



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월10일

(11) 등록번호 10-2777477

(24) 등록일자 2025년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 14/705 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7033601

(22) 출원일자(국제) 2016년04월12일

심사청구일자 2021년04월12일

(85) 번역문제출일자 2017년11월21일

(65) 공개번호 10-2018-0006386

(43) 공개일자 2018년01월17일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/027046

(87) 국제공개번호 WO 2016/171948

국제공개일자 2016년10월27일

(30) 우선권주장

62/262,356 2015년12월02일 미국(US)

62/150,994 2015년04월22일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

JP2014534239 A

KR1020140108527 A

(73) 특허권자

얼라이브젠 인코포레이티드

영국령 서인도 제도, 케이만 군도,
케이와이1-1104, 그랜드 케이만, 피오 박스 1982,
웨스트 베이 로드, 유닛 넘버2-105, 가버너' 스
스퀘어

(72) 발명자

한, 에이치큐

미국 캘리포니아 91320, 3353 크로스랜드 스트리
트 싸우전드 오크스

주, 샤오란

미국 캘리포니아 91320, 3876 로테네 스트리트 뉴
버리 파크

(74) 대리인

허용록

전체 청구항 수 : 총 37 항

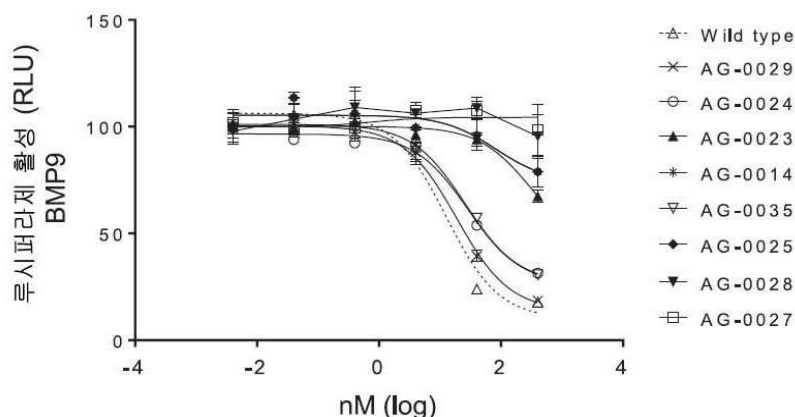
심사관 : 강덕희

(54) 발명의 명칭 신규한 근육 소모 질환 치료용 하이브리드 ACTRIIB 리간드 트랩 단백질

(57) 요약

본 발명은 미오스타틴 및 액티빈 A에 대해 결합 친화도를 충분히 유지하나 BMPs, 특히 BMP-9에 대해 현저히 감소된 결합을 나타내는 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 기재하고 있다. 본 명세서에 기재된 신규한 조성물은 치료적으로 의미있는 방식으로 근육 소모, 골 손실, 빈혈, 염증 및 섬유증에 대응하기 위해 근육, 뼈, 연골, 지방, 섬유아세포, 혈액 및 신경 조직의 성장을 조절하는데 사용될 수 있는, 신규한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 제조하는데 사용될 수 있다. 이러한 신규한 차세대 미오스타틴/액티빈 저해제는 시판되는 미오스타틴 저해제보다 더 안전하고 더 효과적인 분자이기 때문에, 이들은 매우 다양한 임상 적응증(clinical indications)에 유용하다.

대표도



명세서

청구범위

청구항 1

하이브리드 가용성 액티빈 IIB 수용체-세포외 도메인 (ActRIIB-ECD) 폴리펩티드를 포함하는 분리된 단백질로서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 5-10, 13, 16, 25-27, 29-31 및 37로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열로 이루어지며,

상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타내는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 16 및 서열번호: 29로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 16의 아미노산 서열로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 29의 아미노산 서열로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 적어도 하나의 이종 단백질에 융합되는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 6

제 5항에 있어서, 이종 단백질은 면역글로불린의 불변 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 7

제 6항에 있어서, 이종 단백질은 면역글로불린의 Fc 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 8

제 7항에 있어서, Fc 도메인은 인간 IgG1의 Fc 도메인, 인간 IgG2의 Fc 도메인, 또는 인간 IgG4의 Fc 도메인으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 9

제 5항에 있어서, 이종 단백질은 펩티드 링커 서열, 또는 힌지 링커 서열, 또는 펩티드 링커 서열과 힌지 링커 서열에 의해 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 융합되는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 10

제 7항에 있어서, 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 갖는 펩티드 링커를 서열번호: 118에 제시된 아미노산 서열을 갖는 힌지 링커와 함께 사용하여 Fc 도메인을 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 결합하는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 11

제 7항에 있어서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 16 및 서열번호: 29로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열로 이루어지며, Fc 도메인은 서열번호: 39, 서열번호: 41, 및 서열번호: 43으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 12

제 11항에 있어서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 16의 아미노산 서열로 이루어지며, Fc 도메인은 서열번호: 43의 아미노산 서열로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 13

제 11항에 있어서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 29의 아미노산 서열로 이루어지며, Fc 도메인은 서열번호: 43의 아미노산 서열로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 14

제 7항에 있어서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 펩티드 링커를 통해 Fc 도메인에 결합되는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 15

제 5항에 있어서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 16의 아미노산 서열로 이루어지며, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 펩티드 링커에 융합되고, 상기 펩티드 링커는 서열번호: 118에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 힌지 링커에 융합되며, 상기 힌지 링커는 서열번호: 43의 아미노산 서열로 이루어진 Fc 도메인에 융합되는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 16

제 5항에 있어서, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 29의 아미노산 서열로 이루어지며, 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 펩티드 링커에 융합되고, 상기 펩티드 링커는 서열번호: 118에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 힌지 링커에 융합되며, 상기 힌지 링커는 서열번호: 43의 아미노산 서열로 이루어진 Fc 도메인에 융합되는 것을 특징으로 하는, 분리된 단백질.

청구항 17

제 1항 내지 제 16항 중 어느 한 항에 따른 분리된 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 분리된 핵산 분자.

청구항 18

제 17항의 분리된 핵산 분자를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 19

제 18항의 재조합 벡터를 포함하는 분리된 숙주 세포.

청구항 20

제 19항에 있어서, 분리된 숙주 세포는 포유류 세포인 것을 특징으로 하는, 분리된 숙주 세포.

청구항 21

단백질의 발현을 촉진시키는 조건 하에 제 20항의 분리된 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 단백질을 회수하는 단계를 포함하는, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 단백질의 제조 방법.

청구항 22

약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물에서 제 1항 내지 제 16항 중 어느 한 항에 따른 분리된 단백질의 치료적 유효량을 포함하는, 미오스타틴-관련 또는 액티빈 A-관련 장애의 치료용 약학 조성물로서,

상기 미오스타틴-관련 또는 액티빈 A-관련 장애는 근육 소모 질환, 골 질환 또는 빈혈이며,

근육 소모 질환은 근이영양증; 근위축성 측색 경화증; 근염; 중환자실 집중 치료(ICU) 근질환; 약물-유발성 근질환; 안드로겐 결핍, 울혈성 폐쇄성 폐질환, 폐기종, 낭포성 섬유증, 만성 심부전, 심장 위축증, 암 악액질, 신부전, 요독증, 단백질 에너지 소비, 거식증, 영양실조, 근감소증, 후천성 면역 결핍증(AIDS), 패혈증, 화상, 당뇨병, 헌팅턴병, 파킨슨병, 알츠하이머병, 수근관 증후군(carpal tunnel syndrome)과 관련된 근육 소모; 및 장기 영양, 척수 손상, 뇌졸중, 골절, 노화 및 극미 중력에의 노출 중 어느 하나에 기인한 근육 소모로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 23

제 22항에 있어서, 조성물은 피하, 근육내, 정맥내, 및 척수강내 (intrathecal) 투여로 이루어진 군으로부터 선택된 경로에 의한 투여용으로 제형화되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 24

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 근이영양증이며, 상기 근이영양증은 듀시엔형 근이영양증(DMD), 베커형(Becker) 근이영양증, 지대형(Limb-Girdle) 근이영양증, 근긴장성(Myotonic) 근이영양증, 및 안면견갑상완형 근이영양증 (facioscapulohumeral muscular dystrophym, FSHD)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 25

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 중환자실 집중 치료(ICU) 근질환인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 26

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 근위축성 측색 경화증인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 27

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 심혈관 질환과 관련된 근육 소모이며, 상기 심혈관 질환은 심부전, 심장 위축증(cardiac atrophy), 폐 고혈압, 심근염 (myocarditis), 관상동맥질환, 심근경색, 심장 부정맥(cardiac arrhythmias), 심장판막질환(heart valve disease), 심근증, 심낭 질환(pericardial disease), 대동맥 질환(aorta disease), 심장 이식 및 마르판 증후군(Marfan syndrome)으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 28

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 대사 장애와 관련된 근육 소모이며, 상기 대사 장애는 인슐린 저항성, 당뇨병, 비만, 근감소성 비만, 이상지질혈증 (dyslipidemia) 및 지방간 질환으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 29

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 암 악액질 또는 암과 관련된 근육 소모이며, 상기 암은 폐암, 췌장암, 전립선암, 위암, 식도암, 결장암, 유방암, 두경부암, 난소암, 고환암, 다발성 골수종, 림프종, 백혈병, 골수이형성 증후군 (myelodysplastic syndrome), 및 횡문근육종(rhabdomyosarcoma)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 30

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 신장 질환과 관련된 근육 소모이며, 상기 신장 질환은 신부전, 만성 신장 질환, 말기 신장 질환, 요독증, 단백질 에너지 소모 및 신장 이식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 31

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 염증성 또는 자가면역 질환과 관련된 근육 소모이며, 상기 염증성 또는 자가면역 질환은 류마티스성 관절염, 염증성 장질환, 루푸스 및 다발성 경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 32

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 섬유증 질환과 관련된 근육 소모이며, 상기 섬유증 질환은 폐섬유증, 낭포성 섬유증, 간 경화증, 심장 섬유증, 신장 섬유증, 골수섬유증(myelofibrosis), 특발성 후복막 섬유증(idiopathic retroperitoneal fibrosis), 신원성 섬유화 피부병증(nephrogenic fibrosing dermopathy), 크론병, 켈로이드, 경피증(scleroderma), 전신 경화증 및 관절 섬유증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 33

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 노화 질병과 관련된 근육 소모이며, 상기 노화 질병은 노인의 허약함(frailty of the elderly), 노화-관련 근감소증 및 골관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 34

제 22항에 있어서, 근육 소모 질환은 악액질과 관련된 근육 소모; 외상과 관련된 근육 소모; 감염과 관련된 근육 소모; 신경퇴행성 질환과 관련된 근육 소모; 근위축증, 만성 질환과 관련된 근위축증 및 불용 또는 탈신경에 기인한 근위축증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 35

제 34항에 있어서, 신경퇴행성 질환은 헌팅턴병, 파킨슨병 및 알츠하이머병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 36

제 22항에 있어서, 골 질환은 골연화증(osteomalacia), 골다공증, 골형성 부전증(osteogenesis imperfecta), 진행성 골화성 섬유이형성증(fibrodysplasia ossificans progressiva), 코르티코스테로이드-유발성 골 손실, 골절 및 골 전이로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 37

제 22항에 있어서, 빈혈은 철분 결핍성 빈혈, 지중해빈혈(thalassemia), 용혈성빈혈(hemolytic anemia), 겸상 적혈구 빈혈(sickle cell anemia), 악성 빈혈 (pernicious anemia), 판코니 빈혈(fanconi anemia), 재생불량성 빈혈(aplastic anemia), 암-관련 빈혈 및 화학요법-유발성 빈혈로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2015년 4월 22일에 출원된 미국 가출원 번호 제 62/150,994호, 및 2015년 12월 2일에 출원된 미국 가출원 번호 제 62/262,356호의 이익을 주장하고, 각각은 본 명세서에 전체 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003] 근육 소모는 근육량의 점진적 손실 및/또는 골격근 또는 수의근(voluntary muscles), 심장을 조절하는 심근(심근증), 및 평활근을 포함하는 근육의 점진적 약화 및 퇴행을 나타낸다. 만성 근육 소모는 근육의 약화 및 퇴행 뿐만 아니라 근육량의 점진적 손실을 특징으로 하는(즉, 장기간 동안 지속되는) 질병이다. 근육량의 손실은 근육 단백질 분해 속도가 근육 단백질 합성을 초과할 때 발생한다.

[0004] 근육 소모는 근이영양증(muscular dystrophies), 근위축성 측색 경화증(amyotrophic lateral sclerosis), 근염(myositis), 탈신경 근위축증(denervation muscle atrophies), 식욕부진-악액질 증후군(anorexia-cachexia syndrome), 압, 류마티스성 관절염, 골관절염, 당뇨병, 근감소성 비만(sarcopenic obesity), 노화-관련 근감소증, 안드로겐 결핍(androgen deprivation), 코르티코스테로이드 근질환(corticosteroid myopathy), 염증성 장질환, 간경화증, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐섬유증, 만성 신장 질환, 외상(trauma), 심근증(cardiomyopathy), 만성 신부전 및 HIV 감염을 포함하여, 다수의 만성, 신경학적, 유전적, 염증성, 섬유증 또는 감염성 병변의 발병과 관련되어 있는, 쇠약하게 하고 생명을 위협하는 질환 상태이다.

[0005] Activin IIA 수용체(ActRIIA) 및 Activin IIB 수용체(ActRIIB)는 액티빈 A, 미오스타틴(GDF-8로도 알려짐), 성장분화인자-11(GDF-11), 및 BMP-3, BMP-6, BMP-9(GDF-2로도 알려짐) 및 BMP-10과 같은 다양한 기타 골형성 단백질(BMPs)을 포함하여, TGF- β 계열 구성원의 서브세트에 대한 제 II 형 수용체이다. ActRIIA 및/또는 ActRIIB에 대한 이러한 TGF- β 계열 리간드의 결합은 세포 분화, 아포토시스, 단백질 합성 및 분해, 무기질화, 조혈(hematopoiesis), 혈관신생, 스테로이드 합성, 유착, 이동, 세포외 기질 생성 및 섬유생성(fibrogenesis)을 조절할 수 있다. 특정 반응은 TGF- β 리간드 및 수용체의 유형 및 수준뿐만 아니라 세포 상태 및 환경에 의존한다. 이러한 리간드의 변형된 발현은 다양한 질환 및 장애와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 상승된 혈청 액티빈 A 수준은 근위축증, 압, 만성 심부전, 만성 신장 질환, 염증, 섬유증, 빈혈, 골 손실 및 노화의 질환 상태에서 나타났으며, 질환의 발병기전(pathogenesis) 및 진행에 기여하는 것으로 생각된다.

[0006] ActRIIA 및 ActRIIB는 액티빈 A, 액티빈 B 및 액티빈 AB를 포함하여 액티빈의 제 II 형 수용체로 밝혀졌다. ActRIIB는 근육 성장의 중요한 음성 조절자(negative regulator)인 미오스타틴에 대해 고친화성 수용체이므로, 근육량을 조절하는데 중요한 역할을 한다.

[0007] 다양한 ActRIIA-Fc 및 ActRIIB-Fc 융합 단백질이 임상적으로 평가되었거나, 또는 현재 임상적으로 평가되고 있다. ActRIIA-Fc 융합 단백질(Acceleron Pharma's ACE-011)은 다발성 골수종 및 골다공증의 골용해성 병변 환자에서 임상적으로 평가되었다(Ph1, Ph2a). 불행하게도, 효과적인 것처럼 보이지만, 골다공증의 치료를 위한 ACE-011의 임상 가능성은 안전 문제(높은 RBC 성장)로 인해 방해받았다. ACE-011은 현재 전이성 비-소세포 폐암(NSCLC) 환자에서 화학요법-유발성 빈혈(chemotherapy-induced anemia, CIA)에 대해 평가되고 있다(Ph2/3)(ClinicalTrials.gov). ActRIIB-Fc 융합 단백질(Acceleron Pharma's ACE-031)은 듀시엔형 근이영양증(Duchenne muscle dystrophy, DMD)의 치료 효능에 대해 임상적으로 평가받았다(Ph1, Ph2). ACE-031은 미오스타틴-선택적 저해제, 예를 들어 미오스타틴 항체, 펩티마이드 또는 프로펩티드에 의해 야기되는 것보다 더 뚜렷해진 상당한 근육 증가를 나타내었다. 불행하게도, 근육 성장에서 유망한 효능에도 불구하고, ACE-031의 임상 가능성은 DMD 환자에서 나타나는 코와 잇몸 출혈의 부작용에 의해 방해받아 왔으므로, ACE-031에 대한 임상이 보류되었다(Smith R.C. and Lin B.K., Curr Opin Support Palliat Care. 7(4): 352-360, 2013). ActRIIB-Fc 융합 단백질(Acceleron Pharma's ACE-083)은 현재 근육내 주사를 통한 국소 전달을 이용하여 건강한 피험자에서 Ph1에서 임상적으로 평가되고 있으며(ClinicalTrials.gov), 아타라 바이오테라퓨틱스(Atara Biotherapeutic's)의 ActRIIB-Fc 융합 단백질(STM 434)은 난소암 또는 기타 진행성 고형 종양을 가진 환자에

서 평가될 예정이다 (Ph1 모집 중)(ClinicalTrials.gov).

[0008]

이러한 발전에도 불구하고, 근육 소모 질환의 치료를 위해 매우 효과적이고 안전한 신규한 치료제를 제공하기 위한 필요성이 절실히 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009]

하나의 측면에서, 본 발명은 미오스타틴-중화 활성 및 액티빈 A-중화 활성을 유지하나 현저히 감소된 BMP9-중화를 나타내는 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하는 분리된 신규한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 제공한다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 하나는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 2개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 3개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 4개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 5개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 6개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 7개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴

리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 8개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 9개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 10개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 15개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 20개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 25개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 30개는 다른 아미노산으로 치환되고, 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다.

[0010]

다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32, 서열번호: 33, 서열번호: 34, 서열번호: 35, 서열번호: 36, 또는 서열번호: 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티

드를 포함하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드는 서열번호: 3-37로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드이고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다.

[0011] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 51, 서열번호: 52, 서열번호: 53, 서열번호: 54, 서열번호: 55, 서열번호: 56, 서열번호: 57, 서열번호: 58, 서열번호: 59, 서열번호: 60, 서열번호: 61, 서열번호: 62, 서열번호: 63, 서열번호: 64, 서열번호: 65, 서열번호: 66, 서열번호: 67, 서열번호: 68, 서열번호: 69, 서열번호: 70, 서열번호: 71, 서열번호: 72, 서열번호: 73, 서열번호: 74, 서열번호: 75, 서열번호: 76, 서열번호: 77, 서열번호: 78, 서열번호: 79, 서열번호: 80, 서열번호: 81, 서열번호: 82, 서열번호: 83, 서열번호: 84, 서열번호: 85, 서열번호: 86, 서열번호: 87, 서열번호: 88, 서열번호: 89, 서열번호: 90, 서열번호: 91, 서열번호: 92, 서열번호: 93, 서열번호: 94, 서열번호: 95, 서열번호: 96, 서열번호: 97, 서열번호: 98, 서열번호: 99, 서열번호: 100, 서열번호: 101, 서열번호: 102, 서열번호: 103, 서열번호: 104, 서열번호: 110, 서열번호: 111, 서열번호: 112, 서열번호: 113, 서열번호: 114, 서열번호: 115, 서열번호: 116, 또는 서열번호: 117로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드는 서열번호: 51-117로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드이고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다.

[0012] 다른 측면에서, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 및 적어도 하나의 이종 단백질(heterologous protein)을 포함하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 이종 단백질은 Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 인간 IgG Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 38에 제시된 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 서열로부터 유래된다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 39에 제시된 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 40에 제시된 인간 IgG2 중쇄 불변 도메인 서열로부터 유래된다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 42에 제시된 인간 IgG4 중쇄 불변 도메인 서열로부터 유래된다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다.

[0013] 다양한 실시예에서, 이종 단백질은 링커 및/또는 힌지 링커 펩티드에 의해 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 결합된다. 링커 또는 힌지 링커는 상대적으로 2차 구조가 없는 5, 10, 15, 20, 30, 40 또는 그 이상의 아미노산의 인공 서열일 수 있다. 다양한 실시예에서, 링커는 G/S 함량이 풍부하다 (예를 들어, 링커 내 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 그 이상의 아미노산은 G 또는 S이다). 다양한 실시예에서, 링커는 (GGGGGS (서열번호: 44))_n 모티프 (여기서, n = 1-6) 를 가진다. 다양한 실시예에서, 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 갖는 링커를 서열번호: 118에 제시된 아미노산 서열을 갖는 힌지 링커와 함께 사용하여, 본 발명의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 (예를 들어, 서열번호: 3-37 또는 51-117 중 어느 하나)에 인간 IgG4 Fc (서열번호: 43)를 결합한다.

[0014] 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 분리된 핵산 분자를 제공한다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 하나를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서

열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다.

[0015] 다양한 실시예에서, 분리된 핵산 분자는 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 이중 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 더 포함한다. 다양한 실시예에서, 핵산 분자는 본 명세서에 기재된 링커 또는 힌지 링커를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 더 포함한다.

[0016] 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 다양한 실시예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 핵산을 포함하는 분리된 세포를 제공한다. 다양한 실시예에서, 세포는 본 발명의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포이다. 다른 측면에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 제조 방법은 단백질 또는 폴리펩티드의 발현을 촉진시키는 조건 하에 숙주 세포를 배양함으로써 제공된다.

[0017] 다른 측면에서, 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물에서 분리된 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드 또는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0018] 다른 측면에서, 본 발명은 피험자에게 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩을 함유하는 약학 조성물의 유효량을 투여함으로써, 이러한 장애를 앓고 있는 피험자에서 근육 소모 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다. 근육 소모 질환 또는 질병은 근이영양증 (예를 들어, DMD, 베커형(Becker) MD, 지대형(Limb-Girdle) MD, 근긴장성(Myotonic) MD 및 FSHD), 근염 (예를 들어, 피부근염 (dermatomyositis), 봉입체 근염(inclusion-body myositis), 소아형 근염(juvenile forms of myositis), 다발성근염(polymyositis)), 근질환(myopathies) (유전성 근질환 및 후천성 근질환, 예를 들어 당뇨병성 근질환(diabetic myopathy) 또는 약물-유발성 근질환(drug-induced myopathy) 포함), 운동신경질환(motoneuron diseases) (예를 들어, 루게릭병(Lou Gehrig's Disease) 또는 근위축성 측색 경화증), 중증 근무력증(myasthenia gravis), 신경퇴행성 질환 (예를 들어, 파킨슨병, 헌팅턴병 및 알츠하이머병), 암 (예를 들어, 췌장암, 폐암, 위암, 난소암, 대장암, 흑색종, 백혈병, 전립선암, 뇌암, 방광암, 및 두경부암)과 관련된 근육 소모, 만성 심부전 (CHF)과 관련된 근육 소모, 만성 신장 질환 (CKD), 간부전, 당뇨병, 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD), 폐기종(emphysema), 낭포성 섬유증, 류마티스성 관절염, 골관절염, 간 섬유증, 경화증, 외상 (예를 들어, 화상 또는 오토바이 사고), 골절, 장기 이식 (예를 들어, 심장, 폐, 간 또는 신장 이식), 중환자실 집중 치료(ICU critical care), 탈신경 (예를 들어, 뇌졸중 또는 척수 손상), 안드로겐-결핍 요법, 코르티코스테로이드 요법, 감염 (예를 들어, AIDS 또는 결핵), 장기 요양 (prolonged bed rest), 근감소성 비만, 및 노화-관련 근감소증을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0019] 또한, 본 발명은 심혈관 질환의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 심혈관 질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 심혈관 질환은 심부전, 심장 위축증(cardiac atrophy), 심장 섬유증, 폐 고혈압, 심근염(myocarditis), 관상동맥질환, 심근경색, 심장 부정맥(cardiac arrhythmias), 심장판막질환(heart valve disease), 심근증, 심낭 질환 (pericardial disease), 대동맥 질환(aorta disease) 및 마르판 증후군(Marfan syndrome)으로부터 선택된다.

[0020] 또한, 본 발명은 대사 장애의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 대사 장애의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 대사 장애는 비만, 이상지질혈증(dyslipidemia), 근감소성 비만, 비-알콜성 지방간염과 같은 비-알콜성 지방간 질환, 알콜성 지방간 질환, 인슐린 저항성, 당뇨병, 대사증후군, 당뇨병성 근질환, 당뇨병성 신증(diabetic nephropathy), 당뇨병성 신경병증(diabetic neuropathy), 당뇨병성 망막증, 및 혈색소 침착증(hemochromatosis)으로부터 선택된다.

[0021] 또한, 본 발명은 암 또는 암 전이의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 암 또는 암 전이의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 암은 췌장암, 위암, 난소암, 대장암, 흑색종, 백혈병, 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome), 폐암, 전립선암, 뇌암, 방광암, 두경부암, 또는 횡문근육종(rhabdomyosarcoma)으로부터 선택된다.

