



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0025432
(43) 공개일자 2023년02월21일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/17 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 9/04 (2006.01)
C07K 14/71 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 38/179 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7000845
(22) 출원일자(국제) 2021년06월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년01월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/037557
(87) 국제공개번호 WO 2021/257655
국제공개일자 2021년12월23일
- (30) 우선권주장
63/040,400 2020년06월17일 미국(US)
63/159,003 2021년03월10일 미국(US)
- (71) 출원인
악셀레론 파마 인코퍼레이티드
미국 02139 매사추세츠주 캄브리지 시드니 스트리트 128
- (72) 발명자
수라가니, 라하세크하르, 나가 벤카타 사이
미국 02139 매사추세츠주 캄브리지, 시드니 스트리트 128 악셀레론 파마 인코퍼레이티드 씨/오리, 지아
미국 02139 매사추세츠주 캄브리지, 시드니 스트리트 128 악셀레론 파마 인코퍼레이티드 씨/오리 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
강명구

전체 청구항 수 : 총 299 항

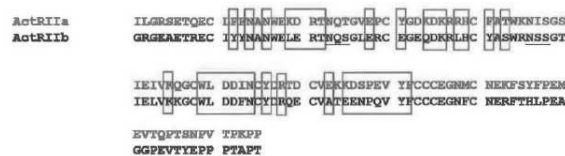
(54) 발명의 명칭 심부전 치료용 ActRII-ALK4 길항제 및 방법

(57) 요약

요약서

일부 측면들에서, 본 명세서는 ActRII-ALK4 길항제 및 심부전 (HF)의 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키기 위해, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 HF-연합된 동반이환을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키기 위한 용도로 ActRII-ALK4 길항제를 사용하는 것에 관계한다. 본 명세서는 유전성 심근병증, 근육 소모성 질환, 및 근육 이영양증을 비롯한, 그러나 이에 국한되지 않은 다양한 병태와 연합된, 심부전의 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키기 위해, ActRII-ALK4 길항제를 이용하는 방법들 또한 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)

A61P 9/04 (2018.01)

C07K 14/71 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

(72) 발명자

안드레, 패트릭

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지, 시드니 스트리트 128 악셀레론 파마 인코퍼레이티드 씨/오

쿠마르 라빈드라

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지, 시드니 스트리트 128 악셀레론 파마 인코퍼레이티드 씨/오

명세서

청구범위

청구항 1

확장성 심근병증 (DCM)과 연합된 심부전을 치료하는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 2

확장성 심근병증 (DCM)과 연합된 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 3

청구항 1-2 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 확장성 심근병증은 유전적 형태의 DCM인, 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 이때 상기 확장성 심근병증은 상염색체 열성 DCM, X-연계된 DCM, 및 미토콘드리아 DCM으로 구성된 군에서 선택된, 방법.

청구항 5

청구항 1-4 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 확장성 심근병증은 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)과 연합된, 방법.

청구항 6

청구항 1-5 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 확장성 심근병증은 디스트로핀 (DMD) 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된, 방법.

청구항 7

청구항 1-6 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 HFrEF 심부전을 가지고 있는, 방법.

청구항 8

청구항 1-7 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 정지 코돈 판독 요법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑용 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (AON) 요법, Atalurenhas, 유트로핀 과다발현 요법, 타다라필, 미오스타틴 억제제, 및 세포 요법으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 9

청구항 1-8 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 10

청구항 1-8 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 드리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 이때 상기 환자에게 또한 에테필르센을 투여하는, 방법.

청구항 12

청구항 10에 있어서, 이때 상기 환자에게 또한 고로디르센을 투여하는, 방법.

청구항 13

근육 소모성 질환과 연관된 심부전을 치료하는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 14

근육 소모성 질환과 연관된 심부전과 연관된 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 15

청구항 13-14 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 HFrEF 심부전을 가지고 있는, 방법.

청구항 16

청구항 13-14 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 소모성 질환은 근육 이영양증인, 방법.

청구항 17

청구항 14-16 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 소모성 질환은 Becker 근육 이영양증 (BMD), 선천성 근이영양증 (CMD), Duchenne 근육 이영양증 (DMD), Emery-Dreifuss 근육 이영양증 (EDMD), 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD), 사지-근 근이영양증 (LGMD), 근긴장성 이영양증 (DM), 안구인두 근육 이영양증 (OPMD), 및 Friedreich 운동실조증 근육 이영양증으로 구성된 군에서 선택된 근육 이영양증인, 방법.

청구항 18

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)인, 방법.

청구항 19

청구항 13-18 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 디스트로핀 (DMD) 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된, 방법.

청구항 20

청구항 13-19 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 정지 코돈 관독 요법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑용 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (AON) 요법, Atalurenhas, 유트로핀 과다발현 요법, 타다라필, 미오스타틴 억제제, 및 세포 요법으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 21

청구항 13-20 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 22

청구항 13-20 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑

45), 수보디르센 (WVE-210,201), 트리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 이때 상기 환자에게 또한 에테필르센을 투여하는, 방법.

청구항 24

청구항 22에 있어서, 이때 상기 환자에게 또한 고로디르센을 투여하는, 방법.

청구항 25

청구항 13-15 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 소모성 질환은 근육 위축(예를 들자면, 소아마비 후 근육 위축(PPMA)), 악액질(예를 들자면, 심장 악액질, AIDS 악액질 및 암 악액질), 영양실조, 나병, 당뇨병, 신장 질환, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 암, 말기 병기 신부전, 근감소증, 폐기종, 골연화증, HIV 감염 및 AIDS로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 장애와 연관된, 방법.

청구항 26

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 사지 근 근육 이영양증 (LGMD)인, 방법.

청구항 27

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 미오티린 (MYOT), 라민 A/C (LMNA), 카베오린-3 (CAV3), 칼페인-3 (CAPN3), 디스페린 (DYSF), γ -사르코글리칸 (SGCG), α -사르코글리칸 (SGCA), β -사르코글리칸 (SGCB), 및/또는 δ -사르코글리칸 (SGCD), 푸쿠틴-관련 단백질 (FKRP), 아놀타민-5 (ANO5)으로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된, 방법.

청구항 28

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 SRP-9003, SRP-9004, SRP-9005, SRP-6004, SRP-9006, 및 LGMD2A로 구성된 군에서 선택된 또한 하나 또는 그 이상의 작용제를 또한 투여하는, 방법.

청구항 29

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 Friedreich 운동실조증 근육 이영양증인, 방법.

청구항 30

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 프락타시아 유전자 (FXN)에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된, 방법.

청구항 31

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 근긴장성 이영양증인, 방법.

청구항 32

청구항 13-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 근육 이영양증은 근긴장성 이영양증 단백질 키나제 (DMPK) 및 CCHC-유형 아연 핑거 핵산 결합 단백질 (CNBP) 유전자로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된, 방법.

청구항 33

유전성 심근병증과 연관된 심부전 치료 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 34

유전성 심근병증과 연관된 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 35

청구항 33-34 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 유전성 심근병증은 확장성 심근병증, 비대성 심근병증, 부정맥성 심근병증, 좌심실 비압박 심근병증, 및 제한성 심근병증으로 구성된 군에서 선택된, 방법.

청구항 36

청구항 33-35 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 유전성 심근병증은 확장성 심근병증인, 방법.

청구항 37

심부전 (HF)을 치료하는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 38

하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 있어서, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 39

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 유전성 심근병증인, 방법.

청구항 40

청구항 37-39 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 확장성 심근병증 (DCM)인, 방법.

청구항 41

청구항 37-40 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)과 연관된, 방법.

청구항 42

청구항 37-41 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 디스트로핀 (DMD) 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된, 방법.

청구항 43

청구항 37-42 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 정지 코돈 판독 요법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑용 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (AON) 요법, Atalurenhas, 유트로핀 과다발현 요법, 타다라필, 미오스테인 억제제, 및 세포 요법으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 44

청구항 37-43 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 45

청구항 37-43 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 트리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 투여하는, 방법.

청구항 46

청구항 45에 있어서, 이때 상기 환자에게 또한 에테필르센을 투여하는, 방법.

청구항 47

청구항 45에 있어서, 이때 상기 환자에게 또한 고로디르센을 투여하는, 방법.

청구항 48

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 사지 근 근육 이영양증 (LGMD)과 연합된, 방법.

청구항 49

청구항 48에 있어서, 이때 상기 심부전은 미오티린 (*MYOT*), 라민 A/C (*LMNA*), 카베오린-3 (*CAV3*), 칼페인-3 (*CAPN3*), 디스페린 (*DYSF*), γ 사르코글리칸 (*SGCG*), α -사르코글리칸 (*SGCA*), β 사르코글리칸 (*SGCB*), 및/또는 δ 사르코글리칸 (*SGCD*), 푸쿠티-관련 단백질 (*FKRP*), 아노타민-5 (*ANO5*)으로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된, 방법.

청구항 50

청구항 48-49 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자에게 SRP-9003, SRP-9004, SRP-9005, SRP-6004, SRP-9006, 및 LGMD2A로 구성된 군에서 선택된 또한 하나 또는 그 이상의 작용제를 또한 투여하는, 방법.

청구항 51

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 Friedreich 운동실조증 근육 이영양증과 연합된, 방법.

청구항 52

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 프라탁신 유전자 (*FXN*)에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된, 방법.

청구항 53

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 근긴장성 이영양증과 연합된, 방법.

청구항 54

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 근긴장성 이영양증 단백질 키나제 (*DMPK*) 및 CCHC-유형 아연 핑거 핵산 결합 단백질 (*CNBP*) 유전자로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된, 방법.

청구항 55

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 비대성 심근병증 (HCM)과 연합된, 방법.

청구항 56

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 부정맥성 심근병증 (AC)과 연합된, 방법.

청구항 57

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 좌심실 비압박 심근병증 (LVNC)과 연합된, 방법.

청구항 58

청구항 37-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 제한성 심근병증 (RC)과 연합된, 방법.

청구항 59

청구항 37-58 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 박출률이 보존된 심부전 (HFpEF)인, 방법.

청구항 60

청구항 59에 있어서, 이때 상기 환자는 정상적인 LVEF 및 $\geq 50\%$ 의 LVEF를 가지고 있는, 방법.

청구항 61

청구항 59-60 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 상승된 수준의 나트륨이뇨성 펩티드를 보유하고 있는, 방법.

청구항 62

청구항 37-58 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 박출률이 감소된 심부전 (HFrEF)인, 방법.

청구항 63

청구항 62에 있어서, 이때 상기 환자는 감소된 LVEF 및 $<40\%$ 의 LVEF를 보유하였던, 방법.

청구항 64

청구항 37-58 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 심부전은 중간-범위 박출물을 갖는 심부전 (HFmrEF)인, 방법.

청구항 65

청구항 62에 있어서, 이때 상기 환자는 중간-범위 LVEF 및 약 40% 내지 약 49%의 LVEF를 보유하고 있는, 방법.

청구항 66

청구항 64-65 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 상승된 수준의 나트륨이뇨성 펩티드를 보유하고 있는, 방법.

청구항 67

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 New York Heart Association (NYHA) 클래스 I HF, NYHA 클래스 II HF, NYHA 클래스 III HF, 또는 NYHA 클래스 IV HF를 보유하고 있는, 방법.

청구항 68

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 NYHA 클래스를 낮추는 방법.

청구항 69

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 NYHA 클래스는 클래스 IV에서 클래스 III로, 클래스 IV에서 클래스 II로, 클래스 IV에서 클래스 I로, 클래스 III에서 클래스 II로, 클래스 III에서 클래스 I로, 또는 클래스 II에서 클래스 I로 낮아지는, 방법.

청구항 70

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 American College of Cardiology Foundation/American Heart Association (ACCF/AHA) 단계 A 심부전, ACCF/AHA 단계 B 심부전, ACCF/AHA 단계 C 심부전, 또는 ACCF/AHA 단계 D의 심부전을 가지고 있는, 방법.

청구항 71

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 ACCF/AHA 단계를 낮추는, 방법.

청구항 72

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 C로, 단계 D에서 단계 B로, 단계 D에서 단계 A로, 단계 C에서 단계 B로, 단계 C에서 단계 A로, 또는 단계 B에서

단계 A로 낮아지는, 방법.

청구항 73

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 AMI 클래스 I 심부전을 합병증으로 하는 HF의 Killip 분류, AMI 클래스 II 심부전을 합병증으로 하는 HF의 Killip 분류, AMI 클래스 III 심부전을 합병증으로 하는 HF의 Killip 분류, 또는 AMI 클래스 IV 심부전을 합병증으로 하는 HF의 Killip 분류를 갖는, 방법.

청구항 74

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 AMI 클래스 합병증의 HF의 Killip 분류를 낮추는, 방법.

청구항 75

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 Killip 클래스는 클래스 IV에서 클래스 III로, 클래스 IV에서 클래스 II로, 클래스 IV에서 클래스 I로, 클래스 III에서 클래스 II로, 클래스 III에서 클래스 I로, 또는 클래스 II에서 클래스 I로 낮아지는, 방법.

청구항 76

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 HF 진단을 위한 하나 또는 그 이상의 주요 Framingham 기준을 가지고 있는, 방법.

청구항 77

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 발작성 야간 호흡곤란 또는 기립호흡, 경정맥 확장, 수포음(rales), 방사선학적 심비대, 급성 폐부종, S3 말달림심장음(gallop), 16cm 이상의 물의 정맥압 증가, 25초에 등가의 또는 그 이상의 순환 시간, 간경정맥 반사작용(reflex), 및 치료에 대한 반응으로 5일 동안 4.5kg에 대등한 또는 그 이상의 체중 감소로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태를 갖는, 방법.

청구항 78

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 HF 진단을 위한 하나 또는 그 이상의 Framingham 부기준을 가지고 있는, 방법.

청구항 79

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 양측 발목 부종, 야행성 기침, 일상적인 활동 시 호흡곤란, 간비대, 흉수, 폐활량이 기록된 최대치의 1/3로 감소, 및 빈맥 (분당 120회 이상의 심박수)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태를 갖는, 방법.

청구항 80

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 적어도 2개의 Framingham 주요 기준을 가지고 있는, 방법.

청구항 81

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 적어도 하나의 Framingham 주요 기준과 적어도 2개의 Framingham 부기준을 가지고 있는, 방법.

청구항 82

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자가 보유하고 있는 심부전에 대한 Framingham 기준 수치는 낮추는, 방법.

청구항 83

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자가 보유하고 있는 심부전에 대한

Framingham 주요 기준 수치는 낮추는, 방법.

청구항 84

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자가 보유하고 있는 심부전에 대한 Framingham 부기준 수치는 낮추는, 방법.

청구항 85

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 HF의 전형적인 증상, 덜 전형적인 증상, 특이적인 징후, 및 덜 특이적인 징후로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태를 갖는, 방법.

청구항 86

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 숨가쁨, 기립호흡, 발작성 야간 호흡곤란, 운동 내성 감소, 피로, 지침, 운동 후 회복까지의 시간 증가, 및 발목 부종으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 증상을 갖고 있는, 방법.

청구항 87

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 야행성 기침, 쉼썩거림, 부유하는 느낌, 식욕 상실, 착란 (특히 노인에게서), 우울, 심계항진, 현기증, 졸도, 및 몸을 숙일때 호흡곤란으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 덜 전형적인 증상을 보유하고 있는, 방법.

청구항 88

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 하나 또는 그 이상의 HF 징후를 보유하고 있는, 방법.

청구항 89

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 경정맥압 상승, 간경정맥 역류, 제 3 심음 (말달림심장을 리듬), 측면으로 변위된 정단 임펄스로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 HF 징후를 갖는, 방법. 일부 구체예들에서, 환자는 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는다.

청구항 90

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는, 방법.

청구항 91

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 체중 증가 (>2 kg/주), 체중 감소 (진행된 HF에서), 조직 소모성 (악액질), 심장 잡음, 말초 부종 (발목, 천골, 음낭), 폐 섬광, 폐 기저부에서 충격에 대한 공기 유입 감소 및 둔감 (흉수), 빈맥, 불규칙한 맥박, 빈호흡, 체인 스톱스 호흡, 간비대, 복수, 수족냉증, 꺾임, 및 좁은 맥압으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는, 방법.

청구항 92

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자가 보유하고 있는 심부전의 징후 및/또는 증상의 숫자를 줄이는, 방법.

청구항 93

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자가 보유하고 있는 심부전의 징후의 숫자를 줄이는, 방법.

청구항 94

청구항 1-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자가 보유하고 있는 심부전의 징상의 숫자

를 줄이는, 방법.

청구항 95

청구항 1-94 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 건강한 환자와 비교하여, 상승된 뇌 나트륨이뇨성 펩티드 (BNP) 수준을 보유하고 있는, 방법.

청구항 96

청구항 95에 있어서, 이때 상기 환자의 BNP 수준은 적어도 35 pg/mL (예를 들자면, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 3000, 5000, 10,000, 15,000, 또는 20,000 pg/mL)인, 방법.

청구항 97

청구항 95 또는 청구항 96에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 BNP 수준을 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 감소시키는, 방법.

청구항 98

청구항 95-97 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 BNP 수준을 적어도 5 pg/mL (예를 들자면, 5, 10, 50, 100, 200, 500, 1000, 또는 5000 pg/mL) 감소시키는, 방법.

청구항 99

청구항 1-98 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 BNP 수준을 정상적인 수준 (즉, <100 pg/ml)으로 감소시키는, 방법.

청구항 100

청구항 1-95 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 건강한 환자와 비교하였을 때, 상승된 N-말단 pro-BNP (NT-proBNP) 수준을 보유하고 있는, 방법.

청구항 101

청구항 100에 있어서, 이때 상기 환자의 NT-proBNP 수준은 적어도 10 pg/mL (예를 들자면, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 3000, 5000, 10,000, 15,000, 또는 20,000 pg/mL)인, 방법.

청구항 102

청구항 100 또는 청구항 101에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 NT-proBNP 수준을 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 감소시키는, 방법.

청구항 103

청구항 95-97 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 NT-proBNP 수준을 적어도 10 pg/mL (예를 들자면, 10, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 5000, 10,000, 15,000, 20,000, 또는 25,000 pg/mL) 감소시키는, 방법.

청구항 104

청구항 1-103 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 NT-proBNP 수준을 정상적인 수준 (즉, <100 pg/ml)으로 감소시키는, 방법.

청구항 105

청구항 1-104 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 건강한 환자와 비교하였을 때, 상승된 트로포닌 수준을 보유하고 있는, 방법.

청구항 106

청구항 105에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 감소시키는, 방법.

청구항 107

청구항 1-106 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 감소시키는, 방법.

청구항 108

청구항 107에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 적어도 50%) 감소시키는, 방법.

청구항 109

청구항 1-108 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 입원율을 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 감소시키는, 방법.

청구항 110

청구항 1-109 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 심부전 악화속도를 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 감소시키는, 방법.

청구항 111

청구항 1-110 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 좌심실 (LV)의 확장기 기능장애를 보유하고 있는, 방법.

청구항 112

청구항 1-111 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 좌심실 (LV)의 수축기 기능장애를 보유하고 있는, 방법.

청구항 113

청구항 1-112 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 증가시키는, 방법.

청구항 114

청구항 1-113 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 45% (예를 들자면, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 또는 45%) 미만의 박출율을 보유하고 있는, 방법.

청구항 115

청구항 1-114 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 박출율을 정상적인 수준 (즉, >45%)으로 증가시키는, 방법.

청구항 116

청구항 114 또는 청구항 115에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 심박출량을 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 증가시키는, 방법.

청구항 117

청구항 1-116 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 박출율을 적어도 1% (예를 들자면,

1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 증가시키는, 방법.

청구항 118

청구항 1-117 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 운동 능력을 증가시키는, 방법.

청구항 119

청구항 1-118 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자의 6-분 보행 거리는 150~400 미터인, 방법.

청구항 120

청구항 1-119 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 6-분 보행 거리를 증가시키는, 방법.

청구항 121

청구항 1-120 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 6-분 보행 거리가 적어도 10 미터 (예를 들자면, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300 미터, 또는 400 미터 이상) 증가되는, 방법.

청구항 122

청구항 1-121 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 Borg 호흡곤란 지수 (BDI)를 낮추는, 방법.

청구항 123

청구항 1-122 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 방법으로 상기 환자의 BDI는 적어도 0.5 인덱스 포인트 (예를 들자면, 적어도 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 또는 10 인덱스 포인트) 감소되는, 방법.

청구항 124

청구항 1-123 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 심초음파, 심장 자기 공명 영상 (CMR), 및/또는 후기 가돌리늄 증강 (LGE)를 이용한 CMR을 이용하여 심부전에 대해 상기 환자를 평가하는, 방법.

청구항 125

청구항 1-124 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 LV 벽 두께 (LVWT), LV 덩어리 (LVM), LV 확장기말 직경 (LVEDD), LV 수축기말 직경 (LVESD), 분획성 단축(fractional shortening) (FS) ($FS = 100\% \times [(EDD - ED) / EDD]$ 식을 이용하여 산출), LV 이완 말기 용적 (LVEDV), LV 수축 말기 용적 (LVESV), 박출율 ($EF = 100\% \times [(EDV - ESV) / EDV]$ 식을 이용하여 산출), 비대 지수 (LVM과 LVESV의 비율로 산출됨), 및 상대적 벽 두께 (LVWT와 LVESD의 비율로 산출됨)를 비롯한, 그러나, 이에 국한되지 않는, LV 구조 및 수축기 기능 (예를 들자면, 유두근 수준에서 흉골주위 단축 뷰에서 M-모드로 측정)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태에 대해 환자를 평가하는, 방법.

청구항 126

청구항 1-125 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 다중게이트 획득 (MUGA), 흉부 X-선 촬영, 단일 광자 방출 컴퓨터화된 단층 촬영 (SPECT) 및 방사성핵종 뇌실조영술, 양전자 방출 단층 촬영 (PET), 관상 동맥 조영술, 및 심장 컴퓨팅 단층 촬영 (CT)으로 구성된 군에서 선택된 심장 영상화를 이용하여 환자의 심부전을 평가하는, 방법.

청구항 127

청구항 1-126 중 임의의 한 항에 있어서, 해당 환자에게 추가 보조 요법 또는 작용제를 투여하는 것을 더 포함하는, 방법.

청구항 128

청구항 127에 있어서, 이때 상기 추가 보조 요법 또는 작용제는 안지오텐신-전환 효소 (ACE) 억제제, 베타 차단제, 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARB), 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRAs), 글루코코르티코이드, 스테틴, 나트륨-포도당 공동-수송체 2 (SGLT2) 억제제, 이식형 제세동기 (ICD), 안지오텐신 수용체 네프릴리신 억제제 (ARNI), 및 이노제로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 129

청구항 127에 있어서, 이때 상기 추가 작용제 및/또는 보조 요법은 베나제프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 페린도프릴, 라미프릴 (예를 들자면, 라미펜), 트란돌라프릴, 조페노프릴, 아세부톨롤, 아테놀롤, 베타솔롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 카르베딜롤, 라베탈롤, 메토프롤롤, 나돌롤, 네비볼롤, 펜부톨롤, 핀돌롤, 프로프라놀롤, 소탈롤, 티몰롤; 로사르탄, 이르베사르탄, 올메사르탄, 칸데사르탄, 발사르탄, 피마사르탄, 아질사르탄, 살프리스르탄, 텔미사르탄, 프로게스테론, 에플레레논 및 스피로노락톤, 베클로메타손, 베타메타손, 부데소니드, 코르티손, 데플라자코트, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 메틸프레드니손, 프레드니손, 트리암시놀론, 피네레논, 아토르바스타틴 (Lipitor), 플루바스타틴 (Lescol), 로바스타틴 (Mevacor, Altacor), 프라바스타틴 (Pravachol), 피타바스타틴 (Livalo), 심바스타틴 (Zocor), 로수바스타틴 (Crestor), 카나글리플로진, 다파글리플로진 (예를 들자면, Farxiga), 엠파글리플로진, 발사르탄, 사쿠비트릴(a 네프릴리신 억제제), 푸로세미드, 부메타니드, 토라세미드, 벤드로플루메티아지드, 히드로클로로티아지드, 메톨라존, 인다파미드, 스피로노락톤/에플레레논, 아밀로리드 트리암테렌, 하이드랄라진 및 이소소르비드 디니트레이트, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화지방산 (PUFA), 및 I-채널 억제제 (예를 들자면, Ivabradine)으로 구성된 군에서 선택된, 방법.

청구항 130

청구항 1-129 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 환자는 고령, 빈혈, 동맥 고혈압, 심방세동, 인지 기능장애, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 철 결핍, 신장 기능장애, 대사 증후군, 비만, 신체적 상태저하, 칼륨 장애, 폐 질환 (예를 들자면, COPD), 및 수면 무호흡증으로 구성된 군에서 선택된 동반이환을 갖는, 방법.

청구항 131

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 ActRIIA 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 132

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 이형다량체인, 방법.

청구항 133

청구항 1-132 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 366의 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 134

청구항 1-132 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 367의 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 135

청구항 1-132 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 368의 아미노산 110,

111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 136

청구항 1-135 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 137

청구항 1-136 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA 폴리펩티드는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 138

청구항 136 또는 137 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 융합 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 139

청구항 138에 있어서, 이때 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택된, 방법: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

청구항 140

청구항 137-139 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 380의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 141

청구항 137-139 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 378의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 142

청구항 1-141 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 동형이량체 폴리펩티드인, 방법.

청구항 143

청구항 1-141 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 이형다량체 폴리펩티드인, 방법.

청구항 144

청구항 143에 있어서, 이때 상기 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드와 ALK4 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 145

청구항 143에 있어서, 이때 상기 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드와 ALK7 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 146

청구항 144에 있어서, 이때 ALK4 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 147

청구항 145에 있어서, 이때 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 및 134로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 148

청구항 144 또는 청구항 146에 있어서, 이때 ALK4 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 149

청구항 145 또는 청구항 147에 있어서, 이때 ALK7 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 150

청구항 148에 있어서, 이때 ALK4 폴리펩티드는 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 151

청구항 149에 있어서, 이때 ALK7 폴리펩티드는 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 152

청구항 150에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 153

청구항 151에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 154

청구항 152-153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택된, 방법: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

청구항 155

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 청구항 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;
- b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;
- c. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;
- d. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

e. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 156

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 청구항 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

c. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

d. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

e. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 157

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 청구항 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 158

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 159

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 160

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 161

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 162

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된

Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 163

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 164

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 165

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 166

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 167

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 168

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 169

청구항 167에 있어서, 이때 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 170

청구항 168에 있어서, 이때 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 171

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 172

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%,

또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 173

청구항 171에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 174

청구항 172에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 175

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 176

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 177

청구항 175에 있어서, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 178

청구항 176에 있어서, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 179

청구항 136, 137, 148, 150, 또는 152 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 180

청구항 136, 137, 149, 151, 또는 153 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 181

청구항 179에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 182

청구항 180에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 183

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 184

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 이형다량체인, 방법.

청구항 185

청구항 1-130 또는 청구항 183 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29(가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134(가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 186

청구항 1-130, 183, 또는 청구항 185 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 187

청구항 1-130, 183, 185, 또는 청구항 186 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 188

청구항 1-130, 183, 185, 186, 또는 청구항 187 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-134에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 189

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 53의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 190

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 388의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 191

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 389의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 192

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 또는 191 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 193

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 또는 192 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 194

청구항 192 또는 청구항 193 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 융합 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 195

청구항 194에 있어서, 이때 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택된, 방법: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

청구항 196

청구항 193-195 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 197

청구항 193-195 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 198

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 또는 197 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해, 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 방법: L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

청구항 199

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 또는 197 중 임의의 한 항

에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해, 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 방법: L38N, E50L, E52D, E52N, E52Y, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79E, L79F, L79H, L79R, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82I, F82K, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

청구항 200

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E50에 상응하는 위치에 L 치환을 포함하는, 방법.

청구항 201

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 N 치환을 포함하는, 방법.

청구항 202

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 V99에 상응하는 위치에 G 치환을 포함하는, 방법.

청구항 203

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함하는, 방법.

청구항 204

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 T 치환을 포함하는, 방법.

청구항 205

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 H 치환을 포함하는, 방법.

청구항 206

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 276의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 207

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 278의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 208

청구항 1-130, 183-199, 220, 또는 221 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 I 치환을 포함하고, N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함하는, 방법.

청구항 209

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 279의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 210

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 332의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 211

청구항 1-130, 183-199, 209, 또는 210 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 K 치환을 포함하고, N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함하는, 방법.

청구항 212

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 333의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 213

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 335의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 214

청구항 1-130, 183-199, 212, 또는 청구항 213 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 T 치환을 포함하고, N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함하는, 방법.

