccionados.

La divulgación también proporciona una proteína de unión a ActRII que es una variante de las proteínas de unión a ActRIIB y ActRIIA proporcionadas en el presente documento (por ejemplo, proteínas de unión a ActRII murinas, quiméricas, humanizadas y humanas). En aspectos particulares, la proteína de unión a ActRII variante tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con activina A por la unión a ActRIIB y/o ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de Smad (por ejemplo, Smad2 y/o Smad3) en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y/o ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB y/o ActRIIA; y (d) se une a ActRIIB o ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores. En aspectos adicionales, la variante contiene mutaciones por sustituciones conservadoras de residuos de aminoácido en comparación con una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento.

Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas, tales como anticuerpos anti-ActRII, pueden derivatizarse para contener restos químicos adicionales conocidos en la técnica para mejorar, por ejemplo, la solubilidad, la semivida biológica, la biodisponibilidad, y para mejorar de otro modo la estabilidad, la formulación y/o las propiedades terapéuticas de la proteína de unión a ActRII. Puede encontrarse una revisión no exhaustiva de tales restos, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 20ª ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000).

#### Ácidos nucleicos que codifican para proteínas de unión a ActRII y su expresión

También se proporcionan moléculas de ácido nucleico y combinaciones de moléculas de ácido nucleico que codifican para una proteína de unión a ActRII. En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico codifican para un anticuerpo anti-ActRII, tal como un anticuerpo anti-ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII. En aspectos adicionales, la divulgación proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican para una variante o un derivado de un anticuerpo anti-ActRII de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII proporcionado en el presente documento.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en el presente documento pueden estar en forma de ARN o en

forma de ADN. El ADN incluye ADNc, ADN genómico y ADN sintético; y puede ser bicatenario o monocatenario, y si es monocatenario puede ser la cadena codificante o no codificante (antisentido). En determinados aspectos, la molécula de ácido nucleico está aislada. En aspectos adicionales, una molécula de ácido nucleico es sustancialmente pura. En algunos aspectos, el ácido nucleico es ADNc o se deriva de ADNc. En algunos aspectos, el ácido nucleico se produce de manera recombinante.

En algunos aspectos, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia codificante de proteína de unión a ActRII unida operativamente a una secuencia de control que controla la expresión de la secuencia codificante en una célula huésped o *in vitro*. En aspectos particulares, la secuencia codificante es un ADNc. La divulgación también se refiere a vectores que contienen moléculas de ácido nucleico que comprenden una secuencia codificante de proteína de unión a ActRII unida operativamente a una secuencia de control que controla la expresión de la secuencia codificante en una célula huésped o *in vitro*.

En algunos aspectos, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia codificante para una proteína de unión a ActRII madura que se fusiona en el mismo marco de lectura con una secuencia de polinucleótido heteróloga. En algunos aspectos, la secuencia de polinucleótido heteróloga codifica para una secuencia peptídica líder que facilita la secreción de la proteína expresada a partir de la célula huésped transformada con la proteína de unión a ActRII que codifica para la(s) molécula(s) de ácido nucleico. Una proteína que contiene una secuencia líder se denomina preproteína y puede tener la secuencia líder escindida por la célula huésped para formar la forma madura de la proteína de unión a ActRII. Tales secuencias peptídicas líder y su uso que facilita la secreción de proteínas recombinantes en células huésped se conocen generalmente en la técnica. En aspectos adicionales, la secuencia de polinucleótido heteróloga codifica para residuos de aminoácido en 5' adicionales que pueden funcionar para, por ejemplo, facilitar la purificación, aumentar o mejorar la estabilidad de la proteína y/o las propiedades terapéuticas o diagnósticas de la proteína de unión a ActRII expresada de manera recombinante.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona ácidos nucleicos aislados, tales como una proteína de unión a ActRII que codifica para fragmentos de ADNc, que son suficientes para su uso como sonda de hibridación, cebador de PCR o cebador de secuenciación.

En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRII que tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRII por la unión a ActRII; (b) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ActRII afines en presencia de un ligando de ActRII; (c) disminuye la fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRII en presencia de un ligando de ActRII; y (d) se une a ActRII con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII codificada tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII codificada tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII codificada compete por la unión a ActRII con un anticuerpo que tiene un par de VH y VL de unión a ActRII dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII codificada se une al mismo epítipo de ActRII que un anticuerpo dado a conocer en el presente documento.

En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRII que se une específicamente a ActRIIA y tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A); (c) disminuye la fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRIIA en presencia de un ligando de ActRIIA; y (d) se une a ActRIIA con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA codificada tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA codificada tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIA codificada compete por la unión a ActRIIA con un anticuerpo que tiene un par de VH y VL de unión a ActRIIA dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIA codificada se une al mismo epítipo de ActRIIA que un anticuerpo dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRIIA que se une específicamente a ActRII y comprende una VH y una VL.

En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRII que se une específicamente a ActRIIB y tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con activina A y/o GDF8 por la unión a ActRIIB; (b) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A y/o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIB; y (d) se une a ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB codificada tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB codificada tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB codificada compete por la unión a ActRIIB con un anticuerpo que tiene un par de VH y VL de unión a ActRIIB dado a conocer en el presente

documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB codificada se une al mismo epítipo de ActRIIB que un anticuerpo dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRIIB que se une específicamente a ActRIIB y comprende una VH y una VL

En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRII que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y tiene al menos una característica seleccionada del grupo que consiste en: (a) compete con activina A y/o GDF8 por la unión a ActRIIB y ActRIIA; (b) disminuye la fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y/o ActRIIB y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA y/o ActRIIB (por ejemplo, activina A y/o GDF8); (c) disminuye la fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRIIA y/o ActRIIB en presencia de un ligando de ActRIIA y/o ActRIIB; y (d) se une a ActRIIA o ActRIIB con una  $K_D \leq 1$  nM y  $\geq 1$  pM (por ejemplo, tal como se determina mediante análisis BIACORE®). En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA codificada tiene 2, 3 ó 4 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB codificada tiene al menos 2 o al menos 3 de las características anteriores. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA codificada compete por la unión a ActRIIB y ActRIIA con un anticuerpo que tiene un par de VH y VL de unión a ActRIIB y ActRIIA dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRIIB codificada se une al mismo epítipo de ActRIIA o ActRIIB que un anticuerpo dado a conocer en el presente documento. En aspectos adicionales, las moléculas de ácido nucleico codifican para una proteína de unión a ActRIIB y ActRIIA que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA y comprende una VH y una VL.

La divulgación también proporciona vectores y conjuntos de vectores que contienen ácidos nucleicos y conjuntos de ácidos nucleicos que codifican para las proteínas de unión a ActRIIB proporcionadas en el presente documento. También se proporcionan células huésped transformadas con estos ácidos nucleicos, conjuntos de ácidos nucleicos, vectores y conjuntos de vectores, así como métodos de preparación y uso de las proteínas de unión a ActRII.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona una célula huésped que comprende una molécula de ácido nucleico o combinación de moléculas de ácido nucleico o un vector tal como se proporcionó anteriormente, en la que, en algunos casos, la célula huésped puede expresar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII) que se une específicamente a ActRII. En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una célula huésped transformada con una molécula de ácido nucleico o combinación de moléculas de ácido nucleico o un vector tal como se proporcionó anteriormente, en la que, en algunos casos, la célula huésped puede expresar una proteína de unión a ActRII que se une específicamente a ActRII. Tales células huésped pueden utilizarse en un método de preparación de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento, en el que el método incluye (a) cultivar la célula huésped y (b) aislar las proteínas de unión a ActRII expresadas por la célula huésped.

La divulgación también proporciona un método para preparar una proteína de unión a ActRII que comprende cultivar una célula huésped (por ejemplo, una célula huésped de mamífero transformada o de hibridoma) que puede expresar la proteína de unión a ActRII en condiciones adecuadas y opcionalmente proporciona un método para aislar la proteína de unión a ActRII secretada por la célula huésped. Y la divulgación proporciona adicionalmente la proteína de unión a ActRII aislada usando los métodos dados a conocer.

En determinados aspectos, los polinucleótidos comprenden la(s) secuencia(s) codificante(s) para la(s) proteína(s) de unión a ActRII madura(s) (por ejemplo, un anticuerpo contra ActRII tal como un anticuerpo de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII) fusionada(s) en el mismo marco de lectura con una secuencia marcadora que permite, por ejemplo, la purificación del polipéptido codificado. Por ejemplo, la secuencia marcadora puede ser una etiqueta de hexa-histidina suministrada por un vector pQE-9 para proporcionar la purificación del polipéptido maduro fusionado con el marcador en el caso de un huésped bacteriano, o la secuencia marcadora puede ser una etiqueta de hemaglutinina (HA) derivada de la proteína hemaglutinina de la gripe cuando se usa un huésped mamífero (por ejemplo, células COS-7).

También se proporcionan variantes de ácido nucleico que codifican para una proteína de unión a ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRII y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII. Las variantes de ácido nucleico pueden contener alteraciones en las regiones codificantes, las regiones no codificantes, o ambas. En algunos aspectos, las variantes de ácido nucleico contienen alteraciones que producen sustituciones, adiciones o deleciones silenciosas, pero no alteran las propiedades ni las actividades del polipéptido codificado. En algunos aspectos, las variantes de ácido nucleico se producen por sustituciones silenciosas debido a la redundancia del código genético. Las variantes de ácido nucleico pueden producirse por una variedad de motivos, por ejemplo, para optimizar la expresión de codones para un huésped particular (cambiar los codones en el ARNm humano por los preferidos por un huésped bacteriano tal como *E. coli*). También se proporcionan vectores y células que comprenden los ácidos nucleicos descritos en el presente documento.

En algunos aspectos, una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de

unión a ActRII) se construye mediante síntesis química usando un sintetizador de oligonucleótido. Tales oligonucleótidos pueden diseñarse basándose en la secuencia de aminoácidos del polipéptido deseado y la optimización de codones basándose en las preferencias de la célula huésped. Pueden aplicarse de manera rutinaria métodos convencionales para sintetizar secuencias de polinucleótido aisladas que codifican para proteínas de unión a ActRII.

Una vez ensambladas (mediante síntesis, mutagénesis dirigida al sitio u otro método), las secuencias de ácido nucleico que codifican para proteínas de unión a ActRII pueden unirse operativamente de manera rutinaria a una secuencia de control apropiada para la expresión de las proteínas de unión a ActRII en un huésped deseado. En algunos aspectos, las secuencias de ácido nucleico que codifican para proteínas de unión a ActRII se insertan en un vector de expresión y se unen operativamente a una secuencia de control apropiada para la expresión de la proteína en un huésped deseado. Con el fin de obtener altos niveles de expresión de un gen transfectado en un huésped, el gen puede unirse operativamente a, o asociarse con, secuencias de control de la expresión transcripcional y traduccional que son funcionales en el huésped de expresión elegido.

En determinados aspectos, se usan vectores de expresión recombinantes para amplificar y expresar ADN que codifica para una proteína de unión a ActRII, tal como un anticuerpo anti-ActRIIB, un anticuerpo anti-ActRIIA, un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIA. Los vectores de expresión recombinantes son constructos de ADN replicables que tienen fragmentos de ADN derivados de ADNc o sintéticos que codifican para una cadena polipeptídica de una proteína de unión a ActRII unida operativamente a elementos reguladores transcripcionales o traduccionales adecuados derivados de genes de mamíferos, microbianos, virales o de insectos. Una unidad transcripcional comprende generalmente un ensamblaje de (1) un elemento o elementos genéticos que tienen un papel regulador en la expresión génica, por ejemplo, promotores o potenciadores transcripcionales, (2) una secuencia estructural o codificante que se transcribe en ARNm y se traduce en proteína, y (3) secuencias de iniciación y terminación de la transcripción y traducción apropiadas, tal como se describe con detalle a continuación. Tales elementos reguladores pueden incluir una secuencia operadora para controlar la transcripción. Adicionalmente pueden incorporarse la capacidad para replicarse en un huésped, habitualmente conferida por un origen de replicación, y un gen de selección para facilitar el reconocimiento de transformantes. Las regiones de ADN se unen operativamente cuando están funcionalmente relacionadas entre sí. Por ejemplo, el ADN para un péptido señal (líder secretor) se une operativamente al ADN para un polipéptido si se expresa como precursor que participa en la secreción del polipéptido; un promotor se une operativamente a una secuencia codificante si controla la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión al ribosoma se une operativamente a una secuencia codificante si está posicionado para permitir la traducción. Los elementos estructurales destinados para su uso en sistemas de expresión de levaduras incluyen una secuencia líder que permite la secreción extracelular de proteína traducida por una célula huésped. Alternativamente, cuando una proteína recombinante se expresa sin ninguna secuencia líder o transportadora, la proteína puede incluir un residuo de metionina N-terminal. Posteriormente, este residuo puede escindirse opcionalmente a partir de la proteína recombinante expresada para proporcionar una proteína final. En determinados aspectos, la divulgación proporciona una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que comprende un ácido nucleico o vector tal como se describió anteriormente o en otras partes en el presente documento, que opcionalmente comprende además uno o más portadores, diluyentes, excipientes, u otros aditivos.

También se proporciona una célula huésped transformada con la molécula de ácido nucleico o las moléculas de ADNc y/o los vectores dados a conocer en el presente documento. La divulgación también proporciona células huésped transformadas con la molécula o moléculas de ácido nucleico dadas a conocer unidas operativamente a una secuencia de control y opcionalmente insertadas en un vector. En algunos aspectos, la célula huésped es una célula huésped de mamífero. En aspectos adicionales, la célula huésped de mamífero es una célula de mieloma murino NS0, una célula humana PER.C6® o una célula de ovario de hámster chino (CHO). En otros aspectos, la célula huésped es un hibridoma.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona un método de preparación de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) proporcionada en el presente documento que comprende cultivar una célula huésped transformada o un hibridoma dado a conocer en el presente documento en condiciones adecuadas para producir la proteína de unión a ActRII. La divulgación proporciona opcionalmente aislar la proteína de unión a ActRII secretada por la célula huésped. La divulgación también proporciona opcionalmente la proteína de unión a ActRII producida usando este método y composiciones farmacéuticas que comprenden la proteína de unión a ActRII y un portador farmacéuticamente aceptable.

La elección de la secuencia de control de la expresión y del vector de expresión dependerá de la elección del huésped. Pueden emplearse una amplia variedad de combinaciones huésped/vector de expresión. Los vectores de expresión útiles para huéspedes eucariotas incluyen, por ejemplo, vectores que comprenden secuencias de control de la expresión a partir de SV40, virus del papiloma bovino, adenovirus y citomegalovirus. Los vectores de expresión útiles para huéspedes bacterianos incluyen plásmidos bacterianos conocidos, tales como plásmidos de *E. coli*, incluyendo pCR1, pBR322, pMB9 y sus derivados, y también plásmidos de una gama más amplia de huéspedes, tales como M13 y fagos filamentosos de ADN monocatenario.

Las células huésped adecuadas para la expresión de una proteína de unión a ActRII incluyen procariotas, levaduras, células de insectos o eucariotas superiores bajo el control de promotores apropiados. Los procariotas incluyen organismos gramnegativos o grampositivos, por ejemplo, *E. coli* o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen líneas celulares establecidas de origen mamífero tal como se describe a continuación. También podrían emplearse sistemas de traducción libres de células. Puede encontrarse información adicional sobre métodos de producción de proteínas, incluyendo producción de anticuerpos, por ejemplo, en la publicación de solicitud estadounidense n.º 2008/0187954, las patentes estadounidenses n.ºs 6.413.746 y 6.660.501, y la publicación de solicitud internacional n.º WO04/009823.

También pueden emplearse ventajosamente diversos sistemas de cultivo de célula de mamíferos o insectos para expresar proteínas de unión a ActRII recombinantes (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos). La expresión de proteínas de unión a ActRII recombinantes en células de mamíferos puede realizarse porque tales proteínas generalmente están plegadas correctamente, están modificadas apropiadamente y son completamente funcionales. Los ejemplos de líneas de células huésped de mamíferos adecuadas incluyen HEK-293 y HEK-293T, las líneas COS-7 de células de riñón de mono, descritas por Gluzman (Cell 23:175 (1981)), y otras líneas celulares incluyendo, por ejemplo, las líneas celulares L, C127, 3T3, ovario de hámster chino (CHO), HeLa y BHK. Los vectores de expresión de mamíferos pueden comprender elementos no transcritos tales como un origen de replicación, un promotor y un potenciador adecuados unidos al gen que va a expresarse, y otras secuencias no transcritas flanqueantes en 5' ó 3', y secuencias no traducidas en 5' ó 3', tales como sitios de unión al ribosoma necesarios, un sitio de poliadenilación, sitios de donador y aceptor de corte y empalme, y secuencias de terminación de la transcripción. Los sistemas de baculovirus para la producción de proteínas heterólogas en células de insectos se revisan por Luckow y Summers, BioTechnology 6:47 (1988).

Las proteínas de unión a ActRII producidas por un hibridoma o una célula huésped transformada pueden purificarse según cualquier método adecuado. Tales métodos convencionales incluyen cromatografía (por ejemplo, cromatografía en columna de intercambio iónico, de afinidad y de exclusión molecular), centrifugación, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica convencional para la purificación de proteínas. Pueden unirse a la proteína etiquetas de afinidad tales como hexa-histidina, dominio de unión a maltosa, secuencia de cubierta de la gripe y glutatión-S-transferasa para permitir la fácil purificación mediante pase a lo largo de una columna de afinidad apropiada. Las proteínas de unión a ActRII también pueden caracterizarse físicamente usando técnicas tales como proteólisis, resonancia magnética nuclear y cristalografía de rayos X.

Por ejemplo, en primer lugar pueden concentrarse los sobrenadantes de sistemas que secretan proteínas de unión a ActRII recombinantes en medios de cultivo usando un filtro de concentración de proteína disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon o Millipore Pellicon. Tras la etapa de concentración, puede aplicarse el concentrado a una matriz de purificación adecuada. Alternativamente, puede emplearse una resina de intercambio aniónico, por ejemplo, una matriz o un sustrato que tiene grupos dietilaminoetil (DEAE) colgantes. Las matrices pueden ser acrilamida, agarosa, dextrano, celulosa u otros tipos habitualmente empleados en la purificación de proteínas. Alternativamente, puede emplearse una etapa de intercambio catiónico. Los intercambiadores catiónicos adecuados incluyen diversas matrices insolubles que comprenden grupos sulfopropilo o carboximetilo. Finalmente, pueden emplearse una o más etapas de cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC) empleando medios de RP-HPLC hidrófobos, por ejemplo, gel de sílice que tiene grupos metilo u otros grupos alifáticos colgantes, para purificar adicionalmente una proteína de unión a ActRII. También pueden emplearse de manera rutinaria parte o la totalidad de las etapas de purificación anteriores, en diversas combinaciones, para proporcionar proteínas de unión a ActRII recombinantes homogéneas.

Una proteína de unión a ActRII recombinante (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) producida en cultivo bacteriano puede aislarse, por ejemplo, mediante extracción inicial a partir de los sedimentos celulares, seguido de una o más etapas de concentración, precipitación por adición de sal, intercambio iónico en fase acuosa o cromatografía de exclusión molecular. Puede emplearse cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) para las etapas de purificación finales. Las células microbianas empleadas en la expresión de una proteína recombinante pueden alterarse mediante cualquier método conveniente, incluyendo ciclos de congelación-descongelación, sonicación, alteración mecánica, o uso de agentes de lisis celular.

Los métodos conocidos en la técnica para purificar proteínas de unión diana tales como anticuerpos de longitud completa y fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno también incluyen, por ejemplo, los descritos en las publicaciones de solicitud estadounidense n.ºs 2008/0312425, 2008/0177048 y 2009/0187005.

En determinados aspectos, la proteína de unión a ActRII no es un anticuerpo. Se conocen una variedad de métodos para identificar y producir polipéptidos que no son anticuerpos que se unen con alta afinidad a una diana proteica. Véanse, por ejemplo, Skerra, Curr. Opin. Biotechnol. 18:295-304 (2007), Hosse *et al.*, Protein Science 15:14-27 (2006), Gill *et al.*, Curr. Opin. Biotechnol. 17:653-658 (2006), Nygren, FEBS J. 275:2668-2676 (2008), y Skerra, FEBS J. 275:2677-2683 (2008). En determinadas implementaciones, se usa la tecnología de presentación en fago

para identificar/producir la proteína de unión a ActRII. En determinadas implementaciones, el polipéptido comprende un armazón proteico de un tipo seleccionado del grupo que consiste en proteína A, una lipocalina, un dominio de fibronectina (por ejemplo, fibronectina de tipo III (Fn3)), un dominio de repeticiones de anquirina de consenso, y tiorredoxina.

5

#### Métodos de uso y composiciones farmacéuticas

Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas (incluyendo anticuerpos, inmunoconjugados y polipéptidos) son útiles en una variedad de aplicaciones incluyendo, pero sin limitarse a, métodos de diagnóstico y métodos de tratamiento y/o mejora de diversas enfermedades y afecciones con una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB y un anticuerpo ActRIIA). Se proporcionan métodos para el uso de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo de longitud completa que se une específicamente a ActRII y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) para tratar sujetos que tienen una enfermedad o afección asociada con la señalización de ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) y/o una expresión aumentada de ActRII. En aspectos adicionales, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que contiene una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento y un portador farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que contiene una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento y un portador farmacéuticamente aceptable, para su uso como medicamento. La divulgación también proporciona el uso de las composiciones farmacéuticas dadas a conocer en el presente documento para tratar y/o mejorar una enfermedad o afección asociada con ActRII, una expresión aumentada de ActRII y/o una señalización aumentada de ActRII. En algunos aspectos, la enfermedad o afección tratada usando la composición farmacéutica proporcionada en el presente documento es un trastorno muscular, tal como deterioro muscular debido a enfermedad o inactividad. En aspectos adicionales, la enfermedad o afección tratada usando las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento es una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular); una enfermedad o afección inflamatoria, cardiovascular, pulmonar, musculoesquelética, neurológica o metabólica; cicatrización; o cáncer.

En algunos aspectos, una composición farmacéutica contiene una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo de longitud completa que se une específicamente a ActRIIB y un anticuerpo de longitud completa que se une específicamente a ActRIIA) y un portador farmacéuticamente aceptable, y comprende además un grupo marcador o un grupo efector. Un "marcador" se refiere a uno o más elementos, isótopos o compuestos químicos unidos para permitir la detección en una pantalla. Los marcadores generalmente se encuentran dentro de tres clases: (a) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radiactivos o pesados, (b) marcadores de molécula pequeña, que pueden incluir colorantes fluorescentes y colorimétricos, o moléculas tales como biotina que permiten otros métodos de marcaje, y (c) inmunomarcadores, que pueden ser un epítipo incorporado como pareja de fusión que es reconocido por un anticuerpo. "Grupo marcador" se refiere a cualquier marcador detectable. En algunos aspectos, el grupo marcador se acopla a la proteína de unión a ActRII a través de un espaciador (por ejemplo, un espaciador peptídico) para reducir el posible impedimento estérico. Los marcadores pueden incorporarse en el compuesto en cualquier posición y pueden incorporarse *in vitro* o *in vivo* durante la expresión de proteínas. En la técnica se conocen diversos métodos para el marcaje de proteínas y pueden usarse para realizar los métodos proporcionados. En aspectos adicionales, el grupo marcador se selecciona del grupo que consiste en: marcadores isotópicos, marcadores magnéticos, restos activos rédox, colorantes ópticos, grupos biotinilados y epítopos polipeptídicos reconocidos por un indicador secundario. En algunos aspectos, el grupo marcador es una proteína fluorescente tal como una proteína fluorescente verde o un derivado de la misma (por ejemplo, GFP potenciada), proteína fluorescente azul o un derivado de la misma (por ejemplo, EBFP (proteína fluorescente azul potenciada), EBFP2, azurita, mKalamal), proteína fluorescente cian o un derivado de la misma (por ejemplo, ECFP (proteína fluorescente cian potenciada), azul cerúleo, CyPet), proteína fluorescente amarilla o un derivado de la misma (por ejemplo, YFP, citrina, Venus, YPet). En algunos aspectos, el epítipo polipeptídico es un miembro seleccionado de un péptido de señalización de biotina, un péptido de histidina (his), una hemaglutinina (HA), una Flag, un péptido de unión a oro. En aspectos adicionales, el grupo efector se selecciona del grupo que consiste en un radioisótopo, un radionúclido, una toxina, un agente terapéutico y un agente quimioterápico.

Las proteínas de unión a ActRII de la presente divulgación tienen aplicaciones en utilidades diagnósticas y terapéuticas *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, las proteínas de unión a ActRII pueden administrarse a células en cultivo, por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*, o en un sujeto, para tratar, prevenir o diagnosticar una variedad de enfermedades o afecciones. En algunos aspectos, las proteínas de unión a ActRII son anticuerpos humanos, anticuerpos murinos, o anticuerpos humanizados.

También se proporcionan métodos de bloqueo de la actividad de ActRII. En algunos aspectos, el método comprende poner en contacto ActRII con una proteína de unión a ActRII. En algunos casos, el método se realiza *in vivo*. En otros casos, el método se realiza *in vitro*. En algunos aspectos, la actividad de ActRII bloqueada se selecciona de (a) unión por un ligando de ActRII (por ejemplo, activina A, activina B, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, GDF3, BMP9, o BMP10); (b) fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRII en presencia de activina A; (c) fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRII y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRII.

En algunos aspectos, se proporciona un método de bloqueo de la actividad de ActRIIA. En aspectos adicionales, el método comprende poner en contacto ActRIIA con una proteína de unión a ActRIIA. En algunos casos, el método se realiza *in vivo*. En otros casos, el método se realiza *in vitro*. En algunos aspectos, la actividad de ActRIIA bloqueada se selecciona de (a) unión por un ligando de ActRIIA (por ejemplo, activina A, activina B, GDF1, GDF3, o Nodal); (b) fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRIIA en presencia de activina A; (c) fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIA.