- [0022] 또한, 본 발명은 자가면역질환의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 자가면역질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 상기 질환은 다발성 경화증, 전신 경화증, 당뇨병 (제 1 형), 사구체신염 (glomerulonephritis), 중증 근무력증, 건선, 전신 홍반성 루푸스, 다발성근염, 크론병, 궤양성 대장염 (ulcerative colitis), 및 원발성 담즙성 경화증 (primary biliary cirrhosis)을 포함하는 자가면역질환으로부터 선택된다.
- [0023] 또한, 본 발명은 관절염의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 관절염의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 관절염은 류마티스성 관절염 또는 골관절염으로부터 선택된다.
- [0024] 또한, 본 발명은 거식증(anorexia)의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 거식증의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 일 실시예에서, 거식증은 신경성 식욕부진(anorexia nervosa) 및 식욕부진-악액질 증후군으로부터 선택된다.
- [0025] 또한, 본 발명은 간 질환의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 간 질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 간 질환은 비알콜성 지방간염, 간 섬유증 또는 경화증, 간부전, 자가면역 간염, 및 간세포 암종을 포함하는 지방간으로부터 선택된다.
- [0026] 또한, 본 발명은 장기 또는 조직 이식을 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 장기 또는 조직 이식 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 이식은 심장, 신장, 간, 폐, 췌장, 장(intestine) 및 흉선(thymus)의 장기 이식 또는 뼈, 힘줄(tendons), 각막(cornea), 피부, 심장판막(heart valves), 신경 및 정맥의 조직 이식으로부터 선택된다.
- [0027] 또한, 본 발명은 빈혈의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 빈혈의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 빈혈은 철분 결핍성 빈혈, 철분 과다, 지중해빈혈(thalassemia), 용혈성빈혈(hemolytic anemia), 겸상 적혈구 빈혈(sickle cell anemia), 악성 빈혈(percious anemia), 판코니 빈혈(fanconi anemia) 및 재생 불량성 빈혈(aplastic anemia) (예를 들어, 암-관련 빈혈 및 화학요법-유발성 빈혈)을 포함하는 다양한 빈혈 장애로부터 선택된다.
- [0028] 또한, 본 발명은 섬유증의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 섬유증의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 섬유증은 간질성 폐질환, 특발성 폐섬유증, 낭포성 섬유증, 간 섬유증, 경화증, 심장 섬유증, 신장 섬유증, 골수섬유증(myelofibrosis), 특발성 후복막 섬유증 (idiopathic retroperitoneal fibrosis), 신원성 섬유화 피부병증(nephrogenic fibrosing dermopathy), 염증성 장질환, 켈로이드, 경피증(scleroderma) 또는 관절 섬유증(arthrofibrosis)으로부터 선택된다.
- [0029] 또한, 본 발명은 통증의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 통증의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 통증은 신경병증성 통증, 체성 통증(somatic pain), 내장 통증(visceral pain), 염증성 통증, 암 통증, 요통(back pain), 또는 관절 통증으로부터 선택된다.
- [0030] 또한, 본 발명은 골 질환의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 골 질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 골 질환은 골다공증, 골연화증(osteomalacia), 골형성 부전증(osteogenesis imperfecta), 진행성 골화성 섬유이형성증(fibrodysplasia ossificans progressiva), 코르티코스테로이드-유발성 골 손실, 골절, 또는 골 전이로부터 선택된다.
- [0031] 또한, 본 발명은 노화 질병의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 노화 질병의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 노화 질병은 노인의 허약함(frailty of the elderly), 노화-관련 근감소증, 또는 골관절염으로부터 선택된다.

[0032] 또한, 본 발명은 조직 복구 또는 장기 재생용 줄기세포 성장의 유도를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 조직 복구 또는 장기 재생용 줄기세포 성장의 유도 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 줄기세포는 근육 줄기(위성) 세포, 심장 줄기세포, 골수-유래 중간엽 줄기세포 및 만능 줄기세포(pluripotent stem cell)로부터 선택된다.

[0033] 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 임의의 장애 또는 질병의 치료용 약제의 제조를 위해 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 용도를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0034] 본 발명은 비-근육 관련 사이토카인의 신호 전달에 영향을 미치지 않으면서 다수의 악액질(위축-유발) 사이토카인의 작용을 선택적으로 차단하도록 설계된 다중-사이토카인 길항체로서 기능하는 융합 단백질로서 유전자 조작된 신규한 분리된 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 제공한다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타내는(즉, 미오스타틴-중화 활성 및 액티빈 A-중화 활성을 유지하나 현저히 감소된 BMP9-중화를 나타내는) 분리된 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함한다. 본 발명은 미오스타틴 및 액티빈에 대해 강한 중화 활성을 유지하면서 BMP9에 대해 상당히 감소된 결합을 나타내도록 유전자 조작된(따라서 감소된 BMP9-중화를 갖는) 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩이 시판되는 미오스타틴 저해제보다 더 안전하고 더 효과적인 분자인 미오스타틴 저해제를 제공할 것이라는 발명자의 독특한 통찰력에 부분적으로 기초한다. 특히, 본 발명자들은 ActRIIB 세포외 도메인(ECD) 내의 아미노산 잔기를 ActRIIA ECD의 상응하는 아미노산 잔기로 선택적으로 대체하도록 유전자 조작된 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드가 BMP9에 비해 미오스타틴 및 액티빈 A(근육 성장의 주요 음성 조절자)를 우선적으로 중화시키는 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드를 제공할 수 있다는 것을 가정하였다. BMP9는 많은 생리적 과정에서 중요한 역할을 하고(참조, Tillet E, et al., Front Genet. 8;5:456, 2015), BMP9 신호 전달은 정상적인 혈액 혈관구조(blood vasculature)/투과성을 유지하는데 필수적인 것으로 나타났다(참조, David L., et al., Circ Res. 25;102(8):914-22, 2008). 따라서, 본 명세서에 기재된 신규한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질로 처리된 피험자는 BMP9를 강하게 결합 및 중화시키는 기존의 ActRIIB-Fc 분자로 처리된 피험자에서 관찰된 코 및 잇몸 출혈의 부작용을 피할 수 있다고 가정된다. 이러한 새로운 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질에 의해 제공되는 치료적 이점은 심각한 근육 손실 및 악액질의 역전 및 근위축증, 골 손실, 염증 및 섬유증을 포함하는 다양한 만성 이화 질환(catabolic diseases)의 치료에 안전하고 효과적인 차세대 치료제를 제공한다.

[0035] 정의

[0036] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 고분자를 나타내기 위해 본 명세서에서 통용된다. 다양한 실시예에서, "펩티드", "폴리펩티드", 및 "단백질"은 알파 탄소가 펩티드 결합을 통해 연결된 아미노산의 사슬이다. 따라서, 사슬의 한쪽 끝에 있는 말단 아미노산(아미노 말단)은 유리 아미노기를 가지는 반면, 사슬의 다른쪽 끝에 있는 말단 아미노산(카복시 말단)은 유리 카복실기를 가진다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "아미노 말단" (약칭 N-말단)은 펩티드의 아미노 말단에서 아미노산 위의 유리 α -아미노기 또는 펩티드 내 다른 위치에 있는 아미노산의 α -아미노기(펩티드 결합에 참여할 때 이미노기)를 나타낸다. 유사하게, 용어 "카복시 말단"은 펩티드의 카복시 말단 위의 유리 카복실기 또는 펩티드 내 다른 위치에 있는 아미노산의 카복실기를 나타낸다. 또한, 펩티드는 본질적으로 아미드 결합과는 반대로 에테르에 의해 결합된 아미노산과 같은 펩티드 모방체를 포함하는 임의의 폴리아미노산을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0037] 본 발명의 폴리펩티드는 (1) 단백질 가수분해에 대한 민감성 감소, (2) 산화에 대한 민감성 감소, (3) 단백질 복합체의 형성에 대한 결합 친화도 변화, (4) 결합 친화도 변화, 및 (5) 기타 물리화학적 또는 기능적 특성 부여 또는 변형을 위해, 임의의 방식으로 그리고 임의의 이유로 변형된 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들어, 단일 또는 다수의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)은 자연적으로 발생하는 서열(예를 들어, 분자간 접촉할 때 형성하는 도메인(들) 바깥쪽 폴리펩티드 부분)에서 될 수도 있다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산의 폴리펩티드에서 기능적으로 유사한 아미노산으로의 치환을 나타낸다. 하기의 6개 군은 각각 서로 보존적 치환인 아미노산을 함유한다:

[0038] 1) 알라닌(A), 세린(S), 및 트레오닌(T)

[0039] 2) 아스파르트산(D) 및 글루탐산(E)

[0040]

3) 아스파라긴 (N) 및 글루타민 (Q)

[0041]

4) 아르기닌 (R) 및 리신 (K)

[0042]

5) 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 및 발린 (V)

[0043]

6) 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 및 트립토판 (W)

[0044]

"비-보존적 아미노산 치환"은 이들 부류 중 하나의 일원을 다른 부류의 일원으로 치환하는 것을 나타낸다. 이러한 변화를 주는데 있어서, 다양한 실시예에 따라, 아미노산의 수치요법 지수(hydropathic index)가 고려될 수 있다. 각 아미노산은 이의 소수성과 전하 특성(charge characteristics)을 기준으로 하여 수치요법 지수를 부여하였다: 이들은 이소류신 (+4.5); 발린 (+4.2); 류신 (+3.8); 페닐알라닌 (+2.8); 시스테인/시스틴 (+2.5); 메티오닌 (+1.9); 알라닌 (+1.8); 글리신 (-0.4); 트레오닌 (-0.7); 세린 (-0.8); 트립토판 (-0.9); 티로신 (-1.3); 프롤린 (-1.6); 히스티딘 (-3.2); 글루타메이트 (-3.5); 글루타민 (-3.5); 아스파르테이트 (-3.5); 아스파라긴 (-3.5); 리신 (-3.9); 및 아르기닌 (-4.5) 이다.

[0045]

단백질 상에 상호작용하는 생물학적 기능을 부여하는데 있어서 아미노산의 수치요법 지수의 중요성은 당해 기술 분야에서 이해된다 (참조, Kyte et al., 1982, J. Mol. Biol. 157:105-131). 특정 아미노산이 유사한 수치요법 지수 또는 점수를 갖는 다른 아미노산으로 치환될 수 있고 여전히 유사한 생물학적 활성을 보유하는 것으로 알려져 있다. 수치요법 지수를 기준으로 변화를 주는데 있어서, 다양한 실시예에서, 수치요법 지수가 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 포함된다. 다양한 실시예에서, 수치요법 지수가 ± 1 이내인 아미노산의 치환이 포함되고, 다양한 실시예에서, 수치요법 지수가 ± 0.5 이내인 아미노산의 치환이 포함된다.

[0046]

또한, 유사한 아미노산의 치환이, 특히 이렇게 함으로써 생성된 생물학적 기능 단백질 또는 펩티드가 본 명세서에 개시된 바와 같은 면역학적 실시예에서의 사용을 목적으로 하는 경우에, 친수성을 기준으로 하여 효과적으로 이루어질 수 있다는 것이 당해 기술분야에서 이해된다. 다양한 실시예에서, 인접 아미노산의 친수성에 의해 지배되는 단백질의 가장 큰 국소 평균 친수성은 그의 면역원성 및 항원성, 즉 단백질의 생물학적 특성과 상호 관련이 있다.

[0047]

하기의 친수성 값이 이들 아미노산 잔기에 부여되었다: 아르기닌 (+3.0); 리신 (+3.0); 아스파르테이트 (+3.0, ± 1); 글루타메이트 (+3.0, ± 1); 세린 (+0.3); 아스파라긴 (+0.2); 글루타민 (+0.2); 글리신 (0); 트레오닌 (-0.4); 프롤린 (-0.5, ± 1); 알라닌 (-0.5); 히스티딘 (-0.5); 시스테인 (-1.0); 메티오닌 (-1.3); 발린 (-1.5); 류신 (-1.8); 이소류신 (-1.8); 티로신 (-2.3); 페닐알라닌 (-2.5) 및 트립토판 (-3.4). 유사한 친수성 값을 기준으로 변화를 주는데 있어서, 다양한 실시예에서, 친수성 값이 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 포함되고, 다양한 실시예에서, 친수성 값이 ± 1 이내인 아미노산의 치환이 포함되고, 다양한 실시예에서, 친수성 값이 ± 0.5 이내인 아미노산의 치환이 포함된다.

[0048]

예시적인 아미노산 치환은 표 1에 제시된다.

표 1

[0049]

원래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	
Asp	Glu	
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, 노르류신(Norleucine)	Leu
Leu	노르류신, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-디아미노부티르산, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu

Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, 노르류신	Leu

- [0050] 당업자는 잘-알려진 기술을 이용하여 본 명세서에 제시된 바와 같은 폴리펩티드의 적당한 변이체를 결정할 수 있을 것이다. 다양한 실시예에서, 당업자는 활성에 중요하지 않은 것으로 여겨지는 영역을 표적화함으로써 활성을 파괴하지 않으면서 변화시킬 수 있는 분자의 적당한 영역을 확인할 수 있다. 다른 실시예에서, 당업자는 유사한 폴리펩티드 중에서 보존되는 분자의 잔기 및 일부를 확인할 수 있다. 추가 실시예에서, 생물학적 활성 또는 구조에 대해 중요할 수 있는 영역조차도 생물학적 활성을 파괴시키지 않고 또는 폴리펩티드 구조에 악영향을 미치지 않고 보존적 아미노산 치환을 받을 수 있다.
- [0051] 추가로, 당업자는 활성 또는 구조에 중요한 유사한 폴리펩티드의 잔기를 확인하는 구조-기능 연구를 검토할 수 있다. 이러한 비교를 고려하여, 당업자는 유사한 폴리펩티드의 활성 또는 구조에 중요한 아미노산 잔기에 상응하는 폴리펩티드 내의 아미노산 잔기의 중요성을 예측할 수 있다. 당업자는 이러한 예측된 중요한 아미노산 잔기에 대해 화학적으로 유사한 아미노산 치환을 선택할 수 있다.
- [0052] 당업자는 유사한 폴리펩티드의 이러한 구조와 관련하여 3-차원 구조 및 아미노산 서열을 분석할 수도 있다. 이러한 정보를 고려하여, 당업자는 폴리펩티드의 아미노산 잔기의 3-차원 구조에 대한 정렬을 예측할 수 있다. 다양한 실시예에서, 당업자는 폴리펩티드의 표면 상에 존재할 것으로 예측되는 아미노산 잔기에 대해 급진적인 변화를 일으키지 않는 것을 선택할 수 있는데, 이는 이러한 잔기가 다른 분자와의 중요한 상호작용에 관여될 수 있기 때문이다. 또한, 당업자는 각각의 원하는 아미노산 잔기에서 단일 아미노산 치환을 함유하는 시험 변이체를 생성할 수 있다. 그 다음, 변이체는 당업자에게 알려진 활성 어세이를 이용하여 스크리닝 될 수 있다. 이러한 변이체를 사용하여 적당한 변이체에 관한 정보를 수집할 수 있다. 예를 들어, 특정 아미노산 잔기로의 변화가 파괴되거나, 바람직하지 않게 감소되거나, 또는 부적당한 활성을 일으킨다는 것을 발견하면, 이러한 변화를 가진 변이체를 피할 수 있다. 즉, 이러한 통상적인 실험으로부터 수집된 정보에 기초하여, 당업자는 추가 치환이 단독으로 또는 다른 돌연변이와 함께 배제되어야 하는 아미노산을 용이하게 결정할 수 있다.
- [0053] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩티드 단편" 및 "절단된 폴리펩티드"는 상응하는 전장 단백질에 비해 아미노-말단 및/또는 카복시-말단 결실을 가지는 폴리펩티드를 나타낸다. 특정 실시예에서, 단편은 길이가 적어도 5, 적어도 10, 적어도 25, 적어도 50, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 250, 적어도 300, 적어도 350, 적어도 400, 적어도 450, 적어도 500, 적어도 600, 적어도 700, 적어도 800, 적어도 900 또는 적어도 1000인 아미노산일 수 있다. 특정 실시예에서, 단편은 길이가 1000 이하, 900 이하, 800 이하, 700 이하, 600 이하, 500 이하, 450 이하, 400 이하, 350 이하, 300 이하, 250 이하, 200 이하, 150 이하, 100 이하, 50 이하, 25 이하, 10 이하, 또는 5 이하인 아미노산일 수도 있다. 단편은 하나 이상의 추가 아미노산, 예를 들어, 상이한 자연적으로-발생하는 단백질 (예를 들어, Fc 또는 류신 지퍼 도메인)의 아미노산 서열 또는 인공 아미노산 서열 (예를 들어, 인공 링커 서열)의 말단 중 어느 한쪽 또는 양쪽에 더 포함할 수 있다.
- [0054] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩티드 변이체", "하이브리드 폴리펩티드" 및 "폴리펩티드 돌연변이체"는 하나 이상의 아미노산 잔기를 다른 폴리펩티드 서열에 관한 아미노산 서열에 삽입, 결실 및/또는 치환되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 나타낸다. 특정 실시예에서, 삽입, 결실, 또는 치환될 아미노산 잔기의 수는 길이가 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 10, 적어도 25, 적어도 50, 적어도 75, 적어도 100, 적어도 125, 적어도 150, 적어도 175, 적어도 200, 적어도 225, 적어도 250, 적어도 275, 적어도 300, 적어도 350, 적어도 400, 적어도 450 또는 적어도 500인 아미노산일 수 있다. 본 발명의 하이브리드는 융합 단백질을 포함한다.
- [0055] 폴리펩티드의 "유도체"는 화학적으로 변형된, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 알부민 (예를 들어, 인간 혈청 알부민), 인산화, 및 글리코실화와 같은 다른 화학적 부분(chemical moiety)에 결합된 폴리펩티드이다.
- [0056] 용어 "% 서열 동일성(sequence identity)"은 용어 "% 동일성"으로 본 명세서에서 통용되고, 서열 정렬 프로그램을 이용하여 정렬할 때, 2 이상의 펩티드 서열간의 아미노산 서열 동일성의 수준 또는 2 이상의 뉴클레오타이드

서열간의 뉴클레오티드 서열 동일성의 수준을 나타낸다. 예를 들어, 본 명세서에 사용된 바와 같이, 80% 동일성은 정의된 알고리즘에 의해 결정된 80% 서열 동일성과 동일한 것을 의미하고, 주어진 서열이 다른 서열의 다른 길이와 적어도 80% 동일하다는 것을 의미한다. 특정 실시예에서, % 동일성은 주어진 서열에 대해 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 또는 그 이상의 서열 동일성으로부터 선택된다. 특정 실시예에서, % 동일성은 약 60% 내지 약 70%, 약 70% 내지 약 80%, 약 80% 내지 약 85%, 약 85% 내지 약 90%, 약 90% 내지 약 95%, 또는 약 95% 내지 약 99%의 범위 내이다.

[0057] 용어 "% 서열 상동성(sequence homology)"은 용어 "% 상동성"으로 본 명세서에서 통용되고, 서열 정렬 프로그램을 이용하여 정렬할 때, 2 이상의 펩티드 서열간의 아미노산 서열 상동성의 수준 또는 2 이상의 뉴클레오티드 서열간의 뉴클레오티드 서열 상동성의 수준을 나타낸다. 예를 들어, 본 명세서에 사용된 바와 같이, 80% 상동성은 정의된 알고리즘에 의해 결정된 80% 서열 상동성과 동일한 것을 의미하고, 따라서 주어진 서열의 동족체(homologue)는 주어진 서열의 길이에 대해 80% 이상의 서열 상동성을 가진다. 특정 실시예에서, % 상동성은 주어진 서열에 대해 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 또는 그 이상의 서열 상동성으로부터 선택된다. 특정 실시예에서, % 상동성은 약 60% 내지 약 70%, 약 70% 내지 약 80%, 약 80% 내지 약 85%, 약 85% 내지 약 90%, 약 90% 내지 약 95%, 또는 약 95% 내지 약 99%의 범위 내이다.

[0058] 두 서열 사이의 동일성을 결정하는데 사용될 수 있는 예시적인 컴퓨터 프로그램은, BLAST 프로그램의 세트, 예를 들어, BLASTN, BLASTX, 및 TBLASTX, BLASTP 및 TBLASTN, NCBI 웹사이트에서 인터넷 상에서 공개적으로 이용가능한 것을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 참조, 또한 Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990 (특히 공개된 기본 설정에 관하여, 즉, 매개변수 $w=4$, $t=17$) 및 Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402, 1997. 서열 검색은 일반적으로 GenBank Protein Sequences 및 기타 공공 데이터베이스의 아미노산 서열과 관련하여 주어진 아미노산 서열을 평가할 때 BLASTP 프로그램을 이용하여 수행된다. BLASTX 프로그램은 GenBank Protein Sequences 및 기타 공공 데이터베이스의 아미노산 서열에 대해 모든 판독 프레임에서 번역된 핵산 서열을 검색하는데 선호된다. BLASTP 및 BLASTX는 11.0의 개방 갭 페널티(open gap penalty), 및 1.0의 확장 갭 페널티(extended gap penalty)의 기본 매개변수를 이용하여 실행하고, BLOSUM-62 매트릭스를 이용한다. 참조 id.

[0059] 퍼센트 서열 동일성을 계산하는 것 이외에, BLAST 알고리즘은 두 서열 간의 유사성의 통계적 분석도 수행한다 (참조, 예를 들어, Karlin & Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 90:5873-5787, 1993). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 하나의 척도는 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 일치이 우연히 일어날 확률의 지표를 제공하는 가장 작은 합계 확률 ($P(N)$)이다. 예를 들어, 시험 핵산과 기준 핵산의 비교에서 가장 작은 합계 확률이 약 0.1 미만, 약 0.01 미만, 또는 약 0.001 미만인 경우, 핵산은 기준 서열과 유사하다고 간주된다.

[0060] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "이종(heterologous)"은 기존의 천연 조성 또는 상태를 다른 근원로부터 유래된 조성 또는 상태로 대체함으로써 달성될 수 있는, 천연 또는 자연적으로 발견되지 않는 조성 또는 상태를 나타낸다. 유사하게, 단백질이 자연적으로 발견되는 유기체 이외의 유기체에서 단백질의 발현은 이종 발현 시스템 및 이종 단백질을 구성한다.

[0061] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는 면역글로불린 유전자 또는 면역글로불린 유전자의 단편에 의해 실질적으로 또는 부분적으로 인코딩되고 종양 항원에 대한 특이성 또는 병리학적 상태로 과발현된 분자에 대한 특이성을 갖는 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 나타낸다. 인식된 면역글로불린 유전자는 이들 유전자의 아형(subtypes)뿐만 아니라 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 엡실론 및 뮤 불변 영역 유전자, 및 무수히 많은 면역글로불린 가변 영역 유전자를 포함한다. 경쇄 (LC)는 카파 또는 람다로 분류된다. 중쇄 (HC)는 감마, 뮤, 알파, 델타 또는 엡실론으로 분류되며, 차례로 각각 면역글로불린 종류인 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE를 정의한다. 일반적인 면역글로불린 (예를 들어, 항체) 구조 단위는 사량체를 포함한다. 각 사량체는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩티드 사슬로 구성되어 있으며, 각 쌍은 하나의 "경쇄" (약 25 kDa) 및 하나의 "중쇄" (약 50-70 kDa)를 가진다. 각 사슬의 N-말단은 주로 항원 인식을 담당하는 약 100 내지 110개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 정의한다.

[0062] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C- 말단 영역을 정의하며, 이는 온전한 항체의 파파인 분해에 의해 생성될 수 있다. Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 면

역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인인 C_{H2} 도메인 및 C_{H3} 도메인을 포함하고, 임의로 C_{H4} 도메인을 포함한다. 항체의 Fc 부분은 몇 가지 중요한 작동체(effector) 기능, 예를 들어, 사이토카인 유도, ADCC, 식균 작용(phagocytosis), 보체 의존성 세포 독성(complement dependent cytotoxicity, CDC), 및 항체 및 항원-항체 복합체 의 반감기/청소율(clearance rate)을 매개한다 (예를 들어, 신생아 FcR (FcRn)은 엔도솜 내의 산성 pH에서 IgG의 Fc 영역에 결합하고 IgG를 분해로부터 보호함으로써, IgG의 긴 혈청 반감기에 기여한다). 항체 작동체 기능을 변경시키기 위한 Fc 부분의 아미노산 잔기의 대체는 당해 기술분야에 알려져 있다 (참조, Winter et al., U.S. Patent No. 5,648,260 and 5,624,821).