청구항 215

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 336의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 216

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 338의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 217

청구항 1-130, 183-199, 215, 또는 청구항 216 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 T 치환을 포함하는, 방법.

청구항 218

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 339의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 219

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 341의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 220

청구항 1-130, 183-199, 218, 또는 219 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 대응하는 위치에 H 치환을 포함하고, F82에 대응하는 위치에 I 치환을 포함하는, 방법.

청구항 221

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 342의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 222

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 344의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 223

청구항 1-130, 183-199, 221, 또는 222 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 대응하는 위치에 H 치환을 포함하는, 방법.

청구항 224

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 345의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 225

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 347의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 226

청구항 1-130, 183-199, 224, 또는 225 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 대응하는 위치에 H 치환을 포함하고, F82에 대응하는 위치에 K 치환을 포함하는, 방법.

청구항 227

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 348의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 228

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 350의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 229

청구항 1-130, 183-199, 227, 또는 228 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E50에 대응하는 위치에 H 치환을 포함하는, 방법.

청구항 230

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 351의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 231

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 353의

아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 232

청구항 1-130 또는 183-199, 청구항 230, 또는 231 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 N 치환을 포함하고, L79에 상응하는 위치에 R 치환을 포함하는, 방법.

청구항 233

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 354의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 234

청구항 1-130 또는 청구항 183-199 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 356의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 235

청구항 1-130 또는 183-199, 233, 또는 234 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 V99에 대응하는 위치에 G 치환을 포함하는, 방법.

청구항 236

청구항 1-130 또는 청구항 183-235 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 동형이량체 폴리펩티드인, 방법.

청구항 237

청구항 1-130 또는 청구항 183-235 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 이형이량체 폴리펩티드인, 방법.

청구항 238

청구항 1-130 또는 청구항 183-237 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29 (가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되며, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134 (가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 다음으로 구성된 군에서 선택된, 서열 식별 번호: 2에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 방법: L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

청구항 239

청구항 1-130 또는 청구항 183-237 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29 (가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되며, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134 (가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 다음으로 구성된 군에서 선택된, 서열 식별 번호: 2에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 방법: L38N, E50L, E52D, E52N, E52Y, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79E, L79F, L79H, L79R, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82I, F82K, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

청구항 240

청구항 238 또는 청구항 239에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 241

청구항 238 또는 청구항 239에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 242

청구항 238 또는 청구항 239에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-134에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 243

청구항 238 또는 청구항 239에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 53의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 244

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 388의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 245

청구항 1-130, 183, 185, 186, 187 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 389의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 246

청구항 1-130 또는 청구항 238-245 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해, 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 방법: L38N, E50L, E52D, E52N, E52Y, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79E, L79F, L79H, L79R, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82I, F82K, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

청구항 247

청구항 1-130, 또는 청구항 183-246 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드와 ALK4 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 248

청구항 1-130, 또는 청구항 183-246 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드와 ALK7 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 249

청구항 247에 있어서, 이때 ALK4 폴리펩티드는 다음 서열 식별 번호들로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법: 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422.

청구항 250

청구항 248에 있어서, 이때 ALK7 폴리펩티드는 다음 서열 식별 번호들로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법: 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 및 134.

청구항 251

청구항 1-130, 또는 청구항 183-246 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 252

청구항 247 또는 청구항 249 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK4 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 253

청구항 248 또는 250 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK7 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 254

청구항 251에 있어서, 이때 ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 255

청구항 252에 있어서, 이때 ALK4 폴리펩티드는 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 256

청구항 253에 있어서, 이때 ALK7 폴리펩티드는 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드인, 방법.

청구항 257

청구항 251 또는 청구항 254에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 258

청구항 252 또는 청구항 255에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 259

청구항 253 또는 청구항 256에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함하는, 방법.

청구항 260

청구항 257-259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택되는, 방법: TGGG, TGGGG, SGGG, GGGG, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

청구항 261

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩

티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

c. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

d. AActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

e. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 262

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

c. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고;

d. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

e. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 263

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 264

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 265

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 266

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고

b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 267

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택

된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 268

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 269

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 270

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 271

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 272

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는, 방법:

- a. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고
- b. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

청구항 273

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 274

청구항 254, 256, 257, 또는 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 275

청구항 273에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 276

청구항 274에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서

서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 277

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 278

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 279

청구항 277에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 280

청구항 278에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 281

청구항 254, 255, 257, 또는 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 282

청구항 254, 256, 257, 또는 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 283

청구항 281에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 284

청구항 282에 있어서, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 285

청구항 254, 255, 257, 또는 청구항 258 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 286

청구항 254, 256, 257, 또는 청구항 259 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 287

청구항 285에 있어서, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 288

청구항 286에 있어서, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함하는, 방법.

청구항 289

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 폴리스테틴 폴리펩티드인, 방법.

청구항 290

청구항 289에 있어서, 폴리스테틴 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 390, 391, 392, 393, 및 394로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 291

청구항 1-290 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드를 억제시키는, 방법.

청구항 292

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 항체 또는 항체들의 조합인, 방법.

청구항 293

청구항 292에 있어서, 이때 상기 항체 또는 항체들의 조합은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10,

ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드에 결합하는, 방법.

청구항 294

청구항 292-293 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 항체는 다중특이적 항체인, 방법.

청구항 295

청구항 292-293 중 임의의 한 항에 있어서, 상기 항체는 이중-특이적 항체인, 방법.

청구항 296

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 소분자 또는 소분자들의 조합인, 방법.

청구항 297

청구항 296에 있어서, 이때 상기 소분자 또는 소분자들의 조합은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드를 억제하는, 방법.

청구항 298

청구항 1-130 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ActRII-ALK4 길항제는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드들의 조합인, 방법.

청구항 299

청구항 298에 있어서, 이때 상기 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드들의 조합의 조합은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드를 억제하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은 2020년 6월 17일자로 제출된 U.S. 가출원 번호 63/040,400 및 2021년 3월 10일자로 제출된 U.S. 가출원 번호 63/159,003의 이익을 청구한다. 전술한 출원들의 명세서는 본 명세서에 전문이 참고자료에 편입된다.

배경 기술

[0003] 배경

[0004] 심부전(HF)의 유병률은 적용되는 정의에 따라 상이하지만, 그러나 선진국에서 성인 인구의 약 1~2%에 영향을 미치며, 70세 이상에서는 10% 이상 발생한다. 활동 시, 호흡곤란으로 1차 진료를 받는 65세의 사람들 중 6명 중 1명은 자각을 하지 못하는 HF(주로 HFpEF)를 갖게 된다. 55세에 일생에서 HF의 위험은 남성의 경우 33%, 여성의 경우 28%이다. HFpEF 환자의 비율은 적용되는 정의, 임상 환경(일차 진료, 병원 클리닉 및 병원 입원), 연구되는 집단의 연령 및 성별, 기존 심근 경색 및 공개 연도에 따라 22~73% 범위가 된다.

[0005] 심부전과 관련된 많은 유전성 심근병증 중 하나인 확장성 심근병증(dilated cardiomyopathy)은 좌심실 확장 및 수축 기능 장애가 존재하는 것으로 특징된다. 무엇보다도 세포골격, 근섬유분절(sarcomere) 및 핵 외피 단백질을 인코딩하는 유전자들과 관련된 유전적 돌연변이가 사례의 최대 35%를 차지한다. 가장 흔하게 나타나는 증상은 울혈성 심부전과 관련이 있지만, 순환 허탈(circulatory collapse), 부정맥 및 혈전색전증이 또한 내포될 수 있다. 예후는 박출률(ejection fractions)이 최저이거나, 또는 심각한 확장기 기능 장애가 있는 개인에게 최악이다. 만성 심부전의 치료는 생존을 개선시키고, 입원을 줄이는 일반적인 심부전 약물, 즉, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 β 차단제를 포함한다.

[0006] 따라서, 심부전 (예를 들자면, 유전성 DCM을 비롯한 유전성 심근병증) 치료를 위한 효과적인 치료법의 요구는 여전히 높다. 따라서, 본원의 목적은 심부전을 치료, 예방하고, 및/또는 이의 진행률 및/또는 중증도를 감소시

키는 방법, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 심부전-연합된 동반이환을 치료, 예방하고, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법을 제공하는 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] **요약**
- [0008] 본원에서 설명된 바와 같이, ActRII-ALK4 길항제는 심부전 치료에 효과적이다. 특히, ActRIIB-ALK4 이형이량체 단백질은 박출률 감소와 관련된 류틴 심부전 Mdx 모델에서 심장-보호성 효과를 입증했다. 예를 들면, 본원에 제시된 데이터에서 ActRIIB-ALK4 이형이량체를 사용한 치료는 이 심부전 모델과 관련된 LV 수축성, 비대, LV 벽 두께, 심장 무게, 수축기 기능 및 혈청 바이오마커(예를 들자면, cTnI 혈청 수준)를 비롯한, 그러나 이에 국한되지 않는 다양한 합병증에 대해 긍정적인 효과를 갖는다는 것을 보여준다. 특정 기전에 결부되기를 원하지 않지만, 심부전에서 ActRIIB-ALK4 이형이량체의 효과는 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 및/또는 BMP10 (본원에서 "ActRII-ALK4 리간드" 또는 "ActRII-ALK4 리간드"로 지칭됨)을 비롯한, 그러나, 이에 국한되지 않은 ActRIIB-ALK4 이형이량체 단백질에 결합하는 하나 또는 그 이상의 리간드에 의해 중재되는 리간드-신호전달을 길항함으로써 주로 야기되는 것으로 예상된다. 상기 기전과 무관하게, ActRIIB-ALK4 이형이량체는 심부전과 연합된 각종 합병증의 개선에 상당히 긍정적인 효과를 갖는다는 것이 본원에서 제시된 데이터로부터 자명하며, 다른 ActRII-ALK4 길항제를 또한 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 치료에 유용할 수 있음이 추가로 암시된다.
- [0009] 본원에서 기술된 바와 같이, 용어 "ActRII-ALK4 길항제"란 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드, 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 및/또는 BMP10)을 억제하는 길항제; 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 연합된 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 ALK7)를 억제하는 길항제; 및 하나 또는 그 이상의 하류 신호전달 성분들 (예를 들자면, Smad 단백질들 이를 테면, Smads 2 및 3)을 억제하는 길항제에 의한 신호전달을 억제시키는데 이용될 수 있는 다양한 작용제를 지칭한다. 본원의 방법 및 용도에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제에는 다양한 형태, 예를 들면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 (예를 들자면, 가용성 ActRIIA 폴리펩티드 또는 ActRIIB 폴리펩티드, 이의 변이체들 뿐만 아니라, 이의 이형다량체들 및 동형다량체들 포함), ActRII-ALK4 항체 길항제 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIB, ActRIIA, ALK4 및/또는 ALK7중 하나 또는 그 이상을 억제하는 항체들), 소분자 길항제 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIB, ActRIIA, ALK4 및/또는 ALK7중 하나 또는 그 이상을 억제하는 소분자들) 그리고 뉴클레오티드 길항제 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIB, ActRIIA, ALK4 및/또는 ALK7중 하나 또는 그 이상을 억제시키는 뉴클레오티드 서열들)이 내포된다.
- [0010] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전과 연합된 임의의 과정 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)에서 전반적으로 ActRII-ALK4 리간드의 신호전달을 길항하기 위해, 가용성 ActRIIB, ActRIIA, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드를 포함하는 ActRII-ALK4 길항제를 제공한다. 본 명세서의 ActRII-ALK4 길항제는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4의 리간드, 이를 테면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 또는 BMP10을 길항시킬 수 있고, 따라서 심부전(예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환 (예를 들자면, 동맥 고혈압, 심방세동, 인지 기능장애, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 철 결핍, 신장 기능장애, 대사 증후군, 비만, 신체적 상태저하(physical deconditioning), 칼륨 장애, 폐 질환 (예를 들자면, COPD), 및 수면 무호흡증)을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 유용할 수 있다.
- [0011] 특정 측면들에서, 본원의 방법 및 용도 (예를 들자면, 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증을 치료, 예방, 또는 감소) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증들을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 길항제 및 이의 변이체들 뿐만 아니라 이의 이형이량체 및 이형다량체들, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제이다. ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드에는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합할 수 있는 TGF- β 수퍼패밀리-관련 단백질들과 이의 변이체들이 내포된다. 따라서, ActRII-ALK4 리간드 트랩에는 일반적으로 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈

A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 길항시킬 수 있는 폴리펩티드들이 내포된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “ActRII”란 유형 II 액티빈 수용체의 패밀리를 지칭한다. 이 패밀리에 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA) 및 액티빈 수용체 유형 IIB (ActRIIB)가 내포된다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 리간드 트랩을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRIIB 폴리펩티드, 및 동형다량체들 (예를 들자면, ActRIIB 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, ActRIIB-ALK4 또는 ActRIIB-ALK7 이형이량체)를 갖는 이의 변이체들을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRIIA 폴리펩티드, 및 동형다량체들 (예를 들자면, ActRIIA 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, ActRIIA-ALK4 또는 ActRIIA-ALK7 이형이량체)를 갖는 이의 변이체들을 포함한다. 다른 구체예들에서, ActRII-ALK 리간드 트랩은 폴리스테틴 폴리펩티드 뿐만 아니라 이의 변이체들을 포함하나, 이에 국한되지 않는 가용성 리간드 트랩 단백질들을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 항체 길항제를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 소분자 길항제를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제를 포함한다.

[0012] 부분적으로, 본 명세서는 확장성 심근병증 (DCM)과 연관된 심부전의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 명세서는 확장성 심근병증 (DCM)과 연관된 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법을 또한 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0013] 일부 구체예들에서, 확장성 심근병증은 유전적 형태의 DCM이다. 일부 구체예들에서, 확장성 심근병증은 상염색체 열성 DCM, X-연계된 DCM, 및 미토콘드리아 DCM으로 구성된 군에서 선택된다.

[0014] 일부 구체예들에서, 상기 확장성 심근병증은 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)과 연관된다. 일부 구체예들에서, 확장성 심근병증은 디스트로핀 (DMD) 유전자에 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된다.

[0015] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 HFrEF 심부전을 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 정지 코돈 판독 요법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑용 안티센스 올리고뉴클레오티드 (AON) 요법, Atalurenhas, 유트로핀 과다발현 요법, 타다라필(tadalafil), 미오스타틴 억제제, 및 세포 요법으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 트리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 에테필르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 고로디르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 카시메르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 빌토라르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 펩티드-콘주게이트된 에테필르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 수보디르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 트리사페르센이 투여된다.

[0016] 부분적으로, 본 명세서는 근육 소모성 질환과 연관된 심부전의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 명세서는 근육 소모성 질환과 연관된 심부전과 연관된 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법을 또한 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 HFrEF 심부전을 가지고 있다.

[0017] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 소모성 질환은 근육 이영양증이다. 일부 구체예들에서, 상기 근육 소모성 질환은 Becker 근육 이영양증 (BMD), 선천성 근이영양증 (CMD), Duchenne 근육 이영양증 (DMD), Emery-Dreifuss 근육 이영양증 (EDMD), 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD), 사지-근 근이영양증 (LGMD), 근긴장성 이영양증 (DM), 안구인두 근육 이영양증 (OPMD), 및 Friedreich 운동실조증 근육 이영양증으로 구성된 군에서 선택된 근이영양증이다. 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)이다. 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 디스트로핀 (DMD) 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된다.

[0018] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 정지 코돈 판독 요법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑용 안티센스 올리고뉴클레오티드 (AON) 요법, Atalurenhas, 유트로핀 과다발현 요법, 타다라필, 미오스타틴 억제제, 및

세포 요법으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 트리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 에테필르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 고로디르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 카시메르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 빌토라르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 펩티드-콘주게이트된 에테필르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 수보디르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 트리사페르센이 투여된다.

[0019] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 소모성 질환은 근육 위축(예를 들자면, 소아마비 후 근육 위축 (PPMA)), 약액질(예를 들자면, 심장 약액질, AIDS 약액질 및 암 약액질), 영양실조, 나병, 당뇨병, 신장 질환, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 암, 말기 병기 신부전, 근감소증, 폐기종, 골연화증, HIV 감염 및 AIDS로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 장애와 연관된다.

[0020] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 사지 근(Limb Girdle) 근육 이영양증 (LGMD)이다. 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 미오틴린 (MYOT), 라민 A/C (LMNA), 카베올린(Caveolin)-3 (CAV3), 칼페인(Calpain)-3 (CAPN3), 디스페린(Dysferlin) (DYSF), γ -사르코글리칸 (SGCG), α -사르코글리칸 (SGCA), β -사르코글리칸 (SGCB), 및/또는 δ -사르코글리칸 (SGCD), 푸쿠틴(fukutin)-관련 단백질 (FKRP), 아노타민(Anoctamin)-5 (ANO5)으로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된다. 본 명세서의 일부 구체예들에서, SRP-9003, SRP-9004, SRP-9005, SRP-6004, SRP-9006, 및 LGMD2A로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 또한 환자에게 투여한다.

[0021] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 Friedreich 운동실조증 근육 이영양증이다. 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 프락타시아(frataxia) 유전자 (FXN)에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된다.

[0022] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 근긴장성 이영양증이다. 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 근긴장성 이영양증 단백질 키나제 (DMPK) 및 CCHC-유형 아연 핑거 핵산 결합 단백질 (CNBP) 유전자로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된다.

[0023] 부분적으로, 본 명세서는 유전성 심근병증과 연관된 심부전 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 명세서는 유전성 심근병증과 연관된 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법을 또한 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0024] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 유전성 심근병증은 확장성 심근병증, 비대성 심근병증, 부정맥성 심근병증, 좌심실 비압박 심근병증, 및 제한성 심근병증으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, 상기 유전성 심근병증은 확장성 심근병증이다.

[0025] 부분적으로, 본 명세서는 심부전 (HF) 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 명세서는 심부전의 하나 또는 그 이상의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법을 또한 제공하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0026] 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 유전성 심근병증이다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 확장성 심근병증 (DCM)이다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)과 연관된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 디스트로핀 (DMD) 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연관된다.

[0027] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 정지 코돈 판독 요법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑용 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (AON) 요법, Atalurenhas, 유트로핀 과다발현 요법, 타다라필, 미오스타틴 억제제, 및 세포 요법으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2로 구성

된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 트리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제가 또한 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 에테필르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 고로디르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 카시메르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 빌토라르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 펩티드-콘주게이트된 에테필르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 수보디르센이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 또한 트리사페르센이 투여된다.

- [0028] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 근육 이영양증은 사지 근(Limb Girdle) 근육 이영양증 (LGMD)과 연합된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 미오티린 (*MYOT*), 라민 A/C (*LMNA*), 카베오린-3 (*CAV3*), 칼페인-3 (*CAPN3*), 디스페린 (*DYSF*), γ -사르코글리칸 (*SGCG*), α -사르코글리칸 (*SGCA*), β -사르코글리칸 (*SGCB*), 및/또는 δ -사르코글리칸 (*SGCD*), 푸쿠틴-관련 단백질 (*FKRP*), 아놀타민-5 (*ANO5*)으로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된다. 일부 구체예들에서, SRP-9003, SRP-9004, SRP-9005, SRP-6004, SRP-9006, 및 LGMD2A로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 작용제를 또한 환자에게 투여한다.
- [0029] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 Friedreich 운동실조증 근육 이영양증과 연합된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 프라탁신(frataxin) 유전자 (*FXN*)에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된다.
- [0030] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 근긴장성 이영양증과 연합된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 근긴장성 이영양증 단백질 키나제 (*DMPK*) 및 CCHC-유형 아연 핑거 핵산 결합 단백질 (*CNBP*) 유전자로 구성된 군에서 선택된 유전자에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이와 연합된다.
- [0031] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 비대성 심근병증 (HCM)과 연합된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 부정맥성 심근병증 (AC)과 연합된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 좌심실 비압박 심근병증 (LVNC)과 연합된다. 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 제한성 심근병증 (RC)과 연합된다.
- [0032] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 박출물이 보존된 심부전 (HFpEF)이다. 일부 구체예들에서, 환자는 정상적인 LVEF 및 $\geq 50\%$ 의 LVEF를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자의 나트륨이뇨성 펩티드(natriuretic peptides) 수준이 상승되어 있다.
- [0033] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 박출물이 감소된 심부전 (HFrEF)이다. 일부 구체예들에서, 환자의 LVEF 수준은 감소되어 있고, $<40\%$ 의 LVEF를 갖는다.
- [0034] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 심부전은 중간-범위 박출물을 갖는 심부전 (HFmrEF)이다. 일부 구체예들에서, 환자는 중간-범위 has 중간-범위 LVEF를 갖고, LVEF는 약 40% 내지 약 49% 범위이다. 일부 구체예들에서, 환자의 나트륨이뇨성 펩티드수준이 상승되어 있다.
- [0035] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 New York Heart Association (NYHA) 클래스 I HF를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 환자는 NYHA 클래스 II HF를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 환자는 NYHA 클래스 III HF를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 환자는 NYHA 클래스 IV HF를 가지고 있다.
- [0036] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 NYHA 클래스를 감소시킨다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 NYHA 클래스는 클래스 IV에서 클래스 III로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 NYHA 클래스는 클래스 IV에서 클래스 II로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 NYHA 클래스는 클래스 IV에서 클래스 I로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 NYHA 클래스는 클래스 III에서 클래스 II로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 NYHA 클래스는 클래스 III에서 클래스 I로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 NYHA 클래스는 클래스 II에서 클래스 I로 낮아진다.
- [0037] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 American College of Cardiology Foundation/American Heart Association (ACCF/AHA) 단계 A 심부전을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 ACCF/AHA 단계 B 심부전을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 ACCF/AHA 단계 C 심부전을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 ACCF/AHA 단계 D 심부전을 갖는다.
- [0038] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 ACCF/AHA 단계가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로

로 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 C로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 B로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 A로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 C에서 단계 B로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 C에서 단계 A로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 B에서 단계 A로 낮아진다.

[0039] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 HF 합병 AMI 클래스 I 심부전 Killip 분류를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 HF 합병 AMI 클래스 II 심부전 Killip 분류를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 HF 합병 AMI 클래스 III 심부전 Killip 분류를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 HF 합병 AMI 클래스 IV 심부전 Killip 분류를 갖는다.

[0040] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 HF 합병 AMI 클래스 Killip 분류가 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 Killip 클래스는 클래스 IV에서 클래스 III로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 Killip 클래스는 클래스 IV에서 클래스 II로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 Killip 클래스는 클래스 IV에서 클래스 I로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 Killip 클래스는 클래스 III에서 클래스 II로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 Killip 클래스는 클래스 III에서 클래스 I로 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 Killip 클래스는 클래스 II에서 클래스 I로 낮아진다.

[0041] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 HF 진단용 하나 또는 그 이상의 주요 Framingham 기준을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 발작성 야간 호흡곤란 또는 기립호흡, 경정맥 확장, 수포음(rales), 방사선학적 심비대, 급성 폐부종, S3 말달림심장음(gallop), 16cm 이상의 물의 정맥압 증가, 25초에 등가의 또는 그 이상의 순환 시간, 간경정맥 반사작용(reflex), 및 치료에 대한 반응으로 5일 동안 4.5kg에 대등한 또는 그 이상의 체중 감소로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태를 갖는다.

[0042] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 HF 진단용 하나 또는 그 이상의 Framingham 부((minor) 기준을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 양측 발목 부종, 야행성 기침, 일상적인 활동 시 호흡곤란, 간비대, 흉수, 폐활량이 기록된 최대치의 1/3로 감소, 및 빈맥 (분당 120회 이상의 심박수)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태를 갖는다.

[0043] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 적어도 2개의 Framingham 주요 기준을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 적어도 하나의 Framingham 주요 기준과 적어도 2개의 Framingham 부기준을 갖는다.

[0044] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자가 보유한 심부전에 대한 Framingham 기준 갯수가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자가 보유한 심부전에 대한 Framingham 주요 기준 갯수가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자가 보유한 심부전에 대한 Framingham 부기준 갯수가 감소된다.

[0045] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 HF의 전형적인 증상, 덜 전형적인 증상, 특이적인 징후, 및 덜 특이적인 징후로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 숨가쁨, 기립호흡, 발작성 야간 호흡곤란, 운동 내성 감소, 피로, 지침, 운동 후 회복까지의 시간 증가, 및 발목 부종으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 증상을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 야행성 기침, 쉼쉼거림, 부유하는 느낌, 식욕 상실, 착란 (특히 노인에게서), 우울, 심계항진, 현기증, 졸도, 및 몸을 숙일때 호흡곤란(bendopnea)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 덜 전형적인 증상을 갖는다.

[0046] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 하나 또는 그 이상의 HF 징후를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 경정맥압 상승, 간경정맥 역류, 제 3 심음 (말달림심장음 리듬), 측면으로 변위된 정단 임펄스로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 HF 징후를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 체중 증가 (>2 kg/주), 체중 감소 (in 진행된 HF), 조직 소모성 (악액질), 심장 잡음, 말초 부종 (발목, 천골, 음낭), 폐 섬광, 폐 기저부에서 충격(percussion)에 대한 공기 유입 감소 및 둔감 (흉수), 빈맥, 불규칙한 맥박, 빈호흡, 체인 스톱스 호흡(체인 스톱스 호흡), 간비대, 복수(ascites), 수족냉증, 횡뇨(oliguria), 및 좁은 맥압으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는다.

[0047] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자가 가지고 있는 심부전의 징후 및/또는 증상의 갯수가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 심부전 징후의 갯수가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자의 심부전 증상의 갯수가 감소된다.