En algunos aspectos, se proporciona un método de bloqueo de la actividad de ActRIIB. En aspectos adicionales, el método comprende poner en contacto ActRIIB con una proteína de unión a ActRIIB. En algunos casos, el método se realiza *in vivo*. En otros casos, el método se realiza *in vitro*. En algunos aspectos, la actividad de ActRIIB bloqueada se selecciona de (a) unión por un ligando de ActRIIB (por ejemplo, activina A, activina B, GDF8 (miostatina), GDF11, BMP6, GDF3, BMP9, o BMP10); (b) fosforilación de una o más Smad en células que expresan ActRIIA en presencia de activina A; (c) fosforilación de ALK4 y/o ALK7 en células que expresan ActRIIA y ALK4 y/o ALK7 en presencia de un ligando de ActRIIB.

En un aspecto, la divulgación proporciona el tratamiento, la prevención y/o la mejora de una enfermedad o afección que comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo de longitud completa que se une específicamente a ActRIIB y un anticuerpo de longitud completa que se une específicamente a ActRIIA) a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, o está en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección, asociada con la expresión de ActRII y/o una señalización elevada de ActRII. En otro aspecto, el tratamiento incluye la administración de una proteína de unión a ActRII a células o un tejido aislado de un sujeto, en el que el sujeto tiene una enfermedad o afección, o está en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección, asociada con la expresión de ActRII o la señalización de ActRII. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección asociada con la expresión de ActRII o la señalización de ActRII.

La divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una proteína de unión a ActRII y un portador farmacéuticamente aceptable. También se proporcionan métodos para tratar y/o mejorar afecciones asociadas con una actividad mediada por ActRII (por ejemplo, ActRIIA o ActRIIB) en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se administra sola. En otros aspectos, la proteína de unión a ActRII se administra como terapia de combinación. También se proporcionan métodos de reducción de la actividad de ActRII en un sujeto que comprenden administrar una cantidad eficaz de una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita.

La divulgación también proporciona métodos para tratar y/o mejorar una enfermedad o afección asociada con un trastorno muscular. En algunos aspectos, el trastorno muscular es deterioro. En aspectos adicionales, el deterioro se debe a enfermedad o inactividad. En algunos aspectos, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA o un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA). En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se administra sola o como terapia de combinación.

Según algunos aspectos, la divulgación proporciona un método de inducción de la formación de músculo esquelético en un sujeto. En algunos aspectos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRIIB (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIB tal como un anticuerpo contra ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, el método aumenta la masa o fuerza muscular en el sujeto.

La divulgación también proporciona métodos para tratar y/o mejorar una enfermedad o afección asociada con trastornos musculares tales como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular, tal como fibrosis miocárdica y fibrosis pulmonar idiopática (FPI)); enfermedades o afecciones inflamatorias, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad cardiovascular (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva e hipertensión); enfermedad ocular tal como degeneración macular asociada a la edad; enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética tal como osteoporosis; enfermedad neurológica; cicatrización; pérdida de peso; y cáncer (por ejemplo, un carcinoma, mieloma, un cáncer inductor de disminución de la masa ósea, cáncer hipofisario y cáncer gastrointestinal), en un sujeto. En algunos aspectos, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA o un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA). En aspectos adicionales, la proteína de unión a ActRII se administra sola o como terapia de combinación. Además, se proporciona el uso en enfermedad o afección, o en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección, asociada con la expresión de ActRII o la señalización de ActRII.

La divulgación también proporciona métodos de reducción de la actividad de ActRII (por ejemplo, ActRIIA o ActRIIB) tal como la señalización en un sujeto. En algunos aspectos, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un sujeto al que se le ha diagnosticado deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular); una enfermedad o afección inflamatoria, cardiovascular, pulmonar, musculoesquelética (es decir, ósea y/o muscular), neurológica o metabólica; cicatrización; o cáncer) una cantidad eficaz de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA o un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA) o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII.

En un aspecto, la divulgación proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de un trastorno muscular en un sujeto. En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA o un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA) a un sujeto que tiene un trastorno muscular. En otros aspectos, el sujeto está en riesgo de desarrollar un trastorno muscular. En algunos aspectos, el trastorno o la afección muscular es atrofia muscular. En aspectos adicionales, la atrofia muscular es una afección asociada con el tratamiento con glucocorticoides, tal como tratamiento con cortisol, dexametasona, betametasona, prednisona, metilprednisolona o prednisolona. En aspectos adicionales, la atrofia muscular es una afección asociada con un traumatismo nervioso o un resultado de una neuropatía degenerativa, metabólica o inflamatoria (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía periférica, o exposición a fármacos o toxinas ambientales). En aspectos adicionales, la atrofia muscular es una afección asociada con una enfermedad de las motoneuronas en adultos, atrofia muscular espinal infantil, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal juvenil, neuropatía motora autoinmunitaria con bloqueo multifocal de la conducción, parálisis debida a accidente cerebrovascular o lesión de la médula espinal, inmovilización esquelética debida a traumatismo, reposo en cama prolongado, inactividad voluntaria, inactividad involuntaria, estrés metabólico o insuficiencia nutricional, cáncer, SIDA, ayuno, un trastorno de la glándula tiroidea, diabetes, hipotonía congénita benigna, enfermedad de corpúsculos centrales, lesión por quemaduras, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades hepáticas (ejemplos tales como fibrosis, cirrosis), septicemia, insuficiencia cardíaca congestiva, envejecimiento, viaje al espacio o tiempo gastado en un entorno de gravedad cero.

En algunos aspectos, el trastorno muscular tratado y/o mejorado es atrofia muscular asociada con una miopatía. En aspectos adicionales, la miopatía se selecciona del grupo que consiste en: miopatía mitocondrial; una miopatía metabólica, tal como provocada por una enfermedad de almacenamiento de glucógeno o lípidos; una miopatía congénita, incluyendo miopatía nemalínica, miopatía de multi/minicorpuscular y miopatía miotubular (centronuclear); miotonía; parálisis periódica familiar; y miopatía inflamatoria. En aspectos adicionales, la miopatía es una afección asociada con un síndrome de distrofia muscular, tal como de Duchenne, de Becker, miotónica, fascioescapulohumeral, de Fukuyama, de cintura, escapulohumeral, de Emery-Dreifuss, oculofaríngea, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT), una distrofia muscular congénita, o miopatía distal hereditaria. Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas pueden usarse para tratar miositis por cuerpos de inclusión, mioglobinurias, rabdomiólisis, miositis osificante, polimiositis o dermatomiositis. Además, las proteínas de unión a ActRII proporcionadas pueden tratar o prevenir una atrofia muscular que surge a partir del tratamiento con glucocorticoides, sarcopenia, reposo en cama prolongado, inmovilización esquelética, septicemia o insuficiencia cardíaca congestiva.

En otro aspecto, la divulgación proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de la distrofia muscular. El término "distrofia muscular" se refiere a un grupo de enfermedades musculares degenerativas caracterizadas por el debilitamiento y deterioro graduales de los músculos esqueléticos y, a veces, el corazón y los músculos respiratorios. Las distrofias musculares a modo de ejemplo que pueden tratarse y/o mejorarse con las proteínas de unión a ActRII y las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento incluyen: distrofia muscular de Duchenne (DMD), distrofia muscular de Becker (BMD), distrofia muscular de Emery-Dreifuss (EDMD), distrofia muscular de cintura (LGMD), distrofia muscular fascioescapulohumeral (FSH o FSHD) (también conocida como distrofia muscular de Landouzy-Dejerine), distrofia muscular miotónica (MMD) (también conocida como enfermedad de Steinert), distrofia muscular oculofaríngea (OPMD), distrofia muscular distal (DD), distrofia muscular congénita (CMD) y distrofia muscular escapulohumeral (SMD).

En otro aspecto, la divulgación proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de una afección fibrótica (por ejemplo, una fibrosis). En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA o un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB y ActRIIA) a un sujeto que tiene una afección fibrótica. En otros aspectos, el sujeto está en riesgo de desarrollar una afección fibrótica. En aspectos adicionales, la afección fibrótica es DN. En algunos aspectos, la afección fibrótica tratada es una fibrosis primaria. En un aspecto, la afección fibrótica tratada es idiopática. En algunos aspectos, la afección fibrótica es crónica. En algunos aspectos, la afección fibrótica tratada es sistémica. En otros aspectos, la enfermedad o afección fibrótica tratada es una afección asociada con (por ejemplo, es secundaria a) una enfermedad (por ejemplo, una enfermedad infecciosa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad maligna o cancerosa y/o una enfermedad del tejido conjuntivo); una toxina; una agresión (por ejemplo, un riesgo ambiental (por ejemplo, asbestos, polvo de carbón, hidrocarburos aromáticos policíclicos), tabaquismo, una herida); o un tratamiento médico (por ejemplo, incisión

quirúrgica, quimioterapia o radiación).

Las afecciones fibróticas que pueden tratarse y/o mejorarse con las proteínas de unión a ActRII proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, fibrosis, lesión hepática (por ejemplo, lesión hepática provocada por alcohol, e infección viral tal como infección por hepatitis B y C), fibrosis pulmonar (por ejemplo, fibrosis quística, FPI o fibrosis pulmonar provocada por tabaquismo, riesgos ambientales y fármacos quimioterápicos tales como bleomicina), fibrosis inducida por radiación, fibrosis por inyección, fibrosis vascular, aterosclerosis, fibrosis pancreática, fibrosis musculoesquelética (por ejemplo, fibrosis muscular), fibrosis cardíaca, fibrosis cutánea, esclerodermia, fibrosis oftálmica (por ejemplo, degeneración macular asociada a la edad, edema macular diabético, retinopatía diabética y xeroftalmia), esclerosis sistémica progresiva (PSS), enfermedad de injerto contra huésped crónica, enfermedad de Peyronie, estenosis uretral posterior a una cistoscopia, fibrosis retroperitoneal, fibrosis mediastinal, fibrosis masiva progresiva, fibrosis proliferativa, fibrosis neoplásica, enfermedad de Dupuytren, constricciones, fibrosis pleural, sarcoidosis, fibrosis/lesión de la médula espinal y mielofibrosis.

También se proporcionan métodos de disminución de la fibrosis en un sujeto. En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método de disminución de la fibrosis en un sujeto que comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, en una composición farmacéutica descrita en el presente documento) a un sujeto que tiene una fibrosis. Tal disminución de la fibrosis puede verse reflejada, por ejemplo, en una reducción de la fibrosis y una disminución de afecciones o signos asociados con la fibrosis incluyendo, por ejemplo, una disminución del desarrollo de lesiones fibróticas, una disminución de la pérdida de peso u otros síntomas clínicos y/o una alteración de la expresión de moléculas biológicas (por ejemplo, expresión de ARNm o proteína) asociadas con el desarrollo de la afección fibrótica que esté tratándose. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis hepática, muscular o pulmonar. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de fibrosis.

En otro aspecto, la divulgación proporciona métodos de reducción de la fibrosis en células o tejidos. Los métodos incluyen poner en contacto una célula o un tejido fibrótico con una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, como agente individual o en combinación con otro agente o modalidad terapéutica) en una cantidad suficiente para disminuir o inhibir la fibrosis. Estos métodos pueden llevarse a cabo *in vitro* o *in vivo*. En un aspecto, el método se lleva a cabo *in vivo*, por ejemplo, en un sujeto mamífero (por ejemplo, un modelo animal). En un aspecto, el sujeto es un ser humano. En algunos aspectos, reducir la fibrosis incluye: (a) reducir o inhibir la formación o deposición de fibrosis tisular; (b) reducir el tamaño, la celularidad (por ejemplo, número de fibroblastos o células inmunitarias), la composición o el contenido celular de una lesión fibrótica; (c) reducir el contenido de colágeno o hidroxiprolina de una lesión fibrótica; (d) reducir la expresión o actividad de una o más proteínas fibrogénicas; y/o (e) reducir la fibrosis asociada con una respuesta inflamatoria. En algunos aspectos, reducir la fibrosis incluye: (a) reducir o inhibir la formación o deposición de fibrosis tisular; (b) reducir el tamaño, la celularidad (por ejemplo, número de fibroblastos o células inmunitarias), la composición o el contenido celular de una lesión fibrótica; (c) reducir el contenido de colágeno o hidroxiprolina de una lesión fibrótica; (d) reducir la expresión o actividad de una o más proteínas fibrogénicas; y/o (e) reducir la fibrosis asociada con inflamación.

Según algunos aspectos, la divulgación proporciona métodos de reducción de la pérdida de función hepática o pulmonar en un sujeto. En algunos aspectos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, el método reduce la pérdida de función hepática en un sujeto. En aspectos adicionales, el método reduce la pérdida de función hepática en un sujeto a través de la reducción de la fibrosis hepática. En algunos aspectos, el método reduce la pérdida de función pulmonar en un sujeto. En algunos aspectos, el método reduce la pérdida de función pulmonar en un sujeto a través de la reducción de la fibrosis pulmonar. En algunos aspectos, los métodos reducen la pérdida de función pulmonar y/o la fibrosis pulmonar en un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, fibrosis pulmonar idiopática (FPI).

Adicionalmente, se proporcionan métodos de mejora de la función hepática o pulmonar mediante la reducción de la fibrosis en un sujeto. En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) o una composición farmacéutica proporcionada en el presente documento a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, reducir la pérdida de, o mejorar, la función hepática o pulmonar incluye: (a) reducir o inhibir la formación o deposición de fibrosis tisular en el órgano correspondiente; (b) reducir el tamaño, la celularidad (por ejemplo, número de fibroblastos o células inmunitarias), la composición o el contenido celular de una lesión fibrótica en el órgano correspondiente; (c) reducir el contenido de colágeno o hidroxiprolina de una lesión fibrótica en el órgano correspondiente; (d) reducir la expresión o actividad de una o más proteínas fibrogénicas (por ejemplo, fibrinógeno y colágeno) en el órgano correspondiente; (e) reducir la expresión en la matriz extracelular y/o EMT en el órgano correspondiente; y/o (f) reducir la fibrosis asociada con una respuesta inflamatoria en el órgano correspondiente.

El cuerpo humano responde a traumatismos y lesiones mediante la formación de cicatrices. La fibrosis, un tipo de trastorno caracterizado por formación excesiva de cicatrices, se produce cuando se altera la respuesta de cicatrización normal. Durante la fibrosis, la respuesta de cicatrización continúa provocando una producción y

deposición excesivas de colágeno. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para tratar la fibrosis que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB o un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA).

En algunos aspectos, la divulgación proporciona métodos de reducción de la pérdida de, o de mejora de, la función hepática o pulmonar. En algunos aspectos, el método da como resultado: (a) reducción o inhibición de la formación o deposición de fibrosis tisular en el órgano correspondiente; (b) reducción del tamaño, la celularidad (por ejemplo, número de fibroblastos o células inmunitarias), la composición o el contenido celular de una lesión fibrótica en el órgano correspondiente; (c) reducción del contenido de colágeno o hidroxiprolina de una lesión fibrótica en el órgano correspondiente; (d) reducción de la expresión o actividad de una o más proteínas fibrogénicas (por ejemplo, fibrinógeno y colágeno) en el órgano correspondiente; (e) reducción de la expresión en la matriz extracelular y/o EMT en el órgano correspondiente; y/o (f) reducción de la fibrosis asociada con una respuesta inflamatoria en el órgano correspondiente.

La divulgación también proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de una afección fibrótica del pulmón. En algunos aspectos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo que se une específicamente a ActRII, y fragmentos y variantes y derivados del mismo) a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una afección fibrótica del pulmón. En algunos aspectos, la fibrosis pulmonar es idiopática, inducida farmacológicamente, inducida por radiación, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o asma crónica. Las afecciones fibróticas del pulmón que pueden tratarse incluyen uno o más miembros del grupo que consiste en: neumonitis intersticial habitual (UIP), enfermedad pulmonar intersticial, alveolitis fibrosante criptogénica (CFA) y bronquiectasia. En algunos aspectos, la afección fibrótica del pulmón tratada es una afección asociada con un trastorno inflamatorio del pulmón, por ejemplo, asma y/o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

En aspectos particulares, la divulgación proporciona un método de tratamiento y/o mejora de una fibrosis pulmonar que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, fibrosis pulmonar. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de fibrosis pulmonar.

En algunos aspectos, la afección fibrótica del pulmón tratada con una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA y un anticuerpo anti-ActRIIB) es un miembro seleccionado del grupo que consiste en: síndrome de dificultad respiratoria aguda, asma crónica, síndrome pulmonar agudo, displasia broncopulmonar, hipertensión pulmonar (por ejemplo, hipertensión pulmonar idiopática (IPH)), histiocitosis X, neumoconiosis, enfermedad de Caplan, enfermedad reumatoide y esclerosis sistémica.

En algunos aspectos, la afección fibrótica del pulmón tratada con una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRIIA y un anticuerpo anti-ActRIIB) proporcionada en el presente documento es una afección asociada con un trastorno autoinmunitario del tejido conjuntivo. En algunos aspectos, el trastorno autoinmunitario del tejido conjuntivo se selecciona del grupo que consiste en: sarcoidosis, artritis reumatoide, esclerodermia y lupus eritematoso sistémico (LES). En aspectos adicionales, la afección fibrótica del pulmón es una afección asociada con una enfermedad, una toxina, una agresión o un tratamiento médico. Por tanto, en algunos aspectos, la afección fibrótica del pulmón es una afección asociada con uno o más miembros del grupo que consiste en: exposición a toxinas e irritantes incluyendo riesgos en el lugar de trabajo inhalados (por ejemplo, polvo, asbestos, sílice, bauxita, hierro, algodón, talco y polvo de carbón), toxinas (por ejemplo, amiodarona, carmustina, cloranfenicol, hexametonio), humo de cigarrillos y contaminantes ambientales. En aspectos adicionales, la afección fibrótica del pulmón tratada es una afección asociada con una enfermedad infecciosa. En aspectos particulares, la enfermedad infecciosa es una afección asociada con una infección crónica.

En aspectos adicionales, la afección fibrótica del pulmón tratada es una afección asociada con un tratamiento médico. En aspectos particulares, el tratamiento médico se selecciona de cirugía, radioterapia y farmacoterapia. En aspectos adicionales, la farmacoterapia es quimioterapia. En aspectos adicionales, la quimioterapia implica la administración de un agente quimioterápico seleccionado del grupo que consiste en bleomicina, metotrexato, amiodarona, busulfano, nitrosourea y nitrofurantoína.

También se proporcionan métodos de tratamiento y/o mejora de hipertensión pulmonar o fibrosis pulmonar idiopática (FPI). En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, hipertensión pulmonar o FPI. En algunos casos, la proteína de unión a ActRII o la composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII se administra para tratar, prevenir y/o mejorar la hipertensión pulmonar. En algunos casos, la proteína de unión a ActRII o la composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII se administra para tratar, prevenir y/o mejorar la FPI. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII o la composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII se administra a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, hipertensión pulmonar o FPI.

La divulgación también proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de una afección fibrótica del hígado. En algunos aspectos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una afección fibrótica del hígado. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una afección fibrótica del hígado. Las afecciones fibróticas del hígado que pueden tratarse usando las proteínas de unión a ActRII proporcionadas en el presente documento incluyen uno o más miembros del grupo que consiste en: esteatosis (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), esteatosis hepática, hepatopatía colestásica (por ejemplo, cirrosis biliar primaria (CBP)), cirrosis hepática, fibrosis hepática inducida por alcohol, fibrosis hepática inducida por infección, lesión de las vías biliares, fibrosis biliar, fibrosis hepática congénita, hepatitis autoinmunitaria y una colangiopatía. En aspectos adicionales, la fibrosis hepática inducida por infección está inducida por bacterias o inducida por virus.

En un aspecto adicional, la afección fibrótica del hígado que puede tratarse con una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento es uno o más miembros del grupo que consiste en: fibrosis hepática asociada con una infección viral (por ejemplo, hepatitis (hepatitis C, B y D), hepatitis autoinmunitaria, esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), fibrosis masiva progresiva, alcoholismo y exposición a toxinas o irritantes (por ejemplo, alcohol, fármacos y toxinas ambientales).

La divulgación también proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de una fibrosis cardíaca. En algunos aspectos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una afección fibrótica del sistema cardiovascular. En algunas implementaciones, la fibrosis cardíaca es fibrosis endomiocárdica o miocardiopatía idiopática. En algunas implementaciones, la fibrosis cutánea es esclerodermia, formación de cicatrices cutáneas posoperatorias traumáticas, queloides o formación de queloides cutáneos. En algunas implementaciones, la fibrosis ocular es glaucoma, esclerosis de los ojos, formación de cicatrices conjuntivales, formación de cicatrices corneales o pterigión. En algunas implementaciones, la fibrosis retroperitoneal es idiopática, inducida farmacológicamente o inducida por radiación. En algunas implementaciones, la fibrosis quística es fibrosis quística del páncreas o fibrosis quística de los pulmones. En algunas implementaciones, la fibrosis por inyección se produce como una complicación de una inyección intramuscular. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una afección fibrótica de la afección fibrótica del sistema cardiovascular.

También se proporcionan métodos de tratamiento y/o mejora de una enfermedad o afección ocular que comprenden administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. En aspectos particulares, la enfermedad o afección ocular es glaucoma. En algunos aspectos, la enfermedad ocular es retinopatía. En aspectos adicionales, la enfermedad ocular es retinopatía diabética.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de una afección fibrótica del ojo (por ejemplo, fibrosis ocular, fibrosis oftálmicas y fibrosis asociada con una disfunción retiniana). Por tanto, en algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una afección fibrótica del ojo. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una afección fibrótica de la afección fibrótica del sistema cardiovascular.

Las afecciones fibróticas del ojo que pueden tratarse según los métodos proporcionados en el presente documento pueden producirse en respuesta a una lesión, tal como una herida mecánica (por ejemplo, fibrosis asociada con quemaduras por álcali) o diversas disfunciones metabólicas (incluyendo, por ejemplo, respuestas a inflamación, isquemia y enfermedad degenerativa). En algunos aspectos, la divulgación proporciona métodos para tratar una fibrosis asociada con una cirugía ocular. En aspectos adicionales, la fibrosis es una afección asociada con la formación de cicatrices posoperatorias en una afección ocular. En aspectos adicionales, la formación de cicatrices posoperatorias es una afección asociada con una cirugía que implica reinserción retiniana, extracción de cataratas o un procedimiento de drenaje.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método de tratamiento y/o mejora de una afección fibrótica del ojo asociada con uno o más miembros del grupo que consiste en: edema macular (por ejemplo, edema macular diabético), xeroftalmia, fibrosis del cristalino, fibrosis del endotelio o estroma corneal, formación de cicatrices en la córnea y la conjuntiva, formación de cicatrices fibrovasculares, fibrosis retiniana y gliosis retiniana.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para tratar una afección fibrótica del ojo asociada con degeneración macular. En algunas implementaciones, la afección fibrótica tratada es una afección asociada con degeneración macular asociada a la edad. En algunas implementaciones, la afección tratada es una afección asociada con degeneración macular húmeda. En otras implementaciones, la afección tratada es una afección asociada con degeneración macular seca.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para tratar y/o mejorar una enfermedad o afección inflamatoria que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una enfermedad o afección inflamatoria. En algunos aspectos, la enfermedad o afección inflamatoria es cáncer inflamatorio, inflamación asociada con fibrosis, inflamación asociada con aterosclerosis, asma o un trastorno autoinmunitario.

Adicionalmente, se proporcionan métodos de tratamiento y/o mejora de una enfermedad o afección cardiovascular. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una enfermedad o afección cardiovascular. En algunos casos, el método comprende tratar o mejorar una enfermedad o afección cardiovascular mediante la administración de una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la enfermedad o afección cardiovascular es anemia, insuficiencia cardíaca congestiva, disfunción ventricular, calcificación vascular, hipertensión pulmonar, reestenosis arterial o fibrosis miocárdica.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para tratar y/o mejorar una enfermedad o afección pulmonar que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una enfermedad o afección pulmonar.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para tratar y/o mejorar una enfermedad o afección musculoesquelética que comprende administrar una dosis eficaz de una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una enfermedad o afección musculoesquelética. Las afecciones asociadas con ActRII a modo de ejemplo que pueden tratarse y/o mejorarse mediante la administración de una dosis eficaz de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) incluyen trastornos neuromusculares (por ejemplo, distrofia muscular y atrofia muscular), enfermedad pulmonar obstructiva congestiva o enfisema pulmonar (y deterioro muscular asociado), síndrome de deterioro muscular, sarcopenia, caquexia, trastornos del tejido adiposo (por ejemplo, obesidad), diabetes de tipo 2 y enfermedad ósea degenerativa (por ejemplo, osteoporosis). En el presente documento se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de cada una de estas enfermedades o afecciones.

Otras afecciones asociadas con ActRII a modo de ejemplo que pueden tratarse y/o mejorarse mediante la administración de una dosis eficaz de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII) incluyen trastornos musculodegenerativos y neuromusculares, y osteoporosis.

Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas proporcionan un medio eficaz para aumentar la masa muscular en otras enfermedades o afecciones neuromusculares que necesitan crecimiento muscular. Por ejemplo, en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Otras enfermedades neuromusculares en las que pueden ser útiles las proteínas de unión a ActRII incluyen parálisis debida a lesión de la médula espinal o accidente cerebrovascular; denervación debido a traumatismo o neuropatía degenerativa, metabólica o inflamatoria; enfermedad de las motoneuronas en adultos; neuropatía motora autoinmunitaria con bloqueo multifocal de la conducción; y atrofia muscular espinal infantil o juvenil.