[0063] "폴리뉴클레오티드"는 뉴클레오티드 단위로 구성된 고분자를 나타낸다. 폴리뉴클레오티드는 자연적으로 발생하는 핵산, 예를 들어 데옥시리보핵산 ("DNA") 및 리보핵산 ("RNA"), 및 핵산 유사체를 포함한다. 핵산 유사체는 자연적으로 발생하는 포스포디에스터 결합 이외의 다른 뉴클레오티드와 함께 결합에 관여하는 뉴클레오티드인 비-자연적으로 발생하는 염기들을 포함하는 것, 또는 포스포디에스터 결합 이외의 결합을 통해 결합된 염기들을 포함하는 것을 포함한다. 따라서, 뉴클레오티드 유사체는 제한 없이 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로트리에스터, 포스포라미데이트, 보라노포스페이트, 메틸포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2-O-메틸 리보뉴클레오티드, 펩티드-핵산 (PNAs) 등을 포함한다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 자동 DNA 합성기를 이용하여 합성될 수 있다. 용어 "핵산"은 일반적으로 커다란 폴리뉴클레오티드를 나타낸다. 용어 "올리고뉴클레오티드"는 일반적으로 약 50 이하의 뉴클레오티드인 짧은 폴리뉴클레오티드를 나타낸다. 뉴클레오티드 서열이 DNA 서열 (즉, A, T, G, C)에 의해 표시될 때, 이것은 "U"가 "T"를 대체하는 RNA 서열 (즉, A, U, G, C)을 포함하는 것도 이해될 것이다.

[0064] 본 명세서에서는 폴리뉴클레오티드 서열을 기재하는데 종래의 표기법이 사용된다: 단일-가닥 폴리뉴클레오티드 서열의 왼쪽 끝은 5'-끝이고; 이중-가닥 폴리뉴클레오티드 서열의 왼쪽 방향은 5'-방향으로 언급된다. 초기의 RNA 전사체에 대해 뉴클레오티드의 5'에서 3'로 첨가되는 방향을 전사 방향이라고 한다. mRNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥을 "코딩 가닥"이라고 하며; RNA 전사체의 5'-끝의 5'에 위치하는 그 DNA로부터 전사된 mRNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열은 "상류 서열(upstream sequences)"이라고 하고; 코딩 RNA 전사체의 3'-끝의 3'에 위치하는 RNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열은 "하류 서열(downstream sequences)"이라고 한다.

[0065] "상보적(Complementary)"은 2개의 폴리뉴클레오티드의 상호작용하는 표면의 위상학적 적합성(topological compatibility) 또는 일치(matching)를 함께 나타낸다. 따라서, 두 분자는 상보적으로 기재될 수 있으며, 또한 접촉 표면 특성은 서로 상보적이다. 만일 제 1 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 제 2 폴리뉴클레오티드의 결합 파트너인 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열과 실질적으로 동일하거나, 또는 제 1 폴리뉴클레오티드가 가혹한 혼성화 조건 하에 제 2 폴리뉴클레오티드와 혼성화할 수 있다면, 제 1 폴리뉴클레오티드는 제 2 폴리뉴클레오티드에 대해 상보적이다.

[0066] "특이적으로 혼성화하는(Hybridizing specifically to)" 또는 "특이적 혼성화(specific hybridization)" 또는 "선택적으로 혼성화하는(selectively hybridize to)"은, 서열이 DNA 또는 RNA의 복합체 혼합물 (예를 들어, 총 세포) 내에 존재할 때 가혹한 조건 하에서 특정 뉴클레오티드 서열에 우선적으로 핵산 분자를 결합, 이중화(duplexing), 또는 혼성화 하는 것을 나타낸다. 용어 "가혹한 조건"은 프로브가 이의 표적 서열에 대해 우선적으로 혼성화하고, 다른 서열에 대해서는 보다 적게, 또는 전혀 혼성화하지 않는 조건을 나타낸다. 서던 혼성화 및 노던 혼성화와 같은 핵산 혼성화 실험의 맥락에서 "가혹한 혼성화" 및 "가혹한 혼성화 세척 조건"은 서열-의 존적이고, 상이한 환경 매개변수에 따라 상이하다. 핵산의 혼성화에 대한 광범위한 안내는 하기 문헌에서 확인될 수 있다: Tijssen, 1993, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Acid Probes, part I, chapter 2, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays", Elsevier, N.Y.; Sambrook et al., 2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 3.sup.rd ed., NY; and Ausubel et al., eds., Current Edition, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, NY.

[0067] 일반적으로, 매우 가혹한 혼성화 및 세척 조건은 규정된 이온 강도 및 pH에서 특정 서열에 대한 열 융점(T_m)보다 약 5°C 낮은 것으로 선택된다. T_m은 표적 서열의 50%가 완전히 일치하는 프로브에 혼성화하는 (규정된 이온 강도 및 pH 하에서의) 온도이다. 매우 가혹한 조건은 특정 프로브에 대한 T_m과 같은 것으로 선택된다. 서던 블롯 또는 노던 블롯에서 여과기 상의 약 100개 이상의 상보적 잔기를 가지는 상보적 핵산의 혼성화에 대한 가혹한 혼성화 조건의 예는, 42°C에서 1mg의 해파린이 있는 50% 포르말린이고, 혼성화는 밤새도록 수행된다. 매우

가혹한 세척 조건의 예는 약 15분 동안 72℃에서 0.15 M NaCl 이다. 가혹한 세척 조건의 예는 15분 동안 65℃에서 0.2 x SSC 세척이다. SSC 완충액의 설명을 위해 Sambrook et al. 참조. 높은 가혹한 세척은 낮은 가혹한 세척에 선행되어 배경 프로브 신호를 제거할 수 있다. 예를 들어, 약 100 이상의 뉴클레오타이드의 이중나선(duplex)에 대한 예시적인 중간 가혹한 세척은, 15분 동안 45℃에서 1 x SSC 이다. 예를 들어, 약 100 이상의 뉴클레오타이드의 이중나선에 대한 예시적인 낮은 가혹한 세척은, 15분 동안 40℃에서 4-6 x SSC 이다. 일반적으로, 특정 혼성화 분석에서 관련없는 프로브에 대해 관찰된 것보다 2 x (또는 그 이상)의 신호 대 노이즈 비는 특정 혼성화의 검출을 나타낸다.

[0068] "프라이머"는 지정된 폴리뉴클레오타이드 주형에 특이적으로 혼성화할 수 있고 상보적 폴리뉴클레오타이드의 합성을 위한 개시점을 제공할 수 있는 폴리뉴클레오타이드를 나타낸다. 이러한 합성은 폴리뉴클레오타이드 프라이머가 합성이 유도되는 조건 하에 놓여있을 때, 즉 뉴클레오타이드, 상보적 폴리뉴클레오타이드 주형, 및 DNA 폴리머라제와 같은 중합화제의 존재 하에서 발생한다. 프라이머는 일반적으로 단일-가닥이지만, 이중-가닥일 수도 있다. 프라이머는 일반적으로 테옥시리보핵산이지만, 다양한 합성 및 자연적으로 발생하는 프라이머는 많은 적용에서 유용하다. 프라이머는 합성의 개시 부위로서 작용하기 위해 혼성화하도록 설계된 주형에 대해 상보적이지만, 주형의 정확한 서열을 반영할 필요는 없다. 이러한 경우, 주형에 대한 프라이머의 특이적 혼성화는 혼성화 조건의 가혹함에 의존한다. 프라이머는 발색(chromogenic) 부분, 방사성(radioactive) 부분, 또는 형광(fluorescent) 부분으로 표지될 수 있으며, 검출가능한 부분으로서 사용될 수 있다.

[0069] "프로브"는 폴리뉴클레오타이드와 관련하여 사용될 때, 다른 폴리뉴클레오타이드의 지정된 서열에 특이적으로 혼성화할 수 있는 폴리뉴클레오타이드를 나타낸다. 프로브가 표적 상보적 폴리뉴클레오타이드에 특이적으로 혼성화하지만, 주형의 정확한 상보적 서열을 반영할 필요는 없다. 이러한 경우, 표적에 대한 프라이머의 특이적 혼성화는 혼성화 조건의 가혹함에 의존한다. 프로브는 발색 부분, 방사성 부분, 또는 형광 부분으로 표지될 수 있으며, 검출가능한 부분으로서 사용될 수 있다. 프로브가 상보적 폴리뉴클레오타이드의 합성을 위한 개시점을 제공하는 경우, 프로브는 또한 프라이머일 수 있다.

[0070] "벡터"는 이것에 결합된 다른 핵산을 세포 내로 도입하는데 사용될 수 있는 폴리뉴클레오타이드이다. 하나의 유형의 벡터는 "플라스미드"이고, 추가의 핵산 절편(segments)이 결합(ligated)될 수 있게 선형 또는 원형 이중 가닥 DNA 분자를 나타낸다. 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터(예를 들어, 복제 결여 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스)이고, 여기서 추가의 DNA 절편은 바이러스 게놈으로 도입될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자동 복제(autonomous replication)를 할 수 있다(예를 들어, 세균성 복제 기원(origin of replication)을 포함하는 세균 벡터 및 에피솜 포유류 벡터(episomal mammalian vectors)). 기타 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포 내로 도입될 때 숙주 세포의 게놈에 통합되어 숙주 게놈과 함께 복제된다. "발현 벡터"는 선택된 폴리뉴클레오타이드의 발현을 지시할 수 있는 벡터의 유형이다.

[0071] "조절 서열(regulatory sequence)"은 작동가능하게 연결된 핵산의 발현(예를 들어, 발현의 수준, 시기, 또는 위치)에 영향을 주는 핵산이다. 조절 서열은 조절된 핵산에 직접, 또는 하나 이상의 다른 분자(예를 들어, 조절 서열 및/또는 핵산에 결합하는 폴리펩티드)의 작용을 통해 이의 효과를 발휘할 수 있다. 조절 서열의 예는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 조절 요소(예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함한다. 조절 서열의 다른 예는, 예를 들어, Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. and Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-06에 기재되어 있다. 조절 서열이 뉴클레오타이드 서열의 발현(예를 들어, 발현의 수준, 시기, 또는 위치)에 영향을 주는 경우, 뉴클레오타이드 서열은 조절 서열에 "작동가능하게 연결된다".

[0072] "숙주 세포"는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 발현하는데 사용될 수 있는 세포이다. 숙주 세포는 원핵생물, 예를 들어, *E. coli* 일 수 있거나, 또는 진핵생물, 예를 들어, 단일-세포 진핵생물(예를 들어, 효모 또는 다른 균류), 식물 세포(예를 들어, 담배 또는 토마토 식물 세포), 동물 세포(예를 들어, 인간 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 랫트 세포, 마우스 세포, 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마일 수 있다. 일반적으로, 숙주 세포는 폴리펩티드-인코딩 핵산으로 형질전환되거나 또는 형질감염된 다음, 숙주 세포에서 발현될 수 있는 배양된 세포이다. 문구 "제조함 숙주 세포"는 발현되는 핵산으로 형질전환되거나 또는 형질감염된 숙주 세포를 나타내기 위해 사용될 수 있다. 또한, 숙주 세포는 핵산을 포함하나 조절 서열이 핵산과 함께 작동가능하게 연결되도록 숙주 세포 내로 도입되지 않으면, 원하는 수준에서 이를 발현하지 않는 세포일 수 있다. 용어 숙주 세포는 특정 대상 세포 뿐만 아니라 이러한 세포의 자손 또는 잠재적인 자손을 나타내는 것으로 이해된다. 어떤 변형은 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 다음 세대(succeeding generations)에서 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 사실상 부모 세포와 동일하지 않을 수 있으나, 본 명세서에서 사용된 용어의 범위 내에 여전히 포함

된다.

[0073] 용어 "분리된 분자(isolated molecule)" (여기서 분자는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이다)는 이의 유래의 기원 또는 근원에 의하여 (1) 이의 원래 상태에서 동반되는 자연적으로 결합된 성분과 관련이 없고, (2) 동일한 종으로부터 다른 분자가 실질적으로 없으며, (3) 다른 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나, 또는 (4) 자연에서 발생하지 않는 분자이다. 따라서, 화학적으로 합성되거나, 또는 자연적으로 유래한 세포와 다른 세포 시스템에서 발현되는 분자는, 이의 자연적으로 결합된 성분으로부터 "분리될" 것이다. 또한, 분자는 당해 기술분야에서 잘 알려진 정제 기술을 이용하여 분리함으로써 자연적으로 결합된 성분이 실질적으로 존재하지 않게 할 수 있다. 분자 순도 또는 균질성은 당해 기술분야에서 잘 알려진 많은 방법에 의해 분석될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드 시료의 순도는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 및 겔의 염색을 이용하여 분석함으로써, 당해 기술분야에서 잘 알려진 기술을 이용하여 폴리펩티드를 시각화할 수 있다. 특정 목적을 위해, HPLC 또는 정제를 위한 당해 기술분야에서 잘 알려진 다른 방법을 이용하여 더 높은 해상도를 제공할 수 있다.

[0074] 시료의 적어도 약 60% 내지 75%가 단일 종의 폴리펩티드를 나타낼 때, 단백질 또는 폴리펩티드는 "실질적으로 순수한", "실질적으로 균질한", 또는 "실질적으로 정제된"이다. 폴리펩티드 또는 단백질은 단량체 또는 다량체일 수 있다. 실질적으로 순수한 폴리펩티드 또는 단백질은 일반적으로 단백질 시료의 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% W/W, 보다 일반적으로는 약 95%를 포함할 것이고, 바람직하게는 99% 이상 순수할 것이다. 단백질 순도 또는 균질성은 당해 기술분야에서 잘 알려진 많은 방법, 예를 들어 단백질 시료의 폴리아크릴아미드 겔 전기영동한 다음, 당해 기술분야에서 잘 알려진 염색으로 겔을 염색하자마자 단일 폴리펩티드 밴드를 시각화하여 나타낼 수 있다. 특정 목적을 위해, HPLC 또는 정제를 위한 당해 기술분야에서 잘 알려진 다른 방법을 이용하여 더 높은 해상도를 제공할 수 있다.

[0075] "링커"는 공유 결합, 또는 이온 결합, 반데르발스 결합 또는 수소 결합을 통해 2개의 다른 분자, 예를 들어 5' 끝에서 하나의 상보적 서열 및 3' 끝에서 다른 상보적 서열에 혼성화하는 핵산 분자를 연결함으로써 2개의 비-상보적 서열을 연결하는 분자를 나타낸다. "절단형 링커"는 절단형 링커에 의해 연결된 2개의 성분을 분리하기 위해 분해되거나 또는 그 반대로 절단될 수 있는 링커를 나타낸다. 절단형 링커는 일반적으로 효소, 전형적으로 펩티다제, 프로테아제, 뉴클레아제, 리파제 등에 의해 절단된다. 절단형 링커는 환경 단서(environmental cues), 예를 들어, 온도, pH, 염 농도의 변화 등에 의해서 절단될 수도 있다.

[0076] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "표지" 또는 "표지된"은 항체 내에 다른 분자의 혼입을 나타낸다. 일 실시예에서, 표지는 검출가능한 마커, 예를 들어, 방사성 표지된 아미노산의 혼입 또는 표지된 아비딘에 의해 검출될 수 있는 비오티닐 부분의 폴리펩티드 (예를 들어, 광학적 방법 또는 비색법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소 활성을 함유하는 스트렙타비딘)에의 결합이다. 다른 실시예에서, 표지 또는 마커는 치료제, 예를 들어, 약물 접합체 또는 독소일 수 있다. 폴리펩티드 및 당단백질을 표지하는 다양한 방법이 당해 기술분야에 알려져 있으며, 사용될 수 있다. 폴리펩티드에 대한 표지의 예로는, 방사성 동위원소 또는 방사성 핵종(radionuclides) (예를 들어, ³H, ¹⁴C, ¹⁵N, ³⁵S, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I), 형광 표지 (예를 들어, FITC, 로다민, 란타니드 인광체(lanthanide phosphors)), 효소 표지 (e.g., 호스레디쉬 퍼옥시다제, β-갈락토시다제, 루시페라제, 알칼리성 포스파타제), 화학발광 마커(chemiluminescent markers), 비오티닐 기, 제 2 리포터에 의해 인식되는 미리결정된 폴리펩티드 에피토프 (예를 들어, 류신 지퍼 쌍 서열(leucine zipper pair sequences), 2차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그), 자성 제제 (예를 들어, 가돌리늄 킬레이트), 독소 (예를 들어, 백일해 독소(pertussis toxin), 탁솔, 시토칼라신 B(cytochalasin B), 그라미시딘 D(gramicidin D), 에티디움 브로마이드(ethidium bromide), 에메틴 (emetine), 미토마이신, 에토포시드(etoposide), 테노포시드(tenoposide), 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드로록시 안트라신 디온(dihydroxy anthracin dione), 미토잔트론(mitoxantrone), 미트라마이신(mithramycin), 악티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론(1-dehydrotestosterone), 글루코코르티코이드(glucocorticoids), 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤(propranolol), 및 퓨로마이신과 이들의 유사체 또는 동족체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일 실시예에서, 표지는 잠재적인 입체 장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 아암(spacer arms)에 의해 결합된다.

[0077] "약학 조성물"은 동물에서의 약학 용도에 적합한 조성물을 나타낸다. 약학 조성물은 약리학적 유효량의 활성제 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함한다. "약리학적 유효량"은 의도된 약리학적 결과를 생성하는데 효과적인 물질의 양을 나타낸다. "약학적으로 허용가능한 담체"는 임의의 표준 약학적 담체, 비히클, 완충액, 및 부형제, 예를 들어 인산염 완충 식염수 용액(phosphate buffered saline solution), 5% 텍스트로오스 수용액, 및 에멀

전, 예를 들어 유/수 또는 수/유 에멀전, 및 다양한 유형의 습윤제 및/또는 보조제를 나타낸다. 적당한 약학적 담체 및 제형은 Remington's Pharmaceutical Sciences, 21st Ed. 2005, Mack Publishing Co, Easton에 기재되어 있다. "약학적으로 허용가능한 염"은 금속염 (나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등) 및 암모니아 또는 유기 아민의 염을 포함하여 약학 용도의 화합물로 제형화될 수 있는 염이다.

[0078] 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 생물학적 장애 및/또는 적어도 하나의 이의 수반되는 증상을 완화시키거나 또는 저지시키는 방법을 나타낸다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 질환, 장애 또는 질병을 "완화시키다"는 질환, 장애 또는 질병의 증상의 중증도 및/또는 발생 빈도를 감소시키는 것을 의미한다. 또한, 본 명세서에서 "치료"는 치유적(curative), 완화적(palliative) 및 예방적(prophylactic) 치료를 포함한다.

[0079] 본 명세서에 기재된 개시 내용의 측면 및 변화는 측면 및 변화의 "이루어지는" 및/또는 "본질적으로 이루어지는"을 포함하는 것으로 이해된다.

[0080] 본 명세서에서 "약(about)"에 관한 값 또는 매개변수는 그 값 또는 매개변수 자체에 관한 변화를 포함하고 기재한다. 예를 들어, "약 X"를 나타내는 기재는 "X"의 기재를 포함한다.

[0081] 본 명세서 및 첨부된 청구항에 사용된 바와 같이, 문맥에 달리 명시되어 있지 않는 한, 단수형 "a," "or" 및 "the"는 복수를 포함할 것이다.

[0082] 액티빈 수용체 폴리펩티드

[0083] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 액티빈 제 II 형 B 수용체 (ActRIIB)는 등록 번호 NP_001097.2를 갖는 인간 액티빈 수용체 (본 명세서에서 서열번호: 45), 및 이의 변이체를 나타낸다. 용어 "야생형 ActRIIB-ECD"는 서열번호: 45의 아미노산 1 내지 134 (신호 서열과 함께), 또는 아미노산 19 내지 134 (신호 서열 없이)인 ActRIIB의 세포외 도메인을 나타낸다 (본 명세서에서 서열번호: 46이라고 함). 용어 액티빈 제 II 형 A 수용체 (ActRIIA)는 등록 번호 UniProtKB/Swiss-Prot P27037.1을 갖는 인간 액티빈 수용체 (본 명세서에서 서열번호: 47), 및 이의 변이체를 나타낸다. 용어 "야생형 ActRIIA-ECD"는 서열번호: 46의 아미노산 1 내지 135 (신호 서열과 함께), 또는 아미노산 20 내지 135 (신호 서열 없이)인 ActRIIA의 세포외 도메인을 나타낸다 (본 명세서에서 서열번호: 48이라고 함).

[0084] 가용성 하이브리드 ActRIIB 폴리펩티드

[0085] 본 발명은 야생형 ActRIIB-ECD 및 야생형 ActRIIA-ECD로부터 유래된 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 제공한다. 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드는 아미노산 수준에서 2개의 절단된 ActRII ECD 도메인 사이의 서열 정렬에 기초한 상응하는 위치에서 절단된 야생형 ActRIIB-ECD의 하나 이상의 아미노산을 절단된 야생형 ActRIIA-ECD의 아미노산으로 대체함으로써 특이적으로 조작된다. 하나 이상의 아미노산 대체는 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9-중화의 현저한 감소를 나타내는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 제공하기 위한 목적으로 구체적으로 선택되는 반면, 강한 미오스타틴-중화 및 액티빈 A-중화를 충분히 유지한다.

[0086] 다양한 실시예에서, 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 제조에 사용되는 절단된 ActRIIB의 세포외 도메인은 서열번호: 1에 제시된 110개의 아미노산 서열을 가진다:

[0087] ETRECIYYNANWELERTNQSLGERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLWDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY EPPPTAPT (서열번호: 1)

[0088] 다양한 실시예에서, 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 제조에 사용되는 절단된 ActRIIA의 세포외 도메인은 서열번호: 2에 제시된 110개의 아미노산 서열을 가진다:

[0089] ETQECLFFNANWEKDRNTQTVGEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVTTQPTS NPVTPKPP (서열번호: 2)

[0090] 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, L48, Y36, S38, R40, S42, T45, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, 또는 T110 중 적어도 하나는 야생형 ActRIIA-ECD 서열의 상응하는 위치의 아미노산으로 치환되며 (서열번호: 2), 상기 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형

ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다.

- [0091] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0092] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 4의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0093] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 5의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0094] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 6의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, 및 N72는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0095] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 7의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Q64, E65, A68, T69, E70, E71, 및 N72는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0096] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 8의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0097] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 A68, T69, E70, E71, N72 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0098] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 A68, T69, E70, E71, 및 N72는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0099] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 F58, A68, T69, E70, E71, N72, 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0100] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, 및 F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0101] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 13의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 A68, T69, E70, E71, N72, Q74, 및 F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0102] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, 및 L33는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0103] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, L14, E15, S20, L22, 및 R24는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0104] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, 및 L33는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0105] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함하고,

여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L14, E15, S20, L22, 및 R24는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

- [0106] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, L14, E15, S20, L22, 및 R24는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0107] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, L14, E15 및 S20는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0108] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, L14, 및 E15는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0109] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 21의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L14 및 E15는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0110] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 22의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기 R3는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기로 대체되었다.
- [0111] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 23의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y36, S38, 및 K51은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0112] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 24의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, 및 F58은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0113] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 25의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기 E70은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기로 대체되었다.
- [0114] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 26의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기 F58은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기로 대체되었다.
- [0115] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 F58 및 E70은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0116] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28, Q29, F58, 및 E70은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0117] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28, F58, 및 E70은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0118] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28 및 E70은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0119] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 31의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기 E28은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기로 대체되었다.
- [0120] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, A68, T69, E70, E71, N72, 및 Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0121] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하고,

여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, 및 R24는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

- [0122] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y36, S38, R40, S42, T45, 및 K51은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0123] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 35의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Q64 및 E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0124] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 36의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기 F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기로 대체되었다.
- [0125] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28 및 F58은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0126] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 51의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26, E28, Q29, L33은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0127] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0128] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 53의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0129] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0130] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26, E28, Q29, L33은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0131] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0132] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0133] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0134] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0135] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

- [0136] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 61의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0137] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0138] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0139] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0140] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0141] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, E26, E28, Q29, L33, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0142] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 67의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, E26, E28, Q29, L33, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0143] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0144] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 69의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0145] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0146] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 71의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0147] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 72의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 I6, Y7, Y8, L14, E15, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0148] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 73의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0149] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 74의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, K51, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.
- [0150] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 75의 아미노산 서열을 포함하고,

여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, L48, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0151] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 76의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, T45, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0152] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, T45, L48, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0153] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 78의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, T45, L48, K51, Q64, E65는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0154] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 79의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Q64, E65, F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0155] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 80의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R88, T90, H91, L92, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0156] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 81의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0157] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 82의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, F58, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, R88, T90, H91, L92, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0158] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 83의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, Q64, E65, A68, T69, E70, E71, N72, Q74, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0159] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 84의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0160] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 85의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, K51, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0161] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 86의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, L48, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0162] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 87의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, T45, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0163] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 88의 아미노산 서열을 포함하고,

여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, T45, L48, K51, T69, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0178] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 103의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 Q29, L48, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0179] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 104의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, L33, Q70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0180] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 105의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L33, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0181] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 106의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, T45, L48, Q64, E65, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0182] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 107의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L33, T45, T69, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0183] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 108의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L33, L48, T69, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0184] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 109의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L33, T45, L48, E70, R88, T90, H91, L92, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0185] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 110의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28, L48, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0186] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 111의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28, T45, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0187] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 112의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0188] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 113의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 L48, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0189] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 114의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102,

E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0190] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 115의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E28, L48, T79, E70, R88, T90, H91, L92, E94, A95, G96, G97, P98, E99, V100, Y102, E103, P105, P106, T107, A108, T110은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0191] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 116의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 R3, I6, Y7, Y8, L14, E15, S20, L22, R24, E26, E28, Q29, L33, Y36, S38, R40, S42, T45, L48, K51, F58, Q64, E65, A68, T69, E71, N72, Q74, F84는 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0192] 다양한 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 서열번호: 117의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열번호: 1의 아미노산 잔기들 E26, E28, Q29, L33, F56, E68은 서열번호: 2의 상응하는 위치의 아미노산 잔기들로 대체되었다.