- [0048] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자의 뇌 나트륨이뇨성 펩티드 (BNP) 수준은 건강한 환자와 비교하여 상승되어 있다. 일부 구체예들에서, 환자의 BNP 수준은 적어도 35 pg/mL (예를 들자면, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 3000, 5000, 10,000, 15,000, 또는 20,000 pg/mL)이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 BNP 수준이 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 BNP 수준은 적어도 5 pg/mL (예를 들자면, 5, 10, 50, 100, 200, 500, 1000, 또는 5000 pg/mL)로 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 BNP 수준이 정상적인 수준 (즉, <100 pg/ml)으로 감소된다.
- [0049] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자의 N-말단 pro-BNP (NT-proBNP) 수준은 건강한 환자와 비교하여 상승되어 있다. 일부 구체예들에서, 환자의 NT-proBNP 수준은 적어도 10 pg/mL (예를 들자면, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 3000, 5000, 10,000, 15,000, 또는 20,000 pg/mL)이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자에서 NT-proBNP 수준이 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%)로 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자에서 NT-proBNP 수준은 적어도 10 pg/mL (예를 들자면, 10, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 5000, 10,000, 15,000, 20,000, 또는 25,000 pg/mL)로 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 NT-proBNP 수준이 정상적인 수준 (즉, <100 pg/ml)으로 감소된다.
- [0050] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자의 트로포닌 수준은 건강한 환자와 비교하여 상승되어 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자에서 트로포닌 수준이 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%)로 감소된다.
- [0051] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 좌심실 비대가 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자에서 좌심실 비대가 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%)로 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 입원율이 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 감소된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 심부전 악화속도가 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 감소된다.
- [0052] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 좌심실 (LV)의 확장기 기능장애를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 좌심실 (LV)의 수축기 기능장애를 갖는다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 LV 확장기 기능이 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 증가된다.
- [0053] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 45% 미만의 (예를 들자면, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 또는 45%) 박출율을 갖는다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 박출율은 정상적인 수준 (즉, >45%)으로 증가된다.
- [0054] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 심박출량이 적어도 5% (예를 들자면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 증가된다.
- [0055] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 박출율이 적어도 1% (예를 들자면, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 적어도 80%) 증가된다.
- [0056] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 운동능력이 증가된다. 일부 구체예들에서, 환자의 6-분 보행 거리는 150 ~ 400미터다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 6-분 보행 거리가 증가된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 6-분 보행 거리가 적어도 10 미터 (예를 들자면, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 또는 400 미터 이상) 증가된다.
- [0057] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 보그(Borg) 호흡곤란 지수 (BDI)가 낮아진다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법으로 환자의 BDI가 적어도 0.5 인덱스 포인트 (예를 들자면, 적어도 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 또는 10 인덱스 포인트) 낮아진다.
- [0058] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 심장 자기 공명 영상 (CMR)을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 지연 가돌리늄 증강을 이용한 CMR (LGE)을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, LV 벽 두께 (LVWT), LV 덩어리 (LVM), LV

확장기말 직경 (LVEDD), LV 수축기말 직경 (LVESD), 분획성 단축(fractional shortening) (FS) ($FS = 100\% \times [(EDD - ESD)/EDD]$ 식을 이용하여 산출), LV 이완 말기 용적 (LVEDV), LV 수축 말기 용적 (LVESV), 박출율 ($EF = 100\% \times [(EDV - ESV)/EDV]$ 식을 이용하여 산출), 비대 지수 (LVM과 LVESV의 비율로 산출됨), 및 상대적 벽 두께 (LVWT와 LVESD의 비율로 산출됨)를 비롯한, 그러나, 이에 국한되지 않는, LV 구조 및 수축기 기능 (예를 들자면, 유두근 수준에서 흉골주위 단축 부에서 M-모드로 측정)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 병태에 대해 환자를 평가한다. 일부 구체예들에서, 다중게이트 획득 (MUGA), 흉부 X-선 촬영, 단일 광자 방출 컴퓨터화된 단층 촬영 (SPECT) 및 방사성핵종 뇌실조영술, 양전자 방출 단층 촬영 (PET), 관상 동맥 조영술, 및 심장 컴퓨팅 단층 촬영 (CT)으로 구성된 군에서 선택된 심장 영상화를 이용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[0059] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 방법은 추가 보조 요법 또는 작용제를 환자에게 투여하는 것을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 추가 보조 요법 또는 작용제는 안지오텐신-전환 효소 (ACE) 억제제, 베타 차단제, 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARB), 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRAs), 글루코코르티코이드, 스테틴, 나트륨-포도당 공동-수송체 2 (SGLT2) 억제제, 이식형 제세동기 (ICD), 안지오텐신 수용체 네프릴리신 억제제 (ARNI), 및 이노제로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, 상기 추가 작용제 및/또는 보조 요법은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 베나제프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 페르indo프릴, 라미프릴 (예를 들자면, 라미펜), 트란돌라프릴, 조페노프릴, 아세부톨롤, 아테놀롤, 베타솔롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 카르베딜롤, 라베탈롤, 메토프롤롤, 나돌롤, 네비볼롤, 펜부톨롤, 핀돌롤, 프로프라놀롤, 소탈롤, 티몰롤; 로사르탄, 이르베사르탄, 올메사르탄, 칸데사르탄, 발사르탄, 피마사르탄, 아질사르탄, 살프리스아르탄, 텔미사르탄, 프로게스테론, 에플레레논 및 스피로노락톤, 베클로메타손, 베타메타손, 부데소니드, 코르티손, 데플라자코트, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 메틸프레드니손, 프레드니손, 트리암시놀론, 피네레논, 아토르바스타틴 (Lipitor), 플루바스타틴 (Lescol), 로바스타틴 (Mevacor, Altacor), 프라바스타틴 (Pravachol), 피타바스타틴 (Livalo), 심바스타틴 (Zocor), 로수바스타틴 (Crestor), 카나글리플로진, 다파글리플로진 (예를 들자면, Farxiga), 엠파글리플로진, 발사르탄, 사쿠비트릴(a 네프릴리신 억제제), 푸로세미드, 부메타니드, 토라세미드, 벤드로플루메티아지드, 히드로클로로티아지드, 메톨라존, 인다파미드, 스피로노락톤/에플레레논, 아밀로리드 트리암테렌, 하이드랄라진 및 이소소르비드 디니트레이트, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화지방산 (PUFA), 및 I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘).

[0060] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 환자는 고령화, 빈혈, 동맥 고혈압, 심방세동, 인지 기능장애, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 철 결핍, 신장 기능장애, 대사 증후군, 비만, 신체적 상태저하, 칼륨 장애, 폐 질환 (예를 들자면, COPD), 및 수면 무호흡증으로 구성된 군에서 선택된 동반이환을 갖는다.

[0061] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRIIA 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 이형다량체다.

[0062] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 366의 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0063] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 367의 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0064] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 368의 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0065] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이종성(heterologous) 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 도메인 및

하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 링커 도메인은 다음으로부터 선택된다: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

[0066] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 380의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0067] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 378의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0068] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 동형이량체 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 이형다량체 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 및 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 및 ALK7 폴리펩티드를 포함한다.

[0069] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0070] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 및 134로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0071] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택된다: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

[0072] 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; c) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; d) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 e) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0073] 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩

포함한다.

- [0083] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다 포함한다: a) ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 b) ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0084] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0085] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0086] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIA-Fc 융합 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0087] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIA-Fc 융합 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0088] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0089] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0090] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0091] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0092] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적

어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0093] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0094] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

[0095] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

[0096] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0097] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0098] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

[0099] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

[0100] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다.

[0101] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 이형다량체이다.

[0102] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29(가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되고, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134(가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0103] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0104] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

- [0105] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-134에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0106] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 53의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0107] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 388의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0108] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 389의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0109] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이중성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택된다: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 12의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0110] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해, 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다: L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해, 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다: L38N, E50L, E52D, E52N, E52Y, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79E, L79F, L79H, L79R, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82I, F82K, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.
- [0111] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E50에 상응하는 위치에 L 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 N 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 V99에 상응하는 위치에 G 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 T 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 H 치환을 포함한다.
- [0112] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 276의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 278의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 I 치환을 포함하고, N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함한다.
- [0113] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 279의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 332의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 K 치환을 포함하고, N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함한다.
- [0114] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 333의 아미노산 서열에 대하여 적어도

75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 335의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 T 치환을 포함하고, N83에 상응하는 위치에 R 치환을 포함한다.

[0115] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 336의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 338의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 K 치환을 포함한다.

[0116] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 339의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 341의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 H 치환을 포함하고, F82에 상응하는 위치에 I 치환을 포함한다.

[0117] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 342의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 344의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 H 치환을 포함한다.

[0118] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 345의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 347의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 H 치환을 포함하고, F82에 상응하는 위치에 K 치환을 포함한다.

[0119] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 348의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 350의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E50에 상응하는 위치에 L 치환을 포함한다.

[0120] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 351의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 353의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 N 치환을 포함하고, L79에 상응하는 위치에 R 치환을 포함한다.

[0121] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 354의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 356의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 V99에 상응하는 위치에 G 치환을 포함한다.

[0122] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 동형이량체 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 이형이량체 폴리펩티드이다.

[0123] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29 (가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되며, 서열 식별 번호: 2의 아미

노산 109-134 (가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 다음으로 구성된 군에서 선택된, 서열 식별 번호: 2에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다: L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

[0124] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29 (가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되며, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134 (가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 다음으로 구성된 군에서 선택된, 서열 식별 번호: 2에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다: L38N, E50L, E52D, E52N, E52Y, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79E, L79F, L79H, L79R, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82I, F82K, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

[0125] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-134에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 53의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 388의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 389의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해, 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다: L38N, E50L, E52D, E52N, E52Y, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79E, L79F, L79H, L79R, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82I, F82K, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G.

[0126] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 및 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 이형다량체 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드 및 ALK7 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 다음 서열 식별 번호들로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422. 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 다음 서열 식별 번호들로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 및 134.

[0127] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이종성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이종성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이종성 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드 도메인 및 하나 또는 그 이상의 이종성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이종성 도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 ALK7 폴리펩티드 도메인과 하나 또는 그 이상의 이종성

도메인 또는 Fc 도메인 사이에 위치한 링커 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 링커 도메인은 다음으로부터 선택된다: TGGG, TGGGG, SGGGG, GGGGS, GGG, GGGG, SGGG, 및 GGGGS.

[0128] 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; c) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 e) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0129] 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; c) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 e) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0130] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체는 다음에서 선택된 Fc 도메인을 포함한다: (a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 (b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0131] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다 포함한다: a)

번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0137] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0138] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0139] 본 명세서의 일부 구체예들에서, 이형다량체는 다음으로부터 선택된 Fc 도메인을 포함한다 포함한다: a) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고; 그리고 b) ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0140] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0141] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0142] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

[0143] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기

닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

- [0144] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0145] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0146] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0147] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 138에서 글루탐산, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 및 아미노산 위치 217에서 아스파르트산을 포함하고, 그리고 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 아미노산 위치 162에서 아르기닌, 아미노산 위치 179에서 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0148] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0149] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0150] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0151] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0152] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0153] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0154] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치

146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.

- [0155] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에서 아르기닌을 포함하고, 그리고 이때 상기 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에서 시스테인, 아미노산 위치 144에서 세린, 아미노산 위치 146에서 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에서 발린을 포함한다.
- [0156] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 폴리스테틴 폴리펩티드이다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리스테틴 폴리펩티드는 다음 서열 식별 번호들로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다: 390, 391, 392, 393, 및 394.
- [0157] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드를 억제한다.
- [0158] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 항체 또는 항체들의 조합이다. 일부 구체예들에서, 상기 항체 또는 항체들의 조합은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드에 결합한다. 일부 구체예들에서, 상기 항체는 다중특이적 항체이다. 일부 구체예들에서, 상기 항체는 이중-특이적 항체이다.
- [0159] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 소분자 또는 소분자들의 조합이다. 일부 구체예들에서, 상기 소분자 또는 소분자들의 조합은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드를 억제한다.
- [0160] 본 명세서의 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드들의 조합이다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드들의 조합의 조합은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ALK4, ActRIIA, 및 ActRIIB로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 리간드를 억제한다.

도면의 간단한 설명

- [0161] **도 1**은 다중 ActRIIB 및 ActRIIA 결정 구조의 복합 분석에 근거하여, 상자로 표시된 리간드와 직접 접촉하기 위하여, 본 명세서에서 추측된 잔기를 갖는 인간 ActRIIB의 세포외 도메인(서열 식별 번호: 1)과 인간 ActRIIA의 세포외 도메인(서열 식별 번호: 367)의 정렬을 나타낸다.
- 도 2**는 인간 ActRIIB 전구체 폴리펩티드(서열 식별 번호: 2)의 아미노산 서열; NCBI 참조 서열 NP_001097.2)을 나타낸다. 신호 펩티드는 밑줄로 표시되며, 세포외 도메인은 굵게 표시되며(서열 식별 번호: 1로 또한 지칭됨), 그리고 잠재적인 N-연계된 글리코실화 부위는 박스로 표시되어 있다. 서열 식별 번호: 2는 본 명세서에서 인간 ActRIIB의 야생형 참조 서열로 이용되며, 본원에서 기술된 변이체들의 번호매김은 서열 식별 번호: 2의 번호매김을 기반으로 한다.
- 도 3**은 인간 ActRIIB 세포외 도메인 폴리펩티드(서열 식별 번호: 1)의 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 4**는 인간 ActRIIB 전구체 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열을 보여준다. 서열 식별 번호: 4는 NCBI 참조 서열 NM_001106.4의 뉴클레오티드 434-1972로 구성된다.
- 도 5**는 인간 ActRIIB(20-134) 세포외 도메인 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열(서열 식별 번호: 3)을 보여준다.
- 도 6**은 세포내 도메인없는 다양한 척추동물 ActRIIB 전구체 폴리펩티드(서열 식별 번호: 358-363), 세포내 도메인없는 인간 ActRIIA 전구체 폴리펩티드(서열 식별 번호: 364), 그리고 콘센수스 ActRII 전구체 폴리펩티드(서열 식별 번호: 365)의 다중 서열 정렬을 나타낸다. 콘센수스(consensus)에서 대문자는 보존된 위치를 나타낸다. 콘센수스 서열에서 소문자는 우세한 형태를 나타내지만, 해당 위치에서 범용이지 않은 아미노산 잔기를 나타낸다.
- 도 7**은 Clustal 2.1을 이용하여 인간 IgG 아이소타입으로부터 Fc 도메인의 다중 서열 정렬을 보여준다. 힌지 영역은 점선 밑줄에 의해 표시된다. 이중 밑줄로 비대칭 사슬 짝짓기를 증진하기 위해 IgG1 Fc(서열 식별 번호: 13)에서 조작될 수 있는 위치 및 다른 아이소타입 IgG4(서열 식별 번호: 17), IgG2(서열 식별 번호: 14), 및

IgG3 (서열 식별 번호: 15)에 대하여 상응하는 위치의 실례를 나타낸다.

도 8A 및 도 8B는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (“X”로 표시됨), 그리고 ALK4 폴리펩티드 (“Y”로 표시됨) 또는 ALK7 폴리펩티드 (“Y”로 표시됨)중 하나를 포함하는 이형이량체(heteromeric) 폴리펩티드 복합체의 도식적 예시들을 보여준다. 도시된 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 상호작용 쌍의 제 1 구성요소 (“C₁”)를 포함하는 융합 폴리펩티드의 일부분이며, 그리고 ALK4 폴리펩티드 또는 ALK7 폴리펩티드는 상호작용 쌍의 제 2 구성요소 (“C₂”)를 포함하는 융합 폴리펩티드의 일부분이다. 적합한 상호작용 쌍은 예를 들면, 중쇄 및/또는 경쇄 면역글로불린 상호작용 쌍, 절두(절두), 및 본 명세서에서 설명된 바와 같은 이의 변이체들 [가령, Spiess et al (2015) Molecular Immunology 67(2A): 95-106]을 포함한다. 각 융합 폴리펩티드에서, 링커는 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드, 그리고 상호작용 쌍의 상응하는 구성요소 사이에 위치할 수 있다. 상호작용 쌍의 제1 구성요소와 제2 구성요소들은 비유도될 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 실제적인 선호 없이 서로 연관되거나 또는 자가-연관될 수 있고, 그리고 따라서, 이들은 동일하거나 상이한 아미노산 서열을 가질 수 있다는 것을 의미한다. **도 8A** 참고. 대안으로, 상호작용 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 유도된(비대칭) 쌍일 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 자가 연관보다는 서로에 선호적으로 연관된다는 것을 의미한다. **도 8B** 참고.

도 9는 다양한 척추동물 ALK4 단백질 및 인간 ALK4 (서열 식별 번호: 414-420)의 다중 서열 정렬을 보여준다.

도 10은 다양한 척추동물 ActRIIA 단백질 및 인간 ActRIIA (서열 식별 번호: 367, 371-377)의 다중 서열 정렬을 보여준다.

도 11A 및 11B는 유형 I 수용체와 유형 II 수용체 폴리펩티드를 포함하는 이형화학 단백질 복합체의 2가지 도식적 예를 보여준다. 도 11A는 한 가지 유형 I 수용체 융합 폴리펩티드와 한 가지 유형 II 수용체 융합 폴리펩티드를 포함하는 이형이량체 단백질 복합체를 나타내는데, 이때 이들 두 폴리펩티드는 각 폴리펩티드 쇠 안에 함유된 다량체화 도메인을 통하여 공유적으로 또는 비공유적으로 어셈블리될 수 있다. 어셈블리된 두 다량체화 도메인은 유도된 또는 비-유도된 상호작용 쌍을 구성한다. 도 11B는 도 11A에서 도시된 바와 같이, 2개의 이형이량체 복합체를 포함하는 이형사량체(heterotetrameric) 단백질 복합체를 나타낸다. 더 높은 차수의 복합체도 생각해볼 수 있다.

도 12는 유형 I 수용체 폴리펩티드 (“I”로 나타냄) (가령, 본 명세서에서 설명된 바와 같이, 인간 또는 다른 종의 ALK4 단백질의 세포외 도메인에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩티드)와 유형 II 수용체 폴리펩티드 (“II”로 나타냄) (가령, 본 명세서에서 설명된 바와 같이, 인간 또는 다른 종의 ActRIIB 단백질의 세포외 도메인에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩티드)를 포함하는 이형체성(heteromeric) 단백질 복합체의 도식적 예를 나타낸다. 도시된 구체예들에 있어서, 유형 I 수용체 폴리펩티드는 상호작용 쌍의 제 1 구성요소 (“C₁”)를 포함하는 융합 폴리펩티드의 일부이며, 그리고 유형 II 수용체 폴리펩티드는 상호작용 쌍의 제 2 구성요소 (“C₂”)를 포함하는 융합 폴리펩티드의 일부이다. 각 융합 폴리펩티드에서, 링커는 유형 I 또는 유형 II 수용체 폴리펩티드와 상호작용 쌍의 상응하는 구성요소 사이에 위치할 수 있다. 상호작용 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 유도된 (비대칭) 쌍일 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 자가 연관보다는 서로에 선호적으로 연관된다는 것을 의미하고, 또는 상호작용 쌍은 비유도될 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 실제적인 선호 없이 서로 연관되거나 또는 자가-연관될 수 있고 동일하거나 상이한 아미노산 서열을 가질 수 있다는 것을 의미한다. 전통적인 Fc 융합 단백질 및 항체는 비유도된 상호작용 쌍의 실례이고, 반면 다양한 가공된 Fc 도메인은 유도된(비대칭) 상호작용 쌍으로서 설계되었다[Spiess et al (2015) Molecular Immunology 67(2A): 95-106].

도 13A-13D는 ALK4 폴리펩티드 (가령, 본 명세서에서 설명된 바와 같이, 인간 또는 다른 종의 ALK4 단백질의 세포외 도메인에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩티드)와 ActRIIB 폴리펩티드(가령, 본 명세서에서 설명된 바와 같이, 인간 또는 다른 종의 ActRIIB 단백질의 세포외 도메인에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩티드)를 포함하는 이형화학성 단백질 복합체의 도식적 예를 나타낸다. 도시된 구체예들에 있어서, ALK4 폴리펩티드는 상호작용 쌍의 제 1 구성요소 (“C₁”)를 포함하는 융합 폴리펩티드의 일부이며, 그리고 ActRIIB 폴리펩티드는 상호작용 쌍의 제 2 구성요소 (“C₂”)를 포함하는 융합 폴리펩티드의 일부이다. 적합한 상호작용 쌍은 예를 들면, 중쇄 및/또는 경쇄 면역글로불린 상호작용 쌍, 절두(절두), 및 본

명세서에서 설명된 바와 같은 이의 변이체들 [가령, Spiess et al (2015) *Molecular Immunology* 67(2A): 95-106]을 포함한다. 각 융합 폴리펩티드에서, 링커는 ALK4 또는 ActRIIB 폴리펩티드와 상호작용 쌍의 상응하는 구성요소 사이에 위치할 수 있다. 상호작용 쌍의 제1 구성요소와 제2 구성요소들은 비유도될 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 실제적인 선호 없이 서로 연관되거나 또는 자가-연관될 수 있고, 그리고 따라서, 이들은 동일하거나 상이한 아미노산 서열을 가질 수 있다는 것을 의미한다. 도 13A 참고. 대안으로, 상호작용 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 유도된(비대칭) 쌍일 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 자가 연관보다는 서로에 선호적으로 연관된다는 것을 의미한다. 도 13B 참고. 더 높은 차수의 복합체도 생각해볼 수 있다. 도 13C 및 13D 참고.

도 14는 CHO 세포에서 발현된 ActRIIA-hFc의 정제를 보여준다. 단백질을 컬럼 크기를 설정하고(sizing)(상단 패널) 및 Coomassie 착색된 SDS-PAGE(하단 패널)(왼쪽 라인: 분자량 표준; 오른쪽 라인: ActRIIA-hFc)로 가시화된 단일의 잘 정의된 피크로 정제된다.

도 15는 BiacoreTM 분석으로 측정하였을 때, 액티빈(상단 패널) 및 GDF-11(하단 패널)에 대한 ActRIIA-hFc의 결합을 나타낸다.

도 16A 및 **도 16B**는 37° C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정하였을 때, 변이체 또는 변형안된 ActRIIB 도메인 아미노산을 포함하는 종이량체 Fc-융합 폴리펩티드의 리간드 결합 동역학 값을 보여준다. 변호매김은 서열 식별 번호: 2를 기반으로 한다. ND#은 테스트된 농도 범위에서 값이 감지할 수 없음을 나타낸다. 일과성(transient)*은 상호 작용의 일과적 속성으로 인해, 값이 불확실함을 나타낸다. 대조군 샘플은 ActRIIB-G1Fc(서열 식별 번호: 5)이다.

도 17은 37° C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정하였을 때, 변이체 또는 변형안된 ActRIIB 도메인 아미노산을 포함하는 종이량체 Fc-융합 폴리펩티드의 리간드 결합 동역학 값을 보여준다. 아미노산 변호매김은 서열 식별 번호: 2를 기반으로 한다. ND#은 테스트된 농도 범위에서 값이 감지할 수 없음을 나타낸다. 일과성 결합*은 상호 작용의 일과적 속성으로 인해, 값이 불확실함을 나타낸다. 대조군 샘플은 ActRIIB-G1Fc(서열 식별 번호: 5)이다.

도 18은 25° C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정하였을 때, 변이체 또는 변형안된 ActRIIB 도메인 아미노산을 포함하는 종이량체 Fc-융합 폴리펩티드의 리간드 결합 동역학 값을 보여준다. ND#은 테스트된 농도 범위에서 값이 감지할 수 없음을 나타낸다. 아미노산 변호매김은 서열 식별 번호: 2를 기반으로 한다.

도 19는 ActRIIB-Fc 동형이량체와 ALK4-Fc 동형이량체와 비교하여 ALK4-Fc:ActRIIB-Fc 이형이량체 단백질 복합체에 대한 비교 리간드 결합 데이터를 나타낸다. 각 단백질 복합체의 경우, 리간드는 리간드 신호전달 억제체와 관련된 운동 상수인 k_{off} 에 의해 등급결정되며, 결합 친화력(가장 단단하게 결합된 리간드가 상위에 열거됨)의 내림 순서로 열거된다. 왼쪽에서 노란색, 빨간색, 녹색 및 파란색 선은 해리 속도 상수의 크기를 나타낸다. 검정색 선은 동형이량체와 비교하여 이형이량체에 대한 결합이 강화되거나 변하지 않은 리간드를 나타내지만, 빨간색 점선은 동형이량체에 비해 결합이 실질적으로 감소한 것을 나타낸다. 나타낸 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체는 이들 동형이량체와 비교하여 액티빈 B에 강화된 결합을 보이고, ActRIIB-Fc 동형이량체에서 관찰된 바와 같이, 액티빈 A, GDF8, 및 GDF11에 강력한 결합을 유지하지만, BMP9, BMP10, 및 GDF3에 대해서 실질적으로 감소된 결합을 나타낸다. ActRIIB-Fc 동형이량체와 유사하게, 상기 이형이량체는 BMP6에 중간-수준 결합을 유지한다.

도 20은 본 명세서에서 기술된 바와 같이 A-204 Reporter 유전자분석에 의해 측정된 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체/ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체 비교 IC₅₀ 데이터를 나타낸다. ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체는 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체와 유사하게 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, 및 GDF11 신호전달 경로를 억제한다. 그러나, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 BMP9 및 BMP10 신호전달 경로 억제는 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체와 비교하여 상당히 감소된 것이다. 이들 데이터는 ActRIIB:ALK4 이형이량체가 상응하는 ActRIIB:ActRIIB 동형이량체와 비교하였을 때, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, 및 GDF11의 더 큰 선택적 길항제임을 설명한다.

도 21는 ActRIIB-Fc 동형이량체와 ALK7-Fc 동형이량체와 비교하여 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체 단백질 복합체에 대한 비교 리간드 결합 데이터를 나타낸다. 각 단백질 복합체의 경우, 리간드는 리간드 신호전달 억제체와 관련된 운동 상수인 k_{off} 에 의해 등급결정되며, 결합 친화력(가장 단단하게 결합된 리간드가 상위에 열거됨)의

내림 순서로 열거된다. 왼쪽에서 노란색, 빨간색, 녹색 및 파란색 선은 해리 속도 상수의 크기를 나타낸다. 검정색 선은 동형이량체와 비교하여 이형이량체에 대한 결합이 강화되거나 변하지 않은 리간드를 나타내지만, 빨간색 점선은 동형이량체에 비해 결합이 실질적으로 감소한 것을 나타낸다. 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc 동형이량체에 강한 결합을 갖는 5개의 리간드 중 4개(액티빈 A, BMP10, GDF8 및 GDF11)는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체에 대해 감소된 결합을 나타내고, 상기 예외는 이형이량체에 대한 단단한 결합을 유지하는 액티빈 B이다. 유사하게, ActRIIB-Fc 동형이량체(GDF3, BMP6, 특히 BMP9)에 대한 중간 결합을 갖는 4개의 리간드 중 3개는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체에 대해 감소된 결합을 나타내지만, 반면 액티빈 AC에 대한 결합은 전체적으로 이형이량체와 두 번째로 강한 리간드 상호작용이 되도록 증가된다. 끝으로, 액티빈 C 및 BMP5는 중간 수준 강도로 ActRIIB-Fc:ALK7 이형이량체에 예상외로 결합하고, ActRIIB-Fc 동형이량체에 대해 액티빈 C는 결합하지 않거나, 또는 BMP5는 약하게 결합한다. 테스트된 리간드중 ALK7-Fc 동형이량체에 결합하는 리간드는 없다

도 22는 다양한 척추동물 종으로부터 유도된 ALK7 포외 도메인의 다중 서열 정렬(서열 식별 번호: 425-430)을 나타낸다.

도 23 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc는 좌심장 리모델링 동안 좌심실 구조 변경을 교정시켰다. **A.** 확장성 심근병증이 있는 좌심장 리모델링의 예시. Houser et al., 2012로부터 변형된 도면 **도 B-E**는 6개월 동안 동일한 부피의 PBS 비히클을 제공받은 중간-연령 Mdx-비히클 마우스와 2개월 동안 같은 부피의 PBS 비히클을 제공받은 노령 Mdx-비히클 마우스의 결과, 또는 6개월 동안 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc(10mg/kg)를 제공받은 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 및 2개월 동안 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc (10 mg/kg)를 제공받은 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc의 결과를 보여준다. **도 B**는 LVESV가 중간-연령 WT-비히클(n=7, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 중간-연령 Mdx-비히클(n=8) 마우스에서 증가했음을 보여주지만, 그러나 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 LVESV가 상당히 감소되었음을 보여준다 (n=6, p<0.5). LVESV가 노령 WT-비히클(n=5, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 노령 Mdx-비히클(n=3) 마우스에서 증가했음을 보여주지만, 그러나 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 LVESV가 상당히 감소되었음을 보여준다 (n=4, p<0.001). **C.** LV 편심 비대는 질량(LVM) 대 체적(LVESV)의 비율을 참조하며, 비대 지수로 설명된다. 비대 지수는 중간-연령 WT-비히클(n=7, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 중년 Mdx-비히클(n=8) 마우스에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 비대 지수가 증가되었음을 보여준다 (n=6, p>0.5). 비대 지수는 노령 WT-비히클(n=5, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 노령 Mdx-비히클 마우스(n=3)에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 비대 지수가 증가되었음을 보여준다 (n=4, p>0.5). **D.** 수축기 말 LV 직경(LVEDD)에 대한 LV 벽 두께(LVWT)의 비율을 참조한 LV의 상대적 벽 두께. 상대적 벽 두께는 중간-연령 WT-비히클(n=7, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 중간-연령 Mdx-비히클(n=8) 마우스에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 상대적 벽 두께가 증가되었음을 보여준다 (n=6, p>0.5). 상대적 벽 두께는 노령 WT-비히클 (n=5, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 노령 Mdx-비히클 마우스(n=3)에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 상대적 벽 두께가 증가되었음을 보여준다 (n=4, p>0.5). **E.** 정규화된 심장 중량은 전체 심장 무게 대 체중의 비율을 나타낸다. 정규화된 심장 중량은 노령 WT-비히클 (n=5, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p<0.01)와 비교하여, 노령 Mdx-비히클 마우스 (n=3)에서 증가했음을 보여주지만, 그러나 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 정규화된 심장 중량이 감소되었음을 보여준다 (n=4, p>0.5). 어린 WT 마우스(n=3, p<0.05)에 비해 노령 WT-비히클 마우스(n=5)에서 정규화된 심장 중량이 유의적으로 증가했다.