En otros aspectos, la divulgación proporciona métodos de inducción de formación ósea y/o cartilaginosa, de prevención de la disminución de la masa ósea, de aumento de la mineralización ósea o de prevención de la desmineralización ósea. Por ejemplo, las proteínas de unión a ActRII proporcionadas tienen uso en el tratamiento de la osteoporosis y la curación de fracturas óseas y defectos cartilaginosos en un sujeto (por ejemplo, seres humanos y otros animales). En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para curar fracturas óseas o defectos cartilaginosos en un sujeto. En otro aspecto, las composiciones y los métodos proporcionados se administran para tratar una afección que provoca una disminución de la masa ósea tal como osteoporosis, hiperparatiroidismo, enfermedad de Cushing, tirotoxicosis, hipoabsorción o estado diarreico crónico, o anorexia nerviosa.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona un método para tratar una afección o un trastorno neurológico que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una afección o un trastorno neurológico. En algunos aspectos, la afección o el trastorno neurológico está asociado con la muerte neuronal. En algunos aspectos, la afección o el trastorno neurológico es enfermedad de Parkinson, ELA; atrofia cerebral o demencia.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona un método para tratar una afección o un trastorno metabólico que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de una afección o un trastorno metabólico. En algunos aspectos, la

afección o el trastorno metabólico es una afección asociada con diabetes. En algunos aspectos, la afección o el trastorno metabólico es obesidad. En aspectos adicionales, la afección o el trastorno metabólico es obesidad hipertrófica. En algunos aspectos, la afección o el trastorno metabólico es cáncer, caquexia o deterioro muscular.

- 5 En otros aspectos, la divulgación proporciona composiciones y métodos para regular el contenido de grasa corporal en un sujeto y para tratar o prevenir afecciones relacionadas con ello, y particularmente afecciones que comprometen la salud relacionadas con ello.

10 Tal como se proporciona en el presente documento, regular (controlar) el peso corporal puede referirse a reducir o aumentar el peso corporal, reducir o aumentar la velocidad de ganancia de peso, o aumentar o reducir la velocidad de pérdida de peso, y también incluye mantener activamente, o no cambiar significativamente, el peso corporal (por ejemplo, frente a influencias externas o internas que de otro modo pueden aumentar o disminuir el peso corporal). Según un aspecto, la divulgación proporciona un método de regulación del peso corporal mediante la administración de una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que lo necesita. En un aspecto, la divulgación proporciona un método para reducir el peso corporal y/o reducir la ganancia de peso en un sujeto, y más particularmente, para tratar o mejorar la obesidad en un paciente en riesgo de, o que padece, obesidad. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método y compuestos para tratar un sujeto que no puede ganar o mantener el peso (por ejemplo, un animal con un síndrome consuntivo). Tales métodos son eficaces para aumentar la masa y/o el peso corporal, o para reducir la pérdida de masa y/o peso, o para mejorar afecciones asociadas con, o provocadas por, una masa y/o un peso corporal indeseablemente bajo (por ejemplo, no saludable). Las proteínas de unión a ActRIIB proporcionadas pueden usarse además como agente terapéutico para ralentizar o prevenir el desarrollo de diabetes de tipo II y síndrome metabólico.

25 En aspectos particulares, la divulgación proporciona un método de tratamiento y/o mejora de una afección asociada con diabetes que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, diabetes y/o una afección asociada con diabetes. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de diabetes o una afección asociada con diabetes. En un aspecto, la afección asociada con diabetes es neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, vasculopatía diabética o microangiopatía diabética.

35 En aspectos adicionales, la divulgación proporciona un método para fomentar la cicatrización que comprende administrar una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se administra a un sujeto para reducir la formación de cicatrices con la cicatrización. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII se administra a un sujeto en riesgo de desarrollar un queloide o una cicatriz hipertrófica.

40 Adicionalmente, se proporcionan métodos para antagonizar la actividad de ActRII en una afección patológica asociada con la expresión de ActRII y/o la señalización de ActRII. En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRII de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad o un trastorno musculoesquelético, tal como atrofia muscular. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad fibrótica, por ejemplo, del pulmón o hígado. En aspectos adicionales, la afección patológica es diabetes. En algunos aspectos, la afección patológica es obesidad (por ejemplo, obesidad hipertrófica). En aspectos adicionales, la afección patológica es hipertensión pulmonar o fibrosis pulmonar idiopática (FPI). En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad ocular tal como retinopatía diabética. En algunos aspectos, la afección patológica es un cáncer, tal como un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas de la piel, carcinomas de cabeza y cuello y carcinoma de células renales), mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), cáncer colorrectal, o un cáncer inductor de disminución de la masa ósea.

50 También se proporcionan métodos para antagonizar una actividad de ActRIIB en una afección patológica asociada con la expresión de ActRIIB y/o una señalización aumentada de ActRIIB. En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIB, y variantes y derivados de los mismos) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad o un trastorno musculoesquelético, tal como atrofia muscular. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad fibrótica, por ejemplo, del pulmón o hígado. En aspectos adicionales, la afección patológica es diabetes. En algunos aspectos, la afección patológica es obesidad (por ejemplo, obesidad hipertrófica). En aspectos adicionales, la afección patológica es hipertensión pulmonar o fibrosis pulmonar idiopática (FPI). En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad ocular tal como retinopatía diabética. En algunos aspectos, la afección patológica es un cáncer, tal como un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas de la piel y carcinomas de cabeza y cuello), mieloma, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, o un cáncer inductor de disminución de la masa ósea.

65 Adicionalmente, se proporcionan métodos para antagonizar una actividad de ActRIIA en una afección patológica asociada con la expresión de ActRIIA y/o una señalización aumentada de ActRIIA. En algunos casos, el método

comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRIIA de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRIIA) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad o un trastorno musculoesquelético, tal como atrofia muscular. En un aspecto, la afección patológica es una enfermedad fibrótica. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad fibrótica, por ejemplo, del pulmón o hígado. En un aspecto adicional, la afección patológica es una enfermedad fibrótica del pulmón o hígado. En aspectos adicionales, la afección patológica es diabetes. En algunos aspectos, la afección patológica es obesidad (por ejemplo, obesidad hipertrófica). En aspectos adicionales, la afección patológica es hipertensión pulmonar o fibrosis pulmonar idiopática (FPI). En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad ocular tal como retinopatía diabética. En algunos aspectos, la afección patológica es un cáncer, tal como un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas de la piel, carcinomas de cabeza y cuello), mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), cáncer colorrectal, o un cáncer inductor de disminución de la masa ósea.

Adicionalmente, se proporcionan métodos para antagonizar una actividad de ActRIIB y ActRIIA en una afección patológica asociada con la expresión de ActRIIB y/o ActRIIA y/o una señalización aumentada de ActRIIB y/o ActRIIA. En algunos casos, el método comprende administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo anti-ActRII de longitud completa o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad o un trastorno musculoesquelético, tal como atrofia muscular. En un aspecto, la afección patológica es una enfermedad fibrótica. En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad fibrótica, por ejemplo, del pulmón o hígado. En un aspecto adicional, la afección patológica es una enfermedad fibrótica del pulmón o hígado. En aspectos adicionales, la afección patológica es diabetes. En algunos aspectos, la afección patológica es obesidad (por ejemplo, obesidad hipertrófica). En aspectos adicionales, la afección patológica es hipertensión pulmonar o fibrosis pulmonar idiopática (FPI). En algunos aspectos, la afección patológica es una enfermedad ocular tal como retinopatía diabética. En algunos aspectos, la afección patológica es un cáncer, tal como un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas de la piel, carcinomas de cabeza y cuello), mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), cáncer colorrectal, o un cáncer inductor de disminución de la masa ósea.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona métodos de tratamiento y/o mejora de cáncer o una afección asociada con cáncer o el tratamiento del mismo, que comprenden administrar una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII o un fragmento de unión a ActRII del mismo) a un sujeto que lo necesita. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo anti-ActRIIB o un fragmento de unión a ActRIIB del mismo. Además, se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII tal como se proporciona en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la mejora de cáncer o una afección asociada con cáncer. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo anti-ActRIIA o un fragmento de unión a ActRIIA del mismo. En algunos aspectos, la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que se une a ActRIIB y ActRIIA o un fragmento de unión a ActRIIB y ActRIIA del mismo. En algunos aspectos, el sujeto tiene un cáncer seleccionado del grupo que consiste en: melanoma, cáncer de útero, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de páncreas y sarcoma. En aspectos particulares, el sujeto tiene un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas de la piel y carcinomas de cabeza y cuello), mieloma, cáncer colorrectal, o un cáncer inductor de disminución de la masa ósea.

En algunos aspectos, el método comprende poner en contacto una célula cancerosa, una célula estromal asociada a tumor o una célula endotelial que expresa ActRII (por ejemplo, ActRIIB y/o ActRIIA) con una proteína de unión a ActRII que se une específicamente a ActRII. En algunos casos, el método comprende poner en contacto activina A con una proteína de unión a ActRII. En aspectos adicionales, la célula tumoral es de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en: mielofibrosis, mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), cáncer hipofisario. En otro aspecto, el cáncer es cáncer de mama, cáncer gastrointestinal, o un carcinoma (por ejemplo, carcinomas de células basales y escamosas). En un aspecto adicional, el cáncer es un cáncer inductor de disminución de la masa ósea. En algunos aspectos, la célula tumoral es de una línea cancerosa.

La divulgación proporciona métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína de unión a ActRII, sola o en combinación con una o más terapias adicionales (por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos adicionales), a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una afección fibrótica. La divulgación proporciona adicionalmente composiciones para el uso de una proteína de unión a ActRII, sola o en combinación con otro agente, para la preparación de uno o más medicamentos para su uso en el tratamiento (por ejemplo, la prevención) y/o la mejora de una enfermedad y/o afección mediada por ActRII (por ejemplo, trastornos musculares tales como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular, tal como fibrosis miocárdica y fibrosis pulmonar idiopática (FPI)); enfermedad metabólica (por ejemplo, diabetes de tipo II, resistencia a la insulina, hiperglucemia y obesidad); enfermedades o afecciones inflamatorias, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad cardiovascular (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva e hipertensión); enfermedad ocular tal como degeneración macular asociada a la edad; enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética tal como osteoporosis; enfermedad neurológica; cicatrización; pérdida de peso; y cáncer (por ejemplo, un carcinoma, mieloma, un cáncer inductor de disminución de la masa ósea, cáncer hipofisario y cáncer gastrointestinal).

También se proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento para la monitorización diagnóstica de los niveles de proteína (por ejemplo, los niveles de ActRIIB y/o ActRIIA) en sangre o tejido como parte de un procedimiento de ensayo clínico, por ejemplo, para determinar la eficacia de un régimen de tratamiento dado. Por ejemplo, la detección puede verse facilitada por el acoplamiento de una proteína de unión a ActRII con una sustancia detectable. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes y materiales radiactivos. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina,  $\beta$ -galactosidasa o acetilcolinesterasa; los ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; los ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina-fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol; los ejemplos de materiales bioluminiscentes adecuados incluyen luciferasa, luciferina y aequorina; y los ejemplos de materiales radiactivos adecuados incluyen  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  o  $^3\text{H}$ .

#### Composiciones farmacéuticas y métodos de administración

Los métodos de preparación y administración de una proteína de unión a ActRII a un sujeto que lo necesita son conocidos o se determinan fácilmente por los expertos habituales en la técnica. La vía de administración de las proteínas de unión a ActRII puede ser, por ejemplo, oral, parenteral, por inhalación o tópica. El término parenteral incluye, por ejemplo, administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, intraocular, subcutánea, rectal, o vaginal. Aunque se contempla claramente que todas estas formas de administración están dentro del alcance de la divulgación, otro ejemplo de una forma para administración sería una disolución para inyección, en particular para inyección intravenosa o intraarterial o goteo. Habitualmente, una composición farmacéutica adecuada puede comprender un tampón (por ejemplo, tampón acetato, fosfato o citrato), un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato), opcionalmente un agente estabilizador (por ejemplo, albúmina humana), etc. En otros métodos compatibles con las enseñanzas en el presente documento, las proteínas de unión a ActRII tal como se proporcionan en el presente documento pueden administrarse directamente al órgano y/o sitio de una fibrosis o un tumor, aumentando de ese modo la exposición del tejido enfermo al agente terapéutico. En un aspecto, la administración es directamente a las vías respiratorias, por ejemplo, por inhalación o administración intranasal.

Tal como se comenta en el presente documento, las proteínas de unión a ActRII pueden administrarse en una cantidad farmacéuticamente eficaz para el tratamiento *in vivo* de enfermedades y afecciones mediadas por ActRII incluyendo, pero sin limitarse a, trastornos musculares tales como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular, tal como fibrosis miocárdica y fibrosis pulmonar idiopática (FPI)); enfermedad metabólica (por ejemplo, diabetes de tipo II, resistencia a la insulina, hiperglucemia y obesidad); enfermedades o afecciones inflamatorias, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad cardiovascular (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva e hipertensión); enfermedad ocular tal como degeneración macular asociada a la edad; enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética tal como osteoporosis; enfermedad neurológica; cicatrización; pérdida de peso; y cáncer (por ejemplo, un carcinoma, mieloma, un cáncer inductor de disminución de la masa ósea, cáncer hipofisario y cáncer gastrointestinal). A este respecto, se apreciará que las proteínas de unión a ActRII dadas a conocer pueden formularse para facilitar la administración y fomentar la estabilidad del agente activo. Las composiciones farmacéuticas según la divulgación pueden comprender un portador farmacéuticamente aceptable, no tóxico y estéril tal como solución salina fisiológica, tampones no tóxicos, conservantes, y similares. Para los propósitos de la presente solicitud, una cantidad farmacéuticamente eficaz de una proteína de unión a ActRII, conjugada o no conjugada, significa una cantidad suficiente para lograr la unión a ActRII eficaz y lograr un beneficio, por ejemplo, mejorar los síntomas de una enfermedad o afección o detectar una sustancia o una célula. Las formulaciones adecuadas para su uso en los métodos terapéuticos dados a conocer en el presente documento se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16ª ed. (1980).

Determinadas composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento pueden administrarse por vía oral en una forma de dosificación aceptable incluyendo, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, suspensiones o disoluciones acuosas. Determinadas composiciones farmacéuticas también pueden administrarse por inhalación o aerosol nasal. Tales composiciones pueden prepararse como disoluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para aumentar la biodisponibilidad y/u otros agentes dispersantes o solubilizantes convencionales.

La cantidad de una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIB y/o ActRIIA) que puede combinarse con materiales portadores para producir una forma de dosificación individual variarán dependiendo del sujeto tratado y el modo de administración particular. La composición puede administrarse como dosis única, múltiples dosis o a lo largo de un periodo de tiempo establecido en una infusión. Las pautas posológicas también pueden ajustarse para proporcionar la respuesta deseada óptima (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica).

Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas en el presente documento pueden administrarse a un sujeto

humano u otro sujeto según los métodos de tratamiento mencionados anteriormente en una cantidad suficiente para producir un efecto terapéutico. Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas en el presente documento pueden administrarse a tal ser humano u otro animal en una forma de dosificación convencional preparada combinando las proteínas de unión a ActRII con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable convencional según técnicas conocidas. La forma y el carácter del portador o diluyente farmacéuticamente aceptable puede estar dictada por la cantidad del principio activo con el que va a combinarse, la vía de administración y otras variables bien conocidas. También puede usarse un cóctel que comprende una o más proteínas de unión a ActRII diferentes.

Las dosis terapéuticamente eficaces de composiciones de unión a ActRII para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por ActRII, tal como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica; una enfermedad o afección inflamatoria, autoinmunitaria, cardiovascular, pulmonar, musculoesquelética, esquelética, ocular, neurológica o metabólica; obesidad; cicatrización; y cáncer, varían dependiendo de muchos factores diferentes, incluyendo los medios de administración, el sitio objetivo, el estado fisiológico del sujeto, si el sujeto es un ser humano o un animal, otros medicamentos administrados, y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Habitualmente, el sujeto es un ser humano, pero también pueden tratarse mamíferos no humanos incluyendo mamíferos transgénicos. Las dosificaciones del tratamiento pueden titularse usando métodos de rutina conocidos por los expertos habituales en la técnica para optimizar la seguridad y la eficacia.

Mejorar los síntomas de una enfermedad o afección particular mediante la administración de una proteína de unión a ActRII se refiere a cualquier disminución, ya sea permanente o temporal, duradera o transitoria, que puede atribuirse a, o asociarse con, la administración de la proteína de unión a ActRII.

La divulgación también proporciona el uso de una proteína de unión a ActRII, tal como un anticuerpo anti-ActRII, en la fabricación de un medicamento. por ejemplo, para el tratamiento de trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica; una enfermedad o afección inflamatoria, autoinmunitaria, cardiovascular, pulmonar, musculoesquelética, esquelética, ocular, neurológica o metabólica; obesidad; cicatrización; y cáncer.

#### Terapias de combinación

En algunos aspectos, una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo anti-ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) se administra en combinación con una o más de otras terapias. Tales terapias incluyen agentes terapéuticos adicionales, así como otras intervenciones médicas. Los agentes terapéuticos a modo de ejemplo que pueden administrarse en combinación con las proteínas de unión a ActRII proporcionadas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, fibróticos anti-SD1, corticosteroides, antiinflamatorios, inhibidores de enzimas convertidoras de angiotensina, bloqueadores de receptores de angiotensina, diuréticos, antidiabéticos, inmunodepresores, agentes quimioterápicos, antimetabolitos e inmunomoduladores. En diversos aspectos, una proteína de unión a ActRII se administra a un sujeto antes, durante y/o después de un procedimiento de resección/extirpación quirúrgica.

#### Diagnóstico

La divulgación también proporciona un método de diagnóstico útil durante el diagnóstico de enfermedades y afecciones mediadas por ActRII (por ejemplo, trastornos musculares tales como trastornos por enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular o deterioro muscular; una afección fibrótica (por ejemplo, una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular y/u ocular, tal como fibrosis miocárdica y fibrosis pulmonar idiopática (FPI)); enfermedad metabólica (por ejemplo, diabetes de tipo II, resistencia a la insulina, hiperglucemia y obesidad); enfermedades o afecciones inflamatorias, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad cardiovascular (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva e hipertensión); enfermedad ocular tal como degeneración macular asociada a la edad; enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética tal como osteoporosis; enfermedad neurológica; cicatrización; pérdida de peso; y cáncer (por ejemplo, un carcinoma, mieloma, un cáncer inductor de disminución de la masa ósea, cáncer hipofisario y cáncer gastrointestinal), que implica medir el nivel de expresión de proteína ActRII (por ejemplo, ActRIIA o ActRIIB) en tejido o líquido corporal de un individuo y comparar el nivel de expresión medido con un nivel de expresión de ActRII (por ejemplo, ActRIIA o ActRIIB) patrón en tejido o líquido corporal normal, mediante lo cual un aumento del nivel de expresión de ActRII en comparación con el patrón es indicativo de un trastorno que puede tratarse mediante una proteína de unión a ActRII proporcionada en el presente documento, tal como un anticuerpo anti-ActRIIB de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno tal como se proporciona en el presente documento.

Las proteínas de unión a ActRII proporcionadas en el presente documento, tales como anticuerpos anti-ActRII (por ejemplo, anticuerpos contra ActRII de longitud completa y fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) pueden usarse para someter a ensayo los niveles de ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA) en una muestra biológica usando métodos inmunohistológicos clásicos conocidos por los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, Jalkanen, *et al.*, J. Cell. Biol. 101:976-985 (1985); Jalkanen *et al.*, J. Cell Biol.

105:3087-3096 (1987)). Otros métodos basados en anticuerpos útiles para detectar la expresión de proteína ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA) incluyen inmunoensayos, tales como ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunoprecipitación, o inmunotransferencia de tipo Western.

5 Por "someter a ensayo el nivel de expresión de proteína ActRII" se entiende medir o estimar de manera cualitativa o cuantitativa el nivel de proteína ActRII en una primera muestra biológica ya sea directamente (por ejemplo, determinando o estimando el nivel de proteína absoluto) o relativamente (por ejemplo, comparando con el nivel de polipéptido asociado a la enfermedad en una segunda muestra biológica). El nivel de expresión de proteína ActRII en la primera muestra biológica puede medirse o estimarse y compararse con un nivel de proteína ActRII patrón, tomándose el patrón de una segunda muestra biológica obtenida de un individuo que no tiene el trastorno o determinándose promediando los niveles de una población de individuos que no tienen el trastorno. Tal como se apreciará en la técnica, una vez que se conoce el nivel de proteína ActRII "patrón", puede usarse repetidamente como patrón para la comparación.

15 Por "muestra biológica" se entiende cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, una línea celular, un histocultivo, u otra fuente de células que expresan potencialmente ActRII. En la técnica se conocen métodos para obtener biopsias de tejido y líquidos corporales de mamíferos.

#### 20 Kits que comprenden proteínas de unión a ActRII

Esta divulgación proporciona además kits que incluyen una proteína de unión a ActRII (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a ActRII tal como un anticuerpo contra ActRII de longitud completa y un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII, y variantes y derivados de los mismos) en un envase adecuado, y material escrito y que puede usarse para realizar los métodos descritos en el presente documento. El material escrito puede incluir cualquiera de la siguiente información: instrucciones para su uso, análisis de estudios clínicos, listado de efectos secundarios, referencias bibliográficas científicas, materiales del prospecto, resultados de ensayos clínicos y/o resúmenes de los mismos, y similares. El material escrito puede indicar o establecer las actividades y/o ventajas de la composición y/o describir la dosificación, la administración, los efectos secundarios, las interacciones farmacológicas, u otra información útil para el profesional sanitario. Tal información puede basarse en los resultados de diversos estudios, por ejemplo, estudios que usan animales de experimentación que implican modelos *in vivo* y/o estudios basados en ensayos clínicos en seres humanos. El kit puede contener además otra terapia (por ejemplo, otro agente) y/o material escrito tal como lo que se describió anteriormente que sirve para proporcionar información sobre la otra terapia (por ejemplo, el otro agente).

35 En determinados aspectos, un kit comprende al menos una proteína de unión a ActRII purificada en uno o más recipientes. En algunos aspectos, los kits contienen todos los componentes necesarios y/o suficientes para realizar un ensayo de detección, incluyendo todos los controles, instrucciones para realizar los ensayos, y cualquier software necesario para el análisis y la presentación de los resultados.

#### 40 Inmunoensayos

Las proteínas de unión a ActRII (por ejemplo, anticuerpos que se unen específicamente a ActRII y fragmentos de unión a ActRII de anticuerpos que se unen específicamente a ActRII, y variantes o derivados de los mismos) pueden someterse a ensayo para determinar la unión inespecífica mediante cualquier método conocido en la técnica. Los inmunoensayos que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, sistemas de ensayos competitivos y no competitivos que usan técnicas tales como inmunotransferencias de tipo Western, radioinmunoensayos (RIA), ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), inmunoensayos de tipo "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones con precipitina, reacciones con precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos de fluorescencia o inmunoensayos con proteína A. Tales ensayos son rutinarios y se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, eds, (1994) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, Inc., NY) vol. 1).

Las proteínas de unión a ActRII (por ejemplo, anticuerpos que se unen específicamente a ActRII y fragmentos de unión a ActRII de anticuerpos que se unen específicamente a ActRII, y variantes o derivados de los mismos) proporcionadas en el presente documento pueden emplearse histológicamente, al igual que en inmunofluorescencia, microscopía inmunoelectrónica o ensayos no inmunológicos, para la detección *in situ* de ActRII (por ejemplo, ActRIIB y ActRIIA) o variantes conservadas o fragmentos peptídicos de las mismas. La detección *in situ* puede lograrse según métodos conocidos en la técnica. Los expertos habituales en la técnica podrán determinar condiciones de ensayo operativas y óptimas para cada determinación empleando experimentación de rutina. Los métodos adecuados para la determinación de las características de unión de una proteína de unión a ActRII se describen en el presente documento o se conocen de otro modo en la técnica. Los equipos y el software diseñados para tales análisis cinéticos están disponibles comercialmente (por ejemplo, BIACORE®, software BIAevaluation®, GE Healthcare; software KINEXA®, Sapidyn Instruments).

A menos que se indique lo contrario, la práctica de la divulgación emplea técnicas convencionales de biología

celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de la habilidad en la técnica.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

## Ejemplos

### Ejemplo 1. Selección, caracterización y producción de anticuerpos de unión a ActRII

Se usó un procedimiento de selección de múltiples rondas para seleccionar anticuerpos IgG humanos que se unen a ActRII con alta afinidad y compiten con activina A por la unión a ActRII humana, que se detalla a continuación.

#### Materiales y métodos

Los antígenos (ActRIIA, ActRIIB, ActRIIA-Fc y ActRIIB-Fc) se biotinilaron usando el kit de sulfo-NHS-biotinilación EZ-Link de Pierce. El anticuerpo de cabra anti-F(ab')<sub>2</sub> humano kappa-FITC (LC-FITC), extravidina-PE (EA-PE) y estreptavidina-633 (SA-633) se obtuvieron de Southern Biotech, Sigma y Molecular Probes, respectivamente. Las microperlas de estreptavidina y las columnas de separación de CL MACS se adquirieron de Miltenyi Biotec.