[0193] 이중 단백질 - Fc 도메인

[0194] 다른 측면에서, 하이브리드 ActRII 리간드 트랩은 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 및 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 직접 또는 링커 서열을 통해 결합된 적어도 하나의 이중 단백질을 포함하여 본 명세서에서 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩이라고 하는 융합 단백질을 형성한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "융합 단백질"은 재조합 DNA 기술을 통해 결합된 이중 폴리펩티드를 갖는 단백질을 나타낸다. 다양한 실시예에서, 이중 단백질은 폴리히스티딘 태그, Glu-Glu, 글루타치온 S 트랜스퍼라제 (GST), 티오레독신, 단백질 A, 단백질 G, 형광 단백질, 말토오스 결합 단백질 (MBP), 인간 혈청 알부민 또는 Fc 폴리펩티드 또는 Fc 도메인으로부터 선택되나, 이에 한정되지 않는다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 인간 IgG Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 38에 제시된 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 서열로부터 유래된다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 39에 제시된 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 40에 제시된 인간 IgG2 중쇄 불변 도메인 서열로부터 유래된다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 42에 제시된 인간 IgG4 중쇄 불변 도메인 서열로부터 유래된다. 다양한 실시예에서, Fc 도메인은 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다.

[0195] 링커

[0196] 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 임의로 "링커" 또는 "힌지 링커" 서열을 더 포함할 수 있다. 링커는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드와 이중 단백질 또는 다른 유형의 융합체 사이 또는 2 이상의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 사이의 스페이서로서 주로 작용한다. 다양한 실시예에서, 이중 단백질은 링커 또는 힌지 링커 펩티드에 의해 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 결합된다. 링커 및/또는 힌지 링커는 상대적으로 2차 구조가 없는 5, 10, 15, 20, 30, 40 또는 그 이상의 아미노산의 인공 서열일 수 있다. 다양한 실시예에서, 링커는 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민, 및 리신으로부터 선택된 아미노산을 포함한다. 다양한 실시예에서, 링커는 글리신 및 알라닌과 같이 입체적 장애(sterically unhindered)이고, 폴리글리신 (특히, (Gly)₅, (Gly)₈), 폴리(Gly-Ala), 및 폴리알라닌인 다수의 아미노산으로 구성되어 있다. 다양한 실시예에서, 링커는 G/S 함량이 풍부하다 (예를 들어, 링커 내 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 그 이상의 아미노산은 G 또는 S이다). 다양한 실시예에서, 링커는 (GGGS (서열번호: 44))_n 모티프 (여기서, n = 1-6)를 가진다. 이러한 링커 및 힌지 링커는 당해 기술분야에서 광범위하게 기재되어 있다 (참조, US 8,410,043 (Sun et al), 이러한 링커를 교시하기 위한 목적으로 본 명세서에 참조로 포함된다). 다양한 실시예에서, 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 갖는 링커 및 서열번호: 118에 제시된 아미노산 서열을 갖는 힌지 링커를 사용하여, 본 발명의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 인간 IgG1 Fc (서열번호: 39) 또는 인간 IgG4 Fc (서열번호: 43)를 결합한다.

[0197] 링커는 비-펩티드 링커일 수도 있다. 예를 들어, 알킬 링커 (예를 들어, --NH--(CH₂)_s--C(O)--, 여기서 s = 2-20)가 사용될 수 있다. 이들 알킬 링커는 저급 알킬 (예를 들어, C₁-C₆), 저급 아실, 할로젠 (예를 들어, Cl, Br), CN, NH₂, 페닐 등과 같은 임의의 비-입체 장애 기에 의해 더 치환될 수 있다.

[0198] 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 분자 배열

[0199] 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 상이한 요소는 원하는 기능성과 일치하는 임의의 방식으로 배열될 수 있는 것으로 이해된다. 예를 들어, 이중 단백질은 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 C-말단에 놓일 수 있거나, 또는 대안적으로 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 이중 도메인의 C-말단에 놓일 수 있다. 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 도메인 및 이중 도메인은 인접 할 필요가 없고, 추가 도메인 또는 아미노산 서열은 어느 하나의 도메인 또는 도메인 사이의 C-말단 또는 N-말단에 포함될 수 있다 (즉, 본 명세서에 기재된 링커를 포함한다). 신규한 ActRIIB 리간드 트랩의 예시적인 분자 배열은 도 1에 나타내었다.

[0200] 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩을 인코딩하는 합성 DNA 카세트의 예시적인 배열은 일반적으로 하기 요소를 포함하는 것으로 기재될 수 있다: 1) ActRIIB의 천연 신호 펩티드 (예를 들어, 서열번호: 49) 또는 분비된 단백질의 처리 및 분비를 매개할 수 있는 임의의 대리 신호 펩티드일 수 있는 N-말단에 위치한 신호 펩티드 (또는 리더 서열) (예를 들어, 대리 신호 펩티드로서 인간 면역글로불린 경쇄 리더 서열 (서열번호: 50)을 사용함으로써, CHO 세포에서의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 효율적인 분비가 달성될 수 있다); 2) 신호 펩티드 서열에 융합된 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 서열 (예를 들어, 서열번호: 3-37 또는 51-117 중 어느 하나); 3) 펩티드 링커 서열 (예를 들어, 서열번호: 44) 및 힌지 링커 서열 (서열번호: 118), 및 4) 펩티드/힌지 링커에 의해 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 서열에 융합된 Fc 도메인 (예를 들어, 서열번호: 39, 41 또는 43).

[0201] 본 발명의 다양한 실시예의 예는 도 2에 기재된 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

II 2

[illegible]

[0202]

서열번호: 66	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 67	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 68	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 69	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 70	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 71	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 72	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 73	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 74	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 75	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 76	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 77	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 78	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 79	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 80	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 81	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 82	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 83	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 84	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 85	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 86	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 87	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 88	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 89	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 90	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 91	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 92	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 93	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 94	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 95	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 96	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 97	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 98	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 99	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 100	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 101	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 102	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 103	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 104	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 105	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 106	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 107	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 108	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 109	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 110	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 111	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 112	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 113	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 114	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 115	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 116	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50
서열번호: 117	서열번호: 44 또는 118	서열번호: 39 또는 41 또는 43	서열번호: 49 또는 50

[0203]

[0204]

폴리뉴클레오티드

[0205]

다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 분리된 핵산 분자를 제공한다. 대상 핵산은 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있다. 이러한 핵산은 DNA 분자 또는 RNA 분자일 수 있다. DNA는 예를 들어, cDNA, 게놈 DNA, 합성 DNA, PCR에 의해 증폭된 DNA, 및 이들의 조합을 포함한다. ActRIIB 폴리뉴클레오티드를 인코딩하는 게놈 DNA는 다수의 종에서 이용 가능한 게놈 라이브러리로부터 얻어진다. 합성 DNA는 중첩 올리고뉴클레오티드 단편의 화학 합성에 이어 코딩 부분 및 측면 서열(flanking sequences)의 일부 또는 전부를 재구성하기 위한 단편의 집합체에 의해 이용 가능하다. RNA는 mRNA의 고수준 합성을 지시하는 원핵 생물 발현 벡터, 예를 들어 T7 프로모터 및 RNA 폴리머라제를 이용한 벡터로부터 얻을 수 있다. cDNA는 ActRIIB를 발현하는 다양한 조직으로부터 분리된 mRNA로부터 제조된 라이브러리로부터 얻어진다. 본 발명의 DNA 분자는 전장 유전자, 및 폴리뉴클레오티드 및 이의 단편을 포함한다. 전장 유전자는 N-말단 신호 서열을 인코딩하는 서열을 포함할 수도 있다.

[0206]

이러한 핵산은 신규한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 제조 방법에서 사용될 수 있다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형

ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 폴리펩티드 서열 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하고, 여기서 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 다양한 실시예에서, 본 발명의 핵산 서열은 이중 뉴클레오티드 서열과 함께 또는 DNA 라이브러리 내에서 분리, 제조 및/또는 융합될 수 있다.

[0207] 다양한 실시예에서, 본 발명은 가혹한 조건 또는 적당한 조건 하에서 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드의 폴리펩티드-인코딩 영역과 혼성화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 인코딩된 폴리펩티드는 서열번호: 3-37 또는 51-117에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 인코딩된 폴리펩티드는 미오스타틴 및 액티빈 A를 결합할 수 있으나, 야생형 ActRIIB-ECD 폴리펩티드에 비해 BMP9에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 당업자는 DNA 혼성화를 촉진시키는 적당한 가혹한 조건이 다양할 수 있다는 것을 쉽게 이해할 것이다. 예를 들어, 당업자는 약 45℃에서 6.0 X 염화나트륨/시트르산나트륨 (SSC)에서 혼성화를 수행한 다음, 50℃에서 2.0 X SSC로 세척할 수 있다. 예를 들어, 세척 단계에서 염 농도는 50℃에서 약 2.0 X SSC의 낮은 가혹한 조건으로부터 50℃에서 약 0.2 X SSC의 높은 가혹한 조건까지 선택될 수 있다. 또한, 세척 단계에서 온도는 실온, 약 22℃에서의 낮은 가혹한 조건으로부터 약 65℃에서의 높은 가혹한 조건까지 선택될 수 있다. 온도와 염 농도 모두 변화될 수 있거나, 또는 온도 또는 염 농도가 일정하게 유지될 수 있는 반면, 다른 변수가 변화된다. 일 실시예에서, 본 발명은 실온에서 6 X SSC의 낮은 가혹한 조건 하에서 혼성화한 다음, 실온에서 2 X SSC로 세척하는 핵산을 제공한다.

[0208] 다양한 실시예에서, 분리된 핵산 분자는 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 이중 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 더 포함한다. 다양한 실시예에서, 핵산 분자는 본 명세서에 기재된 링커 또는 힌지 링커를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 더 포함한다.

[0209] 다양한 실시예에서, 본 발명의 재조합 핵산은 발현 구조체에서 하나 이상의 조절 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 조절 서열은 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 발현을 지시하도록 선택된다. 따라서, 용어 조절 서열은 프로모터, 인핸서 및 기타 발현 조절 요소를 포함한다. 예시적인 조절 서열은 [Goeddel; Gene Expression Technology: Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)]에 기재된다. 일반적으로, 상기 하나 이상의 조절 뉴클레오티드 서열은 프로모터 서열, 리더 또는 신호 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 시작 및 종결 서열, 번역 시작 및 종결 서열, 및 인핸서 또는 활성제 서열을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 당해 기술분야에서 알려진 항시성 프로모터 또는 유도성 프로모터가 본 발명에 의해 고려된다. 프로모터는 자연적으로 발생하는 프로모터 또는 하나 이상의 프로모터의 요소를 결합하는 하이브리드 프로모터일 수 있다. 발현 구조체는 예피솜, 예를 들어 플라스미드 상의 세포에 존재할 수 있거나, 또는 발현 구조체는 염색체에 삽입될 수 있다. 다양한 실시예에서, 발현 벡터는 형질전환된 숙주 세포의 선택을 허용하는 선택가능한 마커 유전자를 함유한다. 선택가능한 마커 유전자는 당해 기술분야에서 잘 알려져 있으며, 사용된 숙주 세포에 따라 변할 것이다.

[0210] 본 발명의 다른 측면에서, 대상 핵산은 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고 적어도 하나의 조절 서열에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터에서 제공된다. 용어 "발현 벡터"는 폴리뉴클레오티드 서열로부터 폴리펩티드를 발현하기 위한 플라스미드, 파지, 바이러스 또는 벡터를 나타낸다. 숙주 세포에서의 발현에 적합한 벡터는 용이하게 이용 가능하며, 핵산 분자는 표준 재조합 DNA 기술을 이용하여 벡터에 삽입된다. 이러한 벡터는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA 서열을 발현시키기 위해 이들 벡터에서 이것에 작동 가능하게 연결된 것이 사용될 때 DNA 서열의 발현을 조절하는 광범위한 발현 조절 서열을 포함할 수 있다. 이러한 유용한 발현 조절 서열은, SV40의 초기 및 후기 프로모터, tet 프로모터, 아데노바이러스 또는 거대세포바이러스(cytomegalovirus) 극초기(immediate early) 프로모터, RSV 프로모터, lac 시스템, trp 시스템, TAC 또는 TRC 시스템, T7 프로모터의 발현이 T7 RNA 폴리머라제에 의해 지시되는 T7 프로모터, 파지 람다의 주요 작동자(operator) 및 프로모터 영역, fd 코트 단백질의 조절 영역, 3-포스

포글리세레이트 키나제 또는 기타 해당 효소(glycolytic enzymes)의 프로모터, 산 포스포타제 (예를 들어, PhoS)의 프로모터, 효모 α -교배 인자의 프로모터, 배콜로바이러스 시스템의 다면체 프로모터 및 원핵 세포 또는 진핵 세포 또는 이의 바이러스의 유전자의 발현을 조절하는 것으로 알려진 기타 서열, 및 이들의 다양한 조합을 포함한다. 발현 벡터의 설계는 형질전환될 숙주 세포의 선택 및/또는 발현되기를 원하는 단백질의 유형과 같은 인자에 의존할 수 있음을 이해하여야 한다. 또한, 벡터의 복제 수, 복제 수를 조절하는 능력, 및 벡터에 의해 인코딩된 다른 단백질, 예를 들어 항생제 마커의 발현도 고려되어야 한다. vActRIIB의 발현에 적합한 예시적인 발현 벡터는 vActRIIB 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 pDSR α (본 명세서에 참조로 포함된 WO 90/14363에 기재됨) 및 이의 유도체, 및 당해 기술분야에서 알려지거나 또는 하기에 기재된 임의의 추가의 적당한 벡터이다.

[0211] 본 발명의 재조합 핵산은 복제된 유전자, 또는 이의 일부를 원핵 세포, 진핵 세포 (효모, 조류, 곤충 또는 포유류), 또는 둘 다에서 발현에 적합한 벡터 내로의 결합에 의해 제조될 수 있다. 재조합 ActRIIB 폴리펩티드의 제조를 위한 발현 비히클은 플라스미드 및 다른 벡터를 포함한다. 예를 들어, 적합한 벡터는 하기 유형의 플라스미드를 포함한다: pBR322-유래 플라스미드, pEMBL-유래 플라스미드, pEX-유래 플라스미드, pBTac-유래 플라스미드 및 *E. coli*와 같은 원핵 세포에서의 발현을 위한 pUC-유래 플라스미드.

[0212] 일부 포유류 발현 벡터는 박테리아에서 벡터의 증식을 촉진시키는 원핵 생물 서열 및 진핵 세포에서 발현되는 하나 이상의 진핵 생물 전사 단위를 모두 포함한다. pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo 및 pHyg 유래 벡터는 진핵 세포의 형질감염에 적합한 포유류 발현 벡터의 예이다. 이들 벡터 중 일부는 pBR322와 같은 박테리아 플라스미드로부터의 서열로 변형되어 원핵 세포 및 진핵 세포 모두에서 복제 및 약물 내성 선택을 용이하게 한다. 대안적으로, 소 유두종 바이러스(bovine papilloma virus, BPV-1) 또는 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus) (pHEBo, pREP-유래 및 p205)와 같은 바이러스의 유도체는 진핵 세포에서 단백질의 일과성 발현에 사용될 수 있다. 기타 바이러스성 (레트로바이러스 포함) 발현 시스템의 예는 하기의 유전자 치료 전달 시스템의 설명에서 확인될 수 있다. 플라스미드의 제조 및 숙주 유기체의 형질전환에 사용되는 다양한 방법은 당해 기술분야에서 잘 알려져 있다. 원핵 세포 및 진핵 세포에 대한 다른 적합한 발현 시스템 및 일반적인 재조합 절차에 대해서는 [Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) Chapters 16 and 17]를 참조한다. 일부 경우, 배콜로바이러스 발현 시스템의 사용에 의해 재조합 폴리펩티드를 발현하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 배콜로바이러스 발현 시스템의 예는 pVL-유래 벡터 (예를 들어, pVL1392, pVL1393 및 pVL941), pAcUW-유래 벡터 (예를 들어, pAcUW1), 및 pBlueBac-유래 벡터 (예를 들어, B-gal 함유 pBlueBac III)를 포함한다.

[0213] 다양한 실시예에서, Pcmv-Script 벡터 (Stratagene, La Jolla, Calif.), pcDNA4 벡터 (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) 및 pCI-neo 벡터 (Promega, Madison, Wis.)와 같은 벡터는, CHO 세포에서 대상 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 제조를 위해 설계될 것이다. 명백한 바와 같이, 대상 유전자 구조체는 배양 중에 증식된 세포에서, 대상 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 발현을 야기하기 위해, 예를 들어 정제를 위해 융합 단백질 또는 변이체 단백질을 포함하여 단백질을 제조하기 위해 사용될 수 있다.

[0214] 또한, 본 발명은 하나 이상의 대상 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열번호: 3-37 또는 51-117)을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 재조합 유전자로 형질감염된 숙주 세포에 관한 것이다. 숙주 세포는 임의의 원핵 세포 또는 진핵 세포일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 *E. coli*, 곤충 세포 (예를 들어, 배콜로바이러스 발현 시스템 이용), 효모, 또는 포유류 세포와 같은 박테리아 세포에서 발현될 수 있다. 기타 적당한 숙주 세포는 당업자에게 알려져 있다.

[0215] 따라서, 본 발명은 대상 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 제조 방법에 관한 것이다. 예를 들어, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 인코딩하는 발현 벡터로 형질감염된 숙주 세포는 적당한 조건 하에서 배양되어 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 발현을 가능하게 한다. 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 함유하는 배지 및 세포의 혼합물로부터 분리되고 분리될 수 있다. 대안적으로, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 세포질 또는 막 분획 내에 함유될 수 있고, 세포는 수확하고, 용해시키고, 단백질을 분리하였다. 세포 배양물은 숙주 세포, 배지 및 기타 부산물을 포함한다. 세포 배양에 적합한 배지는 당해 기술분야에 잘 알려져 있다.

[0216] 본 발명의 폴리펩티드 및 단백질은 당업자에게 잘 알려진 단백질 정제 기술에 따라 정제될 수 있다. 이러한 기술은 한가지 면에서 단백질성(proteinaceous) 분획 및 비-단백질성(non-proteinaceous) 분획의 조 분획법(crude fractionation)을 포함한다. 다른 단백질로부터 펩티드 또는 폴리펩티드를 분리시키면, 관심 있는 펩티

드 또는 폴리펩티드는 부분적 또는 완전 정제 (또는 균질성으로의 정제)를 달성하기 위해 크로마토그래피 및 전기영동 기술을 이용하여 더 정제될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "분리된 폴리펩티드" 또는 "정제된 폴리펩티드"는 다른 성분으로부터 분리할 수 있는 조성물을 의미하는 것이며, 폴리펩티드는 자연적으로 얻을 수 있는 상태와 관련하여 어느 정도까지 정제된다. 따라서, 정제된 폴리펩티드는 자연적으로 발생할 수 있는 환경에서 없는 폴리펩티드를 나타낸다. 일반적으로, "정제된"은 다양한 다른 성분을 제거하기 위해 분획화된 폴리펩티드 조성물을 나타내며, 조성물은 이의 발현된 생물학적 활성을 실질적으로 유지한다. 용어 "실질적으로 정제된"이 사용되는 경우, 이 명칭은 폴리펩티드 또는 펩티드가 조성물의 주성분을 형성하는, 예를 들어 조성물 내에 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 85% 또는 약 90% 이상의 단백질을 구성하는, 펩티드 또는 폴리펩티드 조성물을 나타낼 것이다.

[0217] 정제에 사용하기에 적합한 다양한 기술은 당업자에게 잘 알려져 있다. 이들 기술은 황산 암모늄, PEG, 항체 등으로 침전 (면역 침전) 또는 열 변성 다음에 원심분리에 의한 침전; 친화성 크로마토그래피 (단백질-A 컬럼), 이온 교환, 겔 여과, 역상, 히드록시아파타이트, 소수성 상호작용 크로마토그래피와 같은 크로마토그래피; 등전 위 초점(isoelectric focusing); 겔 전기영동; 및 이들 기술의 조합을 포함한다. 당해 기술분야에 일반적으로 알려진 바와 같이, 다양한 정제 단계를 수행하는 순서가 변화될 수 있거나, 또는 특정 단계가 생략될 수 있고, 여전히 실질적으로 정제된 폴리펩티드의 적당한 제조 방법이 얻어지는 것으로 여겨진다.

[0218] 약학 조성물

[0219] 다른 측면에서, 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물에서 분리된 하이브리드 가용성 ActRIIB 폴리펩티드 또는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 이러한 약학적으로 허용가능한 담체는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 이해되고, 광범위하게 기재되어 있다 (참조, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990). 약학적으로 허용가능한 담체는 조성물의 pH, 삼투압, 점도, 투명도, 색상, 등장성, 냄새, 멸균성, 안정성, 용해율 또는 방출율, 흡착 또는 투과를 변형, 유지 또는 보존하기 위한 목적으로 포함될 수 있다. 이러한 약학 조성물은 폴리펩티드의 물리적 상태, 안정성, *in vivo* 방출율 및 *in vivo* 청소율에 영향을 미칠 수 있다. 적당한 약학적으로 허용가능한 담체는 아미노산 (예를 들어, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신); 향균제; 항산화제 (예를 들어, 아스코르브산, 아황산 나트륨(sodium sulfite) 또는 아황산 수소 나트륨 (sodium hydrogen-sulfite); 완충액 (예를 들어, 붕산염(borate), 중탄산염 (bicarbonate), Tris-HCl, 시트르산염, 인산염, 기타 유기산); 벌크제 (예를 들어, 만니톨 또는 글리신), 킬레이트화제 (예를 들어, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA)); 착화제 (예를 들어, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로덱스트린 또는 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린); 충전제; 단당류; 이당류 및 기타 탄수화물 (예를 들어, 글루코오스, 만노오스, 또는 텍스트린); 단백질 (예를 들어, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제; 향미제 및 희석제; 유화제; 친수성 고분자 (예를 들어, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩티드; 염-형성 반대 이온 (예를 들어, 나트륨); 보존제 (예를 들어, 염화 벤잘코늄(benzalkonium chloride), 벤조산, 살리실산, 티메로살(thimerosal), 페네틸 알코올 (phenethyl alcohol), 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 또는 과산화수소); 용매 (예를 들어, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알코올 (예를 들어, 만니톨 또는 소르비톨); 현탁제; 계면활성제 또는 습윤제 (예를 들어, 폴루로닉, PEG, 소르비탄 에스터, 폴리소르베이트 (예를 들어, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80), 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 틸록사팔(tyloxapal)); 안정성 향상제 (예를 들어, 수크로오스 또는 소르비톨); 긴장성 향상제 (예를 들어, 알칼리 금속 할라이드 (바람직하게는, 염화나트륨 또는 염화칼륨), 만니톨, 소르비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약학적 보조제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0220] 약학 조성물에서 1차 비히클 또는 담체는 사실상 수성 또는 비-수성일 수 있다. 예를 들어, 적당한 비히클 또는 담체는 주사용수, 생리 식염수 용액 또는 인공 뇌척수액일 수 있으며, 아마도 비경구 투여용 조성물에서 통상적인 다른 물질로 보충될 수 있다. 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 추가의 예시적인 비히클이다. 다른 예시적인 약학 조성물은 약 pH 7.0-8.5의 Tris 완충액 또는 약 pH 4.0-5.5의 아세테이트 완충액을 포함하며, 소르비톨 또는 이의 적합한 대체물을 더 포함할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 조성물은 원하는 정도의 순도를 갖는 선택된 조성물을 동결 건조 케이크 또는 수용액의 형태로 임의의 제형화제 (Remington 's Pharmaceutical Sciences, supra)와 혼합함으로써 저장을 위해 제조될 수 있다. 또한, 치료적 조성물은 수크로오스와 같은 적당한 부형제를 사용하여 동결 건조물로서 제형화될 수 있다. 최적의 약학 조성물은 의도된 투여 경로, 전달 형식 및 원하는 투여량에 따라 당업자에 의해 결정될 것이다.