도 24 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc는 좌심장 리모델링 동안 좌심실 수축 기능 장애를 구했다. **도 A-D**는 6개월 동안 동일한 부피의 PBS 비히클을 제공받은 중간-연령 Mdx-비히클 마우스와 2개월 동안 같은 부피의 PBS 비히클을 제공받은 Old Mdx-비히클 마우스의 결과, 또는 6개월 동안 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc(10mg/kg)를 제공받은 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 및 2개월 동안 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc (10 mg/kg)를 제공받은 Old Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc의 결과를 보여준다. **A.** 박출율은 중간-연령 WT-비히클(n=7, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 중간-연령 Mdx-비히클(n=8) 마우스에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 박출율이 유의적으로 증가되었음을 보여준다 (n=6, p<0.5). 박출율은 노령 WT-비히클 (n=5, p>0.05) 또는 어린-WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 노령 Mdx-비히클 마우스(n=3)에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타난

바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 박출율이 유의적으로 증가되었음을 보여준다 (n=4, p<0.01). B. 분획성 단축은 중간-연령 WT-비히클(n=7, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 중간-연령 Mdx-비히클(n=8) 마우스에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타낸 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 분획성 단축이 유의적으로 증가되었음을 보여준다(n=6, p<0.5). 분획성 단축은 노령 WT-비히클(n=5, p>0.05) 또는 어린 WT 마우스(n=3, p>0.05)와 비교하여, 노령 Mdx-비히클(n=3) 마우스에서 감소했음을 보여주지만, 그러나 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타낸 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 분획성 단축이 유의적으로 증가되었음을 보여준다(n=4, p<0.01). C. 혈청 cTnI 수준은 고감도 마우스 cTnI ELISA 키트로 측정했다. 혈청 cTnI 수준은 중간-연령 WT-비히클 (n=6, p<0.05) 또는 어린 WT 마우스 (n=2, p<0.05)와 비교하였을 때 중간-연령 Mdx-비히클 마우스(n=3)에서 급격하게 증가되었지만, 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에서 나타낸 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 혈청 cTnI 수준은 유의적으로 감소되었다 (n=5, p<0.05). D. 도 2A 및 2C (p<0.01)에 제시된 데이터의 박출률과 혈청 cTnI 사이에는 중간 정도의 역상관계(Pearson 계수, r= -0.39)가 있었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0162] 상세한 설명

[0163] 1. 개요

[0164] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전을 치료하기 위해, TGF- β 수퍼패밀리 리간드 길항제, 특히 ActRII-ALK4 길항제를 이용하는 방법에 관한 것이다. 예를 들면, 본원에 기술된 ActRII-ALK4 길항제는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 이용될 수 있다.

[0165] 심부전(HF)은 숨가쁨, 발목 부종 및 피로를 포함하는 증상을 특징으로 하는 임상 증후군이며, 구조적 및/또는 기능적 심장 이상으로 인한 경정맥압 상승, 폐수포 및 말초 부종이 내포된 징후가 동반될 수 있다. HF는 일반적으로 심박출량 감소 및/또는 안정 시 또는 스트레스 시 심내압 상승을 초래한다.

[0166] 임상 증상이 나타나기 전에, 환자들은 무증상적 구조적 또는 기능적 심장이상(예를 들자면, 수축기 또는 확장기 좌심실(LV) 기능장애)을 나타낼 수 있는데, 이것이 HF의 전조이다. 이러한 전조에 대한 인지는 이들 전조가 좋지 않은 결과와 관련이 있기 때문에, 중요하며, 전조 단계에서 치료를 시작하면, 무증상적 수축기 LV 기능장애가 있는 환자의 사망률을 줄일 수 있다.

[0167] 심장의 기저 원인의 입증이 HF 진단의 핵심이다. 여기에는 일반적으로 수축기 및/또는 확장기 심실 기능장애를 유발하는 심근 이상이 내포된다. 그러나, 판막, 심장막, 심내막, 심장 박동 및 전도의 비정상 또한 HF를 유발할 수 있다 (그리고 한 가지 이상의 비정상이 종종 나타남). 정확한 병리학이 사용되는 특정 치료법을 결정하기 때문에, 심장의 기저 문제를 확인하는 것이 치료상의 이유로 중요하다 (예를 들자면, 판막 질환의 경우 판막 수리 또는 교체, EF가 감소된 HF, 빈맥성 심근병증의 심박수 감소, 등등의 경우 특정 약리 요법).

[0168] TGF- β 수퍼패밀리 리간드 신호는 리간드 자극 시 하류 SMAD 단백질을 인산화시키고, 활성화시키는 유형 I 및 유형 II 세린/ 트레오닌 키나제 수용체의 이종체 복합체에 의해 매개된다 (Massagué, 2000, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 1:169-178). 이들 유형 I 및 유형 II 수용체는 시스테인-풍부한 영역을 갖는 리간드-결합 세포외 도메인, 막경유 도메인, 그리고 예측된 세린/트레오닌 특이성을 갖는 세포질 도메인으로 구성된 막경유 폴리펩티드다. 유형 I 수용체는 신호전달에 필수적이며; 그리고 유형 II 수용체는 리간드 결합에 요구된다. 유형 I 및 유형 II 액티빈 수용체는 리간드 결합 후 안정적 복합체를 형성하여, 유형 II 수용체에 의한 유형 I 수용체가 인산화(포스포릴화)된다.

[0169] 관련된 2개의 유형 II 수용체 ActRIIA 및 ActRIIB는 액티빈에 대한 유형 II 수용체로 확인되었다(Mathews and Vale, 1991, Cell 65:973-982; Attisano et al., 1992, Cell 68: 97-108). 액티빈 이외에, ActRIIA 및 ActRIIB은 예를 들면, BMP7, Nodal, GDF8, 및 GDF11을 포함하는 몇 가지 기타 TGF- β 패밀리 단백질과 생화학적으로 상호작용할 수 있다 (Yamashita et al., 1995, J. Cell Biol. 130:217-226; Lee and McPherron, 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. 98:9306-9311; Yeo and Whitman, 2001, Mol. Cell 7: 949-957; Oh et al., 2002, Genes Dev. 16:2749-54). 가용성 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 생체내에서 실질적으로 상이한 효과를 갖는데, ActRIIA-Fc는 뼈에 일차 효과를 갖고, ActRIIB-Fc는 골격근에 일차 효과를 갖는다는

사실을 출원인이 밝혀냈다.

- [0170] TGF-베타 슈퍼패밀리의 리간드들은 하나의 단량체의 중심 3-1/2 회전 나선이 다른 단량체의 베타-가닥에 의해 형성된 오목한 표면을 채우는 동일한 이량체 구조를 공유한다. 대다수의 TGF-베타 패밀리 구성요소들은 분자 내 이황화 결합으로 더욱 안정화된다. 이 디설파이드 결합은 다른 2 개의 디설파이드 결합에 의해 형성된 고리를 통과하는데, 이로써 '시스테인 매듭 (knot)' 모티프로 불리는 것을 생성된다[Lin et al. (2006) *Reproduction* 132: 179-190; 그리고 Hinck et al. (2012) *FEBS Letters* 586: 1860-1870].
- [0171] 액티빈은 TGF-베타 슈퍼패밀리의 구성요소이며, 구성원이며 처음에는 난포-자극 호르몬의 분비 조절제로 밝혀졌지만, 이후 다양한 생식 및 비 생식-기능이 규명되었다. 2개의 밀접하게 관련된 β 소단위 ($\beta_A\beta_A$, $\beta_B\beta_B$, 및 $\beta_A\beta_B$, 차례로)의 동형/이형이량체인 3가지 주요 액티빈 형태(A, B, 및 AB)가 있다. 인간 계놈은 또한 주로 간에서 발현되는 액티빈 C 및 액티빈 E 를 인코딩하고, 그리고 β_C 또는 β_E 를 함유하는 이형이량체 형태 또한 공지되어 있다. TGF-베타 슈퍼패밀리에서, 액티빈은 난소 및 태반 세포에서 호르몬 생성을 자극하고, 신경 세포 생존을 지원하고, 세포 유형에 따라 세포주기 진행에 긍정적 또는 부정적 영향을 미칠 수 있고, 그리고 적어도 양서류 태아에서 중배엽 분화를 유도할 수 있는 독특하고 다기능적 요소다[DePaolo et al. (1991) *Proc Soc Exp Biol Med.* 198:500-512; Dyson et al. (1997) *Curr Biol.* 7:81-84; 그리고 Woodruff (1998) *Biochem Pharmacol.* 55:953-963]. 몇몇 조직에서, 액티빈 신호전달은 이것의 관련된 이형이량체, 인히빈(inhibin)에 의해 길항된다. 예를 들면, 뇌하수체로부터 난포-자극 호르몬 (FSH) 분비 조절에 있어서, 액티빈은 FSH 합성 및 분비를 촉진시키지만, 한편 인히빈은 FSH 합성 및 분비를 감소시킨다. 액티빈 생활성을 조절할 수 있고, 및/또는 액티빈에 결합할 수 있는 다른 단백질에는 폴리스테틴 (FS) 및 α_2 -마크로글로불린이 내포된다.
- [0172] 본 명세서에서 기술된 바와 같이, 단리된 β_A 소단위 또는 이량체 복합체 (가령, $\beta_A\beta_A$ 동형이량체 또는 $\beta_A\beta_B$ 이형이량체)에서 “액티빈 A”에 결합하는 물질은 β_A 소단위에 특이적으로 결합하는 물질이다. 이형이량체 복합체 (가령, $\beta_A\beta_B$ 이형이량체)의 경우, “액티빈 A”에 결합하는 물질은 β_A 소단위 안에 존재하는 에피토프(epitopes)에 특이적이지만, 이 복합체의 비- β_A 소단위 (가령, 복합체의 β_B 소단위) 안에 존재하는 에피토프에는 결합하지 않는다. 유사하게, “액티빈 A”를 길항(억제)하는 것으로 본 명세서에서 공개된 물질은 단리된 β_A 소단위 또는 이량체 복합체 (가령, $\beta_A\beta_A$ 동형이량체 또는 $\beta_A\beta_B$ 이형이량체)에서 β_A 소단위에 의해 중개되는 하나 또는 그 이상의 활성을 억제하는 물질이다. $\beta_A\beta_B$ 이형이량체의 경우에, “액티빈 A”를 저해하는 작용제는 β_A 아단위의 하나 또는 그 이상의 활성을 특이적으로 저해하지만, 복합체의 비- β_A 아단위 (가령, 복합체의 β_B 아단위)의 활성을 저해하지 않는 작용제이다. 이러한 원리는 “액티빈 B”, “액티빈 C” 및 “액티빈 E”에 결합하고 및/또는 이를 저해하는 작용제에도 적용된다. “액티빈 AB”에 길항작용하는 본원에서 개시된 작용제는 β_A 하위단위에 의해 매개된 하나 또는 그 이상의 활성 및 β_B 하위단위에 의해 매개된 하나 또는 그 이상의 활성을 저해하는 작용제이다.
- [0173] BMPs 및 GDFs는 함께, TGF-베타 슈퍼패밀리의 특징적인 폴드(characteristic fold)를 공유하는 시스테인-매듭 사이토킨의 패밀리를 형성한다. [Rider et al. (2010) *Biochem J.*, 429(1):1-12]. 이 패밀리에는 예를 들면, BMP2, BMP4, BMP6, BMP7, BMP2a, BMP3, BMP3b (GDF10로도 알려짐), BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8, BMP8a, BMP8b, BMP9 (GDF2로도 알려짐), BMP10, BMP11 (GDF11로도 알려짐), BMP12 (GDF7로도 알려짐), BMP13 (GDF6로도 알려짐), BMP14 (GDF5로도 알려짐), BMP15, GDF1, GDF3 (VGR2로도 알려짐), GDF8 (미오스타틴로도 알려짐), GDF9, GDF15, 및 데카펜타플레릭(decapentaplegic)이 내포된다. 뼈 형성을 유도 할 수 있는 능력(이로 인하여 BMPs로 불림)외에도, BMP/GDF는 광범위한 조직의 발생에 형태형성적 활성을 보여준다. BMP/GDF 동종-이량체 및 이형-이량체는 I 형과 II 형의 수용체 이량체의 조합과 상호작용하여, 여러 가지 가능한 신호 생성 복합체를 생성하고, SMAD 전사 인자의 두 경쟁 세트 중 하나의 활성화를 유도한다. BMP/GDFs는 매우 특이적이며, 국소화된 기능을 갖는다. 이들은 다양한 방식으로 조절되는데, BMP/GDF 발현의 발생 제한, 그리고 사이토킨에 고친화력으로 결합하는 몇 가지 특이적인 BMP 길항 단백질의 분비를 통하여 조절된다. 신기하게도, 다수의 이들 길항제들은 TGF-베타 슈퍼패밀리 리간드들을 닮았다.
- [0174] 성장 및 분화 인자-8 (GDF8)은 또한 미오스타틴으로 알려져 있다. GDF8은 골격근량의 음성 조절인자다. GDF8은 발생중인 그리고 성인 골격근에서 상당히 발현된다. 유전자삽입 마우스에서 GDF8 null 돌연변이는 골격근의 눈에 띄는 비대 및다형성을 특징으로 한다(McPherron et al., *Nature*, 1997, 387:83-90). 소에서 GDF8의 자연 발

생 돌연변이에서 골격근량의 비슷한 증가가 나타나고 (Ashmore et al., 1974, Growth, 38:501-507; Swatland and Kieffer, J. Anim. Sci., 1994, 38:752-757; McPherron and Lee, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, 94:12457-12461; and Kambadur et al., Genome Res., 1997, 7:910-915), 그리고 인간에서 현저하게 나타난다 (Schuelke et al., N Engl J Med 2004;350:2682-8). 연구에 따르면, 사람의 HIV 감염과 관련된 근육 소모는 GDF8 폴리펩티드 발현 증가를 수반한다(Gonzalez-Cadavid et al., PNAS, 1998, 95:14938-43). 또한, GDF8은 근육 특이적 효소 (가령, 크레아틴 키나제)의 생산을 조절하고, 근섬유 세포 증식을 조절할 수 있다(WO 00/43781). GDF8 프로펩티드(propeptide)는 성숙한 GDF8 도메인 이량체에 비공유 결합하여, 그 생물학적 활성을 불활성화시킬 수 있다 (Miyazono et al. (1988) J. Biol. Chem., 263: 6407-6415; Wakefield et al. (1988) J. Biol. Chem., 263: 7646-7654; 그리고 Brown et al. (1990) Growth Factors, 3: 35-43). GDF8 또는 구조적으로 관련된 폴리펩티드에 결합하고, 이들의 생물학적 활성을 억제시키는 다른 폴리펩티드는 폴리스테틴, 그리고 잠재적으로, 폴리스테틴-관련된 폴리펩티드들이 내포된다[Gamer et al. (1999) Dev. Biol., 208: 222-232].

[0175] BMP11로도 또한 알려진, 성장 및 분화 인자-11 (GDF11)는 분비된 단백질이다 (McPherron et al., 1999, Nat. Genet. 22: 260-264). GDF11은 마우스 발생 동안 꼬리 돌기(tail bud), 팔다리 돌기(limb bud), 상악 및 하악 아치, 그리고 후근 신경절에서 발현되는 분비 단백질이다(Nakashima et al., 1999, Mech. Dev. 80: 185-189). GDF11은 중배엽 및 신경 조직 모두에서 패턴화에 독특한 역할을 한다 (Gamer et al., 1999, Dev Biol., 208:222-32). GDF11은 병아리 날개 발달에 있어서, 연골 형성 및 근형성의 음성 조절자인 것으로 나타났다 (Gamer et al., 2001, Dev Biol. 229:407-20). 근육에서 GDF11의 발현은 GDF8과 유사한 방식으로 근육 성장을 조절하는 역할을 암시한다. 또한, 뇌에서 GDF11의 발현은 GDF11이 또한 신경계의 기능과 관련된 활성을 가질 수 있음을 시사한다. 흥미로운 것은, GDF11은 후각 상피의 신경 발생을 억제하는 것으로 밝혀졌다(Wu et al., 2003, Neuron. 37:197-207).

[0176] 부분적으로, 본 명세서의 실시예들은 ActRIIB:ALK4 이형이량체가 HFrEF의 무린 모델(Mdx 모델)에서 좌심장リモ텔링 동안 다양한 형태학적 및 기능적 결손 개선에 효과적임을 입증한다. 특히, ActRIIB:ALK4 이형이량체 처리된 마우스에서 처리되지 않은 그룹에 비해 LV 수축기말 직경이 유의하게 감소했고, 이것으로 ActRIIB:ALK4 이형이량체가 LV 수축성을 개선시킴을 나타낸다. 이 데이터는 ActRIIB:ALK4 이종다량체 외에 다른 ActRII-ALK4 길항제들이 심부전 치료에 유용할 수 있음을 추가로 시사한다.

[0177] 특정 측면들에서, 본원의 방법 및 용도 (예를 들자면, 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증을 치료, 예방, 또는 감소) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 길항제 및 이의 변이체들 뿐만 아니라 이의 이형이량체 및 이형다량체들, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제이다. ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드에는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 및/또는 BMP10)에 결합할 수 있는 TGF- β 수퍼패밀리-관련 단백질들과 이의 변이체들이 내포된다. 따라서, ActRII-ALK4 리간드 트랩에는 일반적으로 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 및/또는 BMP10)를 길항시킬 수 있는 폴리펩티드들이 내포된다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 리간드 트랩을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRIIB 폴리펩티드, 및 동형다량체들 (예를 들자면, ActRIIB 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, ActRIIB-ALK4 또는 ActRIIB-ALK7 이형이량체)를 갖는 이의 변이체들을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRIIA 폴리펩티드, 및 동형다량체들 (예를 들자면, ActRIIA 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, ActRIIA-ALK4 또는 ActRIIA-ALK7 이형이량체)를 갖는 이의 변이체들을 포함한다. 다른 구체예들에서, ActRII-ALK 리간드 트랩은 폴리스테틴 폴리펩티드 뿐만 아니라 이의 변이체들을 포함하나, 이에 국한되지 않는 가용성 리간드 트랩 단백질을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 항체 길항제 (액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIB, ActRIIA, ALK4 및/또는 ALK7중 하나 또는 그 이상을 억제하는 항체)를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 소분자 길항제 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIB, ActRIIA, ALK4 및/또는 ALK7중 하나 또는 그 이상을 억제하는 소분자)를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIB, ActRIIA, ALK4 및/또는 ALK7중 하나 또는 그 이상을 억제하는 뉴클레오티드 서열들)를 포함한다.

[0178] 본 명세서에서 사용된 용어는 일반적으로 본 개시 내용 및 각 용어가 사용되는 특정 상황에서 당해 분야의 통상적인 의미를 갖는다. 특정 용어는 본 명세서의 구성 및 방법을 설명하고, 이를 작성하고 사용하는 방법에 대해

당업자에게 추가 지침을 제공하기 위해 아래 또는 다른 곳에서 논의된다. 어떤 용어의 사용의 범위나 의미는 그것이 사용되는 특정 상황에서 명백해질 것이다.

- [0179] 용어 "서열 유사성(sequence similarity)"은 모든 문법적 형태에서 일반적인 진화론적 기원을 공유하거나 공유하지 않을 수 있는 핵산 또는 아미노산 서열 간의 동일성 또는 일치 정도를 의미한다.
- [0180] 기준 폴리펩티드 (또는 뉴클레오티드) 서열에 대한 "서열 동일성 백분율(%)"은 후보 서열의 아미노산 잔기(또는 핵산)이 기준 폴리펩티드(뉴클레오티드) 서열에의 아미노산 잔기(또는 핵산)과 동일한 아미노산 잔기 (또는 핵산)의 백분율로 정의되는데, 이때 서열을 정렬시킨 후 최대 서열 동일성 백분율을 얻기 위하여 필요하다면 갭을 도입하고, 보존적 치환은 상기 서열의 동일성의 일부분으로 간주되지 않는다. 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하기 위한 정렬은 예를 들어, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 당업계의 기술 범위 내에 있는 다양한 방법으로 성취될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전체 길이에 대해 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적을 위해, 아미노산 (핵산) 서열 동일성 %값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에 의해 작성되었으며, 소스 코드(source code)는 미국 저작권청 (Washington D.C., 20559)에 사용자 문서로 제출되어 미국 저작권 등록 번호 TXU510087에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 Genentech, Inc., South San Francisco, Calif.에서 공개적으로 입수할 수 있으며, 소스 코드에서 컴파일할 수도 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함하여 UNIX 운영 체제에서 사용하도록 컴파일해야 한다. 모든 서열 비교 매개변수는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되며 가변적이지 않다.
- [0181] "항진하다(agonize)"란 모든 문법적 형태로, 단백질을 및/또는 유전자를 활성화 (가령, 단백질의 유전자 발현을 활성화 또는 증폭하거나 비활성 단백질을 활성화상태로 유도함으로써)하거나 단백질 및 단백질을 증가시키는 과정을 의미한다.
- [0182] "길항하다(antagonize)"는 모든 문법적 형태로, 단백질을 및/또는 유전자를 억제(가령, 단백질의 유전자 발현을 억제 또는 감소시키거나 활성 단백질을 비활성화상태로 유도함으로써)하거나 단백질 및 단백질을 감소시키는 과정을 의미한다.
- [0183] 명세서 및 청구 범위에 걸쳐 수치와 관련하여 사용되는 용어 "약(about)" 및 "대략(approximately)"이란 당업자에게 친숙하고 수용가능한 정확도의 구간을 나타낸다. 일반적으로, 이러한 정확도 구간은 $\pm 10\%$ 이다. 대안으로, 그리고 특히 생물학적 계통에서, 용어 "약" 및 "대략"은 주어진 값의 크기의 차수, 바람직하게는 ≤ 5 -배, 보다 바람직하게는 ≤ 2 -배 이내의 값을 의미할 수 있다.
- [0184] 여기에 개시된 수치 범위는 범위를 정의하는 수치를 포함한다.
- [0185] 용어 부정관사("a" 및 "an")는 용어가 사용된 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않는 한, 복수형을 포함한다. 용어 "하나 또는 그 이상의" 및 "적어도 하나의"는 물론 호환되는 용어로 "단수 부정관사("a" 또는 "an") 용어를 사용할 수 있다. 더욱이, 본 명세서에서 사용된 "및/또는"이란 둘 또는 그 이상의 특정 특징 또는 구성 요소의 각각의 구체적인 설명으로서 취해질 것이다. 따라서, 구절에서 사용된 용어 "및/또는", 이를 테면 "A 및/또는 B"는 "A와 B", "A 또는 B", "A" (단독), 및 "B" (단독)을 포함한다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 문구에 사용된 "및/또는"이라는 용어는 다음 각 측면을 포함하는 것으로 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A와 C; A와 B; B와 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).
- [0186] 본 명세서 전반에 걸쳐, "포함한다(comprise)"라는 단어 또는 "포함하는(comprises)" 또는 "포함하는(comprising)"과 같은 변형은 명시된 정수 또는 정수 그룹을 포함하지만, 다른 정수 또는 정수 그룹을 배제하지 않는다는 것을 의미하는 것으로 이해될 것이다.
- [0187] **2.ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제 및 이의 변이체들**
- [0188] 특정 측면들에서, 본원의 방법 및 용도 (예를 들자면, 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증을 치료, 예방, 또는 감소) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제는 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 및 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 이형이량체 및 이형다량체들이다. ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드에는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 및 BMP10)에 결합할 수 있는 TGF- β 수퍼패밀리-관련 단백질들과 이의 변이체들이 내포된다. 따라서, ActRII-ALK4 리간드 트랩에는 일반적으로 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티

빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, 및 BMP10)를 길항시킬 수 있는 폴리펩티드들이 내포된다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRII 폴리펩티드, 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 동형- 및 이형-다량체들 (예를 들자면, 각각, 동형이량체 및 이형이량체)을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “ActRII”란 유형 II 액티빈 수용체의 패밀리를 지칭한다. 이 패밀리에에는 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA) 및 액티빈 수용체 유형 IIB (ActRIIB)가 내포된다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRIIB 폴리펩티드, 및 동형다량체들 (예를 들자면, ActRIIB 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, ActRIIB-ALK4 또는 ActRIIB-ALK7 이형이량체)를 갖는 이의 변이체들을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩은 ActRIIA 폴리펩티드, 및 동형다량체들 (예를 들자면, ActRIIA 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, ActRIIA-ALK4 또는 ActRIIA-ALK7 이형이량체)를 갖는 이의 변이체들을 포함한다. 다른 구체예들에서, ActRII-ALK 리간드 트랩은 폴리스테틴 폴리펩티드 뿐만 아니라 이의 변이체들을 포함하나, 이에 국한되지 않는 가용성 리간드 트랩 단백질을 포함한다.

[0189] **A) ActRIIB 폴리펩티드**

[0190] 특정 측면들에서, 본 명세서는 ActRIIB 폴리펩티드(이의 단편들, 이의 기능적 변이체들, 및 이의 변형된 형태들을 비롯한)를 포함하는 ActRII-ALK4 길항제, 뿐만 아니라 이의 용도 (예를 들자면, 심부전(HF) 또는 HF의 하나 또는 그 이상의 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 관계한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “ActRIIB”란 임의의 종(species)으로부터 기인된 액티빈 수용체 유형 IIB (ActRIIB) 단백질들의 패밀리 및 유용한 활성을 유지하는 돌연변이생성 또는 다른 변형들 (예를 들자면, 돌연변이, 단편들, 융합, 및 펩티도모방체 형태를 비롯하여)에 의해 이러한 ActRIIB 단백질로부터 파생된 변이체 폴리펩티드를 지칭한다. 이러한 변이체 ActRIIB 폴리펩티드들의 예는 본 명세서 뿐만 아니라 국제 특허 출원 공개 번호. WO 2006/012627, WO 2008/097541, WO 2010/151426, WO 2011/020045, WO 2018/009624, 및 WO 2018/067874에서 제공되며, 이들은 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다. ActRIIB에 대한 언급은 현재 확인된 형태중 하나를 참조로 한다. ActRIIB 패밀리의 구성요소는 시스테인-풍부 영역을 갖는 리간드-결합 세포외 도메인, 막경유 도메인, 및 예상 세린/트레오닌 키나제 특이성을 갖는 세포질 도메인을 포함하는 막경유 폴리펩티드다. 인간 ActRIIB 전구체 폴리펩티드의 아미노산 서열은 도 2 (서열 식별 번호: 2) 및 하기에 나타낸다. 바람직하게는, 본 명세서에서 기술된 방법에 따라 이용되는 ActRIIB 폴리펩티드는 가용성이다. 용어 “가용성 ActRIIB 폴리펩티드”에는 본원에서 사용된 바와 같이, 임의의 자연 발생적 ActRIIB 폴리펩티드의 세포외 도메인 뿐만 아니라, 유용한 활성을 유지하는 이들의 임의의 변이체들 (돌연변이체, 단편들 및 펩티도모방체 형태들을 비롯한)이 내포된다. 예를 들면, 상기 ActRIIB 폴리펩티드의 세포외 도메인은 리간드에 결합하고, 일반적으로 가용성이다. 가용성 ActRIIB 폴리펩티드의 예시에는 도 3에 나타낸, 뿐만 아니라 서열 식별 번호: 53에 나타낸 ActRIIB 세포외 도메인 (서열 식별 번호: 1)이 내포된다. 이러한 절두된 ActRIIB 세포외 도메인 (서열 식별 번호: 53)은 서열 식별 번호: 2의 번호매김을 기반으로 하여 ActRIIB(25-131)로 나타낸다. 가용성 ActRIIB 폴리펩티드의 다른 예시들은 상기 ActRIIB 폴리펩티드의 세포외 도메인에 추가적으로 신호 서열을 포함한다(실시예 4 참고). 상기 신호 서열은 ActRIIB의 고유의 신호 서열, 또는 또다른 폴리펩티드, 이를 테면, 조직 플라스미노겐 활성화제 (TPA) 신호 서열 또는 꿀벌 멜라틴 신호 서열로부터의 신호 서열일 수 있다. 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다(예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ActRIIB 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합하고 및/또는 이의 활성을 억제하는 ActRIIB 폴리펩티드의 능력을 측정하기 위한 방법 및 분석의 각종 예시들이 본원에 기술되거나, 또는 그렇지 않으면 당분야에 공지되어 있으며, 이를 용이하게 이용하여 ActRIIB 폴리펩티드가 has the 원하는 결합 및/또는 길항성 활성을 보유하는 지를 결정할 수 있다. 본원에 기술된 모든 ActRIIB 관련 폴리펩티드에 대한 아미노산의 넘버링은 달리 명시하지 않는 한, 하기에 제공된 인간 ActRIIB 전구체 단백질 서열 (서열 식별 번호: 2)의 번호에 기초한다.