#### Descubrimiento de anticuerpos sin modificar

Se propagaron ocho bibliotecas de levaduras sintéticas humanas sin modificar, cada una con una diversidad de  $\sim 10^9$ , tal como se describió previamente (véanse, por ejemplo, los documentos WO09/036379; WO10/105256; WO12/009568). Para las dos primeras rondas de selección, se realizó una técnica de clasificación con perlas magnéticas utilizando el sistema Miltenyi MACs, tal como se describió (véase, por ejemplo, Siegel *et al.*, J. Immunol. Met. 286(1-2):141-153 (2004)). Brevemente, se incubaron células de levaduras ( $\sim 10^{10}$  células/biblioteca) con 3 ml de antígeno ActRII-Fc (ActRIIB-Fc o ActRIIA-Fc) monomérico biotinilado 10 nM durante 15 minutos a temperatura ambiente en tampón de lavado FACS (solución salina tamponada con fosfato (PBS)/albúmina sérica bovina (BSA) al 0,1 %). Después de lavar una vez con 50 ml de tampón de lavado helado, se resuspendió el sedimento celular en 40 ml de tampón de lavado, y se añadieron microperlas de estreptavidina (500  $\mu$ l) a las levaduras y se incubaron durante 15 minutos a 4 °C. A continuación, se sedimentaron las levaduras, se resuspendieron en 5 ml de tampón de lavado, y se cargaron en una columna Miltenyi LS. Después de cargar los 5 ml, se lavó la columna 3 veces con 3 ml de tampón de lavado FACS. Luego se retiró la columna del campo magnético, y se eluyeron las levaduras con 5 ml de medio de crecimiento y luego se cultivaron durante la noche. Se realizaron las siguientes rondas de clasificación usando citometría de flujo. Se sedimentaron aproximadamente  $1 \times 10^8$  levaduras, se lavaron tres veces con tampón de lavado, y se incubaron con concentraciones decrecientes de antígeno de fusión ActRII-Fc o monomérico biotinilado (de 100 a 1 nM) en condiciones de equilibrio a temperatura ambiente. Luego se lavaron las levaduras dos veces y se tiñeron con LC-FITC (diluido 1:100) y reactivo secundario SA-633 (diluido 1:500) o EA-PE (diluido 1:50) durante 15 minutos a 4 °C. Después de lavar dos veces con tampón de lavado helado, se resuspendieron los sedimentos celulares en 0,4 ml de tampón de lavado y se transfirieron a tubos de clasificación tapados con filtro. Se realizó la clasificación usando un dispositivo de clasificación FACS ARIA (BD Biosciences) y se asignaron las compuertas de clasificación para seleccionar aglutinantes específicos en relación con un control de fondo. Se emplearon rondas de selección posteriores con el fin de reducir el número de aglutinantes de reactivos inespecíficos utilizando proteínas de membrana solubles de células CHO (véanse, por ejemplo, el documento WO14/179363 y Xu *et al.*, Protein Eng. Des. Sel. 26(10):663-670 (2013)), e identificar aglutinantes con afinidad mejorada por ActRII (ActRIIB o ActRIIA) usando el antígeno ActRII-Fc (ActRIIB-Fc y ActRIIA-Fc, respectivamente). Después de la ronda de clasificación final, se sembraron en placas las levaduras y se recogieron colonias individuales para la caracterización y para la nominación de clones para la maduración por afinidad.

#### Maduración por afinidad

Se llevó a cabo la optimización de unión de clones sin modificar utilizando tres estrategias de maduración: diversificación de cadenas ligeras; diversificación de CDRH1 y CDRH2; y realización de mutagénesis de VH y VL secuencial.

Diversificación de cadenas ligeras: se extrajeron plásmidos de cadena pesada de los productos sin modificar (descritos anteriormente) y se transformaron en una biblioteca de cadenas ligeras con una diversidad de  $1 \times 10^6$ . Se realizaron selecciones tal como se describió anteriormente con una ronda de clasificación por MACS y dos rondas de clasificación por FACS usando antígeno ActRII-Fc (ActRIIB-Fc o ActRIIA-Fc) biotinilado 10 nM o 1 nM para las respectivas rondas.

Selección de CDRH1 y CDRH2: se recombinaron las CDRH3 de clones seleccionados del procedimiento de diversificación de cadenas ligeras en una biblioteca previamente preparada con variantes de CDRH1 y CDRH2 de una diversidad de  $1 \times 10^8$  y se realizaron selecciones paralelas usando antígeno ActRIIB y ActRIIA, respectivamente, tal como se describió anteriormente. Se aplicaron presiones de afinidad incubando el complejo de levadura anticuerpo-antígeno biotinilado con antígeno no biotinilado durante los diferentes periodos de tiempo para

seleccionar los anticuerpos con la afinidad más alta.

Selección de VHmut/VKmut: se sometieron los clones obtenidos del procedimiento de selección de CDRH1 y CDRH2 a rondas de maduración por afinidad adicionales a través de mutagénesis basada en PCR propensa a errores de la cadena pesada y/o cadena ligera. Se realizaron selecciones usando ActRIIB o ActRIIA como antígeno generalmente tal como se describió anteriormente, pero con la adición del uso de clasificación por FACS para todas las rondas de selección. Se redujo la concentración de antígeno y se aumentaron los tiempos de competición con antígeno en frío para aplicar más presiones con el fin de obtener una afinidad óptima.

#### Producción y purificación de anticuerpos

Con el fin de producir cantidades suficientes de anticuerpos seleccionados para la caracterización adicional, se cultivaron los clones de levaduras hasta la saturación y luego se indujeron durante 48 h a 30 °C con agitación. Después de la inducción, se sedimentaron las células de levaduras y se recogieron los sobrenadantes para la purificación. Se purificaron las IgG usando una columna de proteína A y se eluyeron con ácido acético, pH 2,0. Se generaron fragmentos Fab mediante digestión con papaína y se purificaron sobre KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences).

#### Mediciones de $K_D$ por ForteBio

Se realizaron mediciones de afinidad por ForteBio de anticuerpos seleccionados generalmente tal como se describió previamente (véase, por ejemplo, Estep *et al.*, *Mabs*, 5(2):270-278 (2013)). Brevemente, se realizaron mediciones de afinidad por ForteBio cargando las IgG en línea sobre sensores AHQ. Se equilibraron los sensores fuera de línea en tampón de ensayo durante 30 minutos y luego se monitorizaron en línea durante 60 segundos para el establecimiento del nivel inicial. Se expusieron los sensores con IgG cargadas a antígeno 100 nM durante 5 minutos, tras lo cual se transfirieron a tampón de ensayo durante 5 minutos para la medición de la velocidad de disociación. Se analizaron las cinéticas usando el modelo de unión 1:1.

#### Mediciones de $K_D$ por MSD-SET

Se realizaron mediciones de afinidad en equilibrio de anticuerpos seleccionados generalmente tal como se describió previamente (Estep *et al.*, *Mabs* 5(2):270-278 (2013)). Brevemente, se realizaron titulaciones de disolución en equilibrio (SET) en PBS + BSA libre de IgG al 0,1 % (PBSF) con antígeno (monómero de ActRIIB o monómero de ActRIIA) mantenido constante a 10-100 pM y se incubaron con diluciones en serie de 3 a 5 veces de Fab o AcM comenzando a 10 pM-10 nM. Con los anticuerpos (20 nM en PBS) se recubrieron placas de MSD-ECL de unión convencionales durante la noche a 4 °C o a temperatura ambiente durante 30 minutos. Luego se bloquearon las placas con BSA durante 30 minutos con agitación a 700 rpm, seguido de tres lavados con tampón de lavado (PBSF + Tween 20 al 0,05 %). Se aplicaron muestras de SET y se incubaron en las placas durante 150 s con agitación a 700 rpm, seguido de un lavado. Se detectó el antígeno capturado en una placa con 250 ng/ml de estreptavidina marcada con etiqueta Sulfo en PBSF mediante incubación en la placa durante 3 minutos. Se lavaron las placas tres veces con tampón de lavado y luego se leyeron en el instrumento MSD Sector Imager 2400 usando tampón de lectura T 1x con tensioactivo. Se representó gráficamente el porcentaje de antígeno libre en función del anticuerpo titulado en Prism y se ajustó a una ecuación cuadrática para extraer la  $K_D$ . Para mejorar el rendimiento, se usaron robots de manipulación de líquidos durante los experimentos de MSD-SET, incluyendo la preparación de muestras de SET.

#### Bloqueo de ligandos/agrupación (*binning*) de epítomos por Octet Red384

Se realizó bloqueo de ligandos/agrupación de epítomos de anticuerpos seleccionados usando un ensayo de bloqueo cruzado de formato de tipo sándwich convencional. Se cargo anticuerpo contra antígeno diana de control en sensores AHQ y se bloquearon los sitios de unión a Fc no ocupados en el sensor con un anticuerpo IgG1 humana irrelevante. Luego se expusieron los sensores a antígeno diana 100 nM, seguido de un segundo ligando o anticuerpo contra antígeno diana. Se procesaron los datos usando el software de análisis de datos de ForteBio 7.0. La unión adicional por el segundo anticuerpo o ligando después de la asociación del antígeno indica un epítipo no ocupado (no competidor), mientras que la ausencia de unión indica el bloqueo del epítipo (bloqueo del competidor o ligando).

#### Cromatografía de exclusión molecular

Se usó una columna TSKgel SuperSW mAb HTP (22855) para el análisis rápido por SEC de los AcM producidos por levaduras a 0,4 ml/minuto con un tiempo de ciclo de 6 min/desarrollo. Se usó fosfato de sodio 200 mM y cloruro de sodio 250 mM como fase móvil.

#### Fluorimetría dinámica de barrido

Se añadieron 10 ul de 20x Sypro Orange a 20 ul de disolución de AcM o Fab 0,2-1 mg/ml. Se usó un instrumento de

RT-PCR (BioRad CFX96 RT PCR) para aumentar en rampa la temperatura de la placa de muestra desde 40 °C hasta 95 °C a un incremento de 0,5 °C, con un equilibrado de 2 minutos en cada temperatura. Se usó el negativo de la primera derivada para los datos sin procesar para extraer la Tm.

- 5 Basándose en los análisis anteriores, se confirmaron las secuencias de 8 anticuerpos de unión a ActRII sin modificar con características preferidas y se eligieron para la optimización de la unión usando las estrategias de maduración descritas anteriormente.

#### Ejemplo 2. Caracterización de anticuerpos de unión a ActRII sin modificar y optimizados

- 10 Se caracterizaron adicionalmente las proteínas de unión a ActRII sin modificar y con unión optimizada a modo de ejemplo generadas según el ejemplo previo mediante análisis de secuencia, SPR y ensayo de gen indicador basado en células.

- 15 Las secuencias de anticuerpos de unión a ActRII sin modificar y con unión optimizada a modo de ejemplo generados según los métodos descritos en el ejemplo 1 se presentan en la tabla 1 (las secuencias de CDR a modo de ejemplo están subrayadas).

Tabla 1: Proteínas de unión a ActRII a modo de ejemplo

<i>Anticuerpos de unión a ActRII</i>	
A01	
VH	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACGCATGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCGAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCA TCACATGGCTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:1)
VH	QLQLQESGPGLVKPSFETLSLTCTVSGSSISSSYAWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKS RVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD <u>DSGIGYSYASSHGYYYMDV</u> WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:2)
	CDR1: GGSISSSY (SEQ ID NO:3; nucleótidos 26-34 de SEQ ID NO:2)
	CDR2: YYS GS (SEQ ID NO:4; residuos de aminoácido 54-58 de SEQ ID NO:2)
	CDR3: DSGIGYSYASSHGYYYMDV (SEQ ID NO:5; residuos de aminoácido 100-119 de SEQ ID NO:2)
H	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACGCATGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCGAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCA TCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCT AGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACAGC AGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACTCCGGAGC CCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTC CGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAAGCTGGGACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCAACAAAC TTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCAAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCAC CTTGTCCTCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCTCAAAAACCAAAAGACA CACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACTAGAGA AGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACAGTGCTCCACCAGGACTGGCTCA ATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAACAATT AGCAAGGCAAAGGGGACGACGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGGGATGAAC TGACCAAAAACAGGTCAGCCTGACATGCCTGGTGAAGGGTTTTACCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCG ATGGGAGCTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTG TTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGC CCAGGAAAG (SEQ ID NO:6)

H	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYAWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSDGIGYSYASSHGYYYMDVWVGKGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:7)
VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCC TGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTG GTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG TCAGCAGTACTTCCACTTCCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:8)
VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDAFVYYCQQYFHFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:9)
	CDR1: RASQSVGSNLA (SEQ ID NO:10; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:9)
	CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:11; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:9)
	CDR3: QQYFHFPLT (SEQ ID NO:12; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:9)
L	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCC TGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTG GTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG TCAGCAGTACTTCCACTTCCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAAACGTACGGT GGCTGCACCTTCCGTCTTTATCTTTCCACCTTCCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGAACAGCAAGCGT GGTGTGTCTGCTGAACAACCTTTATCCCGGGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGACAATGCTC TCCAGTCCGGCAATTCCCAAGAGAGCGTGACAGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACTTACAGCCTG TCCAGCACCTTCACACTGAGCAAGGCTGATTACGAGAAACACAAAGTGTACGCTTGTGAAGTCAC CCACCAAGGCTGAGCAGCCAGTCACTAAGTCTTTAACCAGGGGCGAATGT (SEQ ID NO:13)
L	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDAFVYYCQQYFHFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYF P
	REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEHKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:14)
E01	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTACCTGT ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGGGAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGG AAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGGATCTATGGTAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAG AGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCG CCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCATCAC ATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAAGTGTACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:15)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSIGSGGYWVSWIRQHPGKGLEWIGGIYGSSTYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSDGIGYSYASSHGYYYMDVWVGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:16)
	CDR1: GGSIGSGGY (SEQ ID NO:17; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:16)
	CDR2: YGSG (SEQ ID NO:18; residuos de aminoácido 54-57 de SEQ ID NO:16)
	CDR3: DSGIGYSYASSHGYYYMDV (SEQ ID NO:5; residuos de aminoácido 100-119 de SEQ ID NO:16)

H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGT ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGGGAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGG AAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGGATCTATGGTAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAA GAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGAC CGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCAT CACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCTA GCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGGCGGAACAGCA GCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTTGGAACTCCGGAGCC CTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCC GTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCT TCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACC TTGTCCCCTCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGCTCTTTCTGTTTCTCCAAAAACCAAGACACA CTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCAGA GGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAAGTCCACAACGCAAAAAACCAACCTAGAGAAG AACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCCTGACAGTGTCTCCACCAGGACTGGCTCAAT GGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAAACAATTAG CAAGGCAAAGGGGACGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCTGCCCCCAAGCCGGGATGAAGTGA CCAAAAACAGGTGAGCTGACATGCCTGGTGAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTCGAGT GGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTACAAAACACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGG AGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCC TGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA AAG (SEQ ID NO:19)
H	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIGSGGYWSWIRQHPGKGLEWIGGIYSGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSGIGYSYASSHGYYYYMDVWGKGTITVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:20)
VL	SEQ ID NO:8
VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQOKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYFHFPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:9)
	CDR1: RASQSVGSNLA (SEQ ID NO:10; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:9)
	CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:11; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:9)
	CDR3: QQYFHFPLT (SEQ ID NO:12; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:9)
L	SEQ ID NO:13
L	SEQ ID NO:14
F01	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTG TACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAAGAGTGGTGGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGG GAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGGATCTATCCGAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCA TCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:21)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIGSGGYWSWIRQHPGKGLEWIGGIYPSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSGIGYSYASSHGYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:22)
	CDR1: GGSIGSGGY (SEQ ID NO:23; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:22)
	CDR2: WIGGIYPSGSTYY (SEQ ID NO:24; residuos de aminoácido 49-61 de SEQ ID NO:22)
	CDR3: DSGIGYSYASSHGYYYYMDV (SEQ ID NO:5; residuos de aminoácido 100-119 de SEQ ID NO:22)

H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTG TACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAAGAGTGGTGGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGG GAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGGATCTATCCGAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCGAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCA TCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCT AGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGCGGGAACAGC AGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGC CCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTC CGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAAACC TTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCCAC CTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAAGACA CACTCATGATCAGCCGGACCCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACTAGAGA AGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACAGTGTCCACCAGGACTGGCTCA ATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAACAATT AGCAAGGCAAAGGGGACGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGGGATGAAC TGACCAAAAACAGGTGACCTGACATGCCTGGTGAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTG GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCG ATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTG TTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGC CCAGGAAAG (SEQ ID NO:25)
H	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIKSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGGIYPSGSTYYNPSLKS VTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSGIGYSYASSHGYYYMDVWGKGTITVTVSSASTKG PSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:26)
VL	SEQ ID NO:8
VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEF TLTISSLQSEDFAVYYCQQYFHFPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:9)
	CDR1: RASQSVGSNLA (SEQ ID NO:10; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:9)
	CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:11; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:9)
	CDR3: QQYFHFPLT (SEQ ID NO:12; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:9)
L	SEQ ID NO:13
L	SEQ ID NO:14
B01	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTG TACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGAGAGCGGTGGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAG GGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGTATCTATGGGAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGT GACCGCCGAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCC TCATCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTC A (SEQ ID NO:27)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSILSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGGIYYSGKTYYNPSLKS VTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSGIGYSYASSHGYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:28)
	CDR1: GGSILSGGY (SEQ ID NO:29; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:28)
	CDR2: YYSGK (SEQ ID NO:30; residuos de aminoácido 54-58 de SEQ ID NO:28)
	CDR3: DSGIGYSYASSHGYYYMDV (SEQ ID NO:5; residuos de aminoácido 100-119 de SEQ ID NO:28)

H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTG TACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGAGAGCGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAG GGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGTATCTATGGGAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGT GACCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCC TCATCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTC AGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGA ACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTC CGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCC TCAGCTCCGTCTGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAAC CACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATA CATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAAAC CAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTCACTGTGTGGTGGTGGACGTACGCCAC GAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAAACCA AACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACAGTGTCTCCACCA GGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATT GAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGACGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAA GCCGGATGAACTGACCAAAAAACAGGTACAGCTGACATGCCTGGTGAAGGGTGTATACCCAAG CGATATTGCCGTGCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTACAAAACCCACCCACCT GTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCA ACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAGT CCCTCTCCCTCAGCCAGGAAAG (SEQ ID NO:31)
H	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIESGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGGIYSGSTYYNP SLKSR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDSGIGYSYASSHGYYYYMDVWGKGTITVTVSSASTKG PSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHFTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYCKKVS N KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:32)
VL	SEQ ID NO:8
VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEF TLTISSLQSEDAFVYYCQQYFHFPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:9)
	CDR1: RASQSVGSNLA (SEQ ID NO:10; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:9)
	CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:11; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:9)
	CDR3: QQYFHFPLT (SEQ ID NO:12; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:9)
L	SEQ ID NO:13
L	SEQ ID NO:14
C01	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTG TACTGTCTCTGGTGGCTCCATCTCTAGTGGTGGTTACTTTTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGG GAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGGATCTATTACAGTGGGCGGACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTG ACCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTC ATCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:33)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYFWSWIRQHPGKGLEWIGGIYSGRTYYNP SLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDSGIGYSYASSHGYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:34)
	CDR1: GGSISSGGY (SEQ ID NO:35; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:34)
	CDR2: YYSGRT (SEQ ID NO:36; residuos de aminoácido 54-58 de SEQ ID NO:34)
	CDR3: DSGIGYSYASSHGYYYYMDV (SEQ ID NO:5; residuos de aminoácido 100-119 de SEQ ID NO:34)

H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTG TACTGTCTCTGGTGGCTCCATCTCTAGTGGTGGTTACTTTTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGG GAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGGATCTATTACAGTGGGCGGACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTG ACCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTC ATCACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCAACCGTCTCCTCAG CTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGG AGCCCTGACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAG CTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACA AACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGC CCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAA GACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGA TCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACTA GAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCCTGACAGTGTCTCCACCAGGACTGG CTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAA CAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGGGA TGAAGTGACCAAAAACAGGTGACCTGACATGCCTGGTGAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTG CCGTCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAAACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGA CTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCA ACGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAGTCCCTCTCCC TCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:37)
H	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYFWSWIRQHPGKLEWIGGIYSGRTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGIGYSYASSHGYYYMDVWGKGTITVTSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK LPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:38)
VL	SEQ ID NO:8
VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYFHFPLTIFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:9)
	CDR1: RASQSVGSNLA (SEQ ID NO:10; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:9)
	CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:11; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:9)
	CDR3: QQYFHFPLT (SEQ ID NO:12; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:9)
L	SEQ ID NO:13
L	SEQ ID NO:14
D01	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGT ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGAGAGCGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGG AAGGGCCTGGAGTGGATTGGGGGTATCTATGGGAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAA GAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGAC CGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCAT CACATGGCTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCAACCGTCTCCTCA) (SEQ ID NO:39)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIESGGYYWSWIRQHPGKLEWIGGIYGSSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGIGYSYASSHGYYYMDVWGKGTITVTSS (SEQ ID NO:40)
	CDR1: GGSIESGGY (SEQ ID NO:41; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:40)
	CDR2: YGS GS (SEQ ID NO:18; residuos de aminoácido 54-58 de SEQ ID NO:40)
	CDR3: DSGIGYSYASSHGYYYMDV (SEQ ID NO:5; residuos de aminoácido 100-119 de SEQ ID NO:40)

H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGT ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGAGAGCGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGG AAGGGCTGGAGTGGATTGGGGGTATCTATGGGAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAA GAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGAC CGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGACTCAGGAATAGGATACAGCTACGCCTCAT CACATGGCTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCTA GCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCTAGCAGCAAAATCCACCAGCGGCGGAACAGCA GCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCC CTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCC GTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCT TCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACC TTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCCCTCCAAAACCAAAAGACACA CTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCAGA GGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAAGTCCACAACGCAAAAAACCAAACTAGAGAAG AACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACAGTGTCTCCACCAGGACTGGCTCAAT GGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAG CAAGGCAAAAGGGGACGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCTGCCCCCAAGCCGGGATGAAGTGA CCAAAAACAGGTGACCTGACATGCCTGGTGAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTCGAGT GGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTACAAAACACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGG AGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCC TGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA AAG (SEQ ID NO:42)
H	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIESGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGGIYSGSTYYNP SLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD SGIGYSYASSHGYYYMDVWGKGTITVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:43)
VL	SEQ ID NO:8
VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLA WYQKPGQAPRLLIY <u>GASTRAT</u> GIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDAFVYYCQYFHFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:9)
	CDR1: RASQSVGSNLA (SEQ ID NO:10; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:9)
	CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:11; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:9)
	CDR3: QQYFHFPLT (SEQ ID NO:12; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:9)
L	SEQ ID NO:13
L	SEQ ID NO:14
G01	
VH	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGC ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACGCATGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGA AGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGA GTCGAGTCAACATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGC CGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGCTGGAATAACCGATGGCACGGAATGGACGTATG GGGCCAGGGAACAACCTGTACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:44)
VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSSSYAWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNP SLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR <u>AGKYRWHGMDV</u> WGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:45)
	CDR1: GGSISSSSY (SEQ ID NO:3; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:45)
	CDR2: YYSGS (SEQ ID NO:4; residuos de aminoácido 54-58 de SEQ ID NO:45)
	CDR3: AGKYRWHGMDV (SEQ ID NO:46; residuos de aminoácido 100-110 de SEQ ID NO:45)

H	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGC ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACGCATGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGA AGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCTCAAGA GTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGC CGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGCTGGAAAAATACCGATGGCACGGAATGGACGTATG GGGCCAGGGAACAACGTGCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTCACTGGC ACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCC TGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTG CTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACAC AGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCA AATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCCACCTTGTCCCCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGT CTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTCACCTGTGTG GTGGTGAGACGTGAGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGAAGTC CACAACGCAAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCCTG ACAGTGTCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCTGCACCAATTGAGAAAAAATAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATAC CCTGCCCCCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAACCAGGTGAGCCTGACATGCCTGGTGAAAGGGTT TTACCCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAAACAATTACAAAAACAC CCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGA TGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAA AGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:47)
H	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYAWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARAGKYRWHGMDVWGQGTITVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPK SNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSISKAKGP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:48)
VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT GTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA AGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAATTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTAG CAGGCACCCGACCTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:49)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQAPDLPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:50)
	CDR1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO:51; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:50)
	CDR2: AASNLSQ (SEQ ID NO:52; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:50)
	CDR3: QQAPDLPIT (SEQ ID NO:53; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:50)
L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAATTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT CAGCAGGCACCCGACCTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTACGGT GGTGTGACCTTCCGTCTTTATCTTTCCACCTTCCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGAACAGCAAGCGT GGTGTGTCTGCTGAACAACCTTTATCCCCGGGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGACAATGCTCT CCAGTCCGGCAATCCCCAAGAGAGCGTGACAGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACTTTAGAGCTGT CCAGCACCCCTCAACTGAGCAAGGCTGATTACGAGAAACACAAAGGTACGCTTGTACAGTCAACC CACCAAGGCCTGAGCAGCCAGTCACTAAGTCCTTTAACCAGGGGCGAATGT (SEQ ID NO:54)
L	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQAPDLPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:55)
H01	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGC GCTGTCTCTGGTACTCCATCAGCAGTGGTGTACTGATGTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCGTTCATAGTGGGCATACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGTCG AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCA GACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGCTGGAAAAATACCGATGGCACGGAATGGACGTATGGGGC CAGGGAACAACGTGCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:56)
VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGVYWMWIRQPPGKGLEWIGSIYHSGHTYYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARAGKYRWHGMDVWGQGTITVTSS (SEQ ID NO:57)
	CRD1: GYSISSGV (SEQ ID NO:58; residuos de aminoácido 26-33 de SEQ ID NO:57)

	CDR2: VHS GH (SEQ ID NO:59; residuos de aminoácido 53-57 de SEQ ID NO:57)
	CDR3: AGKYRWHGMDV (SEQ ID NO:46; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:57)
H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGC GCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGTGGTGTCTTACTGGATGTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCGTTTCATAGTGGGCATACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCC AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCA GACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGCTGGAAAAATACCGATGGCACGGAATGGACGTATGGGGC CAGGGAACAACCTGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACTGGCACCT AGCAGCAAATCCACCAGCGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAG CCAGTACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGC AATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGTCCGTCTGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGAC TTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATC CTGTGATAAGACCCATACATGCCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTT CTGTTTCCCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTCACCTGTGTGGTGG TGGACGTGAGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAAAGTCCACA ACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACA GTGCTCCACCAAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGCCCTGCCT GCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCTT GCCCCAAGCCGGGATGAAGTACCAAAAAACAGGTCAGCCTGACATGCCTGGTGAAGGGGTTTAA CCCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTACAAAACCCACCC CACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATG GCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACAAAAA GTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:60)
H	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSISGVYWMWIRQPPGKGLEWIGSIVHSGHTYYNPSLKSRTVIS VDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARAGKYRWHGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD'TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
	REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:61)
VL	SEQ ID NO:49
VL	DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGISSWLAWYQOKPGKAPKLLIYAASNLOSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQAPDLPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:50)
	CDR1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO:51; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:50)
	CDR2: AASNLOQS (SEQ ID NO:52; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:50)
	CDR3: QQAPDLPIT (SEQ ID NO:53; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:50)
L	SEQ ID NO:54
L	SEQ ID NO:55
E02	
VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGGAATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGGACCTTTGTCTCTACTTCTAGGCTACTTTGACT ACTGGGGACAGGGTGCATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:62)
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGSITYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPLSLLLG YFDYWGQALVTVSS (SEQ ID NO:63)
	CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:64; residuos de aminoácido 26-32 de SEQ ID NO:63)
	CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:65; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:63)
	CDR3: DPLSLLLG YFDY (SEQ ID NO:66; residuos de aminoácido 99-110 de SEQ ID NO:63)