[0221] 비경구 투여가 고려되는 경우, 치료적 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 비히클에서 원하는 ActRIIB 폴리펩

티드를 포함하는 발열원이 없는(pyrogen-free), 비경구적으로 허용가능한 수용액의 형태일 수 있다. 비경구 주사에 특히 적합한 비히클은 폴리펩티드가 멸균 등장액으로 제형화되고, 적절하게 보존되는 멸균 증류수이다. 다양한 실시예에서, 주사 가능한 투여에 적합한 약학 제형은 수용액, 바람직하게는 헵스 용액(Hanks' solution), 링거 용액 또는 생리적 완충 식염수와 같은 생리적으로 호환되는 완충액에서 제형화될 수 있다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예를 들어 나트륨 카복시메틸 셀룰로오스, 소르비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 또한, 활성 화합물의 현탁액은 적당한 유성 주사 현탁액으로서 제조될 수 있다. 임의로, 현탁액은 화합물의 용해도를 증가시키고 고농축 용액의 제조를 허용하기에 적합한 안정화제 또는 제제를 함유할 수도 있다.

[0222] 다양한 실시예에서, 치료적 약학 조성물은 콜로이드성 분산 시스템을 이용하여 표적화된 전달을 위해 제형화될 수 있다. 콜로이드성 분산 시스템은 거대 분자 복합체, 나노 캡슐, 미소구체(microspheres), 비드 및 수중유 에멀전, 미셀, 혼합 미셀 및 리포솜을 포함하는 지질-기반 시스템을 포함한다. 리포솜 제조에 유용한 지질의 예는 포스파티딜 화합물, 예를 들어 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜콜린, 포스파티딜세린, 포스파티딜에탄올아민, 스펅고지질, 세레브로사이드(cerebrosides), 및 갱글리오사이드(gangliosides)를 포함한다. 예시적인 인지질은 에그 포스파티딜콜린(egg phosphatidylcholine), 디팔미토일포스파티딜콜린, 및 디스테아로일포스파티딜콜린을 포함한다. 리포솜의 표적화는 장기-특이성, 세포-특이성 및 세포소기관-특이성에 기초하여 가능하며, 당해 기술분야에 알려져 있다.

[0223] 다양한 실시예에서, 약학 조성물의 경구 투여가 고려된다. 이러한 방식으로 투여되는 약학 조성물은 정제 및 캡슐과 같은 고형 제형의 조제에 통상적으로 사용되는 담체와 함께 또는 담체 없이 제형화 될 수 있다. 경구 투여용 고형 제형 (캡슐, 정제, 환제, 당의정(dragees), 분말, 과립 등)에서, 본 발명의 하나 이상의 치료 화합물은 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체, 예를 들어, 시트르산 나트륨 또는 인산 이칼슘(dicalcium phosphate), 및/또는 하기의 것 중 어느 하나와 혼합될 수 있다: (1) 충전제 또는 증량제(extenders), 예를 들어, 전분, 락토오스, 수크로오스, 글루코오스, 만니톨, 및/또는 규산(silicic acid); (2) 결합제, 예를 들어, 카복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 수크로오스, 및/또는 아카시아; (3) 습윤제, 예를 들어 글리세롤; (4) 봉해제, 예를 들어 한천(agar-agar), 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염 (silicates), 및 탄산나트륨; (5) 용액 지연제, 예를 들어 파라핀; (6) 흡수 가속화제, 예를 들어 4차 암모늄 화합물; (7) 습윤제, 예를 들어 세틸 알콜 및 글리세롤 모노스테아레이트; (8) 흡수제, 예를 들어 카올린 및 벤토나이트 점토; 및 (9) 윤활제, 예를 들어 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 설페이트, 및 이들의 혼합물; 및 (10) 착색제. 캡슐, 정제 및 환제의 경우, 약학 조성물은 완충제를 포함할 수도 있다. 유사한 유형의 고체 조성물은 락토오스 또는 유당(milk sugars) 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 부형제를 이용하여 연질 및 경질-충진된 젤라틴 캡슐에서 충전제로서 사용될 수도 있다. 경구 투여용 액체 제형은 약학적으로 허용가능한 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 활성 성분 이외에, 액체 제형은 당해 기술분야에서 통상적으로 사용되는 불활성 희석제, 예를 들어 물 또는 기타 용매, 용해제 및 유화제, 예를 들어 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 오일 (특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유, 및 참기름), 글리세롤, 테트라히드로퓨릴 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스터, 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 불활성 희석제 외에, 경구 조성물은 습윤제, 유화제 및 현탁제, 감미제, 향미제, 착색제, 향료 및 보존제와 같은 보조제를 포함할 수도 있다.

[0224] 다양한 실시예에서, 피부 또는 점막에 약학 조성물의 국소 투여가 고려된다. 국소 제형은 피부 또는 각질층 투과 촉진제로서 효과적인 것으로 알려진 하나 이상의 다양한 제제를 더 포함할 수 있다. 이들의 예는 2-피롤리돈, N-메틸-2-피롤리돈, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 프로필렌 글리콜, 메틸 또는 이소프로필 알콜, 디메틸 설펅사이드, 및 아존(azone)이다. 제형을 화장용으로 허용하기 위해 추가의 제제가 더 포함될 수 있다. 이들의 예는 지방, 왁스, 오일, 염료, 방향제, 보존제, 안정화제 및 계면활성제이다. 당해 기술분야에 알려진 것과 같은 각질 용해제(Keratolytic agents)가 포함될 수도 있다. 이들의 예는 살리실산 및 황이다. 국소 또는 경피 투여용 제형은 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 용액, 패치 및 흡입제를 포함한다. 활성 화합물은 약학적으로 허용가능한 담체, 및 필요할 수 있는 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 함께 멸균 조건 하에서 혼합 될 수 있다. 연고, 페이스트, 크림 및 젤은 본 발명의 대상 화합물 (예를 들어, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩) 이외에, 부형제, 예를 들어 동물성 및 식물성 지방, 오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 탈크 및 산화 아연, 또는 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.

- [0225] 본 명세서에서 사용하기 위해 고려되는 추가의 약학 조성물은 서방형- 또는 제어-전달 제형으로 폴리펩티드를 포함하는 제형을 포함한다. 다양한 다른 서방형- 또는 제어-전달 수단, 예를 들어 리포솜 담체, 생체 침식성 (bio-erodible) 미립자 또는 다공성 비드 및 데포 주사(depot injections)를 제형화 하기 위한 기술도 당업자에게 알려져 있다.
- [0226] 치료적으로 사용되는 약학 조성물의 유효량은, 치료적 배경 및 목적에 의존할 것이다. 당업자는 치료를 위한 적당한 투여량 수준이 전달된 분자, 폴리펩티드가 사용되는 적응증, 투여 경로, 및 환자의 크기 (체중, 몸체 또는 장기 크기) 및 상태 (연령 및 일반 건강)에 따라 부분적으로 변할 것이라는 것을 이해할 것이다. 따라서, 임상 의는 최적의 치료 효과를 얻기 위해 투여량을 적정하고 투여 경로를 변경할 수 있다. 일반적인 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg 또는 그 이상의 범위일 수 있다. 폴리펩티드 조성물은 바람직하게는 정맥 내 주사되거나 또는 투여될 수 있다. 지속성 약학 조성물은 특정 제형의 반감기 및 청소율에 따라 3 내지 4일마다, 매주 또는 격주로 투여될 수 있다. 투여 빈도는 사용된 제형 내의 폴리펩티드의 약동학적 매개변수에 의존할 것이다. 일반적으로, 원하는 효과를 달성하는 투여량에 도달할 때까지 조성물을 투여한다. 따라서, 조성물은 단일 용량으로, 또는 시간이 지남에 따라 (동일하거나 또는 상이한 농도/용량의) 다중 용량으로 투여되거나, 또는 연속 주입으로 투여될 수 있다. 적당한 투여량의 추가 정제가 일상적으로 이루어진다. 적당한 투여량은 적당한 용량-반응 자료의 사용을 통해 확인될 수 있다.
- [0227] 약학 조성물의 투여 경로는 알려진 방법, 예를 들어 경구로; 정맥내, 뇌내 (뇌실질내(intra-parenchymal)), 뇌실내(intracerebroventricular), 근육내, 안구내, 동맥내, 간문맥내(intraportal), 병소내(intralesional) 경로, 척수내 (intramedullary), 척수강내(intrathecal), 심실내(intraventricular), 경피, 피하 또는 복강내, 및 비강내, 장관(enteral), 국소, 설하(sublingual), 요도, 질 또는 직장 수단에 의해, 서방형 방출 시스템에 의해, 또는 이식 장치에 의해 주사를 통해 따른다. 원한다면, 조성물은 일시 주사(bolus injection)에 의해 또는 주입에 의해 연속적으로, 또는 이식 장치에 의해 투여될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 조성물은 원하는 분자가 흡수되거나 또는 캡슐화된 막(membrane), 스펀지 또는 다른 적당한 물질의 이식을 통해 국소 투여될 수 있다. 이식 장치가 사용되는 경우, 장치는 임의의 적합한 조직 또는 장기에 이식될 수 있으며, 원하는 분자의 전달은 확산, 지효성 환피(timed-release bolus) 또는 연속 투여를 통해 이루어질 수 있다.
- [0228] 치료 용도
- [0229] 다른 측면에서, 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 미오스타틴-관련 장애 및 액티빈 A-관련 장애의 치료 방법을 제공한다. 중요하게는, 본 발명의 약학 조성물은 기존의 ActRIIB-Fc 융합 단백질-기반 치료법에 대해 보고된 안전성 우려를 피하면서, 체중의 퍼센트로 빈약한 근육량을 증가시키고, 체중의 퍼센트로서 지방량을 감소시키는데 사용될 수 있다.
- [0230] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 근육 소모 질환의 치료 방법을 제공하며, 이러한 투여는 근육량의 손실 및/또는 근육 기능의 손실을 약화시킨다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 근이영양증 (예를 들어, DMD, 베커형 (Becker) MD, 지대형(Limb-Girdle) MD, 근긴장성(Myotonic) MD 및 FSHD), 근염, 근질환(myopathies) (유전성 근질환 및 후천성 근질환 포함), 운동신경질환 (motoneuron diseases) (예를 들어, 루게릭병 또는 ALS), 신경퇴행성 질환 (예를 들어, 파킨슨병, 헌팅턴병 및 알츠하이머병), 암 (예를 들어, 췌장암, 폐암, 위암, 난소암, 대장암, 흑색종, 백혈병, 전립선암, 뇌암, 방광암, 및 두경부암)과 관련된 근육 소모, 만성 심부전과 관련된 근육 소모, 만성 신장 질환 (CKD), 당뇨병, 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD), 감염 (예를 들어, AIDS, 결핵 및 패혈증), 류마티스성 관절염, 외상 (예를 들어, 화상 또는 오토바이 사고), 중환자실 집중 치료(ICU critical care), 탈신경 (예를 들어, 뇌졸중 또는 척수 손상), 장기 요양 (prolonged bed rest), 근감소성 비만, 및 노화-관련 근감소증을 포함하나, 이에 한정되지 않는 다양한 근육 질환의 치료에 유용하다.
- [0231] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 심혈관 질환의 치료 방법을 제공하며, 이러한 투여는 근육량의 손실 및/또는 근육 기능의 손실을 약화시킨다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 심부전, 심장 위축증, 고혈압, 심근염, 관상동맥질환, 심근경색, 심장 부정맥, 심장 관막질환, 심근증, 심낭 질환, 대동맥 질환 및 마르판 증후군의 치료에 유용하다.
- [0232] 본 발명은 유효량의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩을 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 심장

기능장애 또는 심부전의 치료 방법을 제공한다. 조절은 상기 피험자의 심장 기능을 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%까지 개선시킬 수 있다. 심장 기능의 개선은 1) 분출된 혈액량과 분출 효율에 초점을 맞춘 심장 펌프 기능 및 2) 심근 수축의 강도에 초점을 맞춘 심근 기능을 측정하기 위해 심장 초음파 검사 (echocardiography)로 평가될 수 있다.

[0233] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 대사 장애의 치료 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 비만, 이상지질혈증, 당뇨병, 인슐린 저항성, 근감소성 비만, 지방증(steatosis), 대사 증후군, 당뇨병성 근질환, 당뇨병성 신증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 골 손실, 내당능장애(impaired glucose tolerance), 고혈당증, 및 안드로겐 결핍으로부터 선택된 대사 질환의 치료에 유용하다.

[0234] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 암세포의 치료 방법을 제공한다. 이러한 투여는 암세포의 성장 및/또는 증식을 저해한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 암으로 특징지어진 장애의 치료에 유용하다. 이러한 장애는 고형 종양, 예를 들어 유방암, 기도암, 뇌암, 생식기암, 소화기암, 요로암, 안암, 간암, 피부암, 두경부암, 갑상선암, 부갑상선암 및 이들의 원격 전이(distant metastases), 림프종, 육종, 다발성 골수종 및 백혈병을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 유방암의 예는 침습성 관상피암(invasive ductal carcinoma), 침습성 소엽암(invasive lobular carcinoma), 유방 관상피내암(ductal carcinoma in situ), 및 유방 소엽내암(lobular carcinoma in situ)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 기도암의 예는 소세포 폐암종 및 비-소세포 폐암종, 기관지 선종(bronchial adenoma) 및 흉막폐아세포종(pleuropulmonary blastoma)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 뇌암의 예는 뇌간 및 하이포프탈릭 신경교종(brain stem and hypophthalmic glioma), 소뇌 및 대뇌 성상세포종(cerebellar and cerebral astrocytoma), 수모세포종(medulloblastoma), 상의세포종(ependymoma), 신경외배엽성(neuroectodermal) 종양 및 송과체 종양(pineal tumor)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 남성 생식기 종양은 전립선암 및 고환암을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 여성 생식기 종양은 자궁내막암, 자궁경부암, 난소암, 질암, 외음부암(vulvar cancer) 및 자궁 육종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 소화기 종양은 항문암, 결장암(colon cancer), 대장암(colorectal cancer), 식도암, 담낭암, 위암, 췌장암, 직장암, 소장암 및 침샘암을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 요로 종양은 방광암, 음경암, 신장암, 신우암, 요관암(ureter cancer) 및 요도암(urethral cancer)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 안암은 안구내 흑색종(intraocular melanoma) 및 망막아세포종(retinoblastoma)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 간암의 예는 간세포 암종(섬유층판성(fibrolamellar) 변이체가 있거나 또는 없는 간세포 암종), 담관암종(간내 담관 암종(intrahepatic bile duct carcinoma)), 및 혼합 간세포 담관암종(mixed hepatocellular cholangiocarcinoma)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 피부암은 편평세포암종(squamous cell carcinoma), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 악성 흑색종, 메르켈 세포(Merkel cell) 피부암, 및 비-흑색종 피부암을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 두경부암은 비인두암(nasopharyngeal cancer), 및 구순 구강암(lip and oral cavity cancer)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 림프종은 AIDS-관련 림프종, 비-호지킨 림프종, 피부 T-세포 림프종, 호지킨병 및 증추신경계 림프종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 육종은 연조직 육종, 골육종, 악성 섬유성 조직구종, 림프육종 및 횡문근육종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 백혈병은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 모발성 세포 백혈병(hairy cell leukemia)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 특정 실시예에서, 암은 액티빈 A, 미오스타틴, TGF- β 및 GDF15와 같은 TGF- β 계열 구성원의 높은 발현을 갖는 암, 예를 들어 췌장암, 위암, 난소암, 대장암, 흑색종 백혈병, 폐암, 전립선암, 뇌암, 방광암 및 두경부암일 것이다.

[0235] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 만성 신장 질환 (CKD)의 치료 방법을 제공한다. 이러한 투여는 근육량의 손실 및/또는 근육 기능의 손실을 약화시키거나 또는 신장 섬유증을 저해시킨다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 신부전, 간질성 섬유증(interstitial fibrosis) 및 신장 투석을 포함하는 CKD, 및 CKD와 관련된 단백질 에너지 소모 (PEW)의 치료에 유용하다. 조절은 상기 피험자의 CKD 또는 PEW를 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%까지 개선시킬 수 있다. 신장 기능의 개선은 소변에

서 단백질/크레아티닌 비 (protein/creatinine ratio, PCR) 및 사구체 여과율 (glomerular filtration rate, GFR)을 측정하여 평가될 수 있다. PEW의 개선은 알부민 및 염증성 사이토카인의 혈청 수준, 단백질 합성 및 분해 속도, 체질량, 근육량, 신체 활동 및 영양 결과(nutritional outcomes)를 측정하여 평가될 수 있다.

- [0236] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 자가면역질환의 치료 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 다발성 경화증, 당뇨병 (제 1 형), 사구체신염, 중증 근무력증, 건선, 전신 경화증 및 전신 홍반성 루푸스, 다발성근염 및 원발성 담즙성 경화증으로부터 선택된 자가면역질환의 치료에 유용하다.
- [0237] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 관절염의 치료 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 류마티스성 관절염 및 골관절염으로부터 선택되는 관절염의 치료에 유용하다.
- [0238] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 거식증의 치료 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 신경성 식욕부진 및 식욕부진-악액질 증후군으로부터 선택되는 거식증의 치료에 유용하다.
- [0239] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 간 질환의 치료 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 비-알콜성 지방간 질환, 비-알콜성 지방간염, 알콜성 지방간 질환, 간 경화증, 간부전, 자가면역 간염 및 간세포 암종으로부터 선택되는 간 질환의 치료에 유용하다.
- [0240] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 장기 또는 조직 이식 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩은 심장, 신장, 간, 폐, 췌장, 장(intestine) 및 흉선의 장기 이식 또는 뼈, 힘줄, 각막, 피부, 심장판막, 신경 및 정맥의 조직 이식으로부터 선택되는 이식의 치료에 유용하다.
- [0241] 본 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 내의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 유효량을 (단일 요법으로 또는 병용 요법으로) 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 빈혈의 치료 방법을 제공한다. 다양한 실시예에서, 빈혈은 암-관련 빈혈, 화학요법-유발성 빈혈, 만성 신장 질환-관련 빈혈, 철분 결핍성 빈혈, 지중해빈혈, 겸상 적혈구 빈혈, 재생불량성 빈혈 및 골수이형성 증후군을 포함하는 다양한 빈혈 장애로부터 선택된다.
- [0242] 본 발명은 섬유증의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 섬유증의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 섬유증은 폐섬유증 (예를 들어, 특발성 폐섬유증 및 낭포성 섬유증), 간 섬유증 (예를 들어, 비-알콜성 지방간염 및 간 경화증), 심장 섬유증 (예를 들어, 심근경색, 이완기 기능장애(diastolic dysfunction) 또는 심장판막질환), 신장 섬유증 (예를 들어, 간질성 섬유증), 골수섬유증, 특발성 후복막 섬유증, 신원성 섬유화 피부병증, 크론병, 켈로이드, 경피증, 전신 경화증, 및 관절 섬유증으로부터 선택된다.
- [0243] 본 발명은 통증의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 통증의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 통증은 신경병증성 통증, 염증성 통증, 또는 암 통증으로부터 선택된다.
- [0244] 본 발명은 골 질환의 치료를 필요로 하는 피험자에게 치료적 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 골 질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 피험자는 인간 피험자이다. 다양한 실시예에서, 골 질환은 골연화증, 골다공증, 골형성 부전증, 진행성 골화성 섬유이형성증, 코르티코스테로이드-유발성 골 손실, 골절, 및 골 전이로부터 선택된다.
- [0245] 본 발명은 피험자에게 치료적 유효량의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 근육량의 손실 및/또는 근육 기능의 손실을 저해시키는 방법을 제공한다. 조절은 상기 피험자의 근육량의 손실 및/또는 근육 기능의 손실을 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 75%, 또는 적어도 90%

까지 약화시킬 수 있다. 근육량 및 기능의 손실의 저해는 영상 기술 및 체력 검사를 이용하여 평가될 수 있다. 근육량 평가를 위한 영상 기술의 예는 DEXA (Dual-Energy X-Ray Absorptiometry), MRI (Magnetic Resonance Imaging), 및 CT (Computed Tomography)를 포함한다. 근육 기능 검사의 예는 악력 측정(grip strength test), 계단 오르기 검사, SPPB(short physical performance battery) 및 6-분 걷기, 및 호흡 근육 강도를 측정하는데 사용되는 최대 흡기압 (maximal inspiratory pressure, MIP) 및 최대 호기압 (maximal expiratory pressure, MEP)을 포함한다.

[0246] "치료적 유효량" 또는 "치료적 유효 용량"은 치료되는 장애의 증상 중 하나 이상을 어느 정도 완화시키기 위해 투여되는 치료제의 양을 나타낸다.

[0247] 치료적 유효 용량은 IC_{50} 을 측정하여 세포 배양 분석으로부터 초기에 추정될 수 있다. 그 다음, 세포 배양에서 측정된 IC_{50} 을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 얻기 위해 동물 모델에서 용량을 명확하게 나타낼 수 있다. 이러한 정보를 사용하여 인간에서의 유용한 용량을 더 정확하게 결정할 수 있다. 혈장 내의 수준은 HPLC로 측정될 수 있다. 정확한 조성, 투여 경로 및 투여량은 피험자의 상태를 고려하여 개개인의 의사에 의해 선택될 수 있다.

[0248] 용량 요법은 최적의 원하는 반응 (예를 들어, 치료적 또는 예방적 반응)을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 단위 일시에 투여될 수 있고, 여러 번 분할 용량 (다회 또는 반복 또는 유지)이 시간이 지나면서 투여될 수 있으며, 용량은 치료 상황의 긴급 상황에 따라 비례하여 감소되거나 또는 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 단위 제형으로 비경구 조성물을 제형화하는 것이 특히 바람직하다. 본 명세서에 사용된 단위 제형은 치료될 포유류 피험자에 대한 단일 투여량으로 적합한 물리적으로 분리된 단위를 나타내고; 각 단위는 필요한 약학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 야기하도록 계산된 미리정해진 양의 활성 화합물을 함유한다. 본 발명의 단위 제형에 대한 명세서는 항체의 독특한 특성 및 달성될 특정 치료 또는 예방 효과에 의해 주로 영향을 받을 것이다.

[0249] 따라서, 당업자는 본 명세서에 제공된 발명을 기준으로 하여, 용량 및 투여 요법이 치료 분야에서 잘 알려진 방법에 따라 조정된다는 것을 이해할 것이다. 즉, 최대 내성 용량은 쉽게 확립될 수 있고, 피험자에게 검출 가능한 치료 이익을 제공하는 유효량도 피험자에게 검출 가능한 치료 효과를 제공하기 위해 각각의 체제를 투여하기 위한 일시적인 요건일 수 있기 때문에 결정될 수 있다. 따라서, 특정 용량 및 투여 요법이 본 명세서에 예시되어 있지만, 이들 예들은 본 발명을 실시함에 있어 피험자에게 제공될 수 있는 용량 및 투여 요법을 결코 제한하지 않는다.

[0250] 용량 값은 완화될 질병의 유형 및 중증도에 따라 달라질 수 있으며, 단일 또는 다중 용량을 포함할 수 있음을 유의해야 한다. 임의의 특정 피험자에 대해, 특정 용량 요법은 조성물의 투여를 관리 또는 감독하는 사람의 개인적인 필요성 및 전문적인 판단에 따라 시간이 지나면서 조정되어야 하며, 본 명세서에 제시된 용량 범위는 단지 예시적인 뿐 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하지 않는다는 것을 더 이해하여야 한다. 또한, 본 발명의 조성물과 함께 용량 요법은 질환의 유형, 피험자의 연령, 체중, 성별, 질병, 질병의 중증도, 투여 경로, 및 사용된 특정 항체를 포함하여, 다양한 요인에 기초할 수 있다. 따라서, 용량 요법은 광범위하게 다양할 수 있지만, 표준 방법을 이용하여 통상적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 용량은 독성 효과 및/또는 실험값과 같은 임상 효과를 포함할 수 있는 약동학적 또는 약력학적 매개변수를 기준으로 하여 조정될 수 있다. 따라서, 본 발명은 당업자에 의해 결정된 피험자-내 용량 증가를 포함한다. 적당한 용량 및 요법을 결정하는 것은 관련 기술분야에 잘-알려져 있으며, 본 명세서에 개시된 교시를 일단 제공받은 당업자에 의해 포함되는 것으로 이해될 것이다.