[0191] 인간 ActRIIB 전구체 단백질 서열은 다음과 같다:

[0192] 1 MTAPWVALAL LWGSLCAGSG RGEAETRECI YYNANWELER TNQSGLGERCE

[0193] 51 GEQDKRLHCY ASWRNSSGTI ELVKKGCWLD DFNCYDRQEC VATEENPQVY

[0194] 101 FCCCEGNFCN ERFTHLPEAG GPEVTYEGPPP TAPTLLTVLA YSLPPIGGLS

[0195] 151 LIVLLAFWMY RHRKPPYGHV DIHEDPGPPP PSPLVGLKPL QLLEIKKARGR

- [0196] 201 FGCVWKAQLM NDFVAVKIFP LQDKQSWQSE REIFSTPGMK HENLLQFIAA
- [0197] 251 EKRGSNLEVE LWLITAFHDK GSLTDYLGKN IITWNELCHV AETMSRGLSY
- [0198] 301 LHEDVPWCRG EGHKPSIAHR DFKSKNVLLK SDLTAVLADF GLAVRFEPGK
- [0199] 351 PPGDTHGQVG TRRYMAPEVL EGAINFQRDA FLRIDMYAMG LVLWELVSRC
- [0200] 401 KAADGPVDEY MLPFEEEIGQ HPSLEELQEV VVHKMRPTI KDWLKHPL
- [0201] 451 AQLCVTIEEC WDHDPEARLS AGCVEERVSL IRRSVNGTTS DCLVSLVTSV
- [0202] 501 TNVDLPPKES SI (서열 식별 번호: 2, 도 2)
- [0203] 신호 펩타이드는 단일 밀줄로 표시되어 있고; 세포의 영역은 굵은 체로 표시되며; 잠재적인 내인성 N-연계된 당화 부위는 이중 밀줄로 표시된다.
- [0204] 프로세스된 (성숙) 세포의 ActRIIB 폴리펩티드 서열은 다음과 같다:
- [0205] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (서열 식별 번호: 1, 도 3).
- [0206] 일부 구체예들에 있어서, N-말단에 “SGR...” 서열을 갖는 상기 단백질이 만들어질 수 있다. 세포의 도메인의 C-말단 “꼬리(tail)”는 한줄 밀줄로 나타낸다. 결손된 “꼬리”를 갖는 서열($\Delta 15$ 서열)은 다음과 같다:
- [0207] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEA (서열 식별 번호: 386).
- [0208] 서열 식별 번호: 2의 위치 64에 알라닌 (A64)을 갖는 ActRIIB 형태 또한 문헌에 보고되었다. 가령, Hilden *et al.* (1994) Blood, 83(8): 2163-2170 참고. A64 치환을 갖는 ActRIIB의 세포의 도메인을 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 단백질은 액티빈과 GDF11에 대하여 상대적으로 낮은 친화력을 갖는다는 출원인이 확인하였다. 대조적으로, 위치 64에 아르가닌 (R64)을 갖는 동일한 ActRIIB-Fc 융합 단백질은 액티빈과 GDF11에 대하여 낮은 나노몰에서 높은 피코몰 범위의 친화력을 갖는다. 따라서, R64를 갖는 서열은 본 명세서에서 인간 ActRIIB의 “야생형” 기준 서열로 이용된다.
- [0209] 위치 64에 알라닌을 갖는 ActRIIB 형태는 다음과 같다:
- [0210] 1 MTAPWVALAL LWGSLCAGSG RGEAETRECI YYNANWELER TNQSLERCE
- [0211] 51GEQDKRLHCY ASWANSSGTI ELVKKGCWLD DFNCYDRQEC VATEENPQVY
- [0212] 101FCCCEGNFCN ERFTHLPEAG GPEVTYEPPT TAPTLLTVLA YSLLPIGGLS
- [0213] 151 LIVLLAFWMY RHRKPPYGHV DIHEDPGPPP PSPLVGLKPL QLEIKARGR
- [0214] 201 FGCVWKAQLM NDFVAVKIFP LQDKQSWQSE REIFSTPGMK HENLLQFIAA
- [0215] 251 EKRGSNLEVE LWLITAFHDK GSLTDYLGKN IITWNELCHV AETMSRGLSY
- [0216] 301 LHEDVPWCRG EGHKPSIAHR DFKSKNVLLK SDLTAVLADF GLAVRFEPGK
- [0217] 351 PPGDTHGQVG TRRYMAPEVL EGAINFQRDA FLRIDMYAMG LVLWELVSRC
- [0218] 401 KAADGPVDEY MLPFEEEIGQ HPSLEELQEV VVHKMRPTI KDWLKHPL
- [0219] 451 AQLCVTIEEC WDHDPEARLS AGCVEERVSL IRRSVNGTTS DCLVSLVTSV
- [0220] 501 TNVDLPPKES SI (서열 식별 번호: 387)
- [0221] 신호 펩티드는 단일 밀줄로 표시되어 있고; 세포의 영역은 굵은 체로 표시된다.
- [0222] A64 대체 형태의 프로세스된 (성숙) 세포의 ActRIIB 폴리펩티드 서열은 다음과 같다:
- [0223] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (서열 식별 번호: 388)
- [0224] 일부 구체예들에 있어서, N-말단에 “SGR...” 서열을 갖는 상기 단백질이 만들어질 수 있다. 세포의 도메인의

C-말단 "꼬리"는 한줄 밑줄로 나타낸다. 결손된 “꼬리”를 갖는 서열($\Delta 15$ 서열)은 다음과 같다:

- [0225] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEA
(서열 식별 번호: 389)
- [0226] 인간 ActRIIB 전구체 단백질을 인코딩하는 핵산 서열은 하기에 나타내며(서열 식별 번호: 4), 이는 GenBank 기준 서열 NM_001106.3의 뉴클레오타이드 25-1560을 나타내며, 이것은 ActRIIB 전구체의 아미노산 1-513를 인코딩한다. 나타난 바와 같이, 서열은 위치 64에 아르기닌을 제공하며, 대신 알라닌을 제공하기 위하여 변형될 수 있다. 신호 서열은 밑줄로 표시된다.
- [0227] 1 ATGACGGCGC CCTGGGTGGC CCTCGCCCTC CTCTGGGGAT CGCTGTGCGC
- [0228] 51 CGGCTCTGGG CGTGGGGAGG CTGAGACACG GGAGTGCATC TACTACAACG
- [0229] 101 CCAACTGGGA GCTGGAGCGC ACCAACCAGA GCGGCCTGGA GCGCTGCGAA
- [0230] 151 GCGGAGCAGG ACAAGCGGCT GCACTGCTAC GCCTCCTGGC GCAACAGCTC
- [0231] 201 TGGCACCATC GAGCTCGTGA AGAAGGGCTG CTGGCTAGAT GACTTCAACT
- [0232] 251 GCTACGATAG GCAGGAGTGT GTGGCCACTG AGGAGAAGCC CCAGGTGTAC
- [0233] 301 TTCTGCTGCT GTGAAGGCAA CTTCTGCAAC GAACGCTTCA CTCATTTGCC
- [0234] 351 AGAGGCTGGG GGCCCGAAG TCACGTACGA GCCACCCCG ACAGCCCCA
- [0235] 401 CCCTGCTCAC GGTGCTGGCC TACTCACTGC TGCCCATCGG GGGCCTTTCC
- [0236] 451 CTCATCGTCC TGCTGGCCTT TTGGATGTAC CGGCATCGCA AGCCCCCTA
- [0237] 501 CGGTCATGTG GACATCCATG AGGACCCTGG GCCTCCACCA CCATCCCCTC
- [0238] 551 TGGTGGGCTT GAAGCCACTG CAGTGCTGG AGATCAAGGC TCGGGGGCGC
- [0239] 601 TTTGGCTGTG TCTGGAAGGC CCAGCTCATG AATGACTTTG TAGCTGTCAA
- [0240] 651 GATCTTCCCA CTCCAGGACA AGCAGTCGTG GCAGAGTGAA CGGGAGATCT
- [0241] 701 TCAGCACACC TGGCATGAAG CACGAGAACC TGCTACAGTT CATTGCTGCC
- [0242] 751 GAGAAGCGAG GCTCCAACCT CGAAGTAGAG CTGTGGCTCA TCACGGCCTT
- [0243] 801 CCATGACAAG GGCTCCCTCA CGGATTACCT CAAGGGGAAC ATCATCACAT
- [0244] 851 GGAACGAACT GTGTCATGTA GCAGAGACGA TGTCACGAGG CCTCTCATAC
- [0245] 901 CTGCATGAGG ATGTGCCCTG GTGCCGTGGC GAGGGCCACA AGCCGTCTAT
- [0246] 951 TGCCACAGG GACTTTAAAA GTAAGAATGT ATTGCTGAAG AGCGACCTCA
- [0247] 1001 CAGCCGTGCT GGCTGACTTT GGCTGGCTG TTCGATTGA GCCAGGAAA
- [0248] 1051 CCTCCAGGGG ACACCCACGG ACAGGTAGGC ACGAGACGGT ACATGGCTCC
- [0249] 1101 TGAGGTGCTC GAGGGAGCCA TCAACTTCCA GAGAGATGCC TTCCTGCGCA
- [0250] 1151 TTGACATGTA TGCCATGGGG TTGGTGCTGT GGGAGCTTGT GTCTCGCTGC
- [0251] 1201 AAGGTGCGAG ACGGACCGT GGATGAGTAC ATGCTGCCCT TTGAGGAAGA
- [0252] 1251 GATTGGCCAG CACCCTTCGT TGGAGGAGCT GCAGGAGGTG GTGGTGACAA
- [0253] 1301 AGAAGATGAG GCCCACCATT AAAGATCACT GGTGAAACA CCCGGGCTTG
- [0254] 1351 GCCCAGCTTT GTGTGACCAT CGAGGAGTGC TGGGACCATG ATGCAGAGGC
- [0255] 1401 TCGCTTGTC GCGGGCTGTG TGGAGGAGCG GGTGTCCCTG ATTCGGAGGT
- [0256] 1451 CGGTCAACGG CACTACCTCG GACTGTCTCG TTTCCCTGGT GACCTCTGTC

- [0257] 1501 ACCAATGTGG ACCTGCCCC TAAAGAGTCA AGCATC (서열 식별 번호: 4, 도 4)
- [0258] 프로세스된 세포의 인간 ActRIIB 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열은 다음과 같다 (서열 식별 번호: 3). 나타낸 바와 같이, 서열은 위치 64에 아르기닌을 제공하며, 대신 알라닌을 제공하기 위하여 변형될 수 있다 (도 5, 서열 식별 번호: 3 참고).
- [0259] 1 GGGCGTGGG AGGCTGAGAC ACGGGAGTGC ATCTACTACA ACGCCAACGTG
- [0260] 51 GGAGCTGGAG CGCACCAACC AGAGCGGCCT GGAGCGCTGC GAAGGCGAGC
- [0261] 101 AGGACAAGCG GCTGCACTGC TACGCCTCCT GCGCAACAG CTCTGGCACC
- [0262] 151 ATCGAGCTCG TGAAGAAGGG CTGCTGGCTA GATGACTTCA ACTGCTACGA
- [0263] 201 TAGGCAGGAG TGTGTGGCCA CTGAGGAGAA CCCCAGGTG TACTTCTGCT
- [0264] 251 GCTGTGAAGG CAACTTCTGC AACGAACGCT TCACTCATTT GCCAGAGGCT
- [0265] 301 GGGGGCCCGG AAGTCACGTA CGAGCCACCC CCGACAGCCC CCACC
- [0266] (서열 식별 번호: 3)
- [0267] **B) 변이체 ActRIIB 폴리펩티드**
- [0268] 특정 특이적 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB 폴리펩티드의 세포의 도메인 (또는 리간드-결합 도메인이라고도 지칭됨)에 돌연변이를 만드는 것을 고려하고, 이러한 변이체 (또는 돌연변이) ActRIIB 폴리펩티드는 변경된 리간드-결합 활성 (가령, 결합 친화력 또는 결합 선택성)을 갖는다. 특정 경우들에서, 이러한 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 특이적 리간드에 대해 변경된 (상승된 또는 감소된) 결합 친화력을 갖는다. 다른 경우들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 이들의 리간드에 대해 변경된 결합 선택성을 갖는다. 예를 들면, 본 명세서는 변형-안된 ActRIIB 폴리펩티드와 비교하였을 때 BMP9에 대해 감소된 결합 친화력을 갖지만, 그러나 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, 및 BMP10중 하나 또는 그 이상에 대한 결합 친화력은 유지하는 다수의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드를 제공한다. 임의선택적으로, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 이들의 대응하는 야생형 ActRIIB 폴리펩티드의 생물학적 활성과 동일한 또는 유사한 생물학적 활성을 갖는다. 예를 들면, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 ActRIIB 리간드 (가령, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11 또는 BMP10)에 결합하고, 이들의 기능을 억제시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 심부전 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시킨다. ActRIIB 폴리펩티드의 예시에는 인간 ActRIIB 전구체 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 2), 및 가용성 인간 ActRIIB 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 1, 5, 6, 12, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 357, 385, 386, 387, 388, 389, 396, 398, 402, 403, 406, 408, 및 409)들이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 동형다량체의 구성 (예를 들자면, 동형이량체)체다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 이형다량체 (예를 들자면, 이형이량체) 구성체다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드들중 임의의 것은 본원에 기술된 임의의 폴리펩티드와 복합될 수 있다 (예를 들자면, 이형다량체화되거나 및/또는 이에 융합된다).
- [0269] ActRIIB는 거의 모든 척추동물에 걸쳐 잘-보존되며, 세포의 도메인의 큰 스트레치(stretches)는 완벽하게 보존된다. 예를 들자면, 도 6 참고. ActRIIB에 결합하는 많은 리간드들 또한 매우 보존되어 있다. 따라서, 다양한 척추동물 유기체의 ActRIIB 서열 비교는 변경될 수 있는 잔기에 대한 통찰력을 제공한다. 따라서, 활성을 가진, 인간 ActRIIB 변이체 폴리펩티드에는 또다른 척추 동물 ActRIIB의 서열의 상응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산이 내포될 수 있거나, 또는 인간 또는 다른 척추 동물 서열에서와 유사한 잔기들이 내포될 수 있다.
- [0270] 본 명세서는 ActRIIB의 기능적으로 활성 부분 및 변이체를 확인한다. Hilden et al. (Blood. 1994 Apr 15;83(8):2163-70)에서 기술된 서열을 보유하며, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 64 (A64)에 대응하는 위치에 알라닌을 갖는 Fc 융합 폴리펩티드는 액티빈 및 GDF11에 대해 상대적으로 낮은 친화력을 갖는다는 사실을 출원인은 이미 확인하였다. 대조적으로, 위치 64에 아르기닌을 갖는(R64) 동일한 융합 폴리펩티드는 액티빈과 GDF-11에 대하여 낮은 나노몰에서 높은 피코몰 범위의 친화력을 갖는다. 따라서, R64 을 갖는 서열(서열 식별 번호: 2)은 본 명세서에서 인간 ActRIIB의 야생형 참조 서열로 이용되며, 본원에서 기술된 변이체들의 번호매김은 서열 식별 번호: 2의 번호매김을 기반으로 한다. 추가로, 당업자는 A64 배경에서 본 명세서에 기재된 ActRIIB 변이체 중 임의의 것을 만들 수 있다.

- [0271] 프로세싱된 세포의 ActRIIB 폴리펩티드 서열은 서열 식별 번호: 1 (가령, 도 3 참고)에 나타난다. 일부 구체예들에서, N-말단에 “SGR...”의 서열을 갖는 프로세싱된 ActRIIB 폴리펩티드가 만들어질 수 있다. 일부 구체예들에서, N-말단에 “GRG...”의 서열을 갖는 프로세싱된 ActRIIB 폴리펩티드가 만들어질 수 있다. 예를 들면, TPA 리더와 함께 발현되는 경우, 일부 구조체들은 N-말단 세린이 결여될 것으로 예상된다. 따라서, 본원에 기술된 완성된 ActRIIB 서열은 N-말단 세린 또는 N-말단 글리신 (N-말단 세린이 결여된)으로 시작될 수 있다.
- [0272] Attisano et al. (Cell. 1992 Jan 10;68(1):97-108)에서는 ActRIIB의 세포외 도메인의 C- 말단에서 프롤린 매듭의 결손은 액티빈에 대한 수용체의 친화력을 감소시킨다는 것을 보여 주었다. W02008097541에 기술된 데이터에서, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-119를 함유하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드, “ActRIIB(20-119)-Fc”는 ActRIIB(20-134)-Fc와 비교하여 GDF11 및 액티빈에 감소된 결합을 가지며, 이는 프롤린 매듭 영역과 완벽한 막에 인접한(juxtamembrane) 도메인을 포함한다. 그러나, ActRIIB(20-129)-Fc 폴리펩티드는 비록 프롤린 매듭 영역이 파괴되었지만, 야생형에 비교하여 유사하지만, 다소 감소된 활성을 유지한다. 따라서, 아미노산 134, 133, 132, 131, 130 및 129에서 종료되는 ActRIIB 세포외 도메인은 모두 활성인 것으로 예상되지만, 134 또는 133에서 종료되는 구조체는 대부분 활성일 것이다. 유사하게, 잔기 129-134중 임의의 위치에서 돌연변이는 큰 폭으로 리간드 결합 친화력을 변경시키지 않을 것으로 예상된다. 이를 뒷받침하는 것으로, P129 및 P130의 돌연변이는 실질적으로 리간드 결합을 감소시키지 않는 것으로 알려져있다. 따라서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 아미노산 109 (최종 시스테인)와 같이 빨리 종료될 수 있지만, 그러나, 109와 119 사이에서 또는 이들에서 종료되는 형태는 감소된 리간드 결합을 갖는 것으로 예상된다. 아미노산 119는 잘 보존되지 않고, 따라서 용이하게 변경 또는 절두된다. 128에서 또는 그 이후에서 종료되는 형태는 리간드 결합 활성을 유지한다. 119와 127에서, 또는 그 사이에서 종료되는 형태는 중간 수준의 리간드 결합 능력을 갖는다. 이들중 임의의 것은 임상 또는 실험 환경에 따라 바람직하게 사용될 수 있다.
- [0273] ActRIIB의 N-말단에서, 아미노산 29에서 또는 그 전에 시작하는 폴리펩티드는 리간드 결합 활성을 보유하는 것으로 예상된다. 아미노산 29는 최초 시스테인을 나타낸다. 위치 24에서 알라닌-에서-아스파라긴으로의 돌연변이는 리간드 결합에 실질적인 영향없이 N-연계된 당화 서열을 도입한다. 이로써 신호 절단(cleavage) 펩티드와 아미노산 20-29에 상응하는 시스테인 교차(cross)-연계된 영역에서 돌연변이는 잘 용인된다는 것이 확인된다. 특히, 위치 20, 21, 22, 23 및 24에서 시작하는 구조체들은 활성을 유지할 것이고, 위치 25, 26, 27, 28 및 29에서 시작하는 구조체들 또한 활성을 유지하는 것으로 예상된다. W02008097541에 나타난 데이터는 놀랍게도 22, 23, 24 또는 25에서 시작하는 구조체들이 가장 큰 활성을 가질 것이라는 것을 실증한다.
- [0274] 이와 함께, ActRIIB의 활성 부분은 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109를 포함하고, 구조체들은 예를 들면, 아미노산 20-29에 상응하는 잔기에서 시작하고, 아미노산 109-134에 상응하는 위치에서 종료될 것이다. 기타 예시에는 위치 20-29 또는 21-29의 위치에서 시작하고, 위치 19-134, 119-133 또는 129-134, 129-133에서 종료되는 구조체들이 내포된다. 기타 예시에는 위치 20-24 (또는 21-24, 또는 22-25)에서 시작하고, 위치 109-134 (또는 109-133), 119-134 (또는 119-133) 또는 129-134 (또는 129-133)에서 종료되는 구조체들이 내포된다. 이 범위 안에 변이체들, 특히, 서열 식별 번호: 1의 대응하는 부분에 최소한 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 변이체들이 특히 고려된다.
- [0275] 본 명세서에 설명된 변형은 다양한 방식으로 결합될 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, ActRIIB 변이체는 리간드-결합 포켓 안에 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 15개의 보존 아미노산을 포함하고, 리간드-결합 포켓에서 위치 40, 53, 55, 74, 79 및/또는 82에 임의선택적으로 0개, 1개, 또는 그 이상의 비-보존 변경을 포함한다. 가변성이 특히 잘 용인될 수 있는 결합 포켓 외부의 위치는 세포외 도메인의 아미노 및 카르복시 말단 (상기 언급한 바와 같음) 및 위치 42-46 및 65-73 (서열 식별 번호: 2와 관련)을 포함한다. 위치 65(N65A)에서 아스파라긴-에서-알라닌으로의 변경은 R64 배경에서 리간드 결합을 감소시키는 것으로 보이지 않는다 [U.S. 특허 번호 7,842,663]. 이 변화는 아마도 A64 배경에서 N65의 당화를 제거하여, 이 영역에서의 중요한 변화가 용인될 수 있음을 보여준다. R64A 변화가 잘 용인되지는 않지만, R64K는 잘 용인되고, 따라서 H와 같은 또 다른 염기성 잔기는 64 번 위치에서 용인될 수 있다[U.S. 특허 번호. 7,842,663]. 추가적으로, 당업계에 기술된 돌연변이 유발 프로그램의 결과는 ActRIIB에서 종종 보존에 유익한 아미노산 위치들이 있음을 나타낸다. 서열 식별 번호: 2에 있어서, 이들은 위치 80 (산성 또는 소수성 아미노산), 위치 78 (소수성, 특히 트립토판), 위치 37 (산성, 특히 아스파르트산 또는 글루탐산), 위치 56 (염기성 아미노산), 위치 60 (소수성 아미노산, 특히 페닐알라닌 또는 티로신)을 포함한다. 따라서, 본 명세서는 ActRIIB 폴리펩티드들에서 보존될 수 있는 아미노산 틀을 제공한다. 보존되는 것이 바람직할 수 있는 기타 위치는 다음과 같다: 모두 서열 식별 번호: 2에 대하여 위치 52 (산성 아미노산), 위치 55 (염기성 아미노산), 위치 81 (산성), 98 (극성 또는 하전된, 특히 E, D, R 또는 K).

- [0276] ActRIIB 세포외 도메인에 N-연계된 당화 부위 (N-X-S/T)를 추가 첨가하는 것이 잘 용인된다는 것은 이미 입증되었다(가령, U.S. 특허 번호. 7,842,663 참고). 따라서, N-X-S/T 서열은 본 명세서의 ActRIIB 폴리펩티드에서도 1에 정의된 리간드 결합 포켓의 밖에 있는 위치로 일반적으로 도입될 수 있다. 비-내인성 N-X-S/T 서열의 도입에 특히 적합한 부위에는 (서열 식별 번호: 2에 대하여) 아미노산 20-29, 20-24, 22-25, 109-134, 120-134 또는 129-134가 포함된다. N-X-S/T 서열은 상기 ActRIIB 서열과 Fc 도메인 또는 기타 융합 성분 사이에 있는 링커 안으로 또한 도입될 수 있고, 뿐만 아니라 상기 융합 성분 자체로 또한 도입될 수 있다. 이러한 부위는 기존 S 또는 T에 대하여 정확한 위치에 N을 도입함으로써, 또는 기존 N에 대하여 정확한 위치에 S 또는 T를 도입함으로써 최소한의 노력으로 도입될 수 있다. 따라서, N-연계된 당화 부위를 만들어낼 수 있는 바람직한 바람직한 변경은 다음과 같다: A24N, R64N, S67N (N65A 변경과 복합되는 것도 가능하다), E105N, R112N, G120N, E123N, P129N, A132N, R112S 및 R112T (서열 식별 번호: 2에 대하여). 당화될 것으로 예측되는 임의의 S는 당화에 의해 제공되는 보호 때문에 번역원성 부위를 생성하지 않고, T로 변형될 수 있다. 유사하게, 당화될 것으로 예측되는 임의의 T는 S로 변경될 수 있다. 따라서, 변경 S67T 및 S44T (서열 식별 번호: 2에 대하여)가 고려된다. 유사하게, A24N 변이체에서, S26T 변경이 이용될 수 있다. 따라서, 본 명세서의 ActRIIB 폴리펩티드는 상기에서 기술된 바와 같이, 하나 또는 그 이상의 추가, 비-내인성 N-연계된 당화 콘센수스 서열을 보유한 변이체일 수 있다.
- [0277] 특정 구체예들에서, 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 1, 2, 및 53에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 특정 경우들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 1, 2, 및 53에서 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 특정 경우들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 특정 경우들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2에 대해 적어도 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 특정 경우들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 53에 대해 적어도 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0278] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 1, 2, 5, 6, 12, 31, 33, 34, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 357, 385, 386, 387, 388, 389, 396, 398, 402, 403, 406, 408, 및 409중 임의의 하나의 아미노산 서열에 대하여 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 1을 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 2를 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 5를 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 6을 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%,

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

서열 식별 번호: 403의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 403을 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 406의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 406을 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 408의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 408을 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 또는 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 409의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 409를 포함하는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드가 제공될 수 있다.

[0279]

특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29 (가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되며, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134 (가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드, 뿐만 아니라 이러한 변이체 ActRIIB 폴리펩티드들중 하나 또는 그 이상을 포함하는 이형다량체 복합체에 관계하며, 그리고 이때 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치에서 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다: K55, F82, L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82. 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29 (가령, 아미노산 잔기 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29)중 임의의 하나에서 시작되며, 서열 식별 번호: 2의 아미노산 109-134 (가령, 아미노산 잔기 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134)중 임의의 하나에서 끝나는 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드, 뿐만 아니라 하나 또는 그 이상의 이러한 변이 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체 복합체에 관계하며, 이때 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 위치의 아미노산은 류신이다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-134에 대하여 적어도 75% 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 53의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 12의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 A24에 상응하는 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 치환은 A24N이다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 S26에 상응하는 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 치환은 S26T이다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 N35에 상응하는 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 치환은 N35E이다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E37에 상응하는 위치에 아미

[illegible]

[illegible]

[0280] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 다음으로 구성된 군에서 선택된 서열 식별 번호: 2의 위치에 치환을 포함한다: A24, E37, R40, D54, K55, R56, R64, K74, W78, L79, D80, F82,

로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

- [0288] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 42의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 42의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0289] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 43의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 글루탐산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 43의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0290] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 45의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 글루탐산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 45의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0291] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 336의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 트레오닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 336의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0292] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 338의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 트레오닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 338의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0293] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 342의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 342의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0294] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 344의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 344의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0295] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 348의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E50에 상응하는 위치에 류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 348의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0296] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 350의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 E50에 상응하는 위치에 류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 350의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.
- [0297] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 354의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 V99에 상응하는 위치에 글리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 354의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0298] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 356의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 V99에 상응하는 위치에 글리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 356의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0299] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 또는 10개의 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 2개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 3개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 4개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 5개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 6개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 7개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 8개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 9개 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 본원에 기술된 아미노산 치환들중 임의의 것을 적어도 10개 치환을 포함한다.

[0300] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 2의 참조 아미노산 서열과 비교하였을 때, 두 개 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 A24N 치환과 K74A 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L79P 치환과 K74A 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 P129S 치환과 P130A 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L38N 치환과 L79R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82I 치환과 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82K 치환과 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82T 치환과 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L79H 치환과 F82K 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L79H 치환과 F82I 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82D 치환과 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82E 치환과 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L79F 치환과 F82D 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L79F 치환과 F82T 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52D 치환과 F82D 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52D 치환과 F82T 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57R 치환과 F82D 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57R 치환과 F82T 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82I 치환과 E94K 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82S 치환과 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57R 치환과 F82S 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 K74A 치환과 L79P 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 K55A 치환과 F82I 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L79K 치환과 F82K 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 F82W 치환과 N83A 치환을 포함한다.

[0301] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 276의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는

위치에 히스티딘을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 이소류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘과, 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 이소류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 339의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0308] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 341의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 이소류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘과, 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 이소류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 341의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0309] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 345의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘과, 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 345의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0310] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 347의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 히스티딘과, 서열 식별 번호: 2의 F82에 상응하는 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 347의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0311] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 351의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 아스파라긴을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 아스파라긴과 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 351의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0312] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 353의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 아스파라긴을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38에 상응하는 위치에 아스파라긴과 서열 식별 번호: 2의 L79에 상응하는 위치에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 서열 식별 번호: 353의 아미노산 서열은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 아미노산 서열일 수 있다.

[0313] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 2의 참조 아미노산 서열과 비교하였을 때, 세 개 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 G68R 치환, F82S 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리

펩티드는 G68R 치환, W78Y 치환, 및 F82Y 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52D 치환, F82D 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52Y 치환, F82D 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52D 치환, F82E 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52N 치환, F82I 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52N 치환, F82Y 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E50L 치환, F82D 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57I 치환, F82D 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57V 치환, F82D 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57R 치환, F82D 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57E 치환, F82E 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57R 치환, F82E 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57I 치환, F82E 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57R 치환, F82L 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57T 치환, F82Y 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 L57V 치환, F82Y 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에서 기술된 아미노산 치환들 중 적어도 두 개의 치환을 포함할 수 있다.