H	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGAATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGGACCCCTTGTCTCTACTTCTAGGCTACTTTGACTACTGGGGACAGGGTGCATTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTITCCAC TGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTAC TTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCC GCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCTGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTG GGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGT GGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGG ACCTTCCGTCTTTCTGTTTCCCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGT CACCTGTGTGGTGGTGGACGTACGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATG GAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGT GGTGTCCGTCTGACAGTGTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGA GCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGA ACCCCAGGTGTATACCTGCCCCCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAAACAGGTGAGCCTGACAT GCCTGGTGAAGGGTTTTACCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA AACAAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTC ACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCCCTC CACAACCACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCAGGAAAG (SEQ ID NO:67)
H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPLSLLGYFDYWGQALVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIIS KAKGPQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:68)
VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGAATTCATCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTG CCAGCAGTACAATCGCCACTCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:69)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLA <sup>WYQQKPGKAPKLLIY</sup> <u>DASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPD <sup>DFATYYCQQYNRHSPT</sup> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:70)
	CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:71; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:70)
	CDR2: DASSLES (SEQ ID NO:72; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:70)
	CDR3: QQYNRHSPT (SEQ ID NO:73; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:70)
L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGAATTCATCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTG CCAGCAGTACAATCGCCACTCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTACGGT GGCTGCACCTTCCGTCTTTATCTTTCCACCTTCCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGAACAGCAAGCGT GGTGTGTCTGCTGAACAACTTTTATCCCCGGGAGGCAAGGTGCAGTGGAAAGTCGACAATGCTCT CCAGTCCGGCAATTCCCAAGAGAGCGTGACAGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACTTACAGCCTGT CCAGCACCTTCACACTGAGCAAGGCTGATTACGAGAAAACACAAAGTGACGCTTGTGAAGTCACC CACCAAGGCCGTGAGCAGCCAGTCACTAAGTCCTTTAACCAGGGGCGAATGT (SEQ ID NO:74)
L	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLA <sup>WYQQKPGKAPKLLIY</sup> <u>DASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPD <sup>DFATYYCQQYNRHSPT</sup> FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRREC (SEQ ID NO:75)
F02	
VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCCGTTATGCCATGTCGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGAAAGTGGTGGTGGCGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGGACCCCTTGTCTCTACTTCTAGGCTACTTTGACTACTGGGGACAGGGTGCATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:76)
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK <u>LDPLSLLGYFDY</u> WGQALVTVSS (SEQ ID NO:77)

	CDR1: GFTFSRY (SEQ ID NO:78; residuos de aminoácido 26-32 de SEQ ID NO:77)
	CDR2: SGSSGA (SEQ ID NO:79; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:77)
	CDR3: DPLSLLGYFDY (SEQ ID NO:80; residuos de aminoácido 99-110 de SEQ ID NO:77)
H	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCCGTTATGCCATGTCGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGAAGTGGTGGTGGCGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGGACCCTTTGTCTCTACTTCTAGGCTACTTTGACTACTGGGGACAGGGTGCAATTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCACTGGCACCTAGCAGCAAAATCCACCAGCGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTTGGAACTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCCCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCGGAAGTCACTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAAAACCTAGAGAAGAAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTCAGAGTGTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGA
	GCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGGGATGAAGTACCAAAAAACAGGTGAGCCTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAACAATTACAAAACCCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCACAAACACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:81)
H	EVQLLESGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSRYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPLSLLGYFDYWGQALVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO:82)
VL	SEQ ID NO:69
VL	DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYNRHSPTFFGGGKVEIK (SEQ ID NO:70)
	CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:71; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:70)
	CDR2: DASSLES (SEQ ID NO:72; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:70)
	CDR3: QQYNRHSPT (SEQ ID NO:73; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:70)
L	SEQ ID NO:74
L	SEQ ID NO:75
I01	
VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGGGAGCTATGGCATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTAGTGGAAGTGGTGGTGGGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGGGTCTAGAATAGTGGGCATGGATGTGTGGGGCAGGGAACAACGTGCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:143)
VH	EVQLLESGLVQPGGSLRLSAAAGFTFGSYGMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGPRIVGMDVWGQGTITVTS (SEQ ID NO:144)
	CDR1: SYGMT (SEQ ID NO:145; residuos de aminoácido 31-35 de SEQ ID NO:144)
	CDR2: VISGSGGGTYYADSVKG (SEQ ID NO:146; residuos de aminoácido 50-65 de SEQ ID NO:144)
	CDR3: GPRIVGMDV (SEQ ID NO:147; residuos de aminoácido 95-102 de SEQ ID NO:144)

H	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCTGGATTACCTTTGGGAGCTATGGCATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGTTATTAGTGGAAAGTGGTGGTGGGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGGGTCTCTAGAATAGTGGGCATGGATGTGTGGGGC CAGGGAACAACCTGTACCCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGGGCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCC TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGTGTCTTA CAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAG ACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAA ATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCTCTGGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTC CCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGAC GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCC TCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACC
	CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCC TCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGAACAAGAGCAGGTG GCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGTCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGA AGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGTAAATGA (SEQ ID NO:148)
H	EVQLLESGLVQPGGSLRLSAAAGFTFGSYGMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGGTYYADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGPRIVGMVWVGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR TSESTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:149)
VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTG TCAGCAGGTATTCAGTTACCCTCTCACTTTTGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:150)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQVFSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:151)
	CDR1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO:152; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:151)
	CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:153; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:151)
	CDR3: QQVFSYPLT (SEQ ID NO:154; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:151)
L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT CAGCAGGTATTAGTTACCCTCTCACTTTTGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGAACTGTG GCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTG TGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCC AATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:155)
L	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQVFSYPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:156)

Anticuerpos de unión a ActRIIB y ActRIIA

A02

VH	CAGGTTCAAGTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGG GCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGA TCTGACGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGTA TGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:83)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARVSMYAPEPMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:84)
	CDR1: GYTFTSY (SEQ ID NO:85; residuos de aminoácido 26-32 de SEQ ID NO:84)
	CDR2: SPYNGN (SEQ ID NO:86; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:84)
	CDR3: VSMYAPEPMDV (SEQ ID NO:87; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:84)
H	CAGGTTCAAGTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGG
	GCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGG GCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGA TCTGACGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGTA TGGGGCCAGGGAACAACCTGTCAACCGTCTCTCAGTACGACACAAAGGACCAAGCGTGTTCCTACT GGCACCTAGCAGCAAAATCCACCAGCGGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACT TCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTCCCCG CTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGTCCGTCTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGG GCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCAAACTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTG GAACCCAAATCCTGTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCGCTCTGAGCTGCTGGGGGA CCTTCCGTCTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGG AGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTG GTGTCCGTCTGACAGTGTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAG CAACAAGGCCCTGCTGCACCAATTGAGAAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGAA CCCCAGGTGTATACCCTGCCCAAGCCGGGATGAACCTGACCAAAAACAGGTACGCTGACATG CCTGGTGAAGGGTGTACCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAA ACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTCTGTACAGCAAGCTCA CAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCC ACAACCACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:88)
H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARVSMYAPEPMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:89)
VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGGTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT CAGCAGGCATTCTCCACCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:90)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQAFSHPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:91)
	CDR1: RASQGISRWLA (SEQ ID NO:92; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:91)
	CDR2: ASSLQS (SEQ ID NO:93; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:91)
	CDR3: QQAFSHPWT (SEQ ID NO:94; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:91)
L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGGTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC CTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTAC TGTCAGCAGGCATTCTCCACCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAAACGTAC GGTGGCTGCACCTTCCGTCTTTATCTTTCCACCTTCCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGAACAGCAA GCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTTATCCCCGGGAGGCAAGGTGCAAGTGGAAAGTGCACAAT GCTCTCCAGTCCGGCAATTCCCAAGAGAGCGTGCAGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACTTACAG CCTGTCCAGCACCTTCACTGAGCAAGGCTGATTACGAGAAACACAAAGTGTACGCTTGTGAAG TCACCCACCAAGGCTGAGCAGCCAGTCACTAAGTCCTTTAACCGGGGCGAATGT (SEQ ID NO:95)

L	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISRWLA <del>WYQQKPGKAPKLLIY</del> <u>AASSLQSGVPSRFS</u> SGSGGT DFLTITSSLPEDFATYYCQQA <del>FSHPWT</del> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:96)
B02	
VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCCATAAGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAA
	GGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCTGCTAGTGGTTGGACAAACTATGCACAGAAGTTTCA GGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTG AGATCTGACGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGA CGTATGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:97)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGHKMH <del>WVRQAPGQGLEWMGW</del> <u>INPASGW</u> TNYAQKF QGRVTMTRDTSISTAYMELSR <del>LRSDDTAVYYCAR</del> <u>VSMYAPEPMDV</u> WGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:98)
	CDR1: GYTFTGHKMH (SEQ ID NO:99; residuos de aminoácido 26-35 de SEQ ID NO:98)
	CDR2: NPASGW (SEQ ID NO:100; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:98)
	CDR3: VSMYAPEPMDV (SEQ ID NO:101; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:98)
H	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCCATAAGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAA GGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCTGCTAGTGGTTGGACAAACTATGCACAGAAGTTTCA GGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTG AGATCTGACGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGA CGTATGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTC CACTGGCACCTAGCAGCAAAATCCACCAGCGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGA TTACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGACACCT TCCCCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCA GCCTGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCAAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAA AAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGC TGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACC CCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGCAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTA CGTGGATGGAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCAC ATACAGGTGGTGTCCGTCTGACAGTGTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGT GCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCA GCCACGGGAACCCAGGTGTATACCTGCCCCCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAACAGGTC AGCCTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACG GACAGCCAGAAAACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCCTG TACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTGAT GCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:102)
H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGHKMH <del>WVRQAPGQGLEWMGW</del> <u>INPASGW</u> TNYAQKF QGRVTMTRDTSISTAYMELSR <del>LRSDDTAVYYCAR</del> <u>VSMYAPEPMDV</u> WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SVM</del> HEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:103)
VL	SEQ ID NO:90
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISRWLA <del>WYQQKPGKAPKLLIY</del> <u>AASSLQSGVPSRFS</u> SGSGGT DFLTITSSLPEDFATYYCQQA <del>FSHPWT</del> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:91)
	CDR1: RASQGISRWLA (SEQ ID NO:92; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:91)
	CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:93; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:91)
	CDR3: QQA <del>FSHPWT</del> (SEQ ID NO:94; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:91)
L	SEQ ID NO:95
L	SEQ ID NO:96
C02	
VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACAGCTACAATATGGCGTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAGGCCTAGTGTGGTAGCACAAAGCTACGCACAGAAGTCCAG

	GGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG ATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGT ATGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:104)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMAWVRQAPGQGLEWMGIIRPSVGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVSMYAPEPMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:105)
	CDR1: GYTFTSY (SEQ ID NO:106; residuos de aminoácido 26-32 de SEQ ID NO:105)
	CDR2: RPSVGS (SEQ ID NO:107; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:105)
	CDR3: VSMYAPEPMDV (SEQ ID NO:108; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:105)
H	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAGCTACAATATGGCGTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAGGCCTAGTGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCAG GGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG ATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGT ATGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCAC TGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGCGGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTAC TTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCC GCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTG GGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGT GGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGG ACCTTCCGCTCTTCTGTTTCTCCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGT CACCTGTGTGGTGGTGACGTGACCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATG GAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGT GGTGTCCGTCCTGACAGTGTCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGA GCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGA ACCCACAGGTGTATACCCTGCCCCAAGCCGGGATGAAGTACCAAAAAACAGGTGACGCTGACAT GCCTGGTGAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA ACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCCTGTACAGCAAGCTC ACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTC CACAACCACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:109)
H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMAWVRQAPGQGLEWMGIIRPSVGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVSMYAPEPMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:110)
VL	SEQ ID NO:90
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQAFFSHPWTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:91)
	CDR1: RASQGISRWLA (SEQ ID NO:92; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:91)
	CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:93; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:91)
	CDR3: QQAFFSHPW (SEQ ID NO:94; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:91)
L	SEQ ID NO:95
L	SEQ ID NO:96
D02	
VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCTCGTACCGTATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATTTATCGTGCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCAGG GCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGA TCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGTA TGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:111)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYRMHWVRQAPGQGLEWMGFIVPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVSMYAPEPMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:112)
	CDR1: GYTFTSY (SEQ ID NO:113; residuos de aminoácido 26-32 de SEQ ID NO:112)
	CDR2: VPSGGS (SEQ ID NO:114; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:112)
	CDR3: VSMYAPEPMDV (SEQ ID NO:115; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:112)

H	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCTCGTACCGTATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATTTATCGTGCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGAGTACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGA TCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTATGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGTA TGGGGCCAGGGAACAACGTGCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTCACT GGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGGGAAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACT TCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCG CTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGG GCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGTG GAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGA CCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTC AATTGGTACGTGGATGG AGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTG GTGTCCGTCCTGACAGTGTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAG CAACAAGGCCCTGCCGTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGAA CCCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAAACAGGTCAGCCTGACATG CCTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAA ACAATTACAAAACACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCA CAGTGGACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCC ACAACCACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:116)
H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYRMHWVRQAPGQGLEWMGFIVPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARVSMYAPEPMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:117)
VL	SEQ ID NO:90
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLOS <sup>90</sup> GVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQA <sup>91</sup> F <sup>92</sup> SH <sup>93</sup> PWT <sup>94</sup> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:91)
	CDR1: RASQGISRWLA (SEQ ID NO:92; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:91)
	CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:93; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:91)
	CDR3: QQA <sup>94</sup> F <sup>95</sup> SH <sup>96</sup> PWT (SEQ ID NO:94; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:91)
L	SEQ ID NO:95
L	SEQ ID NO:96
D03	
VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCTCGTACCGTATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATTTATCGTGCCTAGTGGTGGTAGCACAGGCTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGAGTTACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGA TCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTAGGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGT ATGGGGCCAGGGAACAACGTGCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:118)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYRMHWVRQAPGQGLEWMGFIVPSGGSTGYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARV <sup>119</sup> SR <sup>120</sup> YAPEPMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:119)
	CDR1: GYTFTSY (SEQ ID NO:113; residuos de aminoácido 26-32 de SEQ ID NO:119)
	CDR2: VPSGGS (SEQ ID NO:120; residuos de aminoácido 52-57 de SEQ ID NO:119)
	CDR3: VSR <sup>121</sup> YAPEPMDV (SEQ ID NO:121; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:119)

H	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCTCGTACCGTATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATTTATCGTGCCTAGTGGTGGTAGCACAGGCTACGCACAGAAGTTCAGG GCAGAGTTACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGA TCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTAGGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGT ATGGGGCCAGGGAACAACGTGTACCCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCAC TGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTAC TTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCC GCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTG GGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAGGT GGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTGGGGGG ACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCCGAAGT CACCTGTGTGGTGGTGGACGTACGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATG GAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGT GGTGTCCGTCTGACAGTGTCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGA GCAACAAGGCCCTGCCGTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCACGGGA ACCCACAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAAACAGGTGACGCTGACAT GCCTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA AACAAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTC ACAGTGGAACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTC CACAACTTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCAGGAAAG (SEQ ID NO:122)
H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYRMHWVRQAPGQGLEWMGFIVPSGGSTGYAQKFQ RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARVSRYAPEPMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP SKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:123)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQAFFSHPWTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:91)
	CDR1: RASQGISRWLA (SEQ ID NO:92; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:91)
	CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:93; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:91)
	CDR3: QQAFFSHPW (SEQ ID NO:94; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:91)
L	SEQ ID NO:95
L	SEQ ID NO:96
D04	
VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCTCGTACCGTATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATTTATCGTGCCTAGTGGTGGTAGCACAGGCTACGCACAGAAGTTCAGGG CAGAGTTACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGAT CTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTAGGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGTA TGGGGCCAGGGAACAACGTGTACCCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:164)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYRMHWVRQAPGQGLEWMGFIVPSGGSTGYAQKFQ RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARVSRYAPEPMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:165)
	CDR1: SYRMH (SEQ ID NO:166; residuos de aminoácido 31-35 de SEQ ID NO:165)
	CDR2: FIVPSGGSTGYAQKFQ (SEQ ID NO:167; residuos de aminoácido 50-66 de SEQ ID NO:165)
	CDR3: VSRYAPEPMDV (SEQ ID NO:168; residuos de aminoácido 99-109 de SEQ ID NO:165)
H	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTG CAAGGCATCTGGATACACCTTCACCTCGTACCGTATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATTTATCGTGCCTAGTGGTGGTAGCACAGGCTACGCACAGAAGTTCAGGG

	CAGAGTTACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCTAGAGTATCTAGGTACGCCCCAGAGCCAATGGACGTA TGGGGCCAGGGAACAACTGTACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTG GCGCCCTGTCTCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC CCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTACAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGT GTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC ACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA GTCCAAATATGGTCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGACCATCAGTCTT CCTGTTCCCCCAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGT GGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCACAGCAGCAGTACCGTGTGGTACGCGTCTC ACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCT CCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACA CCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTACCCACAGCAGATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGAC CACGCCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAC ACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA (SEQ ID NO:169)
H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYRMHWVROAPGQGLEWMGFIVPSGGSTGYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCARVSRVYAPPEMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTIT CNVDHGPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKSK AKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:170)
VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGGTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGTCTCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTCTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTG TCAGCAGGCATTCTCCACCCCTTGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:171)
VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTITSLQPEDFATYYCQQAFFSHPWTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:172)
	CDR1: RASQGISRWLA (SEQ ID NO:173; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:172)
	CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:174; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:172)
	CDR3: QQAFFSHPW (SEQ ID NO:175; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:172)
L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGGTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCC TAAGTCTCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTCTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT CAGCAGGCATTCTCCACCCCTTGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTAAAGGG GCTCACAGTTAATTAATTGAGGTCTGGACATATACATGGGTGACAATGACATCCACTTTGCCTTTCT CTCCACAGGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT TAG (SEQ ID NO:176)
L	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTITSLQPEDFATYYCQQAFFSHPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC (SEQ ID NO:177)

Anticuerpos de unión a ActRIIA

G02	
VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGT ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTAGCTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGG AAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAG AGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACC GCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGGACTAGGAATGTACTACCACGTGCCATTCTGA CATATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:124)

VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGSYYWSWIRQHPGKLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGLGMYHYHVPFDI(WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:125)
	CDR1: GGSISSGSY (SEQ ID NO:126; residuos de aminoácido 26-34 de SEQ ID NO:125)
	CDR2: YYSGS (SEQ ID NO:127; residuos de aminoácido 54-58 de SEQ ID NO:125)
	CDR3: GLGMYHYHVPFDI (SEQ ID NO:128; residuos de aminoácido 100-111 de SEQ ID NO:12)
H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGT ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTAGCTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGG AAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAG AGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACC GCCGACAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGGACTAGGAATGTACTACCACGTGCCATTGCA CATATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCT ACTGGCACCTAGCAGCAAAATCCACCAGCGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATT ACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCTGTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCC TGGGCACACAGACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTGGACAAAAAG GTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCGTCTCTGAGCTGCTGGGG GGACCTTCCGTCTTTCTGTTCCTCCAAAACCAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCGAA GTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGAT GGAGTGGAAAGTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGG TGGTGTCCGTCTGACAGTGTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTATAAGTGCAAGGTGA GCAACAAGGCCCTGCCTGCACCAATTGAGAAAAACAATTAGCAAGGCAAAAGGGGACGCCACGGGA ACCCAGGTGTATACCTGCCCCAAGCCGGGATGAAGTACCAAAAAACAGGTGAGCTGACAT CCTTGGTGGAAAGGGTTTACCCAAGCGATATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA AACCAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTC ACAGTGGACAAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTC CACAACTACTATACAAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAG (SEQ ID NO:129)
H	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGSYYWSWIRQHPGKLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGLGMYHYHVPFDI(WGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:130)
VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT GCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGG TCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTC AGCAGTACTTCCACTGGCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:131)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVYYCQQYFHWPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:132)
	CDR1: RASQSVSSILA (SEQ ID NO:133; residuos de aminoácido 24-34 de SEQ ID NO:132)
	CDR2: DASNRAT (SEQ ID NO:134; residuos de aminoácido 50-56 de SEQ ID NO:132)
	CDR3: QQYFHWPPPT (SEQ ID NO:135; residuos de aminoácido 89-97 de SEQ ID NO:132)
L	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCC TGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTG GGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACT GTCAGCAGTACTTCCACTGGCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTACG GTGGCTGCACCTTCCGTCTTTATCTTTCCACCTTCCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGAACAGCAAG CGTGGTGTGTCTGCTGAACAACCTTTATCCCCGGGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGACAATG CTCTCCAGTCCGGCAATTCCCAAGAGAGCGTGACAGAGCAAGATTCCAAGGACTCCACTTACAGC CTGTCCAGCACCTCAGCTGAGCAAGGCTGATTACGAGAAACACAAAGTGTACGCTTGTGAAGT CACCCACCAAGGCTGAGCAGCCAGTCACTAAGTCCTTTAACCAGGGGCGAATGT (SEQ ID NO:136)
L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISLEPEDFAVYYCQQYFHWPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO:137)

Se usaron SPR (análisis basado en BIACORE™) y ensayo de gen indicador basado en células para caracterizar más

completamente la unión de las proteínas de unión a ActRII descritas en la tabla 1.

#### Anticuerpos de linaje A01

Se realizó la caracterización cinética de la unión del linaje de anticuerpos A01 (A01 (original sin modificar), B01, C01, D01, E01 y F01) a hActRIIB y hActRIIA monomérico y dimérico usando análisis basado en BIACORE® convencional a 37 °C. Brevemente, se capturaron los anticuerpos en chips de Biacore anti-hFcIgG y se inyectaron diferentes concentraciones de ActRIIB o ActRIIA dimérico y monomérico por duplicado a lo largo de la superficie de control y de anticuerpo capturado. Para obtener las constantes cinéticas de velocidad, los datos se referenciaron doblemente y se ajustaron a un modelo de interacción 1:1 usando el software Biaevaluation (GE Healthcare). Se determine la constante de unión en equilibrio  $K_D$  por la razón de constantes de velocidad de unión  $k_d/k_a$ .

Los resultados del análisis de parámetros de unión de los anticuerpos de linaje A01 A01-F01 se presentan en la tabla 2 y las figuras 1A-1N.

Tabla 2: Unión mejorada del linaje A01 a ActRIIB

AcM	MONÓMERO de ActRIIB			DÍMERO de ActRIIB			MONÓMERO de ActRIIA			DÍMERO de ActRIIA		
	$k_a$ (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)
A01 original	$1,72 \times 10^5$	$1,98 \times 10^{-1}$	1150000	$1,06 \times 10^5$	$1,28 \times 10^{-4}$	1207	Sin unión			Sin unión		
B01	$1,09 \times 10^5$	$3,40 \times 10^{-3}$	3637	$6,26 \times 10^5$	$2,46 \times 10^{-4}$	393	Sin unión			Sin unión		
C01	$1,37 \times 10^5$	$7,12 \times 10^{-3}$	5218	$7,97 \times 10^5$	$1,88 \times 10^{-4}$	236	Sin unión			Sin unión		
D01	$1,61 \times 10^5$	$3,54 \times 10^{-3}$	2191	$8,28 \times 10^5$	$2,50 \times 10^{-4}$	302	Sin unión			Sin unión		
E01	$1,70 \times 10^5$	$4,15 \times 10^{-3}$	2446	$7,77 \times 10^5$	$2,92 \times 10^{-4}$	376	Sin unión			Sin unión		
F01	$1,34 \times 10^5$	$4,44 \times 10^{-3}$	3323	$6,01 \times 10^5$	$2,16 \times 10^{-4}$	360	Sin unión			Sin unión		

Los anticuerpos de linaje A01 optimizados B01, C01, D01, E01 y F01 mostraron, cada uno, parámetros cinéticos de constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) mejorados para la unión del monómero y dímero de ActRIIB con respecto al anticuerpo A01 original.

La capacidad neutralizante de ActRIIB de los anticuerpos de linaje A01 A01, B01, C01, D01, E01 y F01 se evaluó en un ensayo de señalización de activina A basado en células en células F2.35 (con inactivación de IIA) obtenidas mediante modificación de CRISPE-Cas9 de células 293FT. Las células se transfectaron conjuntamente con plásmido indicador de luciferasa experimental que contenía elemento de respuesta de Smad2/3 pGL3(CAGA)12 y plásmido indicador de luciferasa de control pRL-CMV. Al día siguiente, se prepararon diluciones en serie del AcM y se añadieron a las células transfectadas y se incubaron durante 30 minutos, tras lo cual se añadieron factores activantes tales como activina A (concentración final de 5 ng/ml) durante una incubación de 6 horas adicionales. Se lavaron las células 1x en PBS, se sometieron a lisis y se sometieron a ensayo usando el sistema de ensayo de indicador de luciferasa dual (Promega) según las instrucciones del fabricante. Se midió la quimioluminiscencia usando el lector de placas Infinite M200. Se normalizó la actividad luciferasa del indicador experimental mediante la actividad luciferasa obtenida a partir del indicador de control. Para evaluar la actividad neutralizante de anticuerpos anti-ActRIIA, se transfectaron células A204 con los mismos genes indicadores. A204 expresa ActRIIA y un nivel bajo de ActRIIB endógena. Las células transfectadas se sometieron a ensayo tal como antes.