[0251] 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩의 치료적 또는 예방적 유효량의 예시적인, 비-제한적인 일일 투여 범위는 0.001 내지 100 mg/kg, 0.001 내지 90 mg/kg, 0.001 내지 80 mg/kg, 0.001 내지 70 mg/kg, 0.001 내지 60 mg/kg, 0.001 내지 50 mg/kg, 0.001 내지 40 mg/kg, 0.001 내지 30 mg/kg, 0.001 내지 20 mg/kg, 0.001 내지 10 mg/kg, 0.001 내지 5 mg/kg, 0.001 내지 4 mg/kg, 0.001 내지 3 mg/kg, 0.001 내지 2 mg/kg, 0.001 내지 1 mg/kg, 0.010 내지 50 mg/kg, 0.010 내지 40 mg/kg, 0.010 내지 30 mg/kg, 0.010 내지 20 mg/kg, 0.010 내지 10 mg/kg, 0.010 내지 5 mg/kg, 0.010 내지 4 mg/kg, 0.010 내지 3 mg/kg, 0.010 내지 2 mg/kg, 0.010 내지 1 mg/kg, 0.1 내지 50 mg/kg, 0.1 내지 40 mg/kg, 0.1 내지 30 mg/kg, 0.1 내지 20 mg/kg, 0.1 내지 10 mg/kg, 0.1 내지 5 mg/kg, 0.1 내지 4 mg/kg, 0.1 내지 3 mg/kg, 0.1 내지 2 mg/kg, 0.1 내지 1 mg/kg, 1 내지 50 mg/kg, 1 내지 40 mg/kg, 1 내지 30 mg/kg, 1 내지 20 mg/kg, 1 내지 10 mg/kg, 1 내지 5 mg/kg, 1 내지 4 mg/kg, 1 내지 3 mg/kg, 1 내지 2 mg/kg, 또는 1 mg/kg 체중일 수 있다. 용량 값은 완화될 질병의 유형 및 중

증도에 따라 달라질 수 있음을 유의해야 한다. 임의의 특정 환자에 대해, 특정 용량 요법은 조성물의 투여를 관리 또는 감독하는 사람의 개인적인 필요성 및 전문적인 판단에 따라 시간이 지나면서 조정되어야 하며, 본 명세서에 제시된 용량 범위는 단지 예시적일 뿐 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하지 않는다는 것을 더 이해하여야 한다.

[0252] 다양한 실시예에서, 투여된 총 용량은 약 1 내지 1000 μ g/ml, 약 1 내지 750 μ g/ml, 약 1 내지 500 μ g/ml, 약 1 내지 250 μ g/ml, 약 10 내지 1000 μ g/ml, 약 10 내지 750 μ g/ml, 약 10 내지 500 μ g/ml, 약 10 내지 250 μ g/ml, 약 20 내지 1000 μ g/ml, 약 20 내지 750 μ g/ml, 약 20 내지 500 μ g/ml, 약 20 내지 250 μ g/ml, 약 30 내지 1000 μ g/ml, 약 30 내지 750 μ g/ml, 약 30 내지 500 μ g/ml, 약 30 내지 250 μ g/ml 범위의 혈장 항체 농도를 달성할 것이다.

[0253] 본 발명의 약학 조성물의 독성 및 치료 지수는, LD₅₀ (개체군의 50%에 치사되는 용량) 및 ED₅₀ (개체군의 50%에서 치료적 유효 용량)를 결정하기 위해, 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 약학 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성과 치료적 유효 용량 사이의 용량비는 치료 지수이며, 비율 LD₅₀/ED₅₀로 나타낼 수 있다. 큰 치료 지수를 나타내는 조성물이 일반적으로 바람직하다.

[0254] 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 약학 조성물의 투여의 투여 빈도는 치료의 특성 및 치료되는 특정 질환에 의존한다. 피험자는 원하는 치료 결과가 달성될 때까지 일정한 간격으로, 예를 들어 매주 또는 매월 치료될 수 있다. 예시적인 투여 빈도는 중단 없이 매주 한번; 매주, 격주로 한번; 2주에 한번; 3주에 한번; 2주 동안 중단 없이 약하게, 그 다음 매월; 3주 동안 중단 없이 약하게, 그 다음 매월; 매월; 2개월에 한번; 3개월에 한번; 4개월에 한번; 5개월에 한번; 또는 6개월에 한번 또는 1년에 한번을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0255] 병용 요법

[0256] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "공동-투여", "공동-투여된" 및 "병용하여"는, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 및 하나 이상의 다른 치료제를 나타내는 것을 의미하는 것으로 의도되고, 하기의 것을 나타내고 포함한다: 이러한 성분들이 함께 실질적으로 동일한 시간에 피험자에게 상기 성분을 방출하는 단일 제형으로 제형화 될 때, 치료를 필요로 하는 피험자에게 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 및 치료제(들)의 이러한 조합의 동시 투여; 이러한 성분들이 실질적으로 동시에 피험자에 의해 취해진 별도의 제형으로 서로 별도로 제형화하여 상기 성분이 상기 피험자에게 실질적으로 동시에 방출될 때, 치료를 필요로 하는 피험자에게 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 및 치료제(들)의 이러한 조합의 실질적으로 동시 투여; 이러한 성분들이 각 투여 사이의 상당한 시간 간격으로 피험자에 의해 연속하여 취해진 별도의 제형으로 서로 별도로 제형화하여 상기 성분이 상기 피험자에게 실질적으로 상이한 시간에 방출될 때, 치료를 필요로 하는 피험자에게 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 및 치료제(들)의 이러한 조합의 순차적인 투여; 및 이러한 성분들이 함께 조절된 방식으로 상기 성분을 방출하는 단일 제형으로 제형화하여 이들이 상기 피험자에게 동일한 시간 및/또는 상이한 시간에 동시, 연속 및/또는 중첩하는 방식으로 방출되며, 여기서 각 부분이 동일하거나 또는 상이한 경로에 의해 투여될 때, 치료를 필요로 하는 피험자에게 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 및 치료제(들)의 이러한 조합의 순차적인 투여.

[0257] 다른 측면에서, 본 발명은 피험자에게 a) 치료적 유효량의 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩; 및 b) 및 제 2 물질의 조합을 투여하는 단계를 포함하는, 피험자에서 근육 소모 질환의 치료 방법에 관한 것이다. 이 병용 요법은 제 2 물질 단독을 이용하여 치료에 저항성이거나 난치성인 근육 소모 질환에 대해 특히 효과적일 수 있다. 다양한 실시예에서, 제 2 물질은 성장 호르몬; 그렐린; IGF1; TNF-알파, IL-6, IL-1 및 이들의 수용체와 같은 염증성 사이토카인에 대한 길항제; 및 미오스타틴 및 액티빈 A 및 이들의 수용체에 대한 기타 길항제로부터 선택된다.

[0258] 다양한 실시예에서, 병용 요법은 동일한 약학 조성물 또는 별도의 약학 조성물 중 하나로, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 및 제 2 물질 조성물을 동시에 투여하는 단계를 포함한다. 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물 및 제 2 물질 조성물은 연속적으로 투여된다, 즉, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물은 제 2 물질 조성물의 투여 전 또는 후에 투여된다.

[0259] 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물 및 제 2 물질 조성물의 투여는 동시적이다, 즉, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물 및 제 2 물질 조성물의 투여 기간은 서로 중첩된다.

[0260] 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물 및 제 2 물질 조성물의 투여는 비-동시적이다. 예를 들어, 다양한 실시예에서, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물의 투여는 제 2 물질 조성물이 투여되기

전에 종료된다. 다양한 실시예에서, 제 2 물질 조성물의 투여는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 조성물이 투여되기 전에 종료된다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 2개의 예시적인 분자 배열을 나타낸다.

도 2는 기준으로 야생형 ActRIIB-Fc 단백질 (WT)의 중화 활성과 비교하여, AG-0003 (서열번호: 5)의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 및 AG-0005 (서열번호: 7)의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴-중화 활성 (왼쪽 패널), 액티빈 A-중화 활성 (가운데 패널), 및 BMP9-중화 활성 (오른쪽 패널)을 평가하기 위해 사용된 세포-기반 어세이의 결과를 나타내는 선 그래프를 나타낸다.

도 3은 기준으로 야생형 ActRIIB-Fc 단백질 (WT)의 중화 활성과 비교하여, AG-0014 (서열번호: 16)의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 및 AG-0027 (서열번호: 29)의 아미노산 서열을 갖는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴 (왼쪽 상단), 액티빈 A (오른쪽 상단), 액티빈 B (왼쪽 하단) 및 BMP9 (오른쪽 하단)에 대한 세포-기반 중화 활성의 결과를 나타내는 선 그래프를 나타낸다. 미오스타틴-중화 활성, 액티빈 A-중화 활성 및 액티빈 B-중화 활성은 C2C12-CAGA-luc 리포터 어세이를 이용하여 측정하였고, BMP9-중화 활성은 실시예에 기재된 C2C12-BRE-luc 리포터 어세이를 이용하여 분석하였다.

도 4는 일주일에 한번, 10 mg/kg의 용량으로, 각각 PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)로 피하 주사된 9-주령 수컷 C57Bl/6 마우스의 체중에 미치는 영향을 나타내는 선 그래프를 나타낸다. 체중은 0일, 5일, 12일 및 18일에 기록하였다. 군당 n=6/8. 통계 분석을 위해 Excel Student T-TEST를 수행하였다. ***: 비히클군에 비해 P<0.001.

도 5는 일주일에 한번, 10 mg/kg의 용량으로, 각각 PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)로 피하 주사된 9-주령 수컷 C57Bl/6 마우스의 근육량에 미치는 영향을 나타내는 막대 그래프를 나타낸다 (군당 n=6/8). 각 동물의 개개의 종아리 근육(calf muscles)을 절개하고 말단부 검시 동안 무게를 재었다. Excel Student T-TEST에 의해 통계 분석을 수행하였다. ***: 비히클군에 비해 P<0.001.

도 6은 마우스 복강의 에반스 블루 혈관 투과성 시험 영상을 나타낸다. 각 군의 외과적으로 노출된 복강의 대표 영상은 도면에 표시된 대로 나타난다. 8-주령 수컷 BalbC 마우스를 일주일에 한번, 10 mg/kg의 용량으로, 각각 PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)로 처리하였다. 처리 후 2주에, 200 μ l의 에반스 블루 염료 (PBS 내 0.5%, pH 7.2)를 꼬리 정맥을 통해 각 군의 동물 (n = 4)에 주입하였다. 에반스 블루 염료 주입 후 90분에 검시를 수행하였다.

도 7은 마우스 고환의 에반스 블루 혈관 투과성 시험 영상을 나타낸다. 각 군의 절개된 고환 조직의 대표 영상은 도면에 표시된 대로 나타난다. 8-주령 수컷 BalbC 마우스를 일주일에 한번, 10 mg/kg으로, 각각 PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)로 처리하였다. 처리 후 2주에, 200 μ l의 에반스 블루 염료 (PBS 내 0.5%, pH 7.2)를 꼬리 정맥을 통해 각 군의 동물 (n = 4)에 주입하였다. 에반스 블루 염료 주입 후 90분에 검시를 수행하였다.

도 8은 마우스 폐의 에반스 블루 혈관 투과성 시험 영상을 나타낸다. 각 군의 절개된 폐 조직의 대표 영상은 도면에 표시된 대로 나타난다. 8-주령 수컷 BalbC 마우스를 일주일에 한번, 10 mg/kg으로, 각각 PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)로 처리하였다. 처리 후 2주에, 200 μ l의 에반스 블루 염료 (PBS 내 0.5%, pH 7.2)를 꼬리 정맥을 통해 각 군의 동물 (n = 4)에 주입하였다. 에반스 블루 염료 주입 후 90분에 검시를 수행하였다.

도 9는 도면에서 표시된 바와 같이 다른 처리군에서의 젖은 폐 조직 (왼쪽 패널) 및 고환 조직 (오른쪽 패널)의 mg 당 삼출된 에반스 블루 염료의 양을 나타내는 바 그래프를 나타낸다. 8-주령 수컷 BalbC 마우스를 일주일에 한번, 10 mg/kg으로, 각각 PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc 단백질 (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)로 처리하였다. 처리 후 2주에, 200 μ l의 에반스 블루 염료 (PBS 내 0.5%, pH 7.2)를 꼬리 정맥을 통해 각 군의 동물 (n = 4)에 주입하였다. 에반스 블루 염료 주입 후 90분에 검시를 수행하여 고환 조직과 폐 조직을 모았다. 조직의 무게를 잰 다음, 포름아미드를 함유하는 바이알에 개별적으로 넣고 에반스 블루 염료를 추출하였다. 24시간 동안 55°C에서 배양한 후, 시료를 원심 분리하고 분광광도계를 이용하여 610 nm의 파장

에서 각 시료의 수상의 흡광도를 측정하였다. Excel Student T-TEST를 이용하여 통계 분석을 수행하였다. *: $P < 0.05$.

도 10은 기준으로 야생형 ActRIIB-Fc 단백질 (WT)의 중화 활성과 비교하여, AG-0014 (서열번호: 16), AG-0023 (서열번호: 25), AG-0024 (서열번호: 26), AG-0025 (서열번호: 27), AG0027 (서열번호: 29), AG-0028 (서열번호: 30), AG-0029 (서열번호: 31) 및 AG-0035 (서열번호: 37)를 포함하여 다수의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 BMP9에 대한 세포-기반 중화 활성의 결과를 나타내는 선 그래프를 나타낸다. BMP9-중화 활성은 C2C12-BRE-luc 리포터 어세이를 이용하여 분석하였다.

도 11은 WT ActRIIB-Fc 단백질의 미오스타틴-중화 IC_{50} 값에 비해, 여러 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 간의 미오스타틴-중화 IC_{50} 값의 차이를 나타낸다. 개개의 단백질의 미오스타틴-중화 활성은 C2C12-CAGA-luc 리포터 배양물을 이용하여 측정하였으며, IC_{50} 값은 Prism 소프트웨어를 이용하여 계산하였다. 그래프는 야생형 ActRIIB-Fc (WT)의 미오스타틴-중화 IC_{50} 값과 비교하여, AG-0014 (서열번호: 16), AG-0023 (서열번호: 25), AG-0024 (서열번호: 26), AG0027 (서열번호: 29), AG-0028 (서열번호: 30) 및 AG-0029 (서열번호: 31)를 포함하여 각각의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴-중화 IC_{50} 값의 퍼센트 차이를 나타낸다.

도 12는 야생형 ActRIIB-Fc 및 야생형 ActRIIA-Fc와 비교하여, 증가하는 농도에서 2개의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)의 BMP9 결합에 대한 ELISA 분석 결과를 각각 나타낸다. KinEXA 기기 (Sapidyne Instruments)를 이용하여 자동 ELISA를 수행하였다. 20 μ g/ml의 BMP9를 Sapidyne Instruments에서 권장된 실험 절차를 이용하여 NHS-Activated Sepharose 4 Fast Flow beads (GE Healthcare)에 결합시켰다. 도면에 나타난 바와 같이, WT ActRIIB-Fc, WT ActRIIA-Fc 및 각각의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 100 pM, 1 nM 및 10 nM 농도에서 BMP9 결합에 대해 시험하였다. 야생형 및 하이브리드 단백질을 BMP9-코팅된 비드 상에서 포획하고 Alexa Fluor 647-표지된 염소 항-인간-Fc 항체에 의해 검출하였다 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.). BMP9 결합 신호는 KinEXA Pro 소프트웨어 (Sapidyne Instruments)로 기록하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0262] 하기 실시예는 본 발명을 보다 완전하게 예시하기 위해 제공되나, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않는다.
- [0263] 실시예 1
- [0264] 본 발명의 폴리펩티드는 당업자에게 잘 알려진 재조합 DNA 기술에 따라 제조될 수 있다. 이 실시예에서, 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 제조가 일반적으로 기재된다.
- [0265] 다양한 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드는 인간 ActRIIB 세포외 도메인 내의 선택적 위치에서 다수의 아미노산 잔기를 아미노산 수준에서 서열 정렬에 기초한 상응하는 위치에서 인간 ActRIIA 세포외 도메인으로부터 유래된 아미노산 잔기로 치환시킴으로써 설계되었다. 하이브리드 ActRIIB-ECD 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA 발현 카세트를 부위-지정 돌연변이 유발(site-directed mutagenesis)을 이용하여 생성하였고, 이어서 5' 말단에서 인간 면역글로불린 경쇄 신호 펩티드를 인코딩하는 cDNA 단편 및 3' 말단에서 펩티드 링커 다음에 인간 Fc를 인코딩하는 DNA 단편을 프레임에 위치시킴으로써 Fc 융합 단백질 구조체로 조작하였다.
- [0266] 실시예 2
- [0267] 이 실시예에서는, 도 1에 나타난 바와 같이 구성된 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 제조가 일반적으로 기재된다.
- [0268] 단일 펩티드 리더 서열 (서열번호: 49 또는 50), 실시예 1의 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드 (또는 야생형 ActRIIB-ECD 서열), 펩티드 링커 서열 (서열번호: 44), 힌지 링커 서열 (서열번호: 118) 및 Fc 도메인 서열 (서열번호: 39 또는 41 또는 43)을 각각 함유하는, 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 인코딩하는 합성 DNA 카세트를 Freedom pCHO 1.0 및 pcDNA3.1 발현 벡터 (Life Technologies)에 복제한다.
- [0269] 안정한 형질감염을 위해, 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 인코딩하는 pCHO 1.0 발현 벡터를 FreeStyle MAX Reagent (Life Technologies)를 이용하여 CHO-S 세포에서 각각 형질감염시켰다. 형질감염 후 48

시간에, 세포를 37℃에서 3-7주 동안 진탕 CO₂ 배양기 내 푸로마이신과 메토틱세이트 (MTX) 선택을 함유하는 혈청-없는 CD FortiCHO 배지에서 성장시켰다. 안정한 풀은 세포가 30 M 푸로마이신 및 500 nM 메토틱세이트를 함유하는 생존률 90%를 초과할 때까지 생성되었다. 제조자의 권고된 프로토콜 (Life Technologies)에 따라 희석 복제에 의해 안정한 복제물을 생성하였다. 일시적인 형질감염을 위해, 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 인코딩하는 pcDNA3.1 발현 플라스미드를 ExpriFectamine293 형질감염 시약 (Life Technologies)을 이용하여 Expi293 세포에서 각각 형질감염시켰다.

[0270] 형질감염 후, 안정적으로 형질감염된 CHO-S 세포를 37℃에서 CO₂ 진탕 배양기 내 글루코오스가 공급된 완전 혈청-없는 CD FortiCHO 배지에서 최대 14일 동안 성장시켰다. 단백질 정제를 위해, 조건 배지를 모았다. 일시적으로 형질감염된 Expi293 세포를 37℃에서 CO₂ 진탕 배양기 내 Expi293 발현 배지에서 최대 7일 동안 배양하였고, 단백질 정제를 위해 배지를 모았다.

[0271] 정제를 위해, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 함유한 조건 배지를 AKTA FPLC (GE Healthcare)를 이용하여 Hitrap Protein A 고성능 컬럼을 통해 정제하였다. 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질을 아세트산 완충액 (pH 3.6)으로 용출시키고, 1M Tris-HCl (pH 8.0)로 중화한 다음, 완충액을 교환시켰다. 단백질 농도는 분광 광도계 (Beckman)를 이용하여 측정하였다.

[0272] 실시예 3

[0273] 이 실시예에서는, 7개의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴 및 BMP9 결합 활성을 평가한다.

[0274] 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴 및 BMP9 결합 활성은 처음에 Octect Red (ForteBio)를 이용하여 분석하였다. 정제된 단백질 또는 조건 배지를 최대 하중을 갖는 AHC 바이오센서에 개별적으로 로딩하였다. 기준 세척 단계 후에, 센서를 10 nM 미오스타틴 또는 BMP9에 각각 노출시켰으며, 결합 단계 및 해리 단계를 거쳤다. 모든 실험은 1,000rpm에서 흔들면서 수행하였다. 결합 활성은 ForteBio's 소프트웨어를 이용하여 분석하였으며, KD는 Kd/Ka 비율을 이용하여 계산하였다.

[0275] 결과

[0276] 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 미오스타틴 및 BMP9에 대한 결합 활성을 위해 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질과 비교하여 시험하였다. 결과는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질이 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질에 비해 BMP9에 대해 결합 친화도의 현저한 감소를 나타냄을 나타낸다. 다수의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 단백질보다 100배 이상 약한 BMP9 결합 친화도를 현저히 감소시켰으며, 그 사이에, 이들은 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 단백질의 것과 유사한 강한 미오스타틴 결합 친화도를 유지하였다. Octet Red 분석에 의해 얻어진 예비 결합 자료의 요약을 표 3에 나타내었다.

표 3

[0277]

ActRIIB-ECD-폴리펩티드	미오스타틴 결합	BMP9 결합
야생형	+++	+++
AG-0003 (서열번호: 5)	+++	++
AG-0005 (서열번호: 7)	+++	+
AG-0006 (서열번호: 8)	+++	+
AG-0007 (서열번호: 9)	+++	+
AG-0008 (서열번호: 10)	+++	++
AG-0011 (서열번호: 13)	+++	N.D.
AG-0027 (서열번호: 29)	+++	N.D.

[0278] +++ KD <10⁻⁸ M

[0279] ++ KD: 10⁻⁶ - 10⁻⁷ M

[0280] + KD 10⁻⁴ - 10⁻⁶ M

[0281] N.D. 검출가능한 결합 없음

[0282] AG-0014 및 AG-0027은 운동 배제 어레이 (KinExA) (Sapidyne Instruments, Inc.)로 분석하였다. 20-30 μ g/ml의 미오스타틴, 액티빈 A 또는 BMP-9를 Sapidyne Instruments에 의해 권장된 실험 절차를 이용하여 NHS-Activated Sepharose 4 Fast Flow beads (GE Healthcare)에 별도로 결합시켰다. 각 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질에 대한 농도는 리간드가 2.5배 연속 희석으로 적정되도록 일정하게 유지시켰다. 용액을 실온에서 24시간까지 배양하여 평형에 도달시킨 후, KinExA 3000 기기 (Sapidyne Instruments) 상에서 리간드-코팅된 세파로오스 비드로 미리-충진된 유동 세포를 통과시켰다. 비드 상에 포획된 유리 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 Alexa Fluor 647-표지된 염소 항-인간-Fc 항체 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.)로 검출되었다. KinExA Pro 소프트웨어 (Sapidyne Instruments)를 이용하여 리간드 결합 친화도 값 (K_D)을 계산하였다.

[0283] 결과

[0284] KinExA 분석에 의해 얻어진 예비 결합 자료의 요약을 표 4에 나타내었다. 자료는 야생형 ActRIIB-Fc와 유사하게, 2개의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질이 한 자릿수(single-digit) pM 범위에서 미오스타틴 및 액티빈 A 모두에 대해 높은 친화도를 갖는다는 것을 나타낸다. 그러나, 2개의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 한 자릿수 pM 범위에서 BMP9에 강한 결합 친화도를 나타내는 야생형 ActRIIB-Fc와 달리, BMP9에 검출가능한 결합을 나타내지 않는다.

표 4

분자	미오스타틴	액티빈 A	BMP9
	K_D (pM)	K_D (pM)	K_D (pM)
WT ActRIIB-Fc	5.06 pM	1.38 pM	4.25 pM
AG-0014 (서열번호: 16)	8.75 pM	0.357 pM	결합 없음
AG-0027 (서열번호: 29)	7.87 pM	1.09 pM	결합 없음

[0286] 실시예 4

[0287] 이 실시예에서는, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴/액티빈 A-차단 활성 및 BMP9-차단 활성을 각각 정량화하기 위해 사용된 미오스타틴/액티빈 A 신호 전달 어레이 및 BMP9 신호 전달 어레이가 기재되어 있다.

[0288] 미오스타틴/액티빈 A 신호 전달을 평가하기 위하여, 12 반복의 CAGA 서열을 갖는 리포터 구조체 (Dennler et al, EMBO 17: 3091-3100, 1998)를 pGL3-luc 리포터 벡터 (Promega)에 복제시켰다. 조작된 pGL3-CAGA₁₂-luc 벡터를 C2C12 세포에서 안정하게 형질감염시켜, 미오스타틴 또는 액티빈 A에 의해 매개되는 Smad3/4 신호 전달을 감지할 수 있는, 루시페라제 리포터 세포주인 C2C12-CAGA-luc를 생성하였다. 미오스타틴-중화 활성 및 액티빈 A-중화 활성을 측정하기 위하여, 4 nM의 재조합 미오스타틴 또는 액티빈 A를 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 및 (대조군으로서) 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질의 농도를 증가시키면서 실온에서 1시간 동안 예비 배양하였다. 이어서, 반응 혼합물을 C2C12-CAGA-luc 세포 배양물에 첨가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 CO₂ 배양기에서 5시간 동안 배양한 후, LuminoSkan Ascent (Thermo Scientific)를 이용하여 C2C12-CAGA-luc 리포터 배양물의 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0289] BMP9 신호 전달은 Smad1/5/8-신호 전달을 감지하는 BMP 반응 요소 (BRE)를 함유하는 루시페라제 리포터로 안정하게 형질감염시킨 C2C12 세포에서 시험하였다 (Korchynski et.al, J. Biol. Chem. 277:4883-4891, 2002). 구체적으로는, 2-반복 BMP-반응 요소 (Briter et al, PLoS One, 2012)를 합성하고, pGL3-luc 벡터 (Promega)로 복제하였다. 그 다음, pGL3-2XBRE-luc 벡터를 C2C12 세포에 안정하게 형질감염시켰다. 안정하게 형질감염된 리포터 세포주인 C2C12-BRE-luc를 사용하여 BMP9-매개 Smad1/5/8 신호 전달을 정량화하였다. BMP-중화 활성을 측정하기 위하여, 4nM의 BMP9를 실온에서 1시간 동안 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 및 (대조군으로서) 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질의 농도를 증가시키면서 예비 배양하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 C2C12-BRE-luc 세포 배양물에 첨가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 CO₂ 배양기에서 5시간 동안 배양한 후, LuminoSkan Ascent (Thermo Scientific)를 이용하여 C2C12 BRE-luc 리포터 배양물의 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0290] 결과

[0291] 결과는 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질과 비교하여, 2개의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질

질이 강한 미오스타틴-중화 활성 및 액티빈 A-중화 활성을 유지하나, BMP9-중화 활성의 현저한 감소를 가짐을 나타내었다 (참조 도 2). 도 2는 야생형 대조 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질의 중화 활성과 비교하여, 2개의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질인 AG-0003 (서열번호: 5) 및 AG-0005 (서열번호: 7)에 대해 미오스타틴, 액티빈 A 및 BMP9에 대한 세포-기반 중화 활성을 나타낸다.