[0314] 특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 2의 참조 아미노산 서열과 비교하였을 때, 네 개 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에 관계한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 G68R 치환, L79E 치환, F82Y 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 G68R 치환, L79E 치환, F82T 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 G68R 치환, L79T 치환, F82T 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 E52N 치환, G68R 치환, F82Y 치환, 및 N83R 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에서 기술된 아미노산 치환들 중 적어도 두 개의 치환을 포함할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 임의의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드에서 기술된 아미노산 치환들 중 적어도 세 개의 치환을 포함할 수 있다.

[0315] C) ActRIIA 폴리펩티드

[0316] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA 폴리펩티드를 포함하는 ActRII-ALK4 길항제 및 뿐만 아니라 이러한 길항제의 용도 (예를 들자면, 심부전(HF) 또는 HF의 하나 또는 그 이상의 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 관계하며, 이러한 길항제에는 이의 단편들, 이의 기능적 변이체들, 및 이의 변형된 형태들이 내포된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “ActRIIA”란 임의의 종(species)으로부터 기인된 액티빈 수용체 유형 IIA (ActRIIA) 단백질들의 패밀리 및 유용한 활성을 유지하는 돌연변이생성 또는 다른 변형들 (예를 들자면, 돌연변이, 단편들, 융합, 및 펩티도모방체 형태를 비롯하여)에 의해 이러한 ActRIIA 단백질로부터 파생된 변이체 폴리펩티드를 지칭한다. 이러한 변이체 ActRIIA 폴리펩티드들의 예는 본 명세서 뿐만 아니라 국제 특허 출원 공개 번호: WO 2006/012627, 및 WO 2007/062188에서 제공되며, 이들은 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다. ActRIIA에 대한 언급은 현재 확인된 형태 중 하나를 참조로 한다. ActRIIA 패밀리의 구성 요소는 시스테인-풍부 영역을 갖는 리간드-결합 세포외 도메인, 막경유 도메인, 및 예상된 세린/트레오닌 키나제 활성을 갖는 세포질 도메인을 포함하는 막경유 단백질이다. 바람직하게는, 본 명세서에서 기술된 방법에 따라 이용되는 ActRIIA 폴리펩티드는 가용성 (예를 들자면, ActRIIA의 세포외 도메인)이다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다 (예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합하고 및/또는 이의 활성을 억제하는 ActRIIA 폴리펩티드의 능력을 측정하기 위한 방법 및 분석의 각종 예시들이 본원에 기술되거나, 또는 그렇지 않으면 당분야에 공지되어 있으며, 이를 용이하게 이용하여 ActRIIA 폴리펩티드가 원하는 결합 및/또는 길항성 활성을 보유하는 지를 결정할 수 있다. 본원에 기술된 모든 ActRIIA-관련 폴리펩티드에 대한 아미노산의 넘버링은 달리 명시하지 않는 한, 하기에 제공된 인간 ActRIIA 전구체 단백질 서열 (서열 식별 번호: 36)의 번호에 기초한다.

- [0317] 기본형(canonical) 인간 ActRIIA 전구체 단백질 서열은 다음과 같다:
- [0318] 1 MGAAAKLAFV VFLISCSGA ILGRSETQEC LFFNANWEKD RTNQTGVEPC
- [0319] 51 YGDKDKRRHC FATWKNISGS IEIVKQGCWL DDINCYDRTD CVEKKDSPEV
- [0320] 101 YFCCCEGNMC NEKFSYFPEM EVTQPTSNPV TPKPPYYNIL LYSVLPLMLI
- [0321] 151 AGIVICAFWV YRHHKMAYPP VLVPTQDPGP PPPSPLLGLK PLQLLEVkar
- [0322] 201 GRFGCVWKAQ LLNEYVAVKI FPIQDKQSWQ NEYEVYSLPG MKHENILQFI
- [0323] 251 GAEKRGTSVD VDLWLITAFH EKGSLSDFLK ANVVSWNELC HIAETMARGL
- [0324] 301 AYLHEDIPGL KDGHKPAISH RDIKSKNVLL KNNLTACIAD FGLALKFEAG
- [0325] 351 KSAGDTHGQV GTRRYMAPEV LEGAINFQRD AFLRIDMYAM GLVLWELASR
- [0326] 401 CTAADGPVDE YMLPFEEEEIG QHPSLEDMQE VVVHKKRPV LRdywQKHAG
- [0327] 451 MAMLCETIEE CWDHDAEARL SAGCVGERIT QMQRLTNIIT TEDIVTVVTM
- [0328] 501 VTNVDFPPKE SSL (서열 식별 번호: 366)
- [0329] 신호 펩타이드는 한줄 밑줄로 표시되어 있고; 세포의 영역은 굵은 체로 표시되며; 잠재적인 내인성 N-연계된 당화 부위는 이중 밑줄로 표시된다.
- [0330] 프로세스된 (성숙) 세포의 인간 ActRIIA 폴리펩티드 서열은 다음과 같다:
- [0331] ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEV
TQPTSNPVTPKPP (서열 식별 번호: 367)
- [0332] 세포의 도메인의 C-말단 "꼬리"는 한줄 밑줄로 나타낸다. 결손된 "꼬리"를 갖는 서열($\Delta 15$ 서열)은 다음과 같다:
- [0333] ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEM
(서열 식별 번호: 368)
- [0334] 인간 ActRIIA 전구체 단백질을 인코딩하는 핵산 서열은 GenBank 참조 서열 NM_001616.4의 뉴클레오티드 159-1700와 같이, 하기에 나타낸다(서열 식별 번호: 369) 신호 서열은 밑줄로 표시된다.
- [0335] 1 ATGGGAGCTG CTGCAAGTT GCGGTTTGCC GTCTTTCTTA TCTCCTGTTC
- [0336] 51 TTCAGGTGCT ATACTTGGTA GATCAGAAAC TCAGGAGTGT CTTTCTTTA
- [0337] 101 ATGCTAATTG GAAAAAGAC AGAACCAATC AACTGGTGT TGAACCGTGT
- [0338] 151 TATGGTGACA AAGATAAACG GCGGCATTGT TTTGCTACCT GGAAGAATAT
- [0339] 201 TTCTGGTTCC ATTGAAATAG TGAAACAAGG TTGTGGCTG GATGATATCA
- [0340] 251 ACTGCTATGA CAGGACTGAT TGTGTAGAAA AAAAAGACAG CCCTGAAGTA
- [0341] 301 TATTTTGTGTT GCTGTGAGGG CAATATGTGT AATGAAAAGT TTTCTTATTT
- [0342] 351 TCCGGAGATG GAAGTCACAC AGCCCACTTC AAATCCAGTT ACACCTAAGC
- [0343] 401 CACCCTATTA CAACATCCTG CTCTATTCCT TGGTGCCACT TATGTTAATT
- [0344] 451 GCGGGGATTG TCATTTGTGC ATTTTGGGTG TACAGGCATC ACAAGATGGC
- [0345] 501 CTACCTCTCT GTACTGTGTC CAACTCAAGA CCCAGGACCA CCCCCACCTT
- [0346] 551 CTCCATTACT AGGTTTGAAA CCACTGCAGT TATTAGAAGT GAAAGCAAGG
- [0347] 601 GGAAGATTG GTTGTGTCTG GAAAGCCAG TTGCTTAACG AATATGTGGC
- [0348] 651 TGTCAAAATA TTTCCAATAC AGGACAAACA GTCATGGCAA AATGAATACG

- [0349] 701 AAGTCTACAG TTTGCCTGGA ATGAAGCATG AGAACATATT ACAGTTCATT
- [0350] 751 GGTGCAGAAA AACGAGGCAC CAGTGTGAT GTGGATCTTT GGCTGATCAC
- [0351] 801 AGCATTTTCAT GAAAAGGGTT CACTATCAGA CTTTCTTAAG GCTAATGTGG
- [0352] 851 TCTCTTGGA TGAAGTGTGT CATATTGCAG AAACCATGGC TAGAGGATTG
- [0353] 901 GCATATTTAC ATGAGGATAT ACCTGGCCTA AAAGATGGCC ACAAACCTGC
- [0354] 951 CATATCTCAC AGGGACATCA AAAGTAAAAA TGTGCTGTTG AAAACAACC
- [0355] 1001 TGACAGCTTG CATTGCTGAC TTTGGGTTGG CCTTAAATTT TGAGGCTGGC
- [0356] 1051 AAGTCTGCAG GCGATACCCA TGGACAGGTT GGTACCCGGA GGTACATGGC
- [0357] 1101 TCCAGAGGTA TTAGAGGGTG CTATAAACTT CCAAAGGGAT GCATTTTGA
- [0358] 1151 GGATAGATAT GTATGCCATG GGATTAGTCC TATGGGAACT GGCTTCTCGC
- [0359] 1201 TGTACTGCTG CAGATGGACC TGATAGTAA TACATGTTGC CATTGAGGA
- [0360] 1251 GGAAATTGGC CAGCATCCAT CTCTGAAGA CATGCAGGAA GTTGTGTGTC
- [0361] 1301 ATAAAAAAA GAGGCCTGTT TTAAGAGATT ATTGGCAGAA ACATGCTGGA
- [0362] 1351 ATGGCAATGC TCTGTGAAAC CATTGAAGAA TGTTGGGATC ACGACGCAGA
- [0363] 1401 AGCCAGGTTA TCAGCTGGAT GTGTAGGTGA AAGAATTACC CAGATGCAGA
- [0364] 1451 GACTAACAAA TATTATTACC ACAGAGGACA TTGTAACAGT GGTACAATG
- [0365] 1501 GTGACAAATG TTGACTTTCC TCCCAAAGAA TCTAGTCTA (서열 식별 번호: 369)
- [0366] 프로세스된 가용성 (세포외) 인간 ActRIIA 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열은 다음과 같다:
- [0367] 1 ATACTTGTA GATCAGAAAC TCAGGAGTGT CTTTCTTTA ATGCTAATTG
- [0368] 51 GGAAAAAGAC AGAACCAATC AAAGTGGTGT TGAACCGTGT TATGGTGACA
- [0369] 101 AAGATAAAGC GCGGCATTGT TTTGCTACCT GGAAGAATAT TTCTGGTTCC
- [0370] 151 ATTGAAATAG TGAAACAAGG TTGTTGGCTG GATGATATCA ACTGCTATGA
- [0371] 201 CAGGACTGAT TGTGTAGAAA AAAAGACAG CCCTGAAGTA TATTTTGTGTT
- [0372] 251 GCTGTGAGGG CAATATGTGT AATGAAAAGT TTTCTTATTT TCCGGAGATG
- [0373] 301 GAAGTCACAC AGCCCACTTC AAATCCAGTT ACACCTAAGC CACCC
- [0374] (서열 식별 번호:370)
- [0375] ActRIIA는 척추동물간에 잘-보존되며, 세포외 도메인의 큰 스트레치(stretches)는 완벽하게 보존된다. 예를 들면, 도 10은 다양한 ActRIIA 오르소로그(orthologs)(서열 식별 번호: 371-377)와 비교하여 인간 ActRIIA 세포외 도메인의 다중-서열 배열(서열 식별 번호: 367)을 도시한다. ActRIIA에 결합하는 많은 리간드들 또한 매우 보존되어 있다. 따라서, 이들 배열로부터, ActRIIA-리간드 결합의 정상적 활성화에 중요한 리간드 결합 도메인 안에 주요 아미노산 위치를 예측할 수 있을 뿐만 아니라, 정상 ActRIIA-리간드 결합 활성을 크게 변화시키지 않으면서 치환을 용인할 수 있는 아미노산 위치를 예측할 수 있다. 따라서, 본원에 개시된 방법에 따라 유용한 활성을 가진 인간 ActRIIA 변이체 폴리펩티드는 다른 척추 동물 ActRIIA의 서열의 상응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산을 포함할 수 있거나, 또는 인간 또는 다른 척추 동물 서열에서와 유사한 잔기를 포함할 수 있다.
- [0376] 다음 실시예들은 활성 ActRIIA 변이체를 정의하는 접근법을 설명하지만, 이에 제한하고자 함은 아니다. 도 10에서 도시된 바와 같이, 인간 세포외 도메인에서 F13은 *오비스 아리에스(Ovis aries)* (서열 식별 번호: 371), *갈루스 갈루스(Gallus gallus)* (서열 식별 번호: 374), *보스 타우루스(Bos Taurus)* (서열 식별 번호: 375), *티토 알바(Tyto alba)* (서열 식별 번호: 376), 및 *미요티스 다비디(Myotis davidii)* (서열 식별 번호: 377) ActRIIA

에서 Y이며, 이것은 이 위치에서 F, W, 및 Y를 비롯한 방향족 잔기가 용인됨을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 Q24는 *보스 타우루스(Bos Taurus)* ActRIIA에서 R이며, 이것은 이 위치에서 D, R, K, H, 및 E를 비롯한 전하를 띤 잔기들이 용인될 것임을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 S95는 *갈루스 갈루스(Gallus gallus)* 및 *티토 알바(Tyto alba)* ActRIIA에서 F이며, 이것은 이 부위가 극성 잔기, 이를 테면, E, D, K, R, H, S, T, P, G, Y, 및 아마도 소수성 잔기, 이를 테면, L, I, 또는 F를 비롯한 다양한 변화를 용인할 수 있음을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 E52는 *오비스 아리에스(Ovis aries)* ActRIIA에서 D이며, 이것은 이 위치에서 D 및 E를 비롯한 산성 잔기가 용인됨을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 P29는 *오비스 아리에스(Ovis aries)* ActRIIA에서 S, 그리고 *미오티스 다비디(Myotis davidii)* ActRIIA에서 L인 것으로 나타나서 상대적으로 잘 보존되지 않고, 따라서 이 위치에서 임의의 아미노산이 용인되어야 한다는 것이 필수적이다.

[0377] 더욱이, 상기에서 논의된 바와 같이, ActRII 단백질은 당해 분야에서 구조적/기능적 특징, 특히 리간드 결합에 관해 특징 지워져 왔다[Attisano *et al.* (1992) Cell 68(1):97-108; Greenwald *et al.* (1999) Nature Structural Biology 6(1): 18-22; Allendorph *et al.* (2006) PNAS 103(20: 7643-7648; Thompson *et al.* (2003) The EMBO Journal 22(7): 1555-1566; 뿐만 아니라 U.S. 특허 번호: 7,709,605, 7,612,041, 및 7,842,663]. 본원의 교시 외에도, 이들 참고 문헌은 하나 또는 그 이상의 원하는 활성 (예: 리간드 결합 활성) 을 보유하는 ActRII 변이체를 생성하는 방법에 대한 충분한 지침을 제공한다.

[0378] 예를 들면, 3 개의 핑거-독신 폴드(three-finger toxin fold)로 알려진 구조적 모티프는 타입 I 및 타입 II 수용체에 의한 리간드 결합에 중요하며, 각각의 단량체 수용체의 세포의 도메인 안에 다양한 위치에 보존된 시스템인 잔기에 의해 형성된다. [Greenwald 등, (1999) Nat Struct Biol 6:18-22; 그리고 Hinck (2012) FEBS Lett 586:1860-1870]. 따라서, 이러한 보존된 시스템의 가장 바깥쪽에 의해 경계가 표시되는 인간 ActRIIA의 코어 리간드-결합 도메인은 서열 식별 번호:366(ActRIIA 전구체)의 30-110 위치에 상응한다. 따라서, 이러한 시스템인 코어 경계가 표시되는 코어 서열에 인접한 구조적으로 덜 규칙적인 아미노산은 반드시 리간드 결합을 바꾸지 않고도 N-말단에서 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 또는 28개 잔기, 그리고 C-말단에서 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 잔기가 절두될 수 있다. ActRIIA 세포의 도메인 절두의 예시에는 서열 식별 번호: 367 및 368이 내포된다.

[0379] 따라서, ActRIIA의 활성 부분 (가령, 리간드 결합)의 일반적인 형태는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 30-110을 포함하는, 이로 필수적으로 구성된, 또는 이로 구성된 폴리펩티드이다. 따라서, ActRIIA 폴리펩티드들은 예를 들면, 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21-30중 임의의 하나에 대응하는 잔기 (가령, 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30)에서 시작하고, 서열 식별 번호: 366의 임의의 하나의 아미노산 110-135에 대응하는 잔기 (가령, 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 또는 135중 임의의 하나에서 끝나는)에서 끝나는 ActRIIA의 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성될 수 있다. 예컨대 다른 예로는 서열 식별 번호: 366의 위치 21-30 (가령, 아미노산 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작), 22-30 (가령, 아미노산 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작), 23-30 (가령, 아미노산 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작), 24-30 (가령, 아미노산 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작)으로부터 선택된 위치에서 시작되고, 서열 식별 번호: 366의 111-135 (가령, 아미노산 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134 또는 135중 임의의 하나에서 종료), 112-135 (가령, 아미노산 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134 또는 135중 임의의 하나에서 종료), 113-135 (가령, 아미노산 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134 또는 135중 임의의 하나에서 종료), 120-135 (가령, 아미노산 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134 또는 135중 임의의 하나에서 종료), 130-135 (가령, 아미노산 130, 131, 132, 133, 134 또는 135중 임의의 하나에서 종료), 111-134 (가령, 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134중 임의의 하나에서 종료), 111-133 (가령, 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 또는 133중 임의의 하나에서 종료), 111-132 (가령, 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 또는 132중 임의의 하나에서 종료), 또는 111-131 (가령, 아미노산 110,

111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 또는 131중 임의의 하나에서 종료)에서 종료되는 구조체들이 내포된다. 이들 범위 내의 변형도 고려되는데, 특히, 서열 식별 번호: 366의 대응하는 부분에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 이로 필수적으로 구성된, 또는 이로 구성된 것들이 고려된다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 30-110에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 폴리펩티드를 포함하는, 이로 필수적으로 구성된, 또는 이로 구성될 수 있다. 임의선택적으로, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 30-110에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 리간드-결합 포켓에서 1, 2, 5, 10 또는 15개를 넘지 않는 보존적 아미노산 변화를 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21-30에 대응하는 잔기 (가령, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30중 임의의 하나에서 시작)에서 시작하고, 서열 식별 번호: 366의 아미노산 110-135에 대응하는 위치 (가령, 아미노산 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134 또는 135중 임의의 하나에서 종료되는)에서 종료되는 ActRIIA의 부분에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 30-110에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 특정 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 21-135에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 366의 아미노산 서열에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 367의 아미노산 서열에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 368의 아미노산 서열에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 380의 아미노산 서열에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 381의 아미노산 서열에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 384의 아미노산 서열에 대하여 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 364의 아미노산 서열에 대하여 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다. 일부 구체예들에서, ActRIIA 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 378의 아미노산 서열에 대하여 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된다.

[0380] D)ALK4 폴리펩티드

[0381] 특정 측면들에서, 본 명세서는 ALK4 폴리펩티드(이의 단편들, 이의 기능적 변이체들, 및 이의 변형된 형태들을 비롯한)를 포함하는 ActRII-ALK4 길항제, 뿐만 아니라 이의 용도 (예를 들자면, 심부전(HF) 또는 HF의 하나 또는 그 이상의 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 관계한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “ALK4”란 임의의 종(species)으로부터 기인된 액티빈 수용체-유사 키나제-4 (ALK4) 단백질 및 유용한 활성을 유지하는 돌연변이생성 또는 다른 변형들 (예를 들자면, 돌연변이, 단편들, 융합, 및 펩티도모방체 형태를 비롯하여)에 의해 이러한 ALK4 단백질로부터 파생된 변이체 폴리펩티드를 지칭한다. 이러한

변이체 ALK4 폴리펩티드들의 예는 본 명세서 뿐만 아니라 국제 특허 출원 공개 번호. WO/2016/164089, WO/2016/164497, 및 WO/2018/067879에서 제공되며, 이들은 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다. 본원에서 ALK4에 대한 언급은 현재 확인된 형태중 하나를 참조로 한다. ALK4 패밀리의 구성요소는 시스테인-풍부 영역을 갖는 리간드-결합 세포의 도메인, 막경유 도메인, 및 예상 세린/트레오닌 키나제 활성을 갖는 세포질 도메인을 포함하는 막경유 단백질이다. 바람직하게는, 본 명세서에서 기술된 방법에 따라 이용되는 ALK4 폴리펩티드는 가용성이다. 용어 “가용성 ALK4 폴리펩티드”에는 본원에서 사용된 바와 같이, 임의의 자연 발생적 ALK4 폴리펩티드의 세포의 도메인 뿐만 아니라, 유용한 활성을 유지하는 이들의 임의의 변이체들 (돌연변이체, 단편들 및 펩티드모방체 형태들을 비롯한)이 내포된다. 예를 들면, 상기 ALK4 폴리펩티드의 세포의 도메인은 리간드에 결합하고, 일반적으로 가용성이다. 가용성 ALK4 폴리펩티드의 예시에는 하기에 나타낸 ALK4 세포의 도메인 (서열 식별 번호: 86)이 내포되며, 가용성 ALK4 폴리펩티드의 다른 예시들은 상기 ALK4 폴리펩티드의 세포의 도메인에 추가하여 신호 서열을 포함한다. 상기 신호 서열은 ALK4의 고유의 신호 서열, 또는 또다른 폴리펩티드, 이를 테면, 조직 플라스미노겐 활성제 (TPA) 신호 서열 또는 꿀벌 멜라틴 신호 서열로부터의 신호 서열일 수 있다. 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다(예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ALK4 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합하고 및/또는 이의 활성을 억제하는 ALK4 폴리펩티드의 능력을 측정하기 위한 방법 및 분석의 각종 예시들이 본원에 기술되거나, 또는 그렇지 않으면 당분야에 공지되어 있으며, 이를 용이하게 이용하여 ALK4 폴리펩티드가원하는 결합 및/또는 길항성 활성을 보유하는지를 결정할 수 있다. 본원에 기술된 모든 ALK4-관련 폴리펩티드에 대한 아미노산의 넘버링은 달리 명시하지 않는 한, 하기에 제공된 인간 ALK4 전구체 단백질 서열 (서열 식별 번호: 84)의 번호에 기초한다.

[0382] 인간 ALK4 전구체 폴리펩티드 서열 (NCBI Ref Seq NP_004293)은 다음과 같다:

[0383] 1 MAESAGASSF FPLVLLLAG SGGSGPRGVQ ALLCACTSCL QANYTCETDG ACMVSIFNLD

[0384] 61 GMEHHVRTCI PKVELPAGK PFYCLSSDEL RNTHCCYTDY CNRIDLRVPS GHLKEPEHPS

[0385] 121 MWGPVELVGI IAGPVFLFL IIIIVFLVIN YHQRVYHNRQ RLDMEDPSCE MCLSKDKTLQ

[0386] 181 DLVYDLSTSG SGSGPLPLFVQ RTVARTIVLQ EIIGKGRFGE VWRGRWRGGD VAVKIFSSRE

[0387] 241 ERSWFREAEI YQTVMLRHEN ILGFIAADNK DNGTWTQLWL VSDYHEHGS LFDYLNRYTVT

[0388] 301 IEGMIKLALS AASGLAHLHM EIVGTQGKPG IAHRDLKSKN ILVKNGMCA IADLGLAVRH

[0389] 361 DAVTDTIDIA PNQRVGTKRY MAPEVLDETI NMKFHDSFKC ADIYALGLVY WEIARRCNSG

[0390] 421 GVHEEYQLPY YDLVPSDPSI EEMRKVVCDQ KLRPNIPNWW QSYEALRVMG KMMRECWYAN

[0391] 481 GAARLTALRI KKTLSQLSVQ EDVKI (서열 식별 번호: 84)

[0392] 신호 펩티드는 한줄 밑줄로 표시되어 있고; 세포의 영역은 굵은 체로 표시된다.

[0393] 프로세스된 세포의 인간 ALK4 폴리펩티드 서열은 다음과 같다:

[0394] SGPRGVQALLCACTSCLQANYTCETDGACMVSI FNLDGMEHHVRTCI PKVELPAGKPFYCLSSDEL RNTHCCYTDYCNRIDLRVPSGHLKEPEHPSMWGPV E (서열 식별 번호: 86)

[0395] 인간 ALK4 전구체 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호: 221에 나타내며, 이는 Genbank 기준 서열 NM_004302.4의 뉴클레오타이드 78-1592에 상응한다.

[0396] 신호 서열은 단일 밑줄로 표시되어 있고; 세포의 영역은 굵은 체로 표시된다.

[0397] ATGGCGGAGTCGGCCGAGCCTCCTCTTCTTCCCCCTTGTTGCTCCTGCTCGCCGGCAGCGGCGGGTCCGGGCCCCGGGGGGTCCAGGCTCTGCTGTGTGCGTGCACCACTGCCTCCAGGCCAACTACACGTGTGAGACAGATGGGGCCTGCATGGTTTTCATTTTCAATCTGGATGGGATGGAGCACCATGTGCGCACC TGCATCCCCAAAGTGAGCTGGTCCCTGCCGGAAGCCCTTCTACTGCCTGAGCTCGGAGGACCTGCGCAACACCCACTGCTGCTACACTGACTACTGCAAC AGGATCGACTTGAGGGTGCCAGTGCTCACCTCAAGGAGCTGAGCACCCGTCATGTGGGGCCCCGGTGGAGCTGGTAGGCATCATCGCCGCCGGTGTTCTCCTGTTCTCATCATCATCATTTGTTTCTTGTCATTAATCATCATCAGCGTGTCTATCACAACGCCAGAGACTGGACATGGAAGATCCCTCATGTGAG ATGTGTCTCTCCAAAGACAAGACGCTCCAGGATCTTGTCTACGATCTCTCCACCTCAGGGTCTGGCTCAGGGTTACCCCTCTTTGTCCAGCGCACAGTGGCC CGAACCATCGTTTACAAGAGATTATTGGCAAGGGTCGGTTTGGGGAAGTATGGCGGGGCCGCTGGAGGGGTGGTGATGTGGCTGTGAAAATATTTCTCTCT

CGTGAAGAACGGTCTTGGTTCAGGGAAGCAGAGATATACCAGACGGTCATGCTGCGCCATGAAAACATCCTTGGATTTATTGCTGCTGACAATAAAGATAAT
GGCACCTGGACACAGCTGTGGCTTGTCTGACTATCATGAGCACGGGTCCCTGTTTGATTATCTGAACCGGTACACAGTGACAATTGAGGGGATGATTAAG
CTGGCCTTGTCTGCTGCTAGTGGGCTGGCACACCTGCACATGGAGATCGTGGGCACCAAGGGAAGCCTGGAATTGCTCATCGAGACTTAAAGTCAAAGAAC
ATTCTGGTGAAGAAAAATGGCATGTGTGCCATAGCAGACCTGGGCTGGCTGTCCGTCATGATGCAGTCACTGACACCATTGACATTGCCCGAATCAGAGG
GTGGGACCAAAACGATACATGGCCCCTGAAGTACTTGATGAAACCATTAATATGAAACACTTTGACTCCTTTAAATGTGCTGATATTTATGCCCTCGGGCTT
GTATATTGGGAGATTGCTCGAAGATGCAATTCTGGAGGAGTCCATGAAGAATATCAGCTGCCATATTACGACTTAGTGCCCTCTGACCCTTCCATTGAGGAA
ATGCGAAAGGTTGTATGTGATCAGAAGCTGCGTCCCAACATCCCAACTGGTGGCAGAGTTATGAGGCACTGCGGGTGATGGGAAGATGATGCGAGAGTGT
TGGTATGCCAACGGCGCAGCCCGCTGACGGCCCTGCGCATCAAGAAGACCTCTCCAGCTCAGCGTGAGGAAGACGTGAAGATC (서열 식별 번
호: 221)

[0398] 세포의 ALK4 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호: 222에 나타낸다.