Los anticuerpos de linaje A01 optimizados B01, C01, D01, E01 y F01 mostraron, cada uno, una inhibición de señales mediada por ActRIIB aumentada en comparación con el anticuerpo A01 original. Véase la figura 2.

#### Anticuerpos de linaje G01

Se realizó la caracterización cinética de los anticuerpos G01 (original sin modificar) y H01 optimizado con respecto a hActRIIB y hActRIIA monomérico y dimérico usando análisis basado en BIACORE® convencional a 37 °C

Los resultados del análisis de parámetros de unión de los anticuerpos G01 y H01 se presentan en la tabla 3 y las figuras 3A-3F.

Tabla 3: Unión mejorada del linaje G02 a ActRIIB

AcM	MONÓMERO de ActRIIB			DÍMERO de ActRIIB			MONÓMERO de ActRIIA			DÍMERO de ActRIIA		
	$k_a$ (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)
G01 original	$9,05 \times 10^5$	$1,52 \times 10^{-2}$	16790	$1,76 \times 10^5$	$2,20 \times 10^{-4}$	1139	Sin unión			Sin unión		
H01	$1,95 \times 10^5$	$2,30 \times 10^{-2}$	11790	$3,58 \times 10^5$	$1,27 \times 10^{-4}$	353	Sin unión			Sin unión		

- 5 El anticuerpo H02 optimizado mostró parámetros cinéticos de constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) mejorados para la unión del monómero y dímero de ActRIIB con respecto al anticuerpo G01 original.

10 La capacidad neutralizante de ActRIIB de los anticuerpos G01 original y H01 optimizado se evaluó en un ensayo de señalización de activina A basado en células en células F2.35 (con inactivación de IIA). El anticuerpo H01 optimizado mostró una inhibición de señales mediada por ActRIIB aumentada en comparación con el anticuerpo G01 original. Véase la figura 4.

Anticuerpos de linaje A02

- 15 Se realizó la caracterización cinética de la unión del linaje de anticuerpos A02 (A01 (original sin modificar), B02, C02, D02 y D03) a hActRIIB y hActRIIA monomérico y dimérico usando análisis basado en BIACORE® convencional a 37 °C.

20 Los resultados del análisis de parámetros de unión de los anticuerpos de linaje A02 A02-D02 se presentan en la tabla 4 y las figuras 5A-5T.

Tabla 4: Unión mejorada del linaje A02 a ActRIIB y ActRIIA

AcM	MONÓMERO de ActRIIB			DÍMERO de ActRIIB			MONÓMERO de ActRIIA			DÍMERO de ActRIIA		
	$k_a$ (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)
A02 original	$3,02 \times 10^6$	$6,62 \times 10^{-2}$	21960	$2,19 \times 10^5$	$1,12 \times 10^{-4}$	511	Sin unión			$3,53 \times 10^5$	$6,27 \times 10^{-4}$	1777
B02	$9,05 \times 10^5$	$1,00 \times 10^{-3}$	1105	$3,23 \times 10^5$	$2,10 \times 10^{-4}$	649	$7,29 \times 10^5$	$5,93 \times 10^{-3}$	8134	$4,95 \times 10^5$	$1,67 \times 10^{-4}$	338
C02	$9,75 \times 10^5$	$5,15 \times 10^{-4}$	528	$2,89 \times 10^5$	$9,64 \times 10^{-5}$	333	$6,30 \times 10^5$	$1,66 \times 10^{-3}$	26370	$5,24 \times 10^5$	$8,02 \times 10^{-5}$	153
D02	$4,47 \times 10^5$	$2,91 \times 10^{-4}$	650	$1,70 \times 10^5$	$1,23 \times 10^{-4}$	727	$3,69 \times 10^5$	$6,84 \times 10^{-3}$	18560	$3,36 \times 10^5$	$1,06 \times 10^{-4}$	316
D03	$1,05 \times 10^6$	$2,03 \times 10^{-4}$	194	$4,59 \times 10^5$	$1,04 \times 10^{-5}$	22,6	$8,09 \times 10^5$	$2,93 \times 10^{-3}$	3635	$4,71 \times 10^5$	$9,39 \times 10^{-5}$	199

25 Los anticuerpos de linaje A02 optimizados B02, C02, D02 y D03 mostraron, cada uno, constantes de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) mejoradas para la unión de monómeros de ActRIIB y ActRIIA y dímeros de ActRIIA con respecto al anticuerpo A02 original.

30 La capacidad neutralizante de ActRIIB de los anticuerpos A02, B02, C02, D02 y D03 se evaluó en un ensayo de señalización de activina A basado en células en células F2.35 (con inactivación de IIA). Cada uno de los anticuerpos optimizados B02, C02, D02 y D03 mostró una inhibición de señales mediada por ActRIIB aumentada en comparación con el anticuerpo A02. Véanse las figuras 6A-6B.

35 Anticuerpos de linaje E02

Se realizó la caracterización cinética de los anticuerpos E02 (original sin modificar) y F02 optimizado con respecto a hActRIIB y hActRIIA monomérico y dimérico usando análisis basado en BIACORE® convencional a 37 °C

40 Los resultados del análisis de parámetros de unión de los anticuerpos E02 y F02 se presentan en la tabla 5 y las figuras 7A-7F.

Tabla 5: Unión mejorada del linaje E02 a ActRIIB

AcM	MONÓMERO de ActRIIB			DÍMERO de ActRIIB			MONÓMERO de ActRIIA			DÍMERO de ActRIIA		
	$k_a$ (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)
E02	$1,02 \times 10^5$	$6,92 \times 10^{-4}$	6798	$3,81 \times 10^4$	$7,60 \times 10^{-5}$	1995	Sin unión			Sin unión		
F02	$1,19 \times 10^5$	$3,13 \times 10^{-4}$	2632	$4,69 \times 10^4$	$3,46 \times 10^{-5}$	738	Sin unión			Sin unión		

- 5 El anticuerpo optimizado F02 mostró parámetros cinéticos de constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) mejorados para la unión del monómero y dímero de ActRIIB con respecto al anticuerpo E02 original.

10 La capacidad neutralizante de ActRIIB de los anticuerpos E02 y F02 se evaluó en un ensayo de señalización de activina A basado en células en células F2.35 (con inactivación de IIA). La figura 9 representa la actividad neutralizante de los anticuerpos E02 original y F02 variante en el ensayo. Tal como se demuestra, el anticuerpo F02 mostró una inhibición de señales aumentada en comparación con E02.

#### Anticuerpo G02

- 15 Se realizó la caracterización cinética de la unión del anticuerpo G02 a hActRIIB y hActRIIA monomérico y dimérico usando análisis basado en BIACORE® convencional a 37 °C. Las figuras 8A-8D muestran la caracterización cinética de la unión del anticuerpo G02 a hActRIIB y hActRIIA monomérico y dimérico (figuras 8A-8D, respectivamente) tal como se determina mediante análisis basado en BIACORE® a 37 °C. Los resultados del análisis de parámetros de unión del anticuerpo G02 se presentan en la tabla 6.

20

Tabla 6: Unión del anticuerpo G02 a ActRIIA

AcM	MONÓMERO de ActRIIB			DÍMERO de ActRIIB			MONÓMERO de ActRIIA			DÍMERO de ActRIIA		
	$k_a$ (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)
G02	Sin unión			Sin unión			$1,14 \times 10^6$	$6,61 \times 10^{-2}$	58020	$1,86 \times 10^5$	$2,75 \times 10^{-4}$	1480

#### 25 Ejemplo 3. Ensayo de gen indicador en células A204

Puede usarse un ensayo de gen indicador en células A204 para determinar la capacidad de las proteínas de unión a ActRII tales como anticuerpos recombinantes y Fab anti-ActRII para neutralizar ActRII (por ejemplo, ActRIIB). Este ensayo puede basarse en una línea celular de rhabdomyosarcoma humano transfectada con un plásmido indicador pGL3(CAGA)12 (Dennler *et al.*, EMBO 17:3091-3100 (1998)), así como un plásmido indicador ReniUa (pRLCMV), para controlar la eficiencia de transfección. El motivo CAGA12 está presente en genes sensibles a TGF-beta (gen PAI-1), por lo que este vector es de uso general para la señalización de factores a través de Smad2 y Smad3. Puesto que la línea celular A204 expresa principalmente ActRIIA más que ActRIIB, no es posible someter a prueba directamente anticuerpos para determinar la posible capacidad neutralizante de ActRIIB. En su lugar, este ensayo puede estar diseñado para detectar la capacidad de artículos de prueba para neutralizar el efecto inhibitorio de la proteína de fusión soluble ActRIIB-Fc tras la activación de ActRIIA endógena por ligandos (tales como activina A, GDF11 o miostatina) que pueden unirse con alta afinidad tanto a ActRIIB como a ActRIIA.

40 Por tanto, en este ensayo, se producirá activación de ActRIIA mediada por ligandos a pesar de la presencia de ActRIIB-Fc si el anticuerpo o Fab anti-ActRIIB es neutralizante. El primer día del ensayo, se distribuyen células A204 (ATCC HTB-82) en placas de 48 pocillos a  $10^5$  células por pocillo. El segundo día, se incuban previamente una disolución que contiene 10 µg de pGL3(CAGA)12, 1 µg de pRLCMV, 30 µl de Eugene 6 (Roche Diagnostics) y 970 µl de OptiMEM (Invitrogen) durante 30 min, luego se añade a medio de crecimiento de McCoy, que se aplica a las células sembradas (500 µl/pocillo) para su incubación durante la noche a temperatura ambiente. El tercer día, se retira el medio, y se incuban las células durante 6 h a 37 °C con una mezcla de ligandos e inhibidores preparada tal como se describe a continuación.

50 Para evaluar la potencia de neutralización de proteínas de unión a ActRII de prueba, se prepara una dilución en serie del artículo de prueba en una placa de 48 pocillos en un volumen de 200 µl de tampón de ensayo (medio de McCoy + BSA al 0,1 %). Luego se añade un mismo volumen de ActRIIB-Fc (200 µg/ml) en tampón de ensayo. Se incuban las disoluciones de prueba a 37 °C durante 30 minutos, luego se añaden 400 µl de GDF11 (10 ng/ml) o activina A (10 ng/ml) a todos los pocillos, y se añaden 350 µl de esta mezcla a cada pocillo de la placa de 48 pocillos de células A204. Se somete a prueba por duplicado cada concentración de proteína de unión a ActRII de prueba. La

concentración final de ActRIIB-Fc es de 50 ng/ml (que es la  $Cl_{50}$  para este inhibidor de la señalización de activina A cuando la concentración final de activina A es de 5 ng/ml). Después de la incubación con disoluciones de prueba durante 6 h, se enjuagan las células con solución salina tamponada con fosfato que contiene BSA al 0,1 %, luego se someten a lisis con tampón de lisis pasiva (Promega E1941) y se almacenan durante la noche a -70 °C. El cuarto y último día, se calientan las placas hasta temperatura ambiente con agitación suave. Se transfieren los lisados celulares por duplicado a una placa de quimioluminiscencia (de 96 pocillos) y se analizan en un luminómetro con reactivos de un sistema de ensayo de indicador de luciferasa dual (Promega E1980) para determinar la actividad luciferasa normalizada. Las diferencias en la actividad luciferasa entre el artículo de prueba y un control en el que está ausente el artículo de prueba reflejan las diferencias en la señalización celular resultantes de la presencia del artículo de prueba.

#### Ejemplo 4. Mapeo de epítomos con precisión

Se realizó el mapeo de los epítomos de ECD de ActRIIB y ActRIIA reconocidos por los anticuerpos mediante Pepscan Presto BV usando bibliotecas de péptidos personalizadas. Se convirtieron las secuencias de ECD de ActRIIB y ActRIIA humanas en bibliotecas de 15-meros lineales solapantes y CLIPS de 15-meros circularizados usando diseño de matriz combinatoria. La tecnología CLIPS (unión química de péptidos en armazones) fija estructuralmente los péptidos en estructuras tridimensionales definidas (bucles individuales, dobles, triples, etc.) creando miméticos funcionales de sitios de unión complejos. Los péptidos se sintetizaron sobre un soporte sólido. La unión de los anticuerpos a cada uno de los péptidos sintetizados se sometió a prueba mediante ELISA y se cuantificaron las afinidades de unión. Los constructos peptídicos que representan ambas partes del epítopo discontinuo en la conformación correcta se unen a un anticuerpo específico con la afinidad más alta. Los constructos peptídicos que representan un epítopo incompleto se unen a un anticuerpo específico con una afinidad más baja, mientras que los constructos que no contienen un epítopo correcto no se unen en absoluto. A cada péptido se le dio una puntuación basándose en la afinidad.

Se determinó que el anticuerpo D04 se unía a través de tres tramos de secuencia en ActRIIA, mapeándose los epítomos de unión a los residuos de aminoácido 9 a 20 (ECLFFNANWEKD (SEQ ID NO:162)), los residuos de aminoácido 58 a 69 (CWLDDINCYDRT (SEQ ID NO:163)) y los residuos de aminoácido 84 a 93 (CCEGNMCNEK (SEQ ID NO:161)) de SEQ ID NO:138.

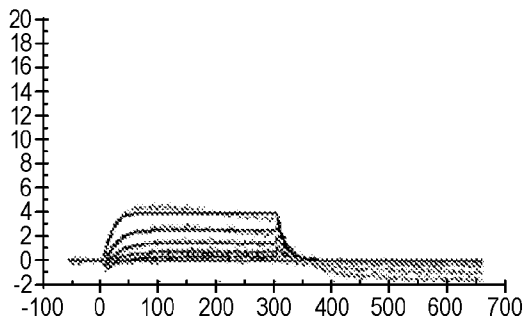
También se determinó que el anticuerpo D04 se unía a través de tres tramos de secuencia en ActRIIB, mapeándose los epítomos de unión a los aminoácidos 9 a 17 (NANWELERT (SEQ ID NO:157)), los aminoácidos 52 a 63 (GCWLDDFNCYDR (SEQ ID NO:160)) y un sitio de unión de los aminoácidos 79 a 88 (CCEGNFCNER (SEQ ID NO:59)) de SEQ ID NO:138.

Se determinó que el anticuerpo I01 se unía a través de dos tramos de sitios en ActRIIB, mapeándose los epítomos de unión a los aminoácidos 9 a 17 (NANWELERT (SEQ ID NO:157)) y los aminoácidos 49 a 63 (VKKGCWLDD (SEQ ID NO:158)) de SEQ ID NO:139.

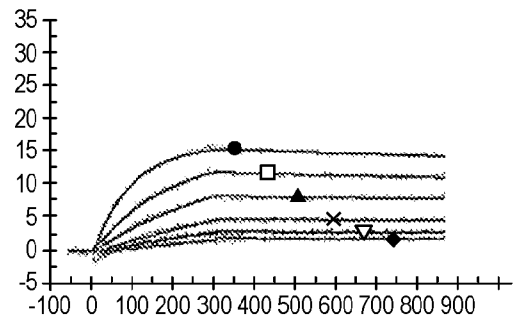
## REIVINDICACIONES

1. Proteína de unión a ActRII  
 5 que comprende:  
 (i) una VH que tiene la secuencia de SEQ ID NO:165, y  
 (ii) una VL que tiene la secuencia de SEQ ID NO:172,  
 10 en la que la proteína de unión a ActRII es un anticuerpo que se une específicamente a ActRIIA y ActRIIB.
2. Proteína de unión a ActRII según la reivindicación 1, en la que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal,  
 15 un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico,  
 un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo multispecífico, o un fragmento de anticuerpo de unión a ActRII.
3. Proteína de unión a ActRII según la reivindicación 2, en la que el fragmento de anticuerpo de unión a ActRII  
 20 se selecciona del grupo que consiste en un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un  
 fragmento Fv, un diacuerpo, y una molécula de anticuerpo de cadena sencilla.
4. Proteína de unión a ActRII según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el anticuerpo  
 comprende además un dominio constante de inmunoglobulina de cadena pesada seleccionado del grupo  
 25 que consiste en:  
 (a) un dominio constante de IgA humana;  
 (b) un dominio constante de IgD humana;  
 (c) un dominio constante de IgE humana;  
 30 (d) un dominio constante de IgG1 humana;  
 (e) un dominio constante de IgG2 humana;  
 (f) un dominio constante de IgG3 humana;  
 35 (g) un dominio constante de IgG4 humana; y  
 (h) un dominio constante de IgM humana.
5. Proteína de unión a ActRII según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el anticuerpo  
 comprende además un dominio constante de inmunoglobulina de cadena ligera seleccionado del grupo que  
 40 consiste en:  
 (a) un dominio constante de Ig kappa humana; y  
 45 (b) un dominio constante de Ig lambda humana.
6. Proteína de unión a ActRII según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el anticuerpo  
 50 comprende además un dominio constante de cadena pesada de IgG1 humana y un dominio constante de  
 cadena ligera lambda humana.
7. Molécula de ácido nucleico o conjunto de moléculas de ácido nucleico que codifica para una proteína de  
 55 unión a ActRII según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.
8. Vector que comprende la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 7.
9. Célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 7, o el vector según la  
 60 reivindicación 8.
10. Método de preparación de la proteína de unión a ActRII según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5,  
 que comprende cultivar una célula huésped según la reivindicación 9 en condiciones adecuadas para  
 producir la proteína de unión a ActRII.
- 65 11. Composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a ActRII según una cualquiera de las  
 reivindicaciones 1-6 y un portador farmacéuticamente aceptable.

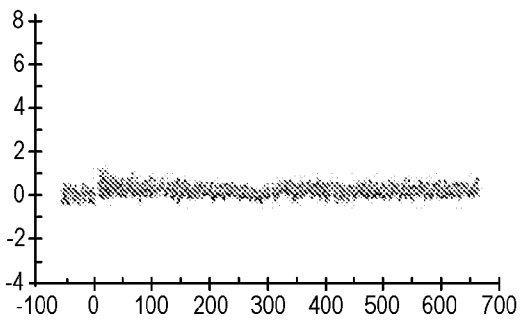
12. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, para su uso como medicamento.
- 5 13. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, para su uso en un método de tratamiento y/o mejora de una enfermedad o afección, en la que la enfermedad o afección es un miembro seleccionado del grupo que consiste en: una enfermedad muscular degenerativa, distrofia muscular, atrofia muscular, deterioro  
10 muscular, una afección fibrótica (una afección fibrótica hepática, pulmonar, vascular u ocular), fibrosis miocárdica, fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad metabólica, diabetes de tipo II, obesidad, enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad ocular, degeneración macular asociada a la edad, enfermedad cardiovascular, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión, enfermedad pulmonar, enfermedad musculoesquelética, enfermedad esquelética, osteoporosis, enfermedad neuromuscular, enfermedad degenerativa, cicatrización, y cáncer.
- 15 14. Proteína de unión a ActRII según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en un método de reducción de la actividad de ActRII en un sujeto que tiene un trastorno muscular, una afección metabólica, afección fibrótica del pulmón o el hígado, o cáncer.