[0292] 실시예 5

[0293] 이 실시예에서는, 실시예 4에 기재된 미오스타틴/액티빈 A 신호 전달 어세이 및 BMP9 신호 전달 어세이를 사용하여 하기 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 미오스타틴/액티빈 A-차단 활성 및 BMP9-차단 활성을 각각 정량화하였다: AG-0003 (서열번호: 5), AG-0014 (서열번호: 16), AG-0023 (서열번호: 25), AG-0024 (서열번호: 26), AG-0025 (서열번호: 27), AG-0027 (서열번호: 29), AG-0028 (서열번호: 30), AG-0029 (서열번호: 31), 및 AG-0035 (서열번호: 37).

[0294] 결과

[0295] 결과는 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질과 비교하여, 이들 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 중 몇몇이 강한 미오스타틴-중화 활성 및 액티빈 A-중화 활성을 유지하나, BMP9-중화 활성의 현저한 감소를 가짐을 나타내었다. 도 3은 야생형 대조 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질의 중화 활성과 비교하여, 2개의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질인 AG-0014 및 AG-0027에 대해 미오스타틴, 액티빈 A 및 BMP9에 대한 세포-기반 중화 활성을 나타낸다.

[0296] 표 5 및 6에 나타난 바와 같이, 야생형 ActRIIB-ECD-Fc 융합 단백질 (WT ActRIIB-Fc)과 비교하여, 다양한 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 세포-기반 Smad2/3 CAGA-luc 리포터 어세이에서 미오스타틴, 액티빈 A 및 액티빈 B에 대한 강한 중화 활성을 유지하면서, 세포-기반 Smad1/5/8 BRE-luc 리포터 어세이에서 현저히 감소된 BMP9-중화 활성을 나타내었다. 표 5는 WT ActRIIB-Fc의 것과 비교하여, 2개의 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질 AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)의 미오스타틴, 액티빈 A, 액티빈 B 및 BMP9에 대한 세포-기반 중화에 대한 IC₅₀ 값을 각각 나타낸다. 표 6은 WT ActRIIB-Fc의 것과 비교하여, 몇몇 예시적인 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 BMP9-중화 활성 및 미오스타틴-중화 활성을 개략적으로 나타낸다. WT ActRIIB-Fc와 비교하여, 하이브리드 단백질 AG-0003 (서열번호: 5), AG-0004 (서열번호: 6), AG-0005 (서열번호: 7), AG-0014 (서열번호: 16), AG-0023 (서열번호: 25), AG-0024 (서열번호: 26), AG-0025 (서열번호: 27), AG-0027 (서열번호: 29) 및 AG-0028 (서열번호: 30)은 BMP9-중화 활성이 현저히 감소되거나 또는 거의 나타나지 않았다 (참조, 도 10); AG-0003 (서열번호: 5), AG-0005 (서열번호: 7), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)은 충분한 미오스타틴-중화 활성을 유지한 반면, AG-0004 (서열번호: 6), AG-0023 (서열번호: 25), AG-0024 (서열번호: 26), AG-0025 (서열번호: 27) 및 AG-0028 (SEQ ID NO: 30)은 미오스타틴-중화 활성의 손실을 나타내었다 (참조, 도 11). 종합적으로, 이러한 결과는 BMP9-매개 Smad1/5/8 신호 전달에 대해 최소한 또는 전혀 영향을 주지 않으면서 미오스타틴/액티빈-매개 Smad2/3 신호 전달을 우선적으로 차단하는 다양한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 능력을 나타낸다.

표 5

[0297]

	세포-기반 IC ₅₀ (nM)			
	미오스타틴에 대한	액티빈 A에 대한	액티빈 B에 대한	BMP9에 대한
WT ActRIIB-Fc (서열번호: 1)	1.24	1.27	1.04	3.40
AG-0014 (서열번호: 16)	0.95	1.15	2.10	N.D.
AG-0027 (서열번호: 29)	1.14	1.62	1.30	N.D.

[0298]

N.D.: 검출가능한 중화 활성 없음

표 6

[0299]

	ActRIIB 세포외 도메인 돌연변이	BMP9-중화 활성	미오스타틴-중화 활성
WT ActRIIB-Fc (서열번호: 1)	야생형	+++	+++
AG-0003 (서열번호: 5)	F58I+Q64T+E65D +A68E+T69K+E70K +E71D+N72S+Q74E	+/-	+++
AG-0004 (서열번호: 6)	F58I+Q64T+E65D +A68E+T69K+E70K +E71D+N72S	+/-	++
AG-0005 (서열번호: 7)	Q64T+E65D +A68E+T69K+E70K +E71D+N72S	-	+++
AG-0007 (서열번호: 9)	A68E+T69K+E70K +E71D+N72S+Q74E	+++	++
AG-0008 (서열번호: 10)	A68E+T69K+E70K +E71D+N72S	+++	+++
AG-0014 (서열번호: 16)	E26Y+E28D+Q29K +L33R	-/+	+++
AG-0027 (서열번호: 29)	E28D+F58I+E70K	-	+++
AG-0029 (서열번호: 31)	E28D	+++	++
AG-0024 (서열번호: 26)	F58I	+++	+++
AG-0023 (서열번호: 25)	E70K	-	+
AG-0028 (서열번호: 30)	E28D+E70K	-	+
AG-0025 (서열번호: 27)	F58I+E70K	-	+++
AG-0035 (서열번호: 37)	E28D+F58I	+++	+++

[0300]

++++: 충분한 중화 활성; +++: 부분 중화 활성; ++: 약한 중화 활성; +: 매우 약한 중화 활성; +/-: 중화 활성이 적은 또는 없음; -: 중화 활성 없음

[0301]

실시예 6

[0302]

이 실시예에서는, PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)을 각각 10 mg/kg의 투여량으로 피하 주사된 9-주령 수컷 C57B1/6 마우스의 체중 및 근육량에 미치는 영향을 일주일에 한번 평가하였다. 체중은 0일, 5일, 12일 및 18일에 기록하였다. 군당 n=6/8. 체중 변화에 대한 값은 0일의 기준으로부터의 체중 증가의 퍼센트로 계산된다. 각 동물의 개개의 종아리 근육을 절개하고, 말단부 검사 동안 무게를 재었다. 값은 각 치료군에서의 평균 종아리 근육량의 퍼센트 증가를 비히클군의 것과 비교하여 나타낸다. 도 4 및 표 7에 나타난 바와 같이, 2개의 예시적인 하이브리드 리간드 트랩 단백질의 각각의 투여는 야생형 ActRIIB-Fc와 유사한 방식으로, 마우스에서 체중 증가를 현저히 증가시킬 수 있다.

표 7

[0303]

기준으로부터의 체중 증가

군	5일	12일	18일
비히클	1.5%	3.9%	5.6%
WT ActRIIB-Fc	9.4%	20.1%	25.8%
AG-0014	9.0%	16.8%	25.2%

AG-0027	7.1%	18.1%	24.3%
---------	------	-------	-------

[0304] 도 5 및 표 8에 나타난 바와 같이, 2개의 예시적인 하이브리드 리간드 트랩 단백질 AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)의 각각의 투여는, 야생형 ActRIIB-Fc와 유사한 방식으로 마우스에서 근육량을 현저히 증가시킬 수 있다.

표 8

[0305] 비히클에 비해 근육량 증가

군	비히클에 비해 종아리 근육량의 증가
WT ActRIIB-Fc	31.3%
AG-0014	30.0%
AG-0027	30.7%

[0306] 실시예 7

[0307] 이 실시예에서는, PBS (비히클), 야생형 ActRIIB-Fc (WT), AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)을 각각 10 mg/kg의 투여량으로 처리된 8-주령 수컷 BalbC 마우스에서 마우스 복강, 마우스 고환, 및 마우스 폐 조직에 미치는 영향을 일주일에 한번 평가하였다. 처리 후 2주에, 200 μ l의 에반스 블루 염료 (PBS 내 0.5%, pH 7.2)를 꼬리 정맥을 통해 각 군의 동물 (n=4)에 주입하였다. 에반스 블루 염료 주입 후 90분에 검사를 수행하였다. 각 군의 외과적으로 노출된 복강, 절개된 고환 장기, 및 절개된 폐 조직의 대표 영상은 각각 도 6-8에 표지된 대로 나타난다. 파란색은 혈관의 누출을 나타낸다. 고환 및 폐 조직을 무게를 잰 다음, 포름아미드를 함유한 바이알에 개별적으로 넣어 에반스 블루 염료를 추출하였다. 24시간 동안 55°C에서 배양한 후, 시료를 원심분리하였다. 분광광도계를 이용하여 610 nm의 파장에서 각 시료의 수상의 흡광도를 측정하였다. 다른 처리 군에서의 젖은 폐 조직 (왼쪽 패널) 및 고환 조직 (오른쪽 패널)의 mg 당 삼출된 에반스 블루 염료의 양을 도 9에 나타내었다.

[0308] 중요하게는, 도 6-9에 나타난 바와 같이, 2개의 예시적인 하이브리드 리간드 트랩 단백질의 투여는 처리된 동물에서 평가된 모든 조직에서 야생형 ActRIIB-Fc 단백질에 비해 혈관 누출의 수준을 현저하게 감소시킨다.

[0309] 실시예 8

[0310] 야생형 ActRIIB ECD-Fc (WT ActRIIB-Fc) 및 야생형 ActRIIA ECD-Fc (WT ActRIIA-Fc)와 비교하여, 상이한 농도에서 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질의 BMP9 결합을 더 특징지우기 위해 자동 ELISA 분석을 수행하였다. 도 12에 나타난 바와 같이, 2개의 예시적인 하이브리드 단백질 AG-0014 (서열번호: 16) 및 AG-0027 (서열번호: 29)은 각각 WT ActRIIB-Fc 또는 WT ActRIIA-Fc에 비해 크게 감소된 BMP9 결합을 나타내었다. 이러한 자료는 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질이 WT ActRIIB-Fc 및 WT ActRIIA-Fc와 다른 현저한 BMP9 결합 선택도를 갖는다는 것을 나타낸다.

[0311] 이 자료는 본 명세서에 기재된 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질이 다수의 위축-유발성 사이토카인 (atrophy-inducing cytokine)에 강하게 결합하고 중화시킴을 나타낸다. 그리고, 중요하게는, 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 근육에 대한 선택도를 현저히 개선시켰다, 즉, 근위축-유발성 사이토카인의 작용을 강하게 차단하면서도 비-근육 관련 사이토카인의 신호 전달을 그대로 유지하여 비-근육 세포의 정상적인 생리 기능을 유지하였다. 상기한 바와 같이, BMP는 다수의 생리적 과정에서 중요한 역할을 하며, BMP9 신호 전달은 정상적인 혈액 혈관구조/투과성을 유지하는데 필수적인 것으로 나타났다. BMP9 신호 전달을 억제하고 미오스타틴 및 액티빈 신호 전달을 우선적으로 길항시킴으로써, 본 발명의 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 BMP-9를 강하게 중화시키는 기존의 가용성 ActRIIB 단백질보다 더 효과적이고 안전한 치료제를 제공한다, 즉, 다수의 위축-유발성 사이토카인을 동시에 선택적으로 표적화하고 비-근육 관련 사이토카인의 신호 전달의 간섭을 피함으로써, 이들 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 우수한 근육 성장 효능 및 개선된 안전성 프로파일로 무장한 임상 후보물질의 종류를 나타내고, 이로 인해 근육 소모, 약액질 및 허약함을 방지하기 위한 동급 최상의 치료제가 될 가능성을 제공한다. 이와 같이, 이러한 신규한 하이브리드 ActRIIB 리간드 트랩 단백질은 노화-관련 근감소증, 암 약액질, 만성 질환과 관련된 근위축증 (CHF, CKD, COPD, 당뇨병 등), 불용 또는 탈신경에 기인한 근위축증, 약물-유발성 근질환, 다양한 형태의 근염, 신경근 질환 및 신경퇴행성 질환을 포함하

여, 다양한 임상 적응증을 갖는 것으로 생각된다.

[0312] 본 명세서에 개시되고 청구된 모든 논문 및 방법은 본 발명의 관점에서 과도한 실험 없이 제조되고 수행될 수 있다. 본 발명의 논문 및 방법이 바람직한 실시예에 의하여 기재되었지만, 본 발명의 정신 및 범위로부터 벗어나지 않고 논문 및 방법에 변화를 적용할 수 있음은 당업자에게 명백한 것이다. 당업자에게 명백한 이러한 모든 변화 및 균등물은, 현재 존재하든 또는 나중에 개발되든, 첨부된 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 정신 및 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 명세서에 언급된 모든 특허, 특허 출원 및 간행물은 본 발명이 속하는 기술분야에서 당업자의 수준을 나타낸다. 모든 특허, 특허 출원 및 간행물은 모든 목적을 위해, 그리고 마치 각 개개의 간행물이 임의의 및 모든 목적을 위해 전체 참조로 포함되도록 구체적이고 개별적으로 나타낸 것과 동일한 정도로, 본 명세서에 전체 참조로 포함된다. 본 명세서에 예시적으로 기재된 발명은 본 명세서에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소(들)의 부재 시에 적절하게 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명이 바람직한 실시예들 및 선택적 특징들에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본 명세서에 개시된 개념들의 변형 및 변화가 당업자에 의해 재분류될 수 있고, 이러한 변형 및 변화는 첨부된 청구범위에 의해 정의된 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다는 것을 이해하여야 한다.

[0313] 서열목록

[0314] 수반되는 서열목록에 열거된 핵산 및 아미노산 서열은 37 C.F.R. 1.822에 정의된 바와 같이 뉴클레오타이드 염기에 대해 표준 문자 약어 및 아미노산에 대해 3 문자 코드를 사용하여 나타낸다.

[0315] 서열번호: 1은 절단된 야생형 인간 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 아미노산 서열이다.

[0316] 서열번호: 2는 절단된 야생형 인간 ActRIIA-ECD 폴리펩티드의 아미노산 서열이다.

[0317] 서열번호: 3-37은 다양한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 아미노산 서열이다.

[0318] 서열번호: 38은 인간 면역글로불린 감마-1 (IgG1) 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열이다.

[0319] 서열번호: 39는 IgG1 Fc 도메인의 아미노산 서열이다.

[0320] 서열번호: 40은 인간 면역글로불린 감마-2 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열이다.

[0321] 서열번호: 41은 IgG2 Fc 도메인의 아미노산 서열이다.

[0322] 서열번호: 42는 인간 면역글로불린 감마-4 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열이다.

[0323] 서열번호: 43은 IgG4 Fc 도메인의 아미노산 서열이다.

[0324] 서열번호: 44는 펩티드 링커의 아미노산 서열이다.

[0325] 서열번호: 45는 인간 ActRIIB 폴리펩티드의 전장 아미노산 서열이다.

[0326] 서열번호: 46은 야생형 인간 ActRIIB 세포외 도메인의 아미노산 서열이다 (서열번호: 45의 19-134).

[0327] 서열번호: 47은 인간 ActRIIA 폴리펩티드의 전장 아미노산 서열이다.

[0328] 서열번호: 48은 야생형 인간 ActRIIA 세포외 도메인의 아미노산 서열이다 (서열번호: 47의 20-135).

[0329] 서열번호: 49는 ActRIIB 천연 신호 펩티드의 아미노산 서열이다.

[0330] 서열번호: 50은 면역글로불린 경쇄 신호 펩티드의 아미노산 서열이다.

[0331] 서열번호: 51-117은 다양한 하이브리드 가용성 ActRIIB-ECD 폴리펩티드의 아미노산 서열이다.

[0332] 서열번호: 118은 펩티드 링커의 아미노산 서열이다.

[0333] 서열목록

[0334] 절단된 야생형 ActRIIB-ECD

[0335] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGWLDNFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPVETY EPPPTAPT (서열번호: 1)

[0336] 절단된 야생형 ActRIIA-ECD

[0337] ETQECLFFNANWEKDRNTQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCKEFSYFPMEVETQPTS

NPVTPKPP (서열번호: 2)

- [0338] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0001)
- [0339] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 3)
- [0340] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0002)
- [0341] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 4)
- [0342] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0003)
- [0343] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 5)
- [0344] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0004)
- [0345] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRDCVEKKDSPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 6)
- [0346] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0005)
- [0347] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRDCVEKKDSPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 7)
- [0348] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0006)
- [0349] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 8)
- [0350] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0007)
- [0351] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRQECVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 9)
- [0352] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0008)
- [0353] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRQECVEKKDSPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 10)
- [0354] 하이브리드 인간 ActRIIA-ECD (AG-0009)
- [0355] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 11)
- [0356] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0010)
- [0357] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 12)
- [0358] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0011)
- [0359] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRQECVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 13)
- [0360] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0012)
- [0361] ETQECIYYNANWEKDRNTQTGVEPCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 14)
- [0362] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0013)
- [0363] ETQECIYYNANWEKDRNTQTGVEPCGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 15)

- [0364] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0014)
- [0365] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 16)
- [0366] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0015)
- [0367] ETRECIYYNANWEKDRTNQTGVEPCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 17)
- [0368] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0016)
- [0369] ETQECIYYNANWEKDRTNQTGVEPCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 18)
- [0370] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0017)
- [0371] ETQECIYYNANWEKDRTNQTGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 19)
- [0372] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0018)
- [0373] ETQECIYYNANWEKDRTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 20)
- [0374] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0019)
- [0375] ETRECIYYNANWEKDRTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 21)
- [0376] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0020)
- [0377] ETQECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 22)
- [0378] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0021)
- [0379] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCFATWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 23)
- [0380] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0022)
- [0381] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 24)
- [0382] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0023)
- [0383] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 25)
- [0384] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0024)
- [0385] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 26)
- [0386] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0025)
- [0387] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 27)
- [0388] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0026)
- [0389] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 28)

- [0390] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0027)
- [0391] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 29)
- [0392] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0028)
- [0393] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 30)
- [0394] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0029)
- [0395] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 31)
- [0396] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0030)
- [0397] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 32)
- [0398] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0031)
- [0399] ETRECIFFNANWEKDRNTQTGVEPCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 33)
- [0400] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0032)
- [0401] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIELVKKGCLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 34)
- [0402] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0033)
- [0403] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 35)
- [0404] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0034)
- [0405] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 36)
- [0406] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD (AG-0035)
- [0407] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 37)
- [0408] 인간 면역글로불린 감마-1 중쇄 불변 영역
- [0409] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHITCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 38)
- [0410] IgG1 Fc 도메인
- [0411] VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNAKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL
SPGK (서열번호: 39)
- [0412] 인간 면역글로불린 감마-2 중쇄 불변 영역
- [0413] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRC
CVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKKVSNA
KGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 40)

- [0414] IgG2 Fc 도메인
- [0415] VFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 41)
- [0416] 인간 면역글로불린 감마-4 중쇄 불변 영역
- [0417] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVKRVERSKYGPCCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (서열번호: 42)
- [0418] IgG4 Fc 도메인
- [0419] APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (서열번호: 43)
- [0420] 펩티드 링커 서열
- [0421] GGGGS (서열번호: 44)
- [0422] 인간 ActRIIB 폴리펩티드의 전장 아미노산 서열
- [0423] MTAPWVALALLWGSCLAGSGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTLLTVLAYSLPIGGLSLIVLLAFWMYRHRKPPYGHVDIHEDPGPPPSPLVGLKPLQLLEIKARGRFGCVWKAQLMNDFAVAVKIFPLQDKQSWQSEREIFSTPGMKHENLLQFIAAEKRGSNLEVELWLITAFHDKGSLTDYLGKNIITWNLCHVAETMSRGLSYLHEDVPWCRGEGHKPSIAHRDFKSKNVLLKSDLTAVLADFLAVRFEPGKPPGDTHGQVGTTRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELVSRCKAADGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLLEELQEVVHKKMRPTIKDHWLKHPLAQLCVTIEECWDHDAEARLSAGCVEERVSLIRRSVNGTTSDDLVSLSVTNVLDLPPKESI (서열번호: 45)
- [0424] 야생형 인간 ActRIIB 세포외 도메인 (서열번호: 45의 19-134)
- [0425] SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (서열번호: 46)
- [0426] 인간 ActRIIA 폴리펩티드의 전장 아미노산 서열
- [0427] MGAATKLAFVAVLISCSSGAILGRSETQECIYYNANWEKDKTNRSIEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRNDIEKKDSPEVFFCCCEGNMCNERFFYPPEMEVTQPTSNPVTTPKPLFNTLLYSLVPIGIAVIVLFSFWMYRHHKLAYPPVLVPTQDPGPPPSPLMGLKPLQLLEIKARGRFGCVWKAQLLNEYVAVKIFPIQDKQSWQNEYEIYSLPGMKHDNLLQFIGAELKRGTSIDVDLWLITAFHEKGSITDFLKANVSWNELCHIAQTMARGLAYLHEDIPGLKDGHKPAISHRDIKSKNVLLKNNLTACIADFLALKFEAGKSAGDTHGQVGTTRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELASRCTASDGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLDEDMQEVVHKKRPVLRWCQKHSGMAMLCETIEECWDHDAEARLSAGCVEERI IQMQLTNIITTEDIVTVVTMVTNVDFPPKESSL (서열번호: 47)
- [0428] 야생형 인간 ActRIIA 세포외 도메인 (서열번호: 47의 20-135)
- [0429] AILGRSETQECLFFNANWEKDRNTQGVPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPPEMEVTQPTSNPVTTPKPP (서열번호: 48)
- [0430] ActRIIB 천연 신호 펩티드
- [0431] MTAPWVALALLWGSCLAG (서열번호: 49)
- [0432] 면역글로불린 경쇄 신호 펩티드
- [0433] MDMRVPAAQLGLLLLWLRGARC (서열번호: 50)
- [0434] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0435] ETQECLFFNANWEKDRNTQSGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (서열번호: 51)

- [0436] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0437] ETQECLFFNANWEKDRTNQSGLVEPCGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 52)
- [0438] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0439] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGLVEPCGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 53)
- [0440] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0441] ETQECLFFNANWEKDRTNQSGLVEPCYGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 54)
- [0442] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0443] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGLVEPCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 55)
- [0444] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0445] ETRECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 56)
- [0446] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0447] ETRECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 57)
- [0448] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0449] ETRECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 58)
- [0450] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0451] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 59)
- [0452] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0453] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 60)
- [0454] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0455] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 61)
- [0456] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0457] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 62)
- [0458] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0459] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 63)
- [0460] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0461] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRDCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 64)

- [0462] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0463] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCFATWKNI SGSI EIVKQGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 65)
- [0464] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0465] ETQECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 66)
- [0466] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0467] ETQECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 67)
- [0468] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0469] ETQECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCFATWKNI SGSI EIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 68)
- [0470] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0471] ETQECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCFATWKNI SGSI EIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 69)
- [0472] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0473] ETRECLFFNANWEKDRTNQTGVPECEGEQDKRLHCFATWKNI SGSI EIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 70)
- [0474] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0475] ETRECLFFNANWEKDRTNQTSGVPECEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 71)
- [0476] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0477] ETRECLFFNANWEKDRTNQTSGVPCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 72)
- [0478] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0479] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 73)
- [0480] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0481] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 74)
- [0482] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0483] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 75)
- [0484] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0485] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 76)
- [0486] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0487] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 77)

- [0488] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0489] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRDCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 78)
- [0490] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0491] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRDCVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 79)
- [0492] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0493] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 80)
- [0494] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0495] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 81)
- [0496] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0497] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCDYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 82)
- [0498] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0499] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCDYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 83)
- [0500] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0501] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 84)
- [0502] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0503] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 85)
- [0504] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0505] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 86)
- [0506] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0507] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 87)
- [0508] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0509] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 88)
- [0510] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0511] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 89)
- [0512] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0513] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVQTPTS
NPVTPKPP (서열번호: 90)