[0399] TCCGGGCCCCGGGGGTCCAGGCTCTGCTGTGTGCGTGCACCAGCTGCCTCCAGGCCAACTACACGTGTGAGACAGATGGGGCTGCATGGTTTCCATTTTC
AATCTGGATGGGATGGAGACCATGTGCGCACCTGCATCCCCAAAGTGAGCTGGTCCCTGCCGGAAGCCCTTCTACTGCCCTGAGCTCGGAGGACCTGCGC
AACACCCACTGCTGCTACACTGACTACTGCAACAGGATCGACTTGAGGGTGCCAGTGGTCACTCAAGGAGCCTGAGACCCGTCCATGTGGGGCCCGGTG
GAG (서열 식별 번호: 222)

[0400] 인간 ALK4 전구체 단백질 서열의 대체 아이소폼, 아이소폼 B (NCBI Ref Seq NP_064732.3)는 다음과 같다:

[0401] 1 MVSIFNLDGM EHHVRTCIPK VELVPAGKPF YCLSSDLRN THCCYTDYCN RIDLRVPSGH

[0402] 61 LKEPEHPSMW GPVELVGIIA GPVFLFLII IIVFLVINYH QRVYHNRQRL DMEDPSCMC

[0403] 121 LSKDKTLQDL VYDLSTSGS SGLPLFVQRT VARTIVLQEI IGKGRFGEVW RGRWRGGDVA

[0404] 181 VKIFSSREER SWFREAEIYQ TVMLRHENIL GFIAADNKDN GTWTQLWLVS DYHEHGSFLD

[0405] 241 YLNRYTVTIE GMIKLALSAA SGLAHLHMEI VGTQGKPGIA HRDLKSKNIL VKKNGMCAIA

[0406] 301 DLGLAVRHDA VTDITIDIAPN QRVGTKRYMA PEVLDETINM KHFDSEFKAD IYALGLVYWE

[0407] 361 IARRCNSGGV HEEYQLPYD LVPSPDPSIEE MRKVVCQKL RPNIPNWWQS YEALRVMGKM

[0408] 421 MRECWYANGA ARLTALRIKK TLSQLSVQED VKI (서열 식별 번호: 421)

[0409] 상기 세포의 도메인은 붉은 체로 표시된다.

[0410] 프로세스된 세포의 ALK4 폴리펩티드 서열은 다음과 같다:

[0411] 1 MVSIFNLDGM EHHVRTCIPK VELVPAGKPF YCLSSDLRN THCCYTDYCN RIDLRVPSGH

[0412] 61 LKEPEHPSMW GPVE(서열 식별 번호: 422)

[0413] ALK4 전구체 단백질 (아이소폼 B)을 인코딩하는 핵산 서열은 하기에 나타내며 (서열 식별 번호: 423), 이는 GenBank 참조 서열 NM_020327.3의 뉴클레오티드 186-1547에 상응한다. 상기 세포의 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드는 붉은 체로 표시된다.

[0414] 1 ATGGTTTCCA TTTTCAATCT GGATGGGATG GAGCACCATG TGCGCACCTG

[0415] 51 CATCCCCAAA GTGGAGCTGG TCCCTGCCGG GAAGCCCTTC TACTGCCTGA

[0416] 101 GCTCGGAGGA CCTGCGCAAC ACCCACTGCT GCTACACTGA CTACTGCAAC

[0417] 151 AGGATCGACT TGAGGGTGCC CAGTGGTCAC CTAAGGAGC CTGAGCACCC

[0418] 201 GTCCATGTGG GGGCCGGTGG AGCTGGTAGG CATCATCGCC GGCCCGGTGT

[0419] 251 TCCTCCTGTT CCTCATCATC ATCATGTGTT TCCTTGTCAT TAACTATCAT

[0420] 301 CAGCGTGTCT ATCACAACCG CCAGAGACTG GACATGGAAG ATCCCTCATG

[0421] 351 TGAGATGTGT CTCTCAAAG ACAAGACGCT CCAGGATCTT GTCTACGATC

[0422] 401 TCTCCACCTC AGGGTCTGGC TCAGGGTTAC CCCTCTTTGT CCAGCGCACA

[0423] 451 GTGGCCCGAA CCATCGTTTT ACAAGAGATT ATTGGCAAGG GTCGGTTTGG

[0424] 501 GGAAGTATGG CGGGGCCGCT GGAGGGGTGG TGATGTGGCT GTGAAAATAT

[0425] 551 TCTCTTCTCG TGAAGAACGG TCTTGGTTCA GGGAAGCAGA GATATACCAG

[0426] 601 ACGGTCATGC TGCGCCATGA AAACATCCTT GGATTTATTG CTGCTGACAA

[0427] 651 TAAAGATAAT GGCACCTGGA CACAGCTGTG GCTTGTCTTCT GACTATCATG

[0428] 701 AGCACGGGTC CCTGTTTGAT TATCTGAACC GGTACACAGT GACAATTGAG

[0429] 751 GGGATGATTA AGCTGGCCTT GTCTGCTGCT AGTGGGCTGG CACACCTGCA

[0430] 801 CATGGAGATC GTGGGCACCC AAGGGAAGCC TGAATTGCT CATCGAGACT

[0431] 851 TAAAGTCAAA GAACATTCTG GTGAAGAAAA ATGGCATGTG TGCCATAGCA

[0432] 901 GACCTGGGCC TGGCTGTCCG TCATGATGCA GTCAGTGACA CCATTGACAT

[0433] 951 TGCCCCGAAT CAGAGGGTGG GGACCAAACG ATACATGGCC CCTGAAGTAC

[0434] 1001 TTGATGAAAC CATTAATATG AAACACTTTG ACTCCTTTAA ATGTGCTGAT

[0435] 1051 ATTTATGCCC TCGGGCTTGT ATATTGGGAG ATTGCTCGAA GATGCAATTC

[0436] 1101 TGGAGGAGTC CATGAAGAAT ATCAGCTGCC ATATTACGAC TTAGTGCCCT

[0437] 1151 CTGACCCTTC CATTGAGGAA ATGCGAAAGG TTGTATGTGA TCAGAAGCTG

[0438] 1201 CGTCCCAACA TCCCAACTG GTGGCAGAGT TATGAGGCAC TCGGGGTGAT

[0439] 1251 GGGGAAGATG ATGCGAGAGT GTTGGTATGC CAACGGCGCA GCCCGCCTGA

[0440] 1301 CGGCCCTGCG CATCAAGAAG ACCCTCTCCC AGCTCAGCGT GCAGGAAGAC

[0441] 1351 GTGAAGATCT AA (서열 식별 번호: 423)

[0442] 세포외 ALK4 폴리펩티드 (아이소폼 B)를 인코딩하는 핵산 서열은 다음과 같다:

[0443] 1 ATGGTTTCCA TTTTCAATCT GGATGGGATG GAGCACCATG TGCGCACCTG

[0444] 51 CATCCCCAAA GTGGAGCTGG TCCCTGCCGG GAAGCCCTTC TACTGCCTGA

[0445] 101 GCTCGGAGGA CCTGCGCAAC ACCCACTGCT GCTACACTGA CTACTGCAAC

[0446] 151 AGGATCGACT TGAGGGTGCC CAGTGGTCAC CTCAAGGAGC CTGAGCACCC

[0447] 201 GTCCATGTGG GGCCCGGTGG AGCTGGTAGG (서열 식별 번호: 424)

[0448] 인간 ALK4 전구체 폴리펩티드 서열의 대체 아이소폼, 아이소폼 C (NCBI Ref Seq NP_064733.3)은 다음과 같다:

[0449] 1 MAESAGASSF FPLVLLLAG SGGSGPRGVQ ALLCACTSCL QANYTCETDG ACMVSIFNLD

[0450] 61 GMEHHVRTCI PKVELVPAGK PFYCLSEDL RNTHCCYTDY CNRIDLRVPS GHLKEPEHPS

[0451] 121 MWGPVELVGI IAGPVFLFL I I I I VFLVIN YHQRVYHNRQ RLDMEDPSCE MCLSKDKTLQ

[0452] 181 DLVYDLSTSG SGSGPLPLFVQ RTVARTIVLQ EIIGKGRFGE VWRGRWRGGD VAVKIFSSRE

[0453] 241 ERSWFREAEI YQTVMLRHEN ILGFIAADNK ADCSFLTLPW EVVMVSAAPK LRSLRLQYKG

[0454] 301 GRGRARFLFP LNNGTWTQLW LVSDYHEHGS LFDYLNRYTV TIEGMIKLAL SAASGLAHLH

[0455] 361 MEIVGTQGKP GIAHRDLKSK NILVKKNGMC AIADLGLAVR HDAVTDITDI APNQRVGTKR

[0456] 421 YMAPEVLDET INMKHFDSFK CADIYALGLV YWEIARRCNS GGVHEEYQLP YYDLVPSPDS

[0457] 481 IEEMRKVVCD QKLRPNIPNW WQSYEALRVM GKMMRECWYA NGAARLTALR IKKTLSQLSV

[0458] 541 QEDVKI (서열 식별 번호: 85)

[0459] 신호 펩티드는 한줄 밑줄로 표시되어 있고; 세포외 영역은 붉은 체로 표시된다.

- [0460] 프로세스된 세포의 ALK4 폴리펩티드 서열 (아이소폼 C)은 다음과 같다:
- [0461] SGPRGVQALLCACTSLQANYTCETDGACMVSIFNLDGMEHHVRTCIPKVELVPAGKPFYCLSSDLRNTHCCYTDYCNRIDLRVPSGHLKEPEHPMSMWGPV E (서열 식별 번호: 87)
- [0462] ALK4 전구체 폴리펩티드 (아이소폼 C)를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호: 223에 나타내며, 이는 Genbank 참조 서열 NM_020328.3의 뉴클레오티드 78-1715에 상응한다. 세포의 ALK4 폴리펩티드 (아이소폼 C)를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호: 224에 나타낸다.
- [0463] ATGGCGGAGTCGGCCGAGCCTCCTCCTTCTTCCCCCTTGTGTCTCCTGCTCGCCGGCAGCGCGGGTCCGGGCCCCGGGGGGTCCAGGCTCTGCTGTGTGCGTGACACAGCTGCTCCAGGCCAACTACACGTGTGAGACAGATGGGGCCTGCATGGTTTCCATTTCATCTGGATGGGATGGAGCACCATGTGCGCACC TGCATCCCCAAAGTGAGCTGGTCCCTGCCGGAAGCCCTTCTACTGCTGAGCTCGGAGGACCTGCGCAACACCCACTGTGCTACACTGACTACTGCAAC AGGATCGACTTGAGGGTCCCAGTGGTCACTCAAGGAGCCTGAGCACCCGTCCATGTGGGGCCCCGGTGGAGCTGGTAGGCATCATCGCCGGCCCGGTGTTC CTCCTGTTCCTCATCATCATCATTGTTTTCTTGTCTTAATATCATCAGCGTGTCTATCACACCGCCAGAGACTGGACATGGAAGATCCCTCATGTGAG ATGTGTCTCTCCAAAGACAAGACGCTCCAGGATCTTGTCTACGATCTCTCCACCTCAGGGTCTGGCTCAGGGTTACCCCTCTTTGTCCAGCGCACAGTGCC CGAACCATCGTTTTACAAGAGATTATTGGCAAGGGTCGGTTTGGGAAGTATGGCGGGCCGCTGGAGGGGTGGTGTGTGGCTGTGAAAAATTCTCTTCT CTGTAAGAAGCGTCTGGTTCAGGGAAGCAGAGATATACCAGACGGTCATGTGCGCCATGAAAACATCCTTGGATTTATTGCTGCTGACAATAAAGCAGAC TGCTCATTCCTCACATTGCCATGGGAAGTTGTAATGGTCTCTGCTGCCCAAGCTGAGGAGCCTTAGACTCCAATAAAGGAGGAAGGGGAAGAGCAAGA TTTTATTCCCACTGAATAATGGCACCTGGACACAGCTGTGGCTTGTCTGACTATCATGAGCACGGGTCCCTGTTGATTATCTGAACCGGTACACAGTG ACAATTGAGGGGATGATTAAGCTGGCCTTGTCTGCTGTAGTGGGTGGCACACCTGCACATGGAGATCGTGGGCACCAAGGAAGCCTGGAATTGCTCAT CGAGACTTAAAGTCAAAGAACATTCTGGTGAAGAAAAATGGCATGTGTGCCATAGCAGACCTGGGCCTGGCTGTCCGTCATGATGCAGTCACTGACACCATT GACATTGCCCCGAATCAGAGGGTGGGGACCAACGATACATGGCCCCTGAAGTACTTGATGAAACCATTAATATGAAACACTTGAATCTTTAAATGTGCT GATATTTATGCCCTCGGGCTTGTATATTGGGAGATTGCTCGAAGATGCAATTCTGGAGGAGTCCATGAAGAATATCAGCTGCCATATTACGACTTAGTGCCC TCTGACCCTTCCATTGAGGAAATGCGAAAGGTTGTATGTGATCAGAAGTGCCTCCCAACATCCCCAACTGGTGGCAGAGTTATGAGGCACTGCGGGTGATG GGGAAAGATGATGCGAGAGTGTGGTATGCCAACGGCGCAGCCCGCTGACGGCCCTGCGCATCAAGAAGACCCTCTCCAGCTCAGCGTGAGGAAGACGTG AAGATC (서열 식별 번호: 223)
- [0464] TCCGGGCCCCGGGGGGTCCAGGCTCTGCTGTGTGCTGACACAGCTGCCTCCAGGCCAACTACACGTGTGAGACAGATGGGGCCTGCATGGTTTCCATTTC AATCTGGATGGGATGGAGCACCATGTGCGCACCTGCATCCCCAAAGTGAGCTGGTCCCTGCCGGAAGCCCTTCTACTGCCTGAGCTCGGAGGACCTGCGC AACCCCACTGTCTACTACTGACTACTGCAACAGGATCGACTTGAGGGTGGCCAGTGGTACCTCAAGGAGCCTGAGCACCCGTCCATGTGGGGCCCCGGT GAG (서열 식별 번호: 224)
- [0465] ALK4는 척추동물간에 잘-보존되며, 세포의 도메인의 큰 스트레치(stretches)는 완벽하게 보존된다. 예를 들면, 도 9는 다양한 ALK4 오르소로그(orthologs)와 비교하여 인간 ALK4 세포의 도메인의 다중-서열 배열을 도시한다. ALK4에 결합하는 많은 리간드들이 매우 보존되어 있다. 따라서, 이들 배열로부터, ALK4- 리간드 결합의 정상적 활성화에 중요한 리간드 결합 도메인 안에 주요 아미노산 위치를 예측할 수 있을 뿐만 아니라, 정상 ALK4-리간드 결합 활성을 크게 변화시키지 않으면서 치환을 용인할 수 있는 아미노산 위치를 예측할 수 있다. 따라서, 본원 에 개시된 방법에 따라 유용한 활성을 가진 인간 ALK4 변이체 폴리펩티드는 다른 척추 동물 ALK4의 서열의 상응 하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산을 포함할 수 있거나, 또는 인간 또는 다른 척추 동물 서열에서와 유사한 잔기를 포함 할 수 있다.
- [0466] 다음 실시예들은 활성 ALK4 변이체를 정의하는 접근법을 설명하지만, 이에 제한하고자 함은 아니다. 도 9에 도 시된 것과 같이, 인간 ALK4 세포의 도메인 (서열 식별 번호: 414)에서 V6은 *무스 무쿨루스(Mus musculus)* ALK4 (서열 식별 번호: 418)에서 이소류신이며, 따라서 이 위치는 변경될 수 있고, 임의선택적으로 또다른 소수성 잔 기 이를 테면 L, I, 또는 F, 또는 *갈루스 갈루스(Gallus gallus)* ALK4 (서열 식별 번호: 417)에서 관찰된 바와 같이, 비-극성 잔기 이를 테면 A로 변경될 수 있다. 인간 세포의 도메인의 E40은 *갈루스 갈루스(Gallus gallus)* ALK4에서 K이며, 이것은 이 부위가 극성 잔기, 이를 테면 E, D, K, R, H, S, T, P, G, Y, 그리고 아마도 비-극 성 잔기 이를 테면 A가 포함된 다양한 변화에 내성이 있음을 나타낸다. 인간 세포의 도메인의 S15는 *갈루스 갈 루스(Gallus gallus)* ALK4에서 D이고, 이는 이 위치가 선호되는 극성 잔기, 이를 테면 S, T, R, E, K, H, G, P, G 및 Y로 광범위한 구조적 변이를 용인한다는 것을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 E40은 *갈루스 갈루스 (Gallus gallus)* ALK4에서 K이며, 이는 D, R, K, H, 뿐만 아니라 Q 및 N를 포함하는 하전된 잔기가 이 위치에 서 용인됨을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 R80은 *콘딜루라 크리스타타(Condylura cristata)* ALK4 (서열 식별 번호: 415)에서 K이며, 이것은 이 위치에서 R, K, 및 H를 포함하는 염기성 잔기가 용인된다는 것을 나타낸 다. 인간 세포의 도메인의 Y77은 *수스 스크로파(Sus scrofa)* ALK4 (서열 식별 번호: 419)에서 F이며, F, W,

및 Y를 포함하는 방향족 잔기가 이 위치에서 용인됨을 나타낸다. 인간 세포의 도메인에서 P93은 상대적으로 잘 보존되지 않은 것으로써, *에리나세우스 유로파에우스(Erinaceus europaeus)* ALK4 (서열 식별 번호: 416)에서S, 그리고 *갈루스 갈루스(Gallus gallus)* ALK4에서 N이고, 따라서 기본적으로 임의의 아미노산이 이 위치에서 용인되어야 한다.

[0467] 더욱이, ALK4 단백질은 당해 분야에서 구조적 및 기능적 특징, 특히 리간드 결합에 관해 특징 지워져 왔다[가령, Harrison et al. (2003) J Biol Chem 278(23):21129-21135; Romano et al. (2012) J Mol Model 18(8):3617-3625; 그리고 Calvanese et al. (2009) 15(3):175-183]. 본원의 교시 외에도, 이들 참고 문헌은 하나 또는 그 이상의 정상 활성 (예: 리간드 결합 활성)을 보유하는 ALK4 변이체를 생성하는 방법에 대한 충분한 지침을 제공한다.

[0468] 예를 들면, 3 개의 핑거-톡신 폴드(three-finger toxin fold)로 알려진 구조적 모티프는 타입 I 및 타입 II 수용체에 의한 리간드 결합에 중요하며, 각각의 단량체 수용체의 세포외 도메인 안에 다양한 위치에 보존된 시스테인 잔기에 의해 형성된다 [Greenwald 등, (1999) Nat Struct Biol 6:18-22; 그리고 Hinck (2012) FEBS Lett 586:1860-1870]. 따라서, 이러한 보존된 시스테인의 가장 바깥쪽에 의해 경계가 표시되는 인간 ALK4의 핵심 리간드-결합 도메인은 서열 식별 번호: 84 (ALK4 전구체)의 34-101 위치에 상응한다. 따라서, 이러한 시스테인으로 경계가 표시되는 코어 서열에 인접한 구조적으로 덜 규칙적인 아미노산은 반드시 리간드 결합을 바꾸지 않고도 N-말단에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33개 잔기 및/또는 C-말단에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 잔기가 절두될 수 있다. N-말단 및/또는 C-말단 절두에 대한 예시적인 ALK4 세포외 도메인에는 서열 식별 번호: 86, 87, 및 422가 내포된다.

[0469] 특정 구체예들에 있어서, 본 명세서는 최소한 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체에 관계하며, 여기에는 이의 단편들, 기능성 변이체들 그리고 변형된 형태들이 포함된다. 바람직하게는, 본원에 기술된 바와 같은 용도에 이용되는 ALK4 폴리펩티드들 (가령, ALK4 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체들과 이의 용도들)은 가용성 (가령, ALK4의 세포외 도메인)이다. 다른 바람직한 구체예들에서, 본원에 기술된 바와 같은 용도에 이용되는 ALK4 폴리펩티드들은 하나 또는 그 이상의 TGF-베타 슈퍼패밀리 리간드들에 결합하고 및/또는 활성 (가령, Smad 신호생성)을 억제(길항)한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 이종다량체는 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 421, 및 422의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 적어도 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 이종다량체는 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 422의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 적어도 하나의 ALK4 폴리펩티드로 구성되거나, 또는 필수적으로 구성된다.

[0470] 특정 측면들에서, 본 명세서는 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 84, 85 또는 421의 아미노산 23-34 (가령, 아미노산 잔기 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34)중 임의의 하나에서 시작하고, 서열 식별 번호: 84, 85 또는 421의 아미노산 101-126 (가령, 아미노산 잔기 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 및 126)중 임의의 하나에서 종료되는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK4 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 84, 85 또는 421의 아미노산 23-126에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK4 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 84, 85 또는 421의 아미노산 23-126에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK4 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422중 임의의 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK4 도메인을 포함한다.

[0471] E)ALK7 폴리펩티드

[0472] 특정 측면들에서, 본 명세서는 ALK7 폴리펩티드(이의 단편들, 이의 기능적 변이체들, 및 이의 변형된 형태들을

비롯한)를 포함하는 ActRII-ALK4 길항제, 뿐만 아니라 이의 용도 (예를 들자면, 심부전(HF) 또는 HF의 하나 또는 그 이상의 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 관계한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “ALK7”란 임의의 종(species)으로부터 기인된 액티빈 수용체-유사 키나제-7 (ALK7) 단백질 및 유용한 활성을 유지하는 돌연변이생성 또는 다른 변형들 (예를 들자면, 돌연변이, 단편들, 융합, 및 펩티도모방체 형태를 비롯하여)에 의해 이러한 ALK7 단백질로부터 파생된 변이체 폴리펩티드를 지칭한다. 이러한 변이체 ALK7 폴리펩티드들의 예는 본 명세서 뿐만 아니라 국제 특허 출원 공개 번호. WO/2016/164089 및 WO/2016/164503에서 제공되며, 이들은 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다. 본원에서 ALK7에 대한 언급은 현재 확인된 형태중 하나를 참조로 한다. ALK7 패밀리의 구성요소는 시스테인-풍부 영역을 갖는 리간드-결합 세포외 도메인, 막경유 도메인, 및 예상 세린/트레오닌 키나제 특이성을 갖는 세포질 도메인을 포함하는 막경유 폴리펩티드다. 인간 ALK7 전구체 폴리펩티드의 아미노산 서열은 하기에 제시된다 (서열 식별 번호: 120). 바람직하게는, 본 명세서에서 기술된 방법에 따라 이용되는 ALK7 폴리펩티드는 가용성이다. 용어 “가용성 ALK7 폴리펩티드”에는 본원에서 사용된 바와 같이, 임의의 자연 발생적 ALK7 폴리펩티드의 세포외 도메인 뿐만 아니라, 유용한 활성을 유지하는 이들의 임의의 변이체들 (돌연변이체, 단편들 및 펩티도모방체 형태들을 비롯한)이 내포된다. 예를 들면, 상기 ALK7 폴리펩티드의 세포외 도메인은 리간드에 결합하고, 일반적으로 가용성이다. 가용성 ALK7 폴리펩티드의 예시에는 하기 ALK7 세포외 도메인 (서열 식별 번호: 123)이 내포된다. 가용성 ALK7 폴리펩티드의 다른 예시들은 상기 ALK7 폴리펩티드의 세포외 도메인에 추가적으로 신호 서열을 포함한다. 상기 신호 서열은 ALK7의 고유의 신호 서열, 또는 또다른 폴리펩티드, 이를 테면, 조직 플라스미노겐 활성화제 (TPA) 신호 서열 또는 꿀벌 펠라틴 신호 서열로부터의 신호 서열일 수 있다. 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다 (예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ALK7 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합하고 및/또는 이의 활성을 억제하는 ALK7 폴리펩티드의 능력을 측정하기 위한 방법 및 분석의 각종 예시들이 본원에 기술되거나, 또는 그렇지 않으면 당분야에 공지되어 있으며, 이를 용이하게 이용하여 ALK7 폴리펩티드가 원하는 결합 및/또는 길항성 활성을 보유하는 지를 결정할 수 있다. 본원에 기술된 모든 ALK7-관련 폴리펩티드에 대한 아미노산의 넘버링은 달리 명시하지 않는 한, 하기에 제공된 인간 ALK7 전구체 단백질 서열 (서열 식별 번호: 120)의 번호에 기초한다.

[0473] 인간 ALK7의 네 가지 자연 발생 아이소폼이 설명되었다. 인간 ALK7 아이소폼 1 전구체 폴리펩티드의 서열 (NCBI Ref Seq NP_660302.2)은 다음과 같다:

[0474] 1 MTRALCSALR QALLLLAAAA **ELSPGLKVCV** LLCSSNFTC QTEGACWASV **MLTNGKEQVI**

[0475] 61 **KSCVSLPELN** AQVFCSSNN VTKTECCFTD FCNNITLHLP TASPNAKLG PMELAIITV

[0476] 121 PVCLLSIAAM LTVWACQGRQ CSYRKKKRPV VEEPLSECNL VNAGKTLKDL IYDVTASGSG

[0477] 181 SGLPLLQVQT IARTIVLQEI VGKGRFGEVW HGRWCGEDVA VKIFSSRDER SWFREAEIYQ

[0478] 241 TVMLRHENIL GFIAADNKN GTWTQLWLVS EYHEQGSLYD YLNRNIVTVA GMIKLALSIA

[0479] 301 SGLAHLHMEI VGTQKPAIA HRDIKSKNIL VKKCECAIA DLGLAVKHDS ILNTIDIPQN

[0480] 361 PKVGTKRYMA PEMLDTMNV NIFESFKRAD IYSGLVYWE IARRCSVGGI VEEYQLPYD

[0481] 421 MVPSDPSIEE MRKVCDQKF RPSIPNQWS CEALRMGRI MRECWYANGA ARLTALRIKK

[0482] 481 **TISQLCVKED CKA** (서열 식별 번호: 120)

[0483] 신호 펩티드는 한줄 밑줄로 표시되어 있고; 세포외 영역은 **굵은 체**로 표시된다.

[0484] 프로세스된 세포외 ALK7 아이소폼 1 폴리펩티드 서열은 다음과 같다:

[0485] ELSPGLKVCVLLCDSSNFTCQTEGACWASV**MLTNGKEQVI**KSCVSLPELNAQVFCSSNNVTKTECCFTDFCNNITLHLP**TASPNAKLG**PME (서열 식별 번호: 123)

[0486] 인간 ALK7 아이소폼 1 전구체 폴리펩티드를 인코딩하는 서열은 아래 서열 식별 번호: 233로 나타내며, 이는 Genbank 참조 서열 NM_145259.2의 뉴클레오타이드 244-1722에 상응한다. 프로세싱된 세포외 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 1)를 인코딩하는 서열은 서열 식별 번호: 234로 나타낸다.