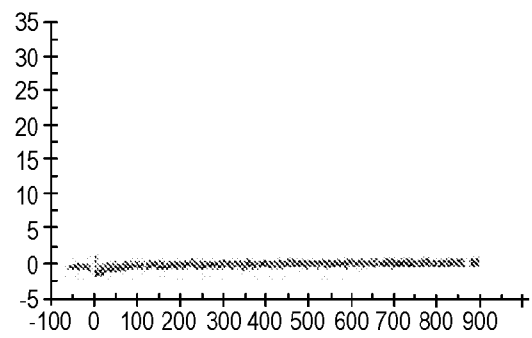
**FIG. 1A**



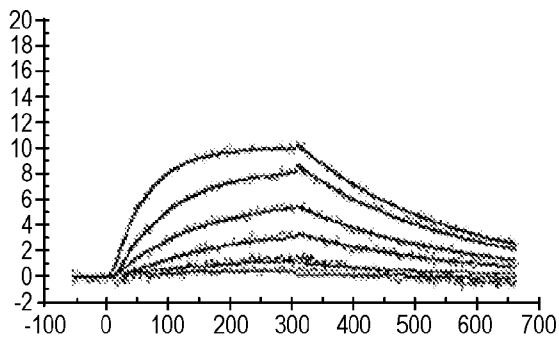
**FIG. 1B**



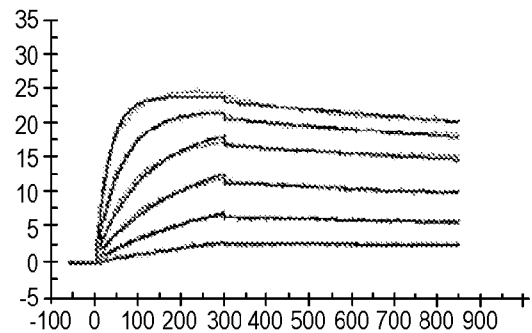
**FIG. 1C**



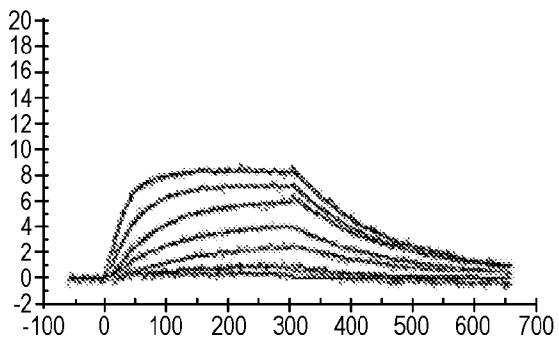
**FIG. 1D**



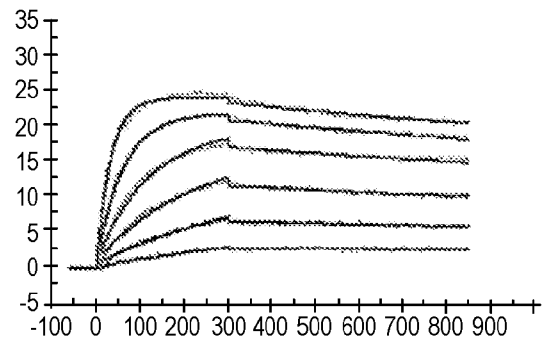
**FIG. 1E**



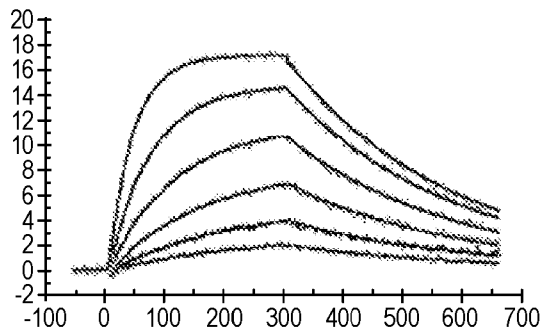
**FIG. 1F**



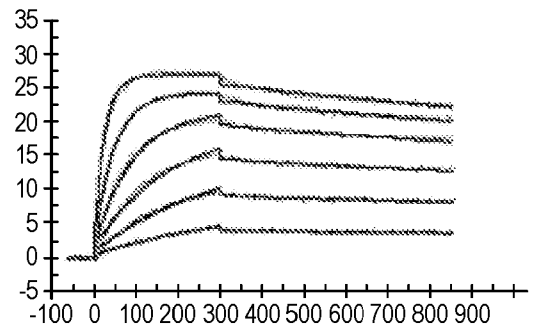
**FIG. 1G**



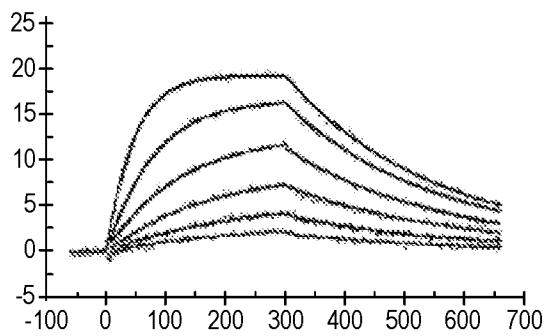
**FIG. 1H**



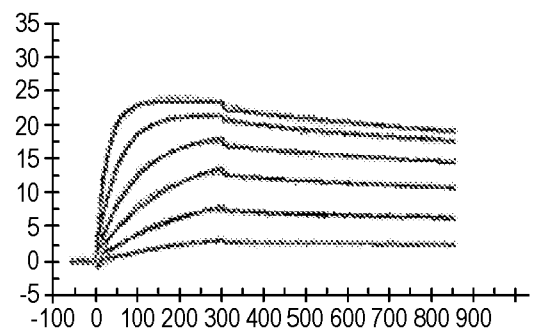
**FIG. 1I**



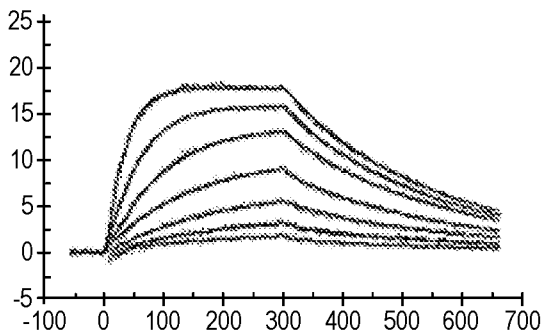
**FIG. 1J**



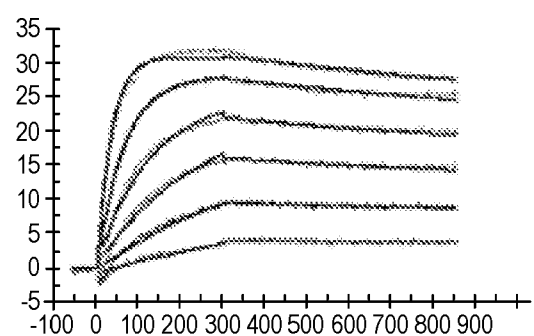
**FIG. 1K**



**FIG. 1L**



**FIG. 1M**



**FIG. 1N**

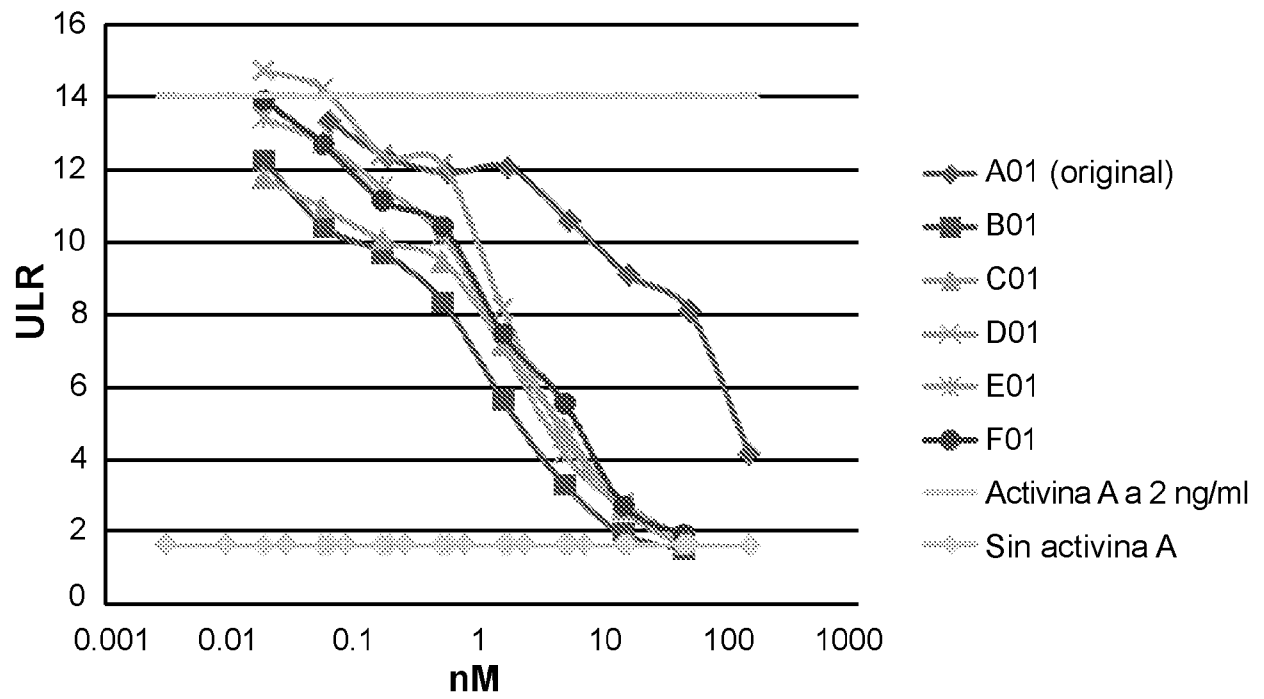
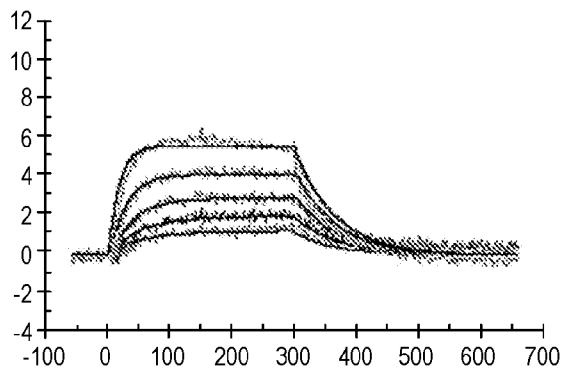
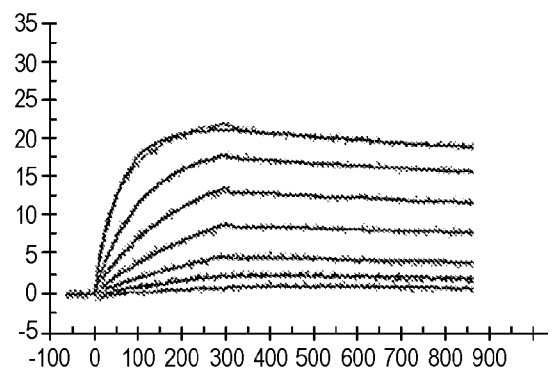


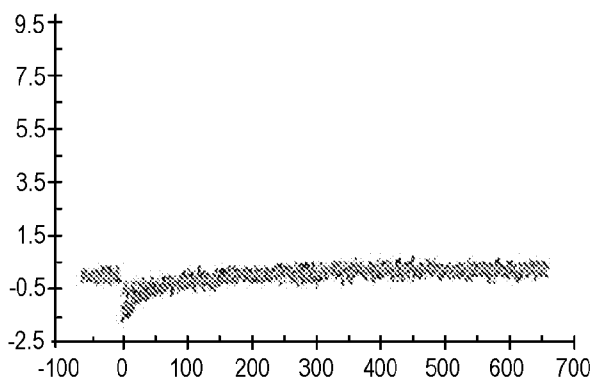
FIG. 2



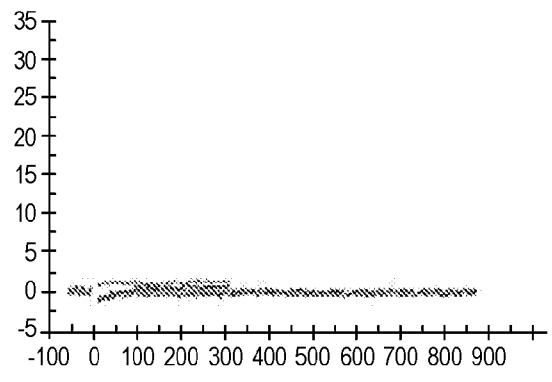
**FIG. 3A**



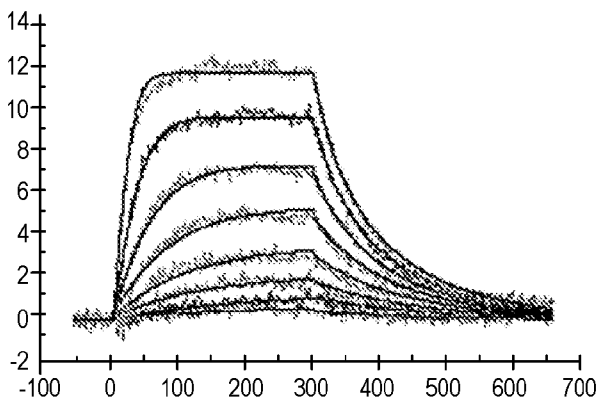
**FIG. 3B**



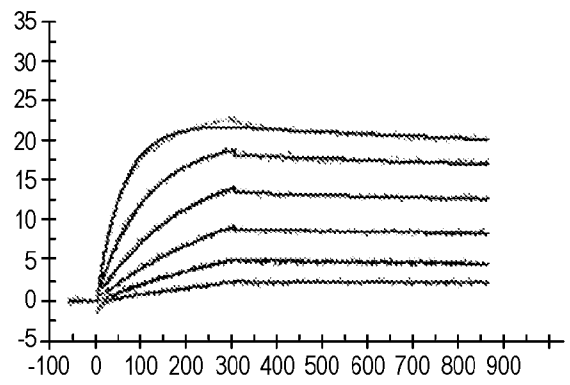
**FIG. 3C**



**FIG. 3D**



**FIG. 3E**



**FIG. 3F**

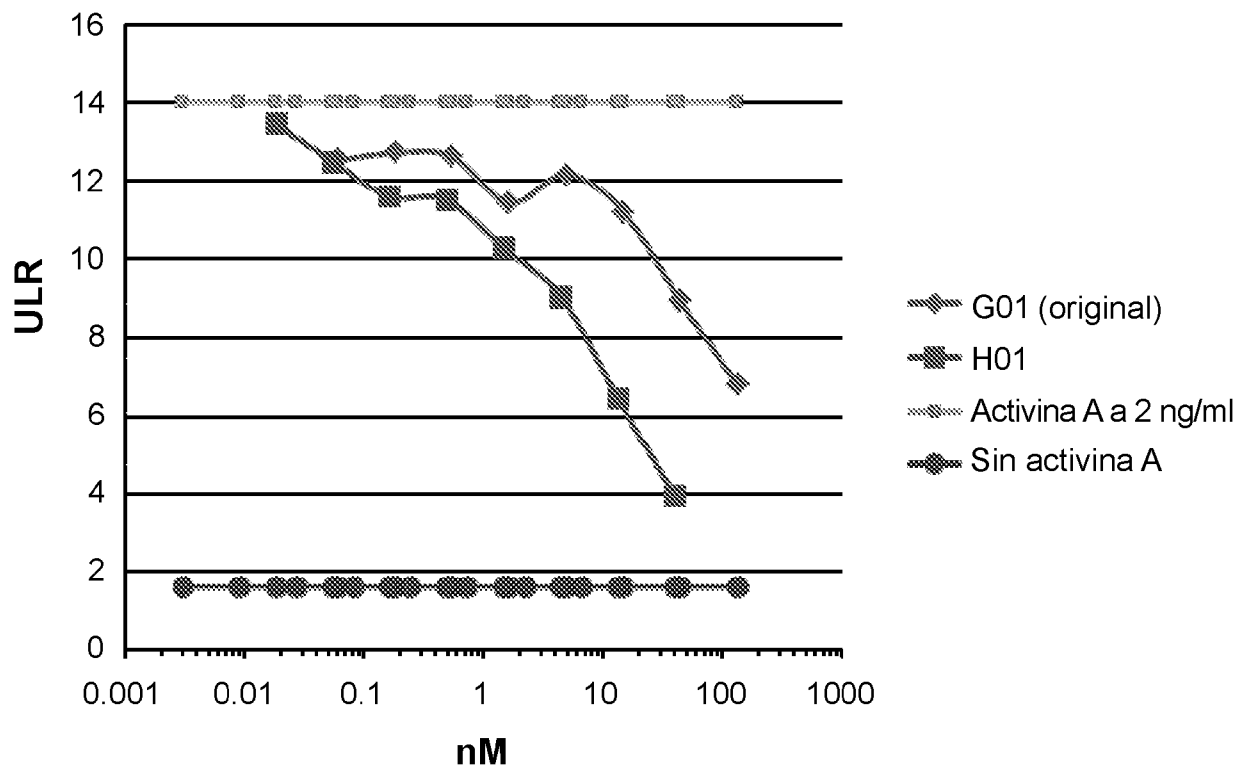
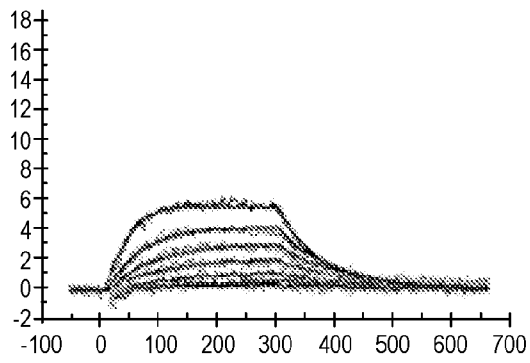
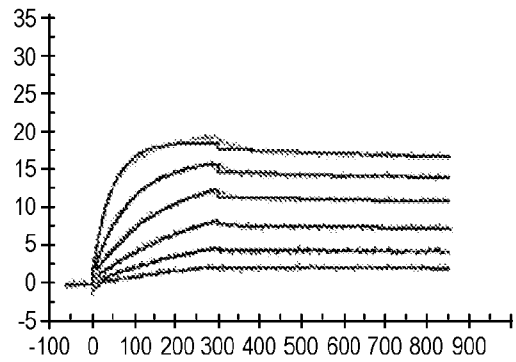


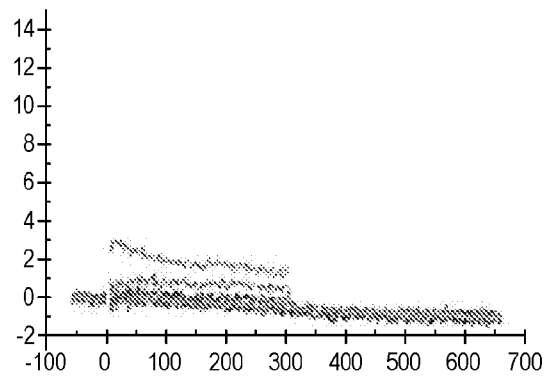
FIG. 4



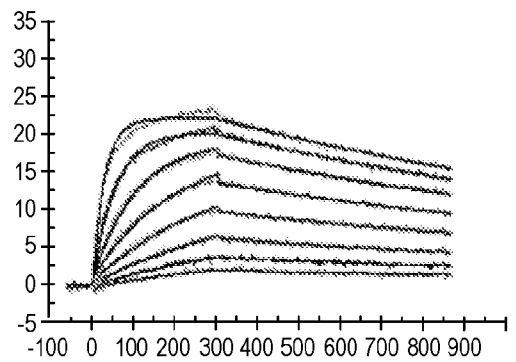
**FIG. 5A**



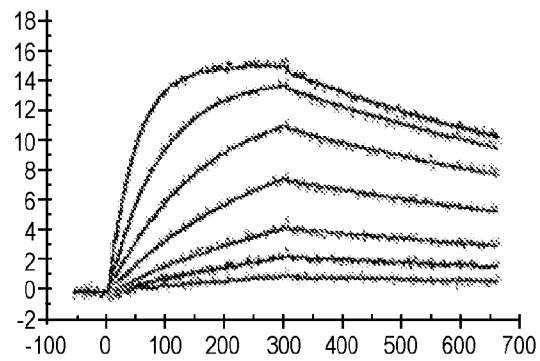
**FIG. 5B**



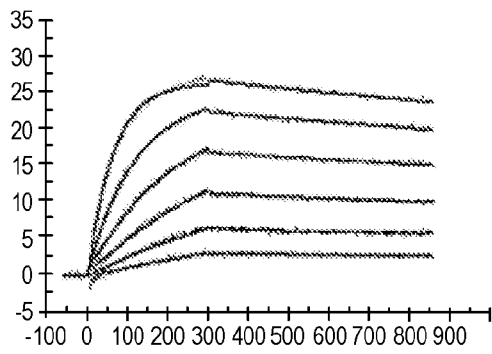
**FIG. 5C**



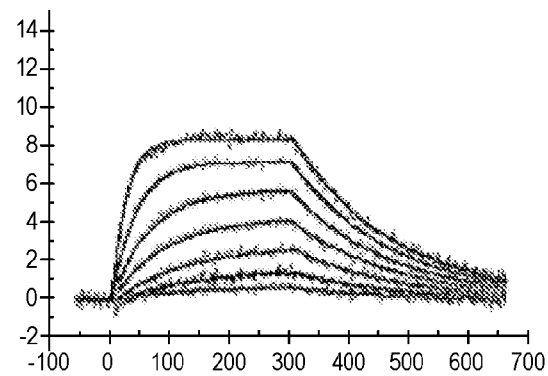
**FIG. 5D**



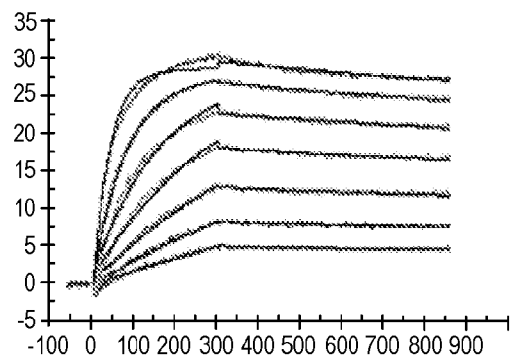
**FIG. 5E**



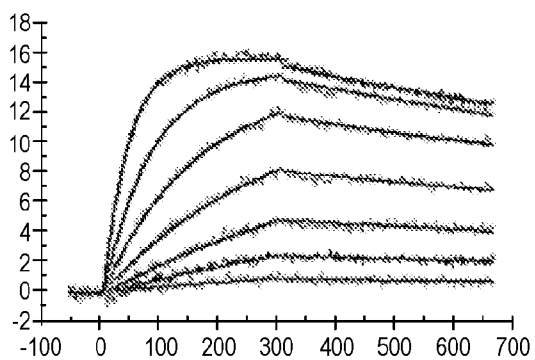
**FIG. 5F**



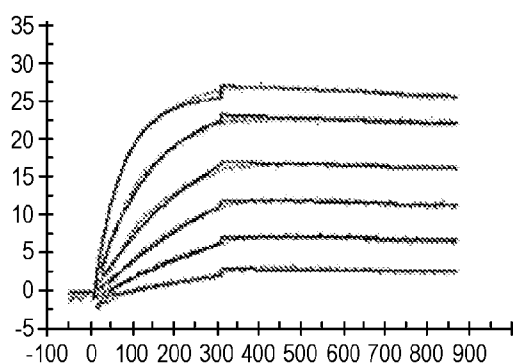
**FIG. 5G**



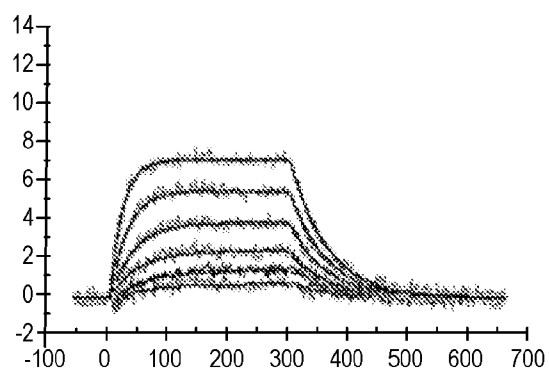
**FIG. 5H**



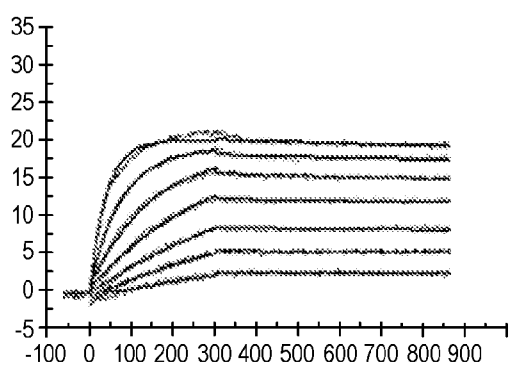
**FIG. 5I**



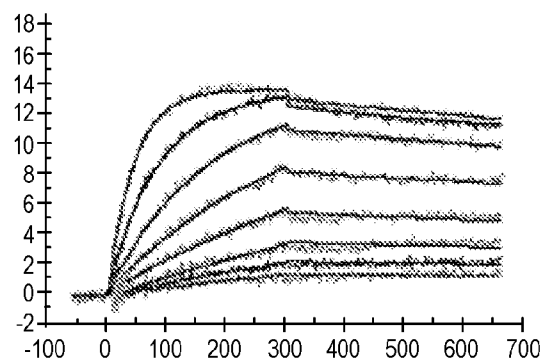
**FIG. 5J**



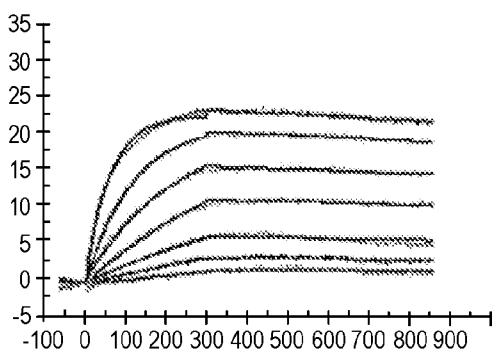
**FIG. 5K**



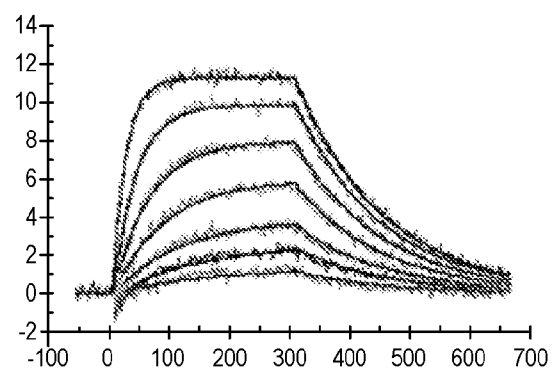
**FIG. 5L**



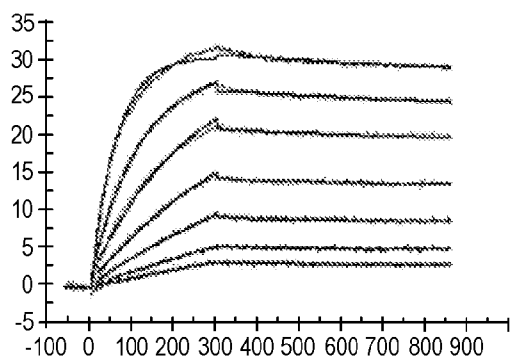
**FIG. 5M**



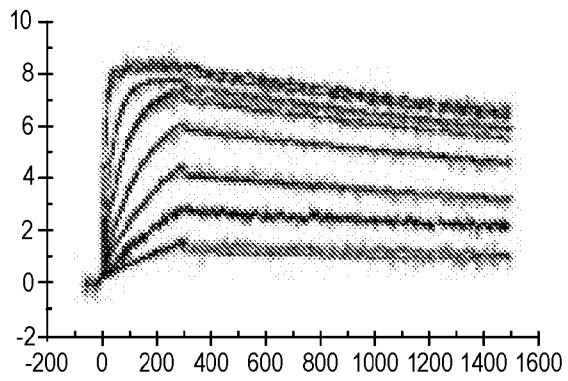
**FIG. 5N**



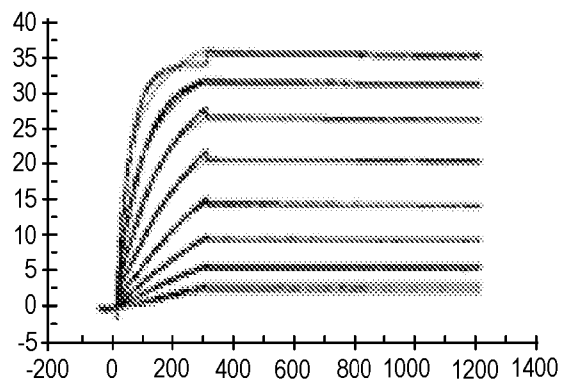
**FIG. 5O**



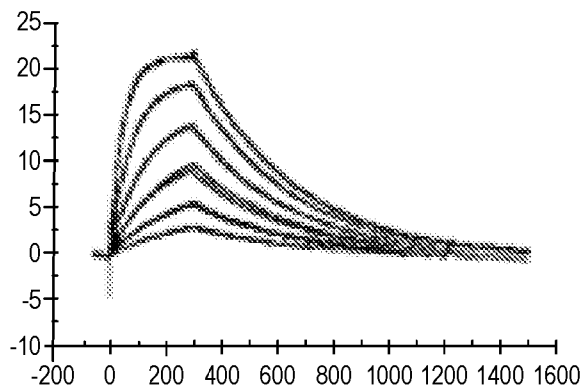
**FIG. 5P**



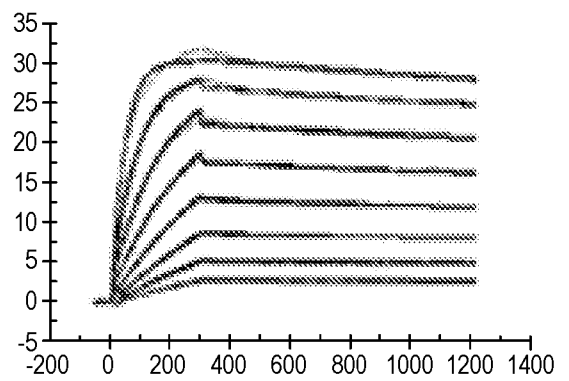
**FIG. 5Q**



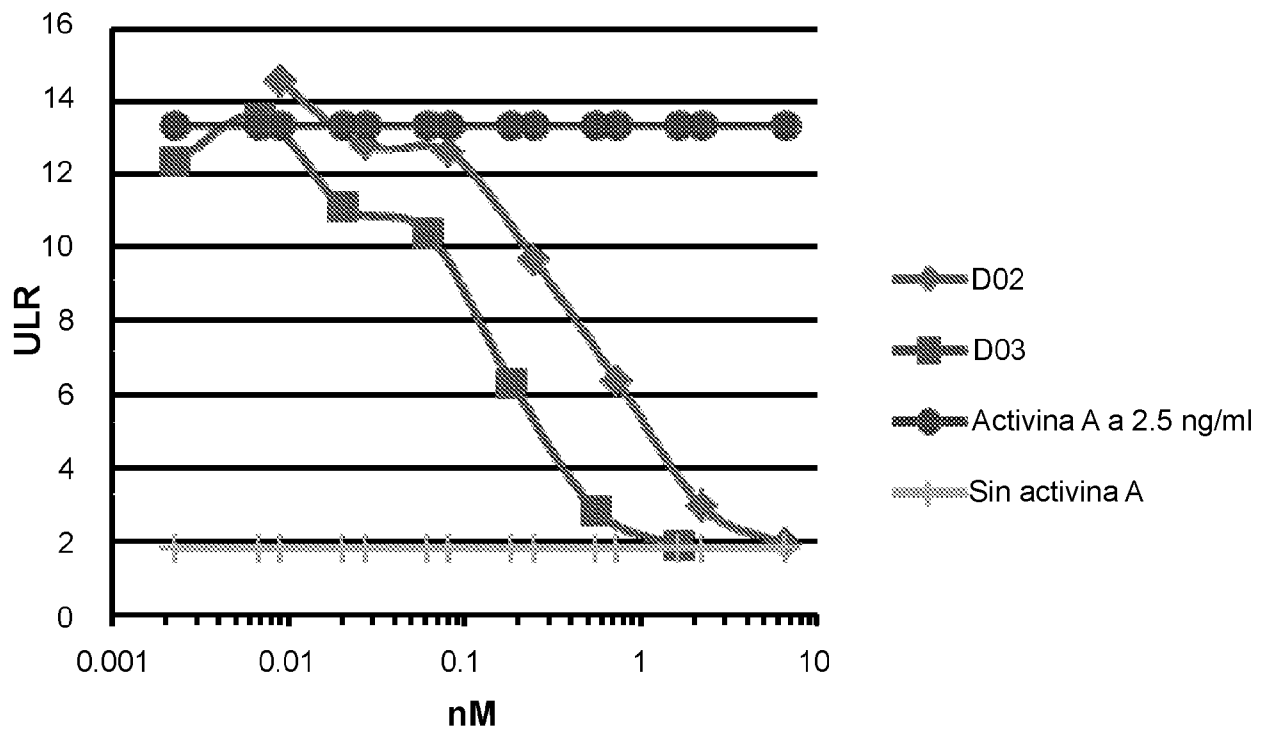
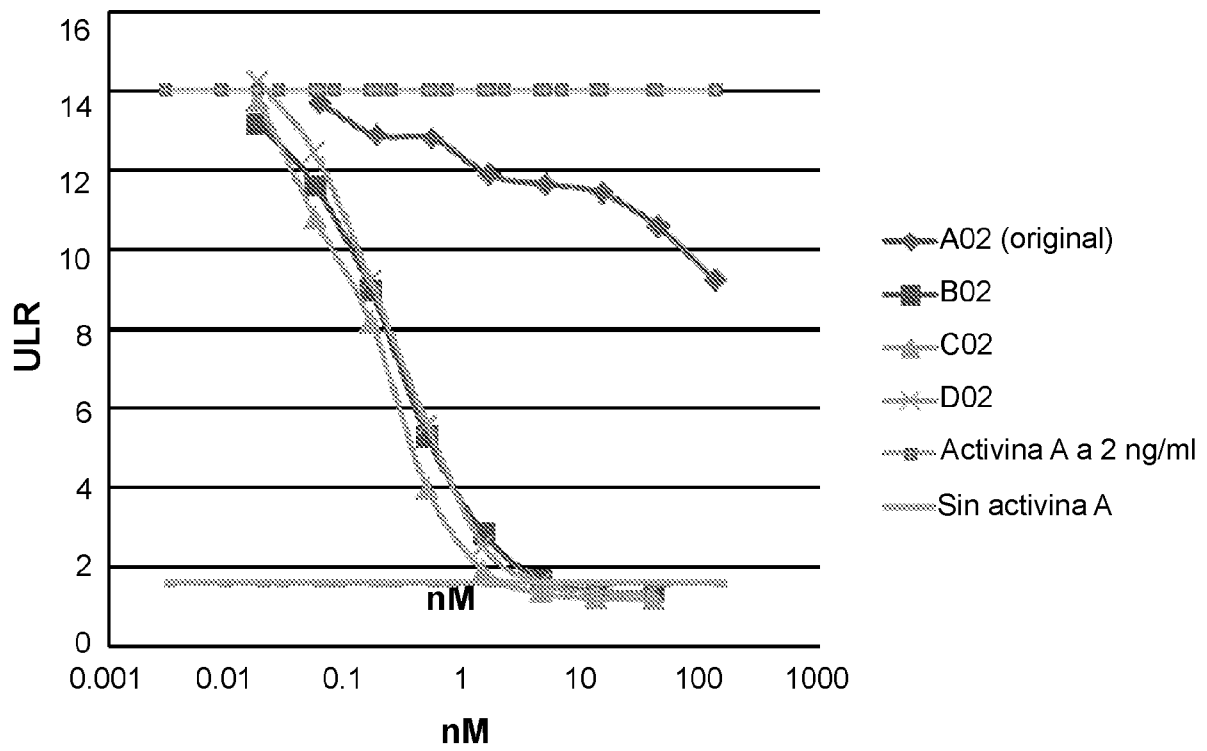
**FIG. 5R**