- [0514] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0515] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVETEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 91)
- [0516] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0517] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVAKEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 92)
- [0518] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0519] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 93)
- [0520] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0521] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEDNPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 94)
- [0522] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0523] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEESPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 95)
- [0524] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0525] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 96)
- [0526] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0527] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDKDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVETEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 97)
- [0528] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0529] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEKDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVAKEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 98)
- [0530] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0531] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 99)
- [0532] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0533] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDKDKRLHCYASWRNSSGTIELVKQGCWLDDFNCDYDRQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 100)
- [0534] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0535] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDKDKRLHCYASWRNSSGTIELVKQGCWLDDFNCDYDRQECVAEKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 101)
- [0536] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0537] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKQGCWLDDFNCDYDRQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 102)
- [0538] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0539] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKQGCWLDDFNCDYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 103)

- [0540] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0541] ETRECIYYNANWELERTNQSLERLCYGDQDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 104)
- [0542] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0543] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 105)
- [0544] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0545] ETRECIYYNANWELERTNQSLERLCYGEQDKRLHCYASWRNSSGSIEIVKKGCWLDDFNCYDRDTCVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 106)
- [0546] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0547] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 107)
- [0548] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0549] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 108)
- [0550] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0551] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGSIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 109)
- [0552] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0553] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 110)
- [0554] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0555] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 111)
- [0556] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0557] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 112)
- [0558] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0559] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 113)
- [0560] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0561] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 114)
- [0562] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0563] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTS
NPVTPKPP (서열번호: 115)
- [0564] 하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0565] ETQECLFFNANWEKDRNTQTVGEPCYGDQDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCMNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 116)

- [0566]

하이브리드 hu-ActRIIB-ECD
- [0567]

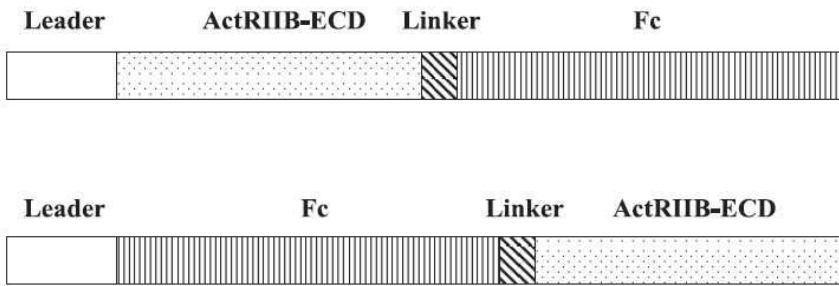
ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTY
EPPPTAPT (서열번호: 117)
- [0568]

캡티드 링커 서열
- [0569]

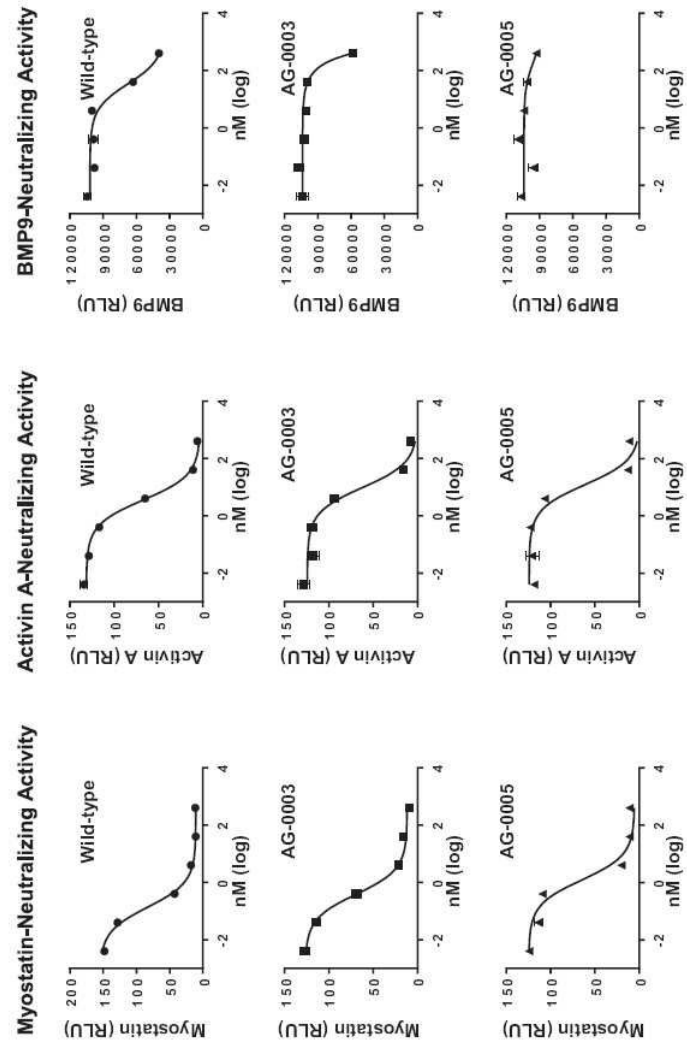
ESKYGPPCPPCP (서열번호: 118)

도면

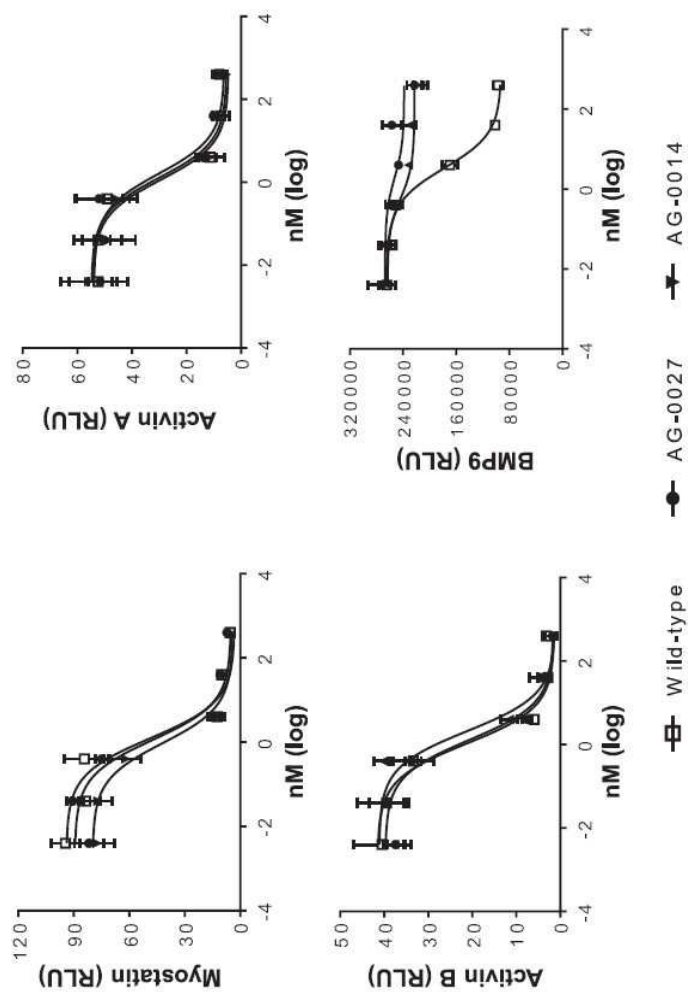
도면1



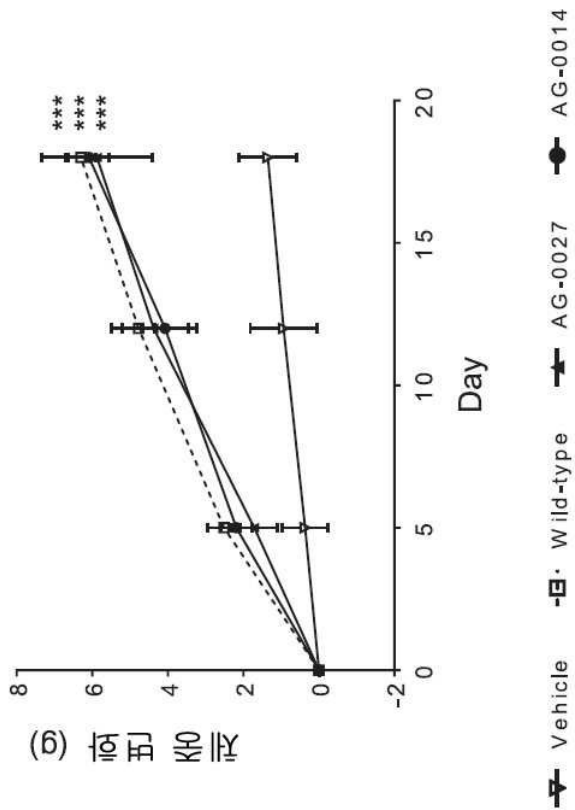
도면2



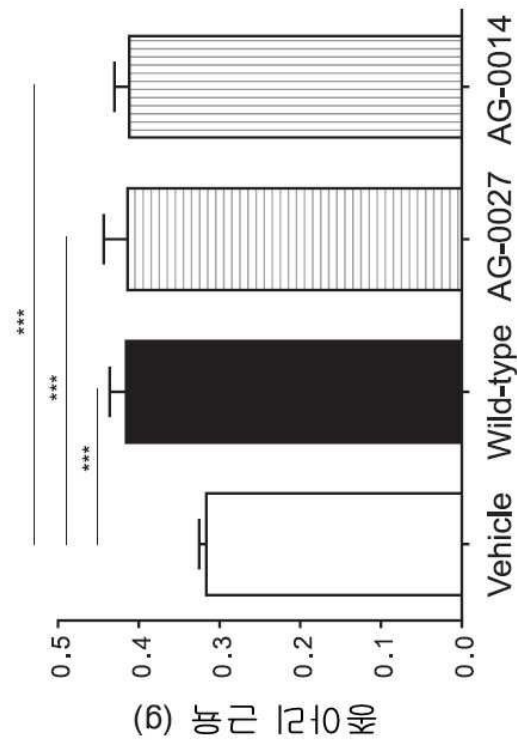
도면3



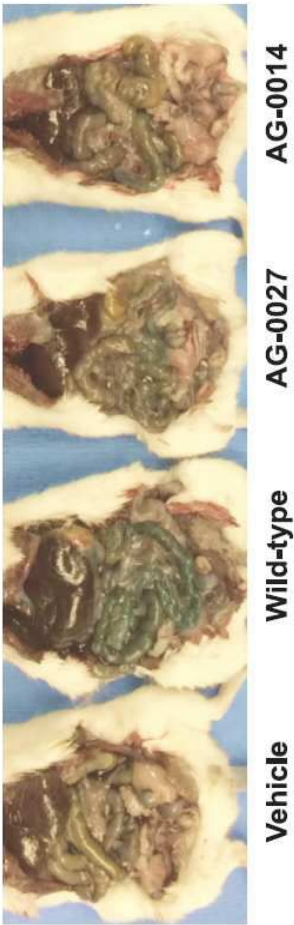
도면4



도면5



도면6



도면7



도면8



AG-0014



AG-0027

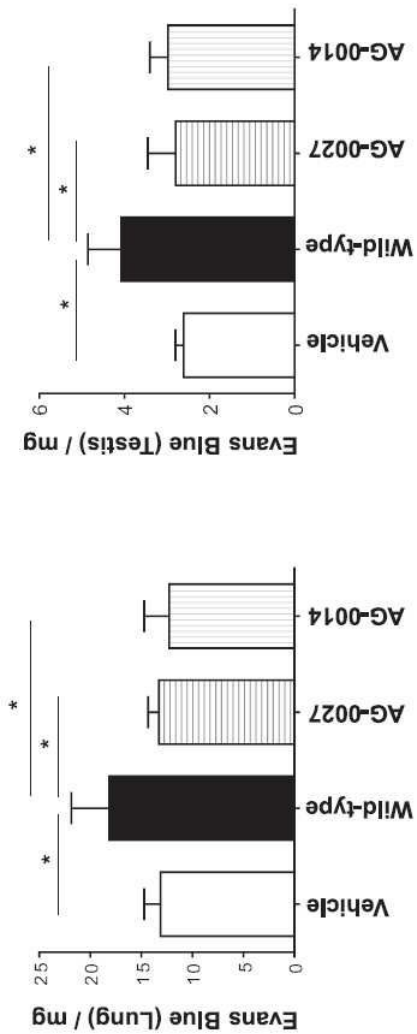


Wild-type

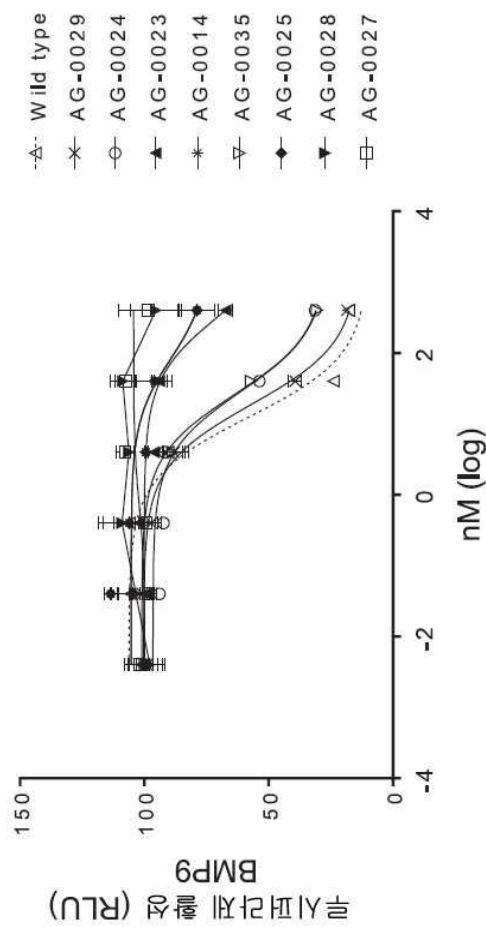


Vehicle

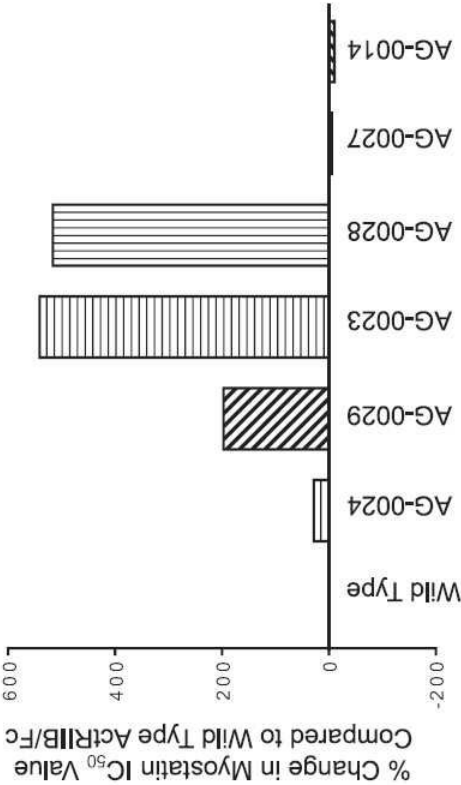
도면6



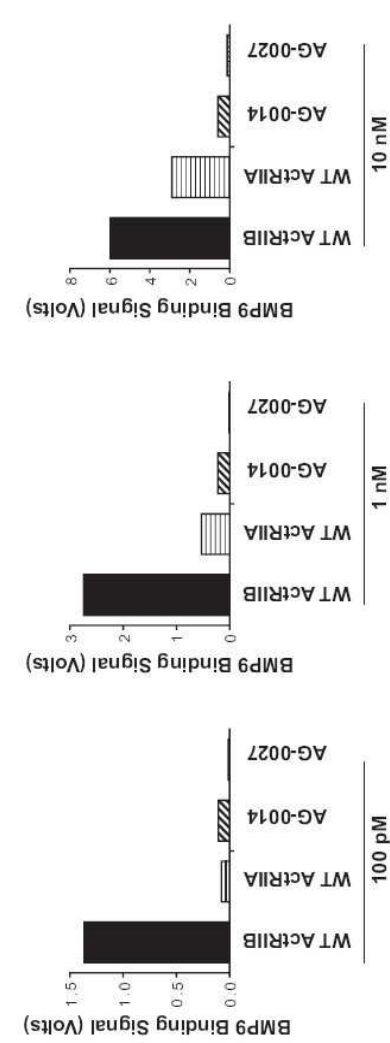
도면10



도면11



도면12



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> AliveGen USA
- <120> NOVEL HYBRID ACTRIIB LIGAND TRAP PROTEINS FOR TREATING MUSCLE WASTING DISEASES
- <130> CACAG1.0003WO
- <160> 118
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 110
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110
<210> 2
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2
Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
20 25 30
Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
35 40 45
Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
50 55 60
Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 3

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 3

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 4

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 4

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 5

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223

> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 5

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 6

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 6

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 7

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 8

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 8

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 9

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 9

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 10

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 10

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60

Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 11

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 11

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 12

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 12

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 13

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 13

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 14

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 14

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 15

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 15

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 16

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 16

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30
Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 17

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 17

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 18

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 18

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 19

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 19

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 20

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 20

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 21

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 21

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 22

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 22

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 23

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 23

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 24

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 24

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30
Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 25

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 25

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 26

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 26

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 27

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 27

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 28

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 28

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 29

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 29

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 30

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 30

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 31

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 31

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 32

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 32

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 33

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 33

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 34

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 34

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 35

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 35

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 36

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 36

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 37

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 37

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 38

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 39

<211> 208

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 1 5 10 15
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 20 25 30
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 35 40 45
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 50 55 60
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 65 70 75 80
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 85 90 95
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

100 105 110
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

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

 180 185 190
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 195 200 205
 <210> 40
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 40
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

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

 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

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

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

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

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

<210> 41
<211> 207
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
1 5 10 15

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
20 25 30

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
35 40 45

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
50 55 60

Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
65 70 75 80

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
85 90 95

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
100 105 110

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
115 120 125

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
130 135 140

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
145 150 155 160

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
165 170 175

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
180 185 190

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
195 200 205

<210> 42

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

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

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

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

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 43

<211> 217

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175
Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215
<210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Peptide linker
<400> 44
Gly Gly Gly Gly Ser

1 5
<210> 45
<211> 512
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 45
Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys
1 5 10 15
Ala Gly Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr
20 25 30
Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg
35 40 45

Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg

50 55 60

Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp

65 70 75 80

Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn

85 90 95

Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg

100 105 110

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

115 120 125

Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Arg His Arg Lys Pro Pro Tyr Gly His Val Asp Ile His Glu Asp Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Leu Met Asn Asp Phe Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Leu Gln Asp Lys

210 215 220

Gln Ser Trp Gln Ser Glu Arg Glu Ile Phe Ser Thr Pro Gly Met Lys

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Leu Thr Asp Tyr Leu Lys Gly Asn Ile Ile Thr Trp Asn Glu Leu Cys

275 280 285

His Val Ala Glu Thr Met Ser Arg Gly Leu Ser Tyr Leu His Glu Asp

290 295 300
Val Pro Trp Cys Arg Gly Glu Gly His Lys Pro Ser Ile Ala His Arg

305 310 315 320
Asp Phe Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Ser Asp Leu Thr Ala Val

325 330 335
Leu Ala Asp Phe Gly Leu Ala Val Arg Phe Glu Pro Gly Lys Pro Pro

340 345 350
Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu

355 360 365
Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg Ile

370 375 380
Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Val Ser Arg Cys

385 390 395 400
Lys Ala Ala Asp Gly Pro Val Asp Glu Tyr Met Leu Pro Phe Glu Glu

405 410 415
Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Glu Leu Gln Glu Val Val Val

420 425 430
His Lys Lys Met Arg Pro Thr Ile Lys Asp His Trp Leu Lys His Pro

435 440 445
Gly Leu Ala Gln Leu Cys Val Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His Asp

450 455 460
Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Glu Glu Arg Val Ser Leu

465 470 475 480
Ile Arg Arg Ser Val Asn Gly Thr Thr Ser Asp Cys Leu Val Ser Leu

485 490 495
Val Thr Ser Val Thr Asn Val Asp Leu Pro Pro Lys Glu Ser Ser Ile

500 505 510

<210> 46

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala

1 5 10 15

Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe

50 55 60

Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln

65 70 75 80

Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ala Pro Thr

115

<210> 47

<211> 513

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

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

1 5 10 15

Ser Ser Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr

20 25 30

Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Lys Thr Asn Arg Ser Gly Ile Glu

35 40 45

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

50 55 60

Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu

65 70 75 80

Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Asn Asp Cys Ile Glu Lys Lys Asp
 85 90 95
 Ser Pro Glu Val Phe Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu
 100 105 110
 Arg Phe Phe Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn
 115 120 125
 Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Leu Phe Asn Thr Leu Leu Tyr Ser Leu
 130 135 140
 Val Pro Ile Met Gly Ile Ala Val Ile Val Leu Phe Ser Phe Trp Met
 145 150 155 160
 Tyr Arg His His Lys Leu Ala Tyr Pro Pro Val Leu Val Pro Thr Gln
 165 170 175
 Asp Pro Gly Pro Pro Pro Pro Ser Pro Leu Met Gly Leu Lys Pro Leu
 180 185 190
 Gln Leu Leu Glu Ile Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys
 195 200 205
 Ala Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Ile Gln
 210 215 220
 Asp Lys Gln Ser Trp Gln Asn Glu Tyr Glu Ile Tyr Ser Leu Pro Gly
 225 230 235 240
 Met Lys His Asp Asn Ile Leu Gln Phe Ile Gly Ala Glu Lys Arg Gly
 245 250 255
 Thr Ser Ile Asp Val Asp Leu Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Glu Lys
 260 265 270
 Gly Ser Leu Thr Asp Phe Leu Lys Ala Asn Val Val Ser Trp Asn Glu
 275 280 285
 Leu Cys His Ile Ala Gln Thr Met Ala Arg Gly Leu Ala Tyr Leu His
 290 295 300
 Glu Asp Ile Pro Gly Leu Lys Asp Gly His Lys Pro Ala Ile Ser His
 305 310 315 320
 Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Asn Asn Leu Thr Ala

325 330 335
 Cys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Leu Lys Phe Glu Ala Gly Lys Ser
 340 345 350
 Ala Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro
 355 360 365
 Glu Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg

370 375 380
 Ile Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Ala Ser Arg
 385 390 395 400
 Cys Thr Ala Ser Asp Gly Pro Val Asp Glu Tyr Met Leu Pro Phe Glu
 405 410 415
 Glu Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Asp Met Gln Glu Val Val
 420 425 430
 Val His Lys Lys Lys Arg Pro Val Leu Arg Glu Cys Trp Gln Lys His

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

500 505 510
 Leu

<210> 48

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala
 1 5 10 15

Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr

20 25 30

Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile

35 40 45

Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile

50 55 60

Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu

65 70 75 80

Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser

85 90 95

Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr

100 105 110

Pro Lys Pro Pro

115

<210> 49

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ActRIIB signal peptide

<400> 49

Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 50

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Immunoglobulin light chain signal peptide

<400> 50

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

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys

20

<210> 51

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 51

Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 52

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 52

Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

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

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 53

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

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

<210> 54

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 54

Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 55

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 55

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 56

 $\langle 211 \rangle$ 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 56

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 57

 $\langle 211 \rangle$ 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 57

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15
 Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 58

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 58

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

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 59

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 59

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 60

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 60

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 61

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 61

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 62

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 62

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 63

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 63

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 64

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 64

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 65

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 65

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 66

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 66

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80
 Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 67

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 67

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 68

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 68

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 69

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 69

Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 70

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 70

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 71

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 71

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 72

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 72

Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 73

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 73

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 100 105 110

<210> 74

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 74

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 75

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 75

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 76

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 76

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 77

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 77

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 78

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 78

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 79

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 79

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 80

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 80

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 81

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 81

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 100 105 110

<210> 82

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 82

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu
 85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 83

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 83

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 84

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 84

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 85

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 85

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 86

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 86

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 87

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 87

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 88

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 88

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 89

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 89

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 100 105 110

<210> 90

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 90

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80
 Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
 85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 91

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 91

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 92

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 92

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 93

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 93

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 94

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 94

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Asp Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 95

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 95

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 96

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 96

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 97

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 97

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 100 105 110

<210> 98

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 98

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg
 20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60

Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
 85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 99

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 99

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 100

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 100

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Lys Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 101

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 101

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Glu Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 102

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 102

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Lys Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 103

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 103

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 104

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 104

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 105

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 105

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 100 105 110

<210> 106

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 106

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile
 35 40 45

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 107

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 107

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 108

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 108

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60
Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 109

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 109

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 110

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 110

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile

35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95
Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 111

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 111

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu

35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 112

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 112

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
100 105 110

<210> 113

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 113

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 100 105 110

<210> 114

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 114

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30

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

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 115

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 115

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg

20 25 30

Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Lys Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

85 90 95

Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro

100 105 110

<210> 116

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 116

Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
35 40 45

Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

50 55 60

Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 117

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Hybrid Human ActRIIB ECD

<400> 117

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

1 5 10 15

Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

20 25 30

Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

50 55 60

Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

65 70 75 80

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

85 90 95

Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

100 105 110

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide linker

<400> 118

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1

5

10