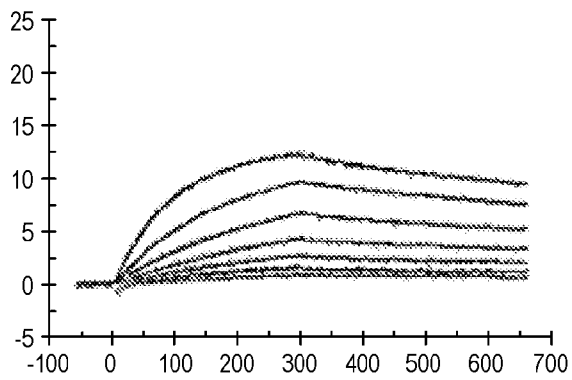


**FIG. 5S**

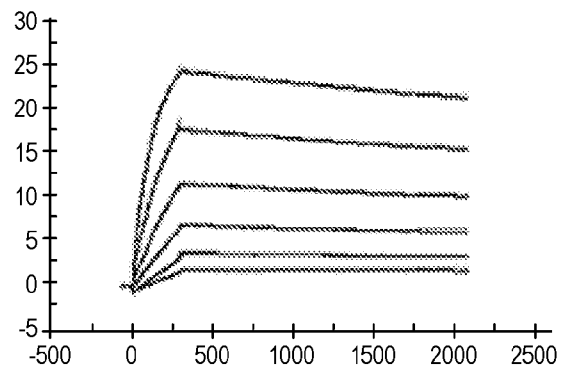


**FIG. 5T**

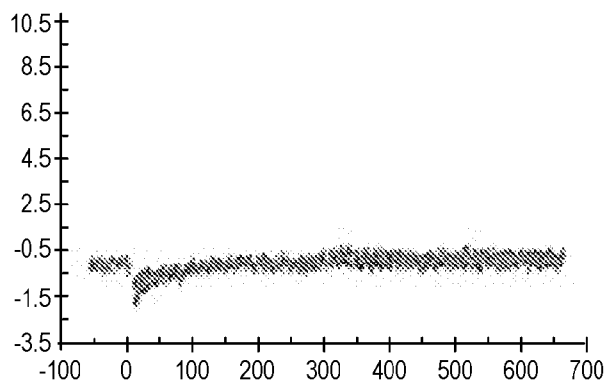




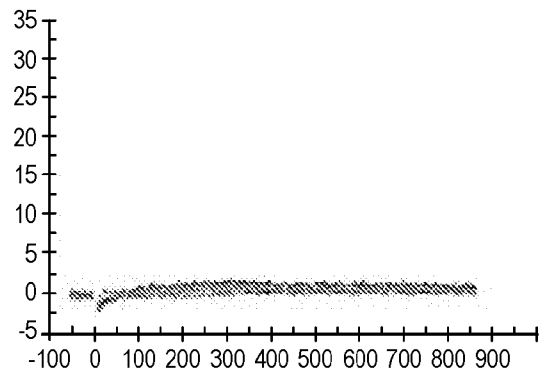
**FIG. 7A**



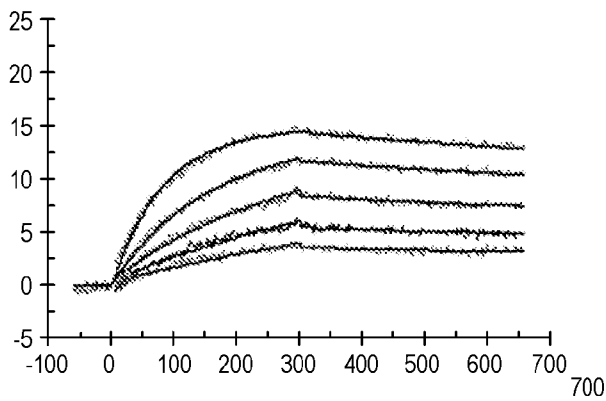
**FIG. 7B**



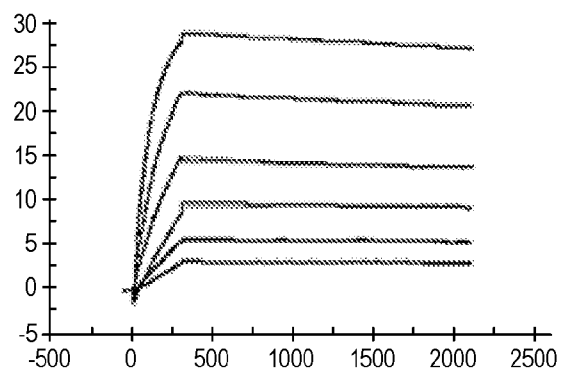
**FIG. 7C**



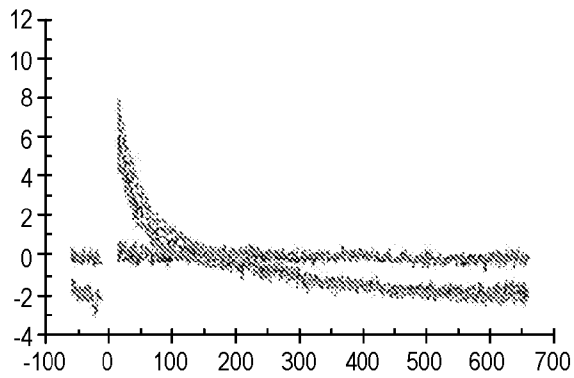
**FIG. 7D**



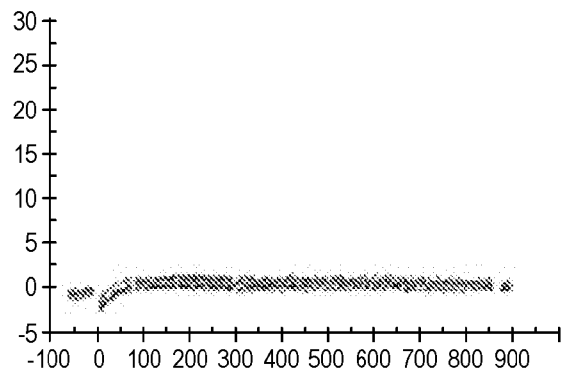
**FIG. 7E**



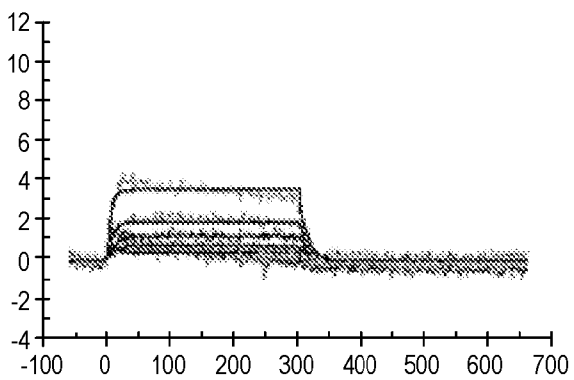
**FIG. 7F**



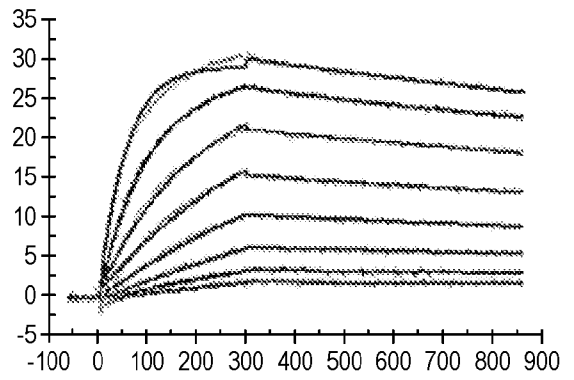
**FIG. 8A**



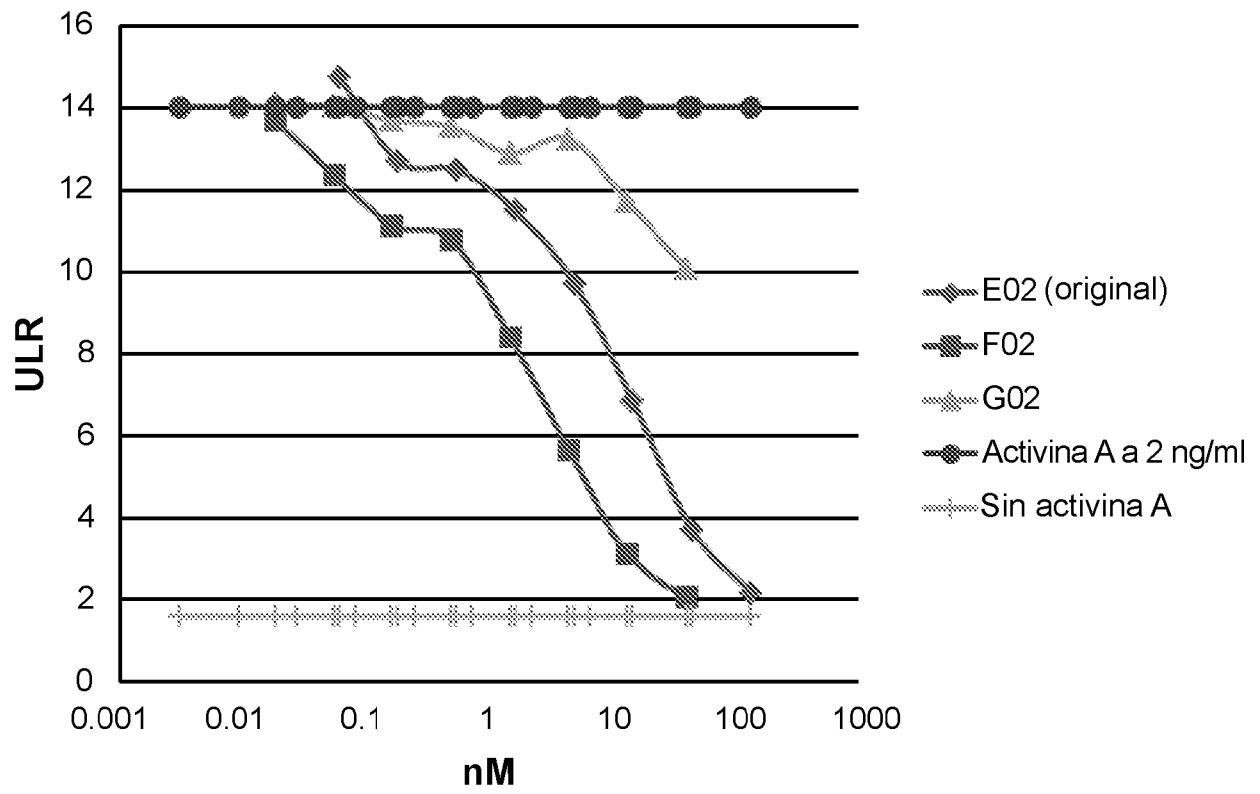
**FIG. 8B**



**FIG. 8C**



**FIG. 8D**



**FIG. 9**

## REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCION

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al recopilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

## Documentos de patentes citados en la descripción

- US 5225539 A [0048] [0236]
- US 5639641 A [0049] [0236]
- US 61442106 [0079]
- WO 9201047 A [0082]
- US 8765385 B [0090]
- WO 9711971 A [0103] [0105]
- WO 07106585 A [0103] [0105]
- US 20070148167 A1 [0103] [0105]
- US 20030170753 A [0225]
- US 20090155275 A [0225]
- US 4816567 A [0233] [0236]
- US 5723323 A [0236]
- US 5976862 A [0236]
- US 5624514 A [0236]
- US 5817483 A [0236]
- US 5814476 A [0236]
- US 5763192 A [0236]
- US 5766886 A [0236]
- US 5714352 A [0236]
- US 6204023 B [0236]
- US 6180370 B [0236]
- US 5693762 A [0236] [0249]
- US 5530101 A [0236]
- US 5585089 A [0236] [0249]
- US 7557189 B [0236]
- US 7536195 B [0236]
- US 7342110 B [0236]
- US 9816280 W [0236]
- US 9618978 W [0236]
- US 9109630 W [0236]
- US 9105939 W [0236]
- US 9401234 W [0236]
- GB 8901334 W [0236]
- GB 9101134 W [0236]
- GB 9201755 W [0236]
- WO 9014443 A [0236]
- WO 9014424 A [0236]
- WO 9014430 A [0236]
- EP 229246 A [0236]
- US 5750373 A [0239]
- US 5969108 A [0240]
- US 6172197 B [0240]
- US 5885793 A [0240]
- US 6521404 B [0240]
- US 6544731 B [0240]
- US 6555313 B [0240]
- US 6582915 B [0240]
- US 6593081 B [0240]
- US 6300064 B [0240]
- US 6653068 B [0240]
- US 6706484 B [0240]
- US 7264963 B [0240]
- US 5545607 A [0241]
- US 5545806 A [0241]
- US 5569825 A [0241]
- US 5625126 A [0241]
- US 5633425 A [0241]
- US 5661016 A [0241]
- WO 012009568 A [0242]
- WO 09036379 A [0242] [0364]
- WO 10105256 A [0242] [0364]
- WO 03074679 A [0242]
- US 20020177170 A [0242]
- US 6423538 B [0243]
- US 6696251 B [0243]
- US 6639658 B [0243]
- US 5641870 A [0244]
- US 4946778 A [0245]
- US 5693761 A [0249]
- US 6413746 B [0278]
- US 5660501 B [0278]
- WO 04009823 A [0278]
- US 20060312425 A [0283]
- US 20080177048 A [0283]
- US 20090187005 A [0283]
- WO 12009568 A [0364]
- WO 14179363 A [0364]

## Literatura no referida a patentes citada en la descripción

- YAMASHITA et al. *J. Cell Biol.* 130, 1995, 217-226 [0003]
- LEE et al. *PNAS*, 2001, vol. 98, 9308-9311 [0003]
- YEO et al. *Mol. Cell*, 2001, vol. 7, 949-957 [0003]
- OH et al. *Genes Dev.*, 2002, vol. 16, 2749-54 [0003]
- LACH-TRIFLIEFF et al. *MOB*, 2014, vol. 34, 606-618 [0003]
- JUO ; PEI-SHOW. *Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology*. CRC Press, 2002 [0022]
- The Dictionary of Cell and Molecular Biology. Academic Press. 1999 [0022]

- Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised. Oxford University Press, 2000 [0022]
- MOLDENHAUER et al. *Scand. J. Immunol.*, 1980, vol. 32, 77-82 [0031]
- MOREL et al. *Molec. Immunol.*, 1988, vol. 25, 7-15 [0031]
- CHEUNG et al. *Virology*, 1990, vol. 176, 546-552 [0031]
- KIRKLAND et al. *J. Immunol.*, 1986, vol. 137, 3614-3619 [0031]
- STAHLI et al. *Methods in Enzymology*, 1983, vol. 92, 242-253 [0031]
- KABAT et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest. NIH, 1991 [0045]
- JONES. *Nature*, 1986, vol. 321, 522-525 [0048]
- RIECHMANN. *Nature*, 1988, vol. 332, 323-327 [0048]
- VERHOEYEN. *Science*, 1988, vol. 239, 1534-1536 [0048]
- LEDERMANN et al. *Int. J. Cancer*, 1991, vol. 47, 659-664 [0057]
- BAGSHAW et al. *Ant. Immun. and Radiopharm.*, 1991, vol. 4, 915-922 [0057]
- SAMBROOK et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001 [0062]
- AUSUBEL et al. Current Protocols in Molecular Biology. Greene Publishing Associates, 1992 [0062]
- HARLOW ; LANE. Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990 [0062]
- INNES et al. *Br. J. Cancer*, 2006, vol. 94, 1057-1065 [0063]
- KABAT et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest. DHHS, 1987 [0078]
- MARKS et al. *BioTechnology*, 1992, vol. 10, 779-783 [0082] [0235]
- KAY et al. Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual. Academic Press, 1996 [0082]
- LOWE et al. *Curr. Pharm. Biotech.*, 2004, 517-527 [0082]
- *Nature*, 1994, vol. 370, 389-391 [0082]
- SCATCHARD et al. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1949, vol. 51, 660-672 [0083]
- DENNLER et al. *EMBO*, 1998, vol. 17, 3091-3100 [0090] [0399]
- IDUSOGIE et al. *J. Immunol.*, 2001, vol. 166, 2571-2575 [0103]
- SAZINSKY et al. *PNAS USA*, 2008, vol. 105, 20167-20172 [0103] [0105]
- DAVIS et al. *J. Rheumatol.*, 2007, vol. 34, 2204-2210 [0103]
- BOLT et al. *Eur. J. Immunol.*, 1993, vol. 23, 403-411 [0103]
- ALEGRE et al. *Transplantation*, 1994, vol. 57, 1537-1543 [0103]
- XU et al. *Cell Immunol.*, 2000, vol. 200, 16-26 [0103]
- COLE et al. *Transplantation*, 1999, vol. 68, 563-571 [0103]
- HUTCHINS et al. *PNAS USA*, 1995, vol. 92, 11980-11984 [0103]
- REDDY et al. *J. Immunol.*, 2000, vol. 164, 1925-1933 [0103]
- MCEARCHERN et al. *Blood*, 2007, vol. 109, 1185-1192 [0103] [0105]
- STROHL. *Curr. Op. Biotechnol.*, 2009, vol. 20, 685-691 [0103] [0105]
- KUMAGAI et al. *J. Clin. Pharmacol.*, 2007, vol. 47, 1489-1497 [0103]
- HAYDEN-LEDBETTER et al. *Clin. Cancer*, 2009, vol. 15, 2739-2746 [0105]
- LAZAR et al. *PNAS USA*, 2006, vol. 103, 4005-4010 [0105]
- BRUCKHEIMER et al. *Neoplasia*, 2009, vol. 11, 509-517 [0105]
- Antibody-Antigen Interactions. BERZOFISKY et al. Fundamental Immunology. Raven Press, 1984 [0223]
- KUBY. Immunology. W. H. Freeman and Company, 1992 [0223]
- SKERRA. *Curr. Opin. Biotech.*, 2007, vol. 18, 295-304 [0225]
- HOSSE et al. *Protein Science*, 2006, vol. 15, 14-27 [0225] [0284]
- GILL et al. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2006, vol. 17, 653-658 [0225] [0284]
- NYGREN. *FEBS J.*, 2008, vol. 275, 2668-2676 [0225] [0284]
- SKERRA. *FEBS J.*, 2008, vol. 275, 2677-2683 [0225] [0284]
- KOHLER ; MILSTEIN. *Nature*, 1975, vol. 256, 495-497 [0232]
- GODING. Monoclonal Antibodies: Principles and Practice. Academic Press, 1986 [0232]
- MCCAFFERTY et al. *Nature*, 1990, vol. 348, 552-554 [0233]
- CLACKSON et al. *Nature*, 1991, vol. 352, 624-628 [0233]
- MARKS et al. *J. Mol. Biol.*, 1991, vol. 222, 581-597 [0233]
- GRAM et al. *PNAS USA*, 1992, vol. 89, 3576-3580 [0235]
- BARBAS et al. *PNAS USA*, 1994, vol. 91, 3809-3813 [0235]
- SCHIER et al. *J. Mol. Biol.*, 1996, vol. 263, 551-567 [0235]
- JONES et al. *Nature*, 1986, vol. 321, 522 [0236]
- RIECHMANN et al. *Nature*, 1988, vol. 332, 323 [0236]
- VERHOEYEN et al. *Science*, 1988, vol. 239, 1534 [0236]
- SIMS et al. *J. Immunol.*, 1993, vol. 151, 2296 [0236]
- CHOTHIA et al. *J. Mol. Biol.*, 1987, vol. 196, 901 [0236]
- CARTER et al. *PNAS USA*, 1992, vol. 89, 4285 [0236]

- PRESTA et al. *J. Immunol.*, 1993, vol. 151, 2623 [0236]
- COLE et al. *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*. Alan R. Liss, 1985, 77 [0239]
- BOEMER et al. *J. Immunol.*, 1991, vol. 147 (1), 86-95 [0239]
- VAUGHAN et al. *Nat. Biotech.*, 1996, vol. 14, 309-314 [0240]
- SHEETS et al. *PNAS*, 1996, vol. 95, 6157-6162 [0240]
- HOOGENBOOM ; WINTER. *J. Mol. Biol.*, 1991, vol. 227, 381 [0240]
- MARKS et al. *J. Mol. Biol.*, 1991, vol. 222, 581 [0240]
- ROTHE et al. *J. Mol. Biol.*, 2009, vol. 376 (4), 1182-1200 [0240]
- BLAISE et al. *Gene*, 2004, vol. 342 (2), 211-218 [0243]
- BODER et al. *Nat. Biotechnol.*, 1997, vol. 15 (6), 553-557 [0243]
- KURODA et al. *Biotechnol. Lett.*, 2011, vol. 33 (1), 1-9 [0243]
- LAUER et al. *J. Pharm. Sci.*, 2012, vol. 101 (1), 102-15 [0243]
- ORCUTT K.D. ; WITTRUP K.D. *Antibody Engineering, yeast display and selection*, 2010, 207-233 [0243]
- RAKESTRAW et al. *Protein Eng. Des. Sel.*, 2011, vol. 24 (6), 525-30 [0243]
- MORIMOTO et al. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, 1993, vol. 24, 107-117 [0244]
- BRENNAN et al. *Science*, 1985, vol. 229, 81 [0244]
- HUSE et al. *Science*, 1989, vol. 246, 1275-1281 [0245]
- Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Co, 2000 [0257]
- GLUZMAN. *Cell*, 1981, vol. 23, 175 [0279]
- LUCKOW ; SUMMERS. *BioTechnology*, vol. 6 (47), 1986 [0279]
- SKERRA. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2007, vol. 18, 295-304 [0284]
- Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Co, 1980 [0344]
- JALKANEN et al. *J. Cell. Biol.*, 1985, vol. 101, 976-985 [0353]
- JALKANEN et al. *J. Cell Biol.*, 1987, vol. 105, 3087-3096 [0353]
- *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc, 1994, vol. 1 [0358]
- SIEGEL et al. *J. Immunol. Meth.*, 2004, vol. 286 (1-2), 141-153 [0364]
- XU et al. *Protein Eng. Des. Sel.*, 2013, vol. 26 (10), 663-670 [0364]
- ESTEP et al. *Mabs*, 2013, vol. 5 (2), 270-278 [0370]
- [0371]