- [0487] ATGACCCGGGCGCTCTGCTCAGCGCTCCGCCAGGCTCTCCTGCTGCTCGCAGCGCCGCCGAGCTCTCGCCAGGACTGAAGTGTGTATGTCTTTTGTGTGAT
TCTTCAAACCTTTACCTGCCAAACAGAAGGAGCATGTTGGGCATCAGTCATGCTAACCAATGGAAAAGAGCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAA
CTGAATGCTCAAGTCTTCTGTATAGTTCCAACAATGTTACCAAAACCGAATGCTGCTTACAGATTTTGTGAACAACATAAACTGCACCTTCCAACAGCA
TCACCAAAATGCCCAAACTTGGACCCATGGAGCTGGCCATCATTATTACTGTGCCTGTTTGCTCCTGTCCATAGCTGCGATGCTGACAGTATGGGCATGC
CAGGGTCGACAGTGTCTACAGGAAGAAAAAGAGACCAAAATGTGGAGGAACCACTCTCTGAGTGAATCTGGTAAATGCTGGAAAACTGTGAAAGATCTG
ATTTATGATGTGACCGCTCTGGATCTGGCTCTGGTCTACCTCTGTTGGTTCAAAGGACAATTGCAAGGACGATTGTGCTTCAGGAAATAGTAGGAAAAGGT
AGATTGGTGAGGTGTGGCATGGAAGATGGTGTGGGAAGATGTGGCTGTGAAAATATTCTCCTCCAGAGATGAAAGATCTTGGTTTCGTGAGGCAGAAATT
TACCAGACGGTCATGCTGCGACATGAAAACATCCTTGGTTTCATTGCTGCTGACAACAAAGATAATGGAACCTGGACTCAACTTTGGCTGGTATCTGAATAT
CATGAACAGGGCTCCTTATATGACTATTTGAATAGAAATATAGTGACCGTGGCTGGAATGATCAAGCTGGCGCTCTCAATTGCTAGTGGTCTGGCACACCTT
CATATGGAGATTGTTGGTACACAAGGTAAACCTGCTATTGCTCATCGAGACATAAAATCAAAGAATATCTTAGTGAAAAAGTGTGAAACTTGTGCCATAGCG
GACTTAGGGTTGGCTGTGAAGCATGATTCAATACTGAACACTATCGACATACCTCAGAATCTTAAAGTGGGAACCAAGAGGTATATGGCTCCTGAAATGCTT
GATGATACAATGAATGTGAATATCTTTGAGTCTTCAAACGAGCTGACATCTATTCTGTTGGTCTGGTTTACTGGGAAATAGCCCGGAGGTGTTTTCAGTCGGA
GGAATTGTTGAGGAGTACCAATTGCCTTATTATGACATGGTGCCTTCAGATCCCTCGATAGAGGAAATGAGAAAGGTTGTTTGTGACCAGAAGTTTCGACCA
AGTATCCCAAACAGTGGCAAAGTTGTGAAGCACTCCGAGTCATGGGAGAATAATGCGTGAGTGTGGTATGCCAACGGAGCGGCCCTAACTGCTCTT
CGTATTAAGAAGACTATATCTCAACTTTGTGTCAAAGAAGACTGCAAAGCC (서열 식별 번호: 233)
- [0488] GAGCTCTCGCCAGGACTGAAGTGTGTATGTCTTTTGTGTGATTCTTCAAACCTTTACCTGCCAAACAGAAGGAGCATGTTGGGCATCAGTCATGCTAACCAAT
GGAAAAGAGCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTCTTCTGTCTAGTTCCAACAATGTTACCAAAACCGAATGCTGCTTC
ACAGATTTTGTGAACAACATAAACTGCACCTTCCAACAGCATCACCAATGCCCAAACTTGGACCCATGGAG (서열 식별 번호: 234)
- [0489] 인간 ALK7의 대체 아이소폼인, 아이소폼 2의 아미노산 서열(NCBI Ref Seq NP_001104501.1)은 이의 프로세싱된
형태로 나타내며 (서열 식별 번호: 124), 여기에서 세포외 도메인은 **굵은 폰트**로 표시된다.
- [0490] 1 **MLTNGKEQVI KSCVSLPELN AQVFCHSSNN VTKTECCFTD FCNNITLHLP TASPNAPKLG**
- [0491] 61 **PMELAIITV PVCLLSIAAM LTVWACQGRQ CSYRKKKRPN VEEPLSECNL VNAGKTLKDL**
- [0492] 121 **IYDVTASGSG SGLPLLVRT IARTIVLQEI VGKGRFGEVW HGRWCGEDVA VKIFSSRDER**
- [0493] 181 **SWFREAEIYQ TVMLRHENIL GFIAADNKNK GTWTQLWLV EYHEQGSLYD YLNRNIVTVA**
- [0494] 241 **GMIKLALSIA SGLAHLHMEI VGTQKPAIA HRDIKSKNIL VKKCETCAIA DLGLAVKHDS**
- [0495] 301 **ILNTIDIPQN PKVGTKRYMA PEMLDDTMNV NIFESFKRAD IYSVGLVYWE IARRCSVGGI**
- [0496] 361 **VEEYQLPYD MVPSPDSIEE MRKVVCDQKF RPSIPNQWS CEALRVMGRI MRECWYANGA**
- [0497] 421 **ARLTALRIKK TISQLCVKED CKA (서열 식별 번호: 124)**
- [0498] 세포외 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 2)의 아미노산 서열은 다음과 같다:
- [0499] **MLTNGKEQVIKSCVSLPELNAQVFCHSSNNVTKTECCFTDFCNNITLHLP**TASPNAPKLG**PME (서열 식별 번호: 125).**
- [0500] 프로세싱된 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 2)를 인코딩하는 핵산은 아래 서열 식별 번호: 235로 나타내며, 이는
NCBI 참조 서열 NM_001111031.1의 뉴클레오타이드 279-1607에 상응한다. 세포외 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 2)를
인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호: 236로 나타낸다.
- [0501] **ATGCTAACCAATGGAAAAGAGCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTCTTCTGTCTAGTTCCAACAATGTTACCAAAACC**
GAATGCTGCTTACAGATTTTGTGAACAACATAAACTGCACCTTCCAACAGCATCACCAATGCCCAAACTTGGACCCATGGAGCTGGCCATCATTATT
ACTGTGCCTGTTTGCTCCTGTCCATAGCTGCGATGCTGACAGTATGGGCATGCCAGGGTCGACAGTGTCTCTACAGGAAGAAAAAGAGACCAAAATGTGGAG
GAACCACTCTCTGAGTGAATCTGGTAAATGCTGGAAAACTCTGAAAGATCTGATTATGATGTGACCGCTCTGGATCTGGCTCTGGTCTACCTCTGTTG
GTTCAAAGGACAATTGCAAGGACGATTGTGCTTCAGGAAATAGTAGGAAAAGGTAGATTGGTGAGGTGTGGCATGGAAGATGGTGTGGGAAGATGTGGCT
GTGAAAATATTCTCTCCAGAGATGAAAGATCTTGGTTTCGTGAGGCAGAAATTTACCAGACGGTCATGCTGCGACATGAAAACATCCTTGGTTTCATTGCT
GCTGACAACAAGATAATGGAACCTGGACTCAACTTGGCTGGTATCTGAATATCATGAACAGGGCTCCTTATGACTATTTGAATAGAAATATAGTGACC
GTGGCTGGAATGATCAAGCTGGCGCTCTCAATTGCTAGTGGTCTGGCACACCTTCATATGGAGATTGTTGGTACACAAGGTAACCTGCTATTGCTCATCGA
GACATAAAATCAAAGAATATCTTAGTGAAAAAGGTGAAACTTGTGCCATAGCGGACTTAGGGTTGGCTGTGAAGCATGATTCAATACTGAACACTATCGAC
ATACCTCAGAATCTTAAAGTGGGAACCAAGAGGTATATGGCTCCTGAAATGCTTGATGATACAATGAATGTGAATATCTTTGAGTCTTCAAACGAGCTGAC
ATCTATTCTGTTGGTCTGGTTTACTGGGAAATAGCCCGGAGGTGTCAGTCGGAGGAATTGTTGAGGAGTACCAATTGCCTTATTATGACATGGTGCTTCA
GATCCCTCGATAGAGGAAATGAGAAAGTTGTTTGTGACCAGAAGTTTCGACCAAGTATCCCAAACAGTGGCAAAGTTGTGAAGCACTCCGAGTCATGGGG

AGAATAATGCGTGAGTGTGGTATGCCAACGAGCGGCCCGCCTAACTGCTCTTCGTATTAAGAAGACTATATCTCAACTTTGTGTCAAAGAAGACTGCAAA
GCC (서열 식별 번호: 235) 25

[0502] ATGCTAACCAATGGAAGAGCAGGTGATCAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTCTTCTGTCATAGTTCCAACAATGTTACCAAAACC
GAATGCTGCTTCACAGATTTTGAACAACATAACACTGCACCTTCCAACAGCATCACCAATGCCCAAACTTGGACCCATGGAG (서열 식별 번
호: 236)

[0503] 대체 인간 ALK7 전구체 폴리펩티드인, 아이소폼 3의 아미노산 서열 (NCBI Ref Seq NP_001104502.1)은 다음과
같이 나타내며 (서열 식별 번호: 121), 여기에서 상기 신호 펩티드는 한줄 밑줄로 표시된다.

[0504] 1 MTRALCSALR QALLLLAAAA ELSPGLKVCV LLCSSNFTC QTEGACWASV MLTNGKEQVI

[0505] 61 KSCVSLPELN AQVFCHSSNN VTKTECCFTD FCNNITLHLP TGLPLLVRT IARTIVLQEI

[0506] 121 VGKGRFGEVW HGRWCGEDVA VKIFSSRDER SWFREAEIYQ TVMLRHENIL GFIAADNKDN

[0507] 181 GTWTQLWLVS EYHEQGSLYD YLNRNIVTVA GMIKLALSIA SGLAHLHMEI VGTQGKPAIA

[0508] 241 HRDIKSKNIL VKKCTCAIA DLGLAVKHDS ILNTIDIPQN PKVGTKRYMA PEMLDDTMNV

[0509] 301 NIFESFKRAD IYSVGLVYWE IARRCSVGGI VEEYQLPYD MVPSPSIEE MRKVCDQKF

[0510] 361 RPSIPNQWS CEALRVMGRI MRECYANGA ARLTALRIKK TISQLCVKED CKA

[0511] (서열 식별 번호: 121)

[0512] 프로세싱된 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 3)의 아미노산 서열은 다음과 같다(서열 식별 번호: 126). 이 아이소폼
은 막경유 도메인이 결여되어 있고, 따라서 이 전체가 가용성인 것으로 제의된다(Roberts et al., 2003, Biol
Reprod 68:1719-1726). 서열 식별 번호: 126의 N-말단 변이체는 아래에 기술된 대로 예측된다.

[0513] 1 ELSPGLKVCV LLCSSNFTC QTEGACWASV MLTNGKEQVI KSCVSLPELN AQVFCHSSNN

[0514] 61 VTKTECCFTD FCNNITLHLP TGLPLLVRT IARTIVLQEI VGKGRFGEVW HGRWCGEDVA

[0515] 121 VKIFSSRDER SWFREAEIYQ TVMLRHENIL GFIAADNKDN GTWTQLWLVS EYHEQGSLYD

[0516] 181 YLNRNIVTVA GMIKLALSIA SGLAHLHMEI VGTQGKPAIA HRDIKSKNIL VKKCTCAIA

[0517] 241 DLGLAVKHDS ILNTIDIPQN PKVGTKRYMA PEMLDDTMNV NIFESFKRAD IYSVGLVYWE

[0518] 301 IARRCSVGGI VEEYQLPYD MVPSPSIEE MRKVCDQKF RPSIPNQWS CEALRVMGRI

[0519] 361 MRECYANGA ARLTALRIKK TISQLCVKED CKA (서열 식별 번호: 126)

[0520] 프로세싱안된 ALK7 폴리펩티드 전구체 단백질 (아이소폼 3)을 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호: 237로
나타내며, 이는 NCBI 참조 서열 NM_001111032.1의 뉴클레오티드 244-1482에 상응한다. 프로세싱된 ALK7 폴리펩
티드 (아이소폼 3)를 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호: 238로 나타낸다.

ATGACCCGGGCGCTCTGCTCAGCGCTCCGCCAGGCTCTCCTGCTGCTCGCAGCGG
CCGCCGAGCTCTCGCCAGGACTGAAGTGTGTATGTCTTTTGTGTGATTCTTCAA
 CTTTACCTGCCAAACAGAAGGAGCATGTTGGGCATCAGTCATGCTAACCAATGG
 AAAAGAGCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTC
 TTCTGTCATAGTTCCAACAATGTTACCAAAACCGAATGCTGCTTCACAGATTTT
 GCAACAACATAAACAACACTGCACCTTCCAACAGGTCTACCTCTGTTGGTTCAAAGGAC
 AATTGCAAGGACGATTGTGCTTCAGGAAATAGTAGGAAAAGGTAGATTGGTGA
 GGTGTGGCATGGAAGATGGTGTGGGGAAGATGTGGCTGTGAAAATATTCTCCTC
 CAGAGATGAAAGATCTTGGTTTCGTGAGGCAGAAATTTACCAGACGGTCATGCT
 GCGACATGAAAACATCCTTGGTTTCATTGCTGCTGACAACAAAGATAATGGAAC
 TGGACTCAACTTTGGCTGGTATCTGAATATCATGAACAGGGCTCCTTATATGACT
 ATTTGAATAGAAATATAGTGACCGTGGCTGGAATGATCAAGCTGGCGCTCTCAAT
 TGCTAGTGGTCTGGCACACCTTCATATGGAGATTGTTGGTACACAAGGTAAACCT
 GCTATTGCTCATCGAGACATAAAATCAAAGAATATCTTAGTGAAAAAGTGTGAA
 ACTTGIGCCATAGCGGACTTAGGGTTGGCTGTGAAGCATGATTCAATACTGAACA
 CTATCGACATACCTCAGAATCCTAAAGTGGGAACCAAGAGGTATATGGCTCCTG
 AAATGCTTGATGATACAATGAATGTGAATATCTTTGAGTCCTTCAAACGAGCTGA
 CATCTATTCTGTTGGTCTGGTTTACTGGGAAATAGCCCGGAGGTGTTTCAGTCGGA
 GGAATTGTTGAGGAGTACCAATTGCCTTATTATGACATGGTGCCTTCAGATCCCT
 CGATAGAGGAAATGAGAAAGGTTGTTTGTGACCAGAAGTTTCGACCAAGTATCC
 CAAACCAGTGGCAAAGTTGTGAAGCACTCCGAGTCATGGGGAGAATAATGCGTG
 AGTGTTGGTATGCCAACGGAGCGGCCCGCCTAACTGCTCTTCGTATTAAGAAGAC
 TATATCTCAACTTTGTGTCAAAGAAGACTGCAAAGCC (서열 식별 번호: 237)

[0521]

GAGCTCTCGCCAGGACTGAAGTGTGTATGTCCTTTTGTGTGATTCTTCAAACCTTTAC
 CTGCCAAACAGAAGGAGCATGTTGGGCATCAGTCATGCTAACCAATGGAAAAGA
 GCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTCTTCTGT
 CATAGTTCCAACAATGTTACCAAAACCGAATGCTGCTTCACAGATTTTTGCAACA
 ACATAACACTGCACCTTCCAACAGGTCTACCTCTGTTGGTTCAAAGGACAATTGC
 AAGGACGATTGTGCTTCAGGAAATAGTAGGAAAAGGTAGATTTGGTGAGGTGTG
 GCATGGAAGATGGTGTGGGGAAGATGTGGCTGTGAAAATATTCTCCTCCAGAGA
 TGAAAGATCTTGGTTTCGTGAGGCAGAAATTTACCAGACGGTCATGCTGCGACAT
 GAAAACATCCTTGGTTTCATTGCTGCTGACAACAAAGATAATGGAACCTTGGACTC
 AACTTTGGCTGGTATCTGAATATCATGAACAGGGCTCCTTATATGACTATTTGAA
 TAGAAATATAGTGACCGTGGCTGGAATGATCAAGCTGGCGCTCTCAATTGCTAGT
 GGTCTGGCACACCTTCATATGGAGATTGTTGGTACACAAGGTAAACCTGCTATTG
 CTCATCGAGACATAAAATCAAAGAATATCTTAGTGAAAAAGTGTGAAACCTGTG
 CCATAGCGGACTTAGGGTTGGCTGTGAAGCATGATTCAATACTGAACACTATCGA
 CATACCTCAGAATCCTAAAGTGGAACCAAGAGGTATATGGCTCCTGAAATGCT
 TGATGATACAATGAATGTGAATATCTTTGAGTCCTTCAAACGAGCTGACATCTAT
 TCTGTTGGTCTGGTTTACTGGGAAATAGCCCGGAGGTGTTTCAAGTCGGAGGAATTG
 TTGAGGAGTACCAATTGCCTTATTATGACATGGTGCCTTCAGATCCCTCGATAGA
 GGAAATGAGAAAGGTTGTTTGTGACCAGAAGTTTCGACCAAGTATCCCAAACCA
 GTGGCAAAGTTGTGAAGCACTCCGAGTCATGGGGAGAATAATGCGTGAGTGTTG
 GTATGCCAACGGAGCGGCCCGCTAACTGCTCTTCGTATTAAGAAGACTATATCT
 CAACTTTGTGTCAAAGAAGACTGCAAAGCC (서열 식별 번호: 238)

[0522]

[0523] 대체 인간 ALK7 전구체 폴리펩티드인, 아이소폼 4의 아미노산 서열 (NCBI Ref Seq NP_001104503.1)은 다음과 같이 나타내며 (서열 식별 번호: 122), 여기에서 상기 신호 펩티드는 한줄 밑줄로 표시된다.

[0524] 1 MTRALCSALR QALLLLAAAA ELSPLKVCV LLCSSNFTC QTEGACWASV MLTNGKEQVI

[0525] 61 KSCVSLPELN AQVFCHSSNN VTKTECCFTD FCNNITLHLP TDNGTWTQLW LVSEYHEQGS

[0526] 121 LYDYLNRNIV TVAGMIKLAL SIASGLAHLH MEIVGTQGKP AIAHRDIKSK NILVKKCETC

[0527] 181 AIADLGLAVK HDSILNTIDI PQNPKVGTKR YMAPEMLDDT MNVNIFESFK RADIYSVGLV

[0528] 241 YWEIARRCSV GGIVEEYQLP YYDMVPSDPS IEEMRKVVCD QKFRPSIPNQ WQSCEALRVM

[0529] 301 GRIMRECWYA NGAARLTALR IKKTISQLCV KEDCKA (서열 식별 번호: 122)

[0530] 프로세싱된 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 4)의 아미노산 서열은 다음과 같다(서열 식별 번호: 127). ALK7 아이소폼 3과 마찬가지로, 이 아이소폼 4는 막경유 도메인이 결여되어 있고, 따라서 이 전체가 가용성인 것으로 제의된다(Roberts et al., 2003, Biol Reprod 68:1719-1726). 서열 식별 번호: 127의 N-말단 변이체는 아래에 기술된 대로 예측된다.

[0531] 1 ELSPLKVCV LLCSSNFTC QTEGACWASV MLTNGKEQVI KSCVSLPELN AQVFCHSSNN

[0532] 61 VTKTECCFTD FCNNITLHLP TDNGTWTQLW LVSEYHEQGS LYDYLNRNIV TVAGMIKLAL

[0533] 121 SIASGLAHLH MEIVGTQGKP AIAHRDIKSK NILVKKCETC AIADLGLAVK HDSILNTIDI

[0534] 181 PQNPKVGTKR YMAPEMLDDT MNVNIFESFK RADIYSVGLV YWEIARRCSV GGIVEEYQLP

[0535] 240 YYDMVPSDPS IEEMRKVVCD QKFRPSIPNQ WQSCEALRVM GRIMRECWYA NGAARLTALR

[0536] 301 IKKTISQLCV KEDCKA (서열 식별 번호: 127)

[0537] 프로세싱안된 ALK7 폴리펩티드 전구체 폴리펩티드 (아이소폼 4)를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호: 239

로 나타내며, 이는 NCBI 참조 서열 NM_001111033.1의 뉴클레오타이드 244-1244에 상응한다. 프로세싱된 ALK7 폴리펩티드 (아이소폼 4)를 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호: 240으로 나타낸다.

ATGACCCGGGCGCTCTGCTCAGCGCTCCGCCAGGCTCTCCTGCTGCTCGCAGCGG
CCGCCGAGCTCTCGCCAGGACTGAAGTGTGTATGTCTTTTGTGTGATTCTTCAA
 CTTTACCTGCCAAACAGAAGGAGCATGTTGGGCATCAGTCATGCTAACCAATGG
 AAAAGAGCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTC
 TTCTGTCATAGTTCCAACAATGTTACCAAAACCGAATGCTGCTTCACAGATTTTT
 GCAACAACATAACACTGCACCTTCCAACAGATAATGGAACCTGGACTCAACTTTG
 GCTGGTATCTGAATATCATGAACAGGGCTCCTTATATGACTATTTGAATAGAAAT
 ATAGTGACCGTGGCTGGAATGATCAAGCTGGCGCTCTCAATTGCTAGTGGTCTGG
 CACACCTTCATATGGAGATTGTTGGTACACAAGGTAAACCTGCTATTGCTCATCG
 AGACATAAAATCAAAGAATATCTTAGTGAAAAAGTGTGAAACTTGTGCCATAGC
 GGACTTAGGGTTGGCTGTGAAGCATGATTCAATACTGAACACTATCGACATACCT
 CAGAATCCTAAAGTGGGAACCAAGAGGTATATGGCTCCTGAAATGCTTGATGAT
 ACAATGAATGTGAATATCTTTGAGTCCTTCAAACGAGCTGACATCTATTCTGTTG
 GTCTGGTTTACTGGGAAATAGCCCGGAGGTGTTTCAGTCGGAGGAATTGTTGAGG
 AGTACCAATTGCCTTATTATGACATGGTGCCTTCAGATCCCTCGATAGAGGAAAT
 GAGAAAGGTTGTTTGTGACCAGAAGTTTCGACCAAGTATCCCAAACAGTGGA
 AAGTTGTGAAGCACTCCGAGTCATGGGGAGAATAATGCGTGAGTGTGGTATGC
 CAACGGAGCGGCCCGCCTAACTGCTCTTCGTATTAAGAAGACTATATCTCAACTT
 TGTGTCAAAGAAGACTGCAAAGCCTAA (서열 식별 번호: 239)

GAGCTCTCGCCAGGACTGAAGTGTGTATGTCTTTTGTGTGATTCTTCAAACCTTTAC
 CTGCCAAACAGAAGGAGCATGTTGGGCATCAGTCATGCTAACCAATGGAAAAGA
 GCAGGTGATCAAATCCTGTGTCTCCCTTCCAGAACTGAATGCTCAAGTCTTCTGT
 CATAGTTCCAACAATGTTACCAAAACCGAATGCTGCTTCACAGATTTTTGCAACA
 ACATAACACTGCACCTTCCAACAGATAATGGAACCTGGACTCAACTTTGGCTGGT
 ATCTGAATATCATGAACAGGGCTCCTTATATGACTATTTGAATAGAAATATAGTG
 ACCGTGGCTGGAATGATCAAGCTGGCGCTCTCAATTGCTAGTGGTCTGGCACACC
 TTCATATGGAGATTGTTGGTACACAAGGTAAACCTGCTATTGCTCATCGAGACAT
 AAAATCAAAGAATATCTTAGTGAAAAAGTGTGAAACTTGTGCCATAGCGGACTT
 AGGGTTGGCTGTGAAGCATGATTCAATACTGAACACTATCGACATACCTCAGAAT
 CCTAAAGTGGGAACCAAGAGGTATATGGCTCCTGAAATGCTTGATGATACAATG
 AATGTGAATATCTTTGAGTCCTTCAAACGAGCTGACATCTATTCTGTTGGTCTGGT
 TTAGTGGGAAATAGCCCGGAGGTGTTTCAGTCGGAGGAATTGTTGAGGAGTACCA
 ATTGCCTTATTATGACATGGTGCCTTCAGATCCCTCGATAGAGGAAATGAGAAAG
 GTTGTGTTGTGACCAGAAGTTTCGACCAAGTATCCCAAACAGTGGAAGTTGTG
 AAGCACTCCGAGTCATGGGGAGAATAATGCGTGAGTGTGGTATGCCAACGGAG
 CGGCCCGCCTAACTGCTCTTCGTATTAAGAAGACTATATCTCAACTTTGTGTCAA
 AGAAGACTGCAAAGCCTAA (서열 식별 번호: 240)

랫에서 전장의 ALK7 (아이소폼 1)의 신호 서열 (NCBI 참조 서열 NP_620790.1 참고)을 기반으로, 그리고 인간과 랫의 ALK7 간의 서열 동일성이 높다는 점을 기초로 하여, 인간 ALK7 아이소폼 1의 프로세싱된 형태는 다음과 같은 것으로 예상된다 (서열 식별 번호: 128).

1 LKCVLLCDS SNFTCQTEGA CWASVMTNG KEQVIKSCVS LPELNAQVFC HSSNNVTKTE

- [0542] 61 CCFTDFCNNI TLHLPTASPN APKLGPM (서열 식별 번호: 128)
- [0543] 프로세싱된 ALK7 아이소폼 1의 활성 변이체는 서열 식별 번호: 123에서 N-말단에서 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 또는 7개의 아미노산이 절두되며, 서열 식별 번호: 128의 N-말단에서 1개 또는 2개 아미노산이 절두될 것으로 예측된다. 서열 식별 번호: 128과 일관되게, 인간 ALK7 아이소폼 3 (서열 식별 번호: 126) 및 인간 ALK7 아이소폼 4 (서열 식별 번호: 127)의 프로세싱된 형태에서 N-말단 아미노산은 류신일 것으로 추가 예측된다.
- [0544] 특정 구체예들에 있어서, 본 명세서는 최소한 하나의 ALK7 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체에 관계하며, 여기에는 이의 단편들, 기능성 변이체들 그리고 변형된 형태들이 포함된다. 바람직하게는 본 발명의 용도에 이용되는 ALK7 폴리펩티드들 (가령, ALK7 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체들과 이의 용도들)은 가용성 (가령, ALK7의 세포외 도메인)이다. 다른 바람직한 구체예들에서, 본 명세서에 따른 용도의 ALK7 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합한다. 따라서, 일부 바람직한 구체예들에서, 본 명세서에 따른 용도의 ALK7 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드의 활성 (예를 들자면, Smad 신호전달의 유도)을 억제 (길항)한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 이형다량체들은 서열 식별 번호: 120, 123, 124, 125, 121, 126, 122, 127, 128, 129, 255, 133, 및 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 적어도 하나의 ALK7 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 이형다량체는 서열 식별 번호: 120, 123, 124, 125, 121, 126, 122, 127, 128, 129, 255, 133, 및 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 적어도 하나의 ALK7 폴리펩티드로 구성되거나, 또는 필수적으로 구성된다.
- [0545] ALK7은 척추동물간에 잘-보존되며, 세포외 도메인의 큰 스트레치(stretches)는 완벽하게 보존된다. 예를 들면, 도 22는 다양한 ALK7 오르소로그(orthologs)와 비교하여 인간 ALK7 세포외 도메인의 다중-서열 배열을 도시한다. 따라서, 이들 배열로부터, ALK7-리간드 결합의 정상적 활성에 중요한 리간드 결합 도메인 안에 주요 아미노산 위치를 예측할 수 있을 뿐만 아니라, 정상 ALK7-리간드 결합 활성을 크게 변화시키지 않으면서 치환을 용인할 수 있는 아미노산 위치를 예측할 수 있다. 따라서, 본원에 개시된 방법에 따라 유용한 활성을 가진 인간 ALK7 변이체 폴리펩티드는 다른 척추 동물 ALK7의 서열의 상응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산을 포함할 수 있거나, 또는 인간 또는 다른 척추 동물 서열에서와 유사한 잔기를 포함 할 수 있다. 다음 실시예들은 활성 ALK7 변이체를 정의하는 접근법을 설명하지만, 이에 제한하고자 함은 아니다. 인간 ALK7 세포외 도메인 (서열 식별 번호: 425)에서 V61은 *칼리트릭스 야쿠스(Callithrix jacchus)* ALK7 (서열 식별 번호: 428)에서 이소류이신이며, 따라서 이 위치는 임의선택적으로 또다른 소수성 잔기, 이를 테면, L, I, 또는 F, 또는 비-극성 잔기, 이를 테면, A로 변경될 수 있다. 인간 세포외 도메인에서 L32는 *타르시우스 시리차(Tarsius syrichta)* (서열 식별 번호: 429) ALK7에서 R이며, 이것은 이 부위가 극성 잔기들, 이를 테면, E, D, K, R, H, S, T, P, G, Y, 그리고 아마도 비-극성 잔기, 이를 테면, A를 비롯한 광범위한 변화에 내성이 있을 수 있음을 나타낸다. 인간 세포외 도메인에서 K37은 *판 트로글로디테스(Pan troglodytes)* ALK7 (서열 식별 번호: 426)에서 R이며, 이는 R, K, 및 H를 비롯한 염기성 잔기가 이외처에서 용인됨을 나타낸다. 인간 세포외 도메인에서 P4는 상대적으로 덜 보존되며, 이는 *판 트로글로디테스(Pan troglodytes)* ALK7에서 A로 나타나고, 이로써 광범위한 범위의 아미노산이 이 위치에서 용인되어야 함을 나타낸다.
- [0546] 더욱이, ALK7 단백질들은 구조적 및 기능적 특징에 관해 특징 지워져 왔다 [예를 들자면, Romano et al (2012) Journal of Molecular Modeling 18(8): 3617-3625]. 예를 들면, 3 개의 핑거-톡신 폴드(three-finger toxin fold)로 알려진 구조적 모티프는 타입 I 및 타입 II 수용체에 의한 리간드 결합에 중요하며, 각각의 단량체 수용체의 세포외 도메인 안에 다양한 위치에 보존된 시스테인 잔기에 의해 형성된다 [Greenwald 등, (1999) Nat Struct Biol 6:18-22; 그리고 Hinck (2012) FEBS Lett 586:1860-1870]. 따라서, 이러한 보존된 시스테인의 가장 바깥쪽에 의해 경계가 표시되는 인간 ALK7의 코어 리간드-결합 도메인은 서열 식별 번호: 120의 위치28-92 위치에 상응한다. 따라서, 이러한 시스테인으로 경계가 표시되는 코어 서열에 인접한 구조적으로 덜 규칙적인 아미노산은 반드시 리간드 결합을 바꾸지 않고도 N-말단에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 또는 27개 잔기, 그리고 C-말단에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 21개 잔기가 절두될 수 있다. N-말단 및/또는 C-말단 절두용 예시적인 ALK7 세포외 도메인에는 서열 식별 번호: 123, 125, 126, 및 127가 내포된다.
- [0547] 이와 함께, ALK7의 일반적인 활성 부분(가령, 리간드-결합 부분)은 서열 식별 번호: 120의 아미노산 28-92를 포함한다. 따라서, ALK7 폴리펩티드는 예를 들면, 서열 식별 번호: 120의 아미노산 20-28중 임의의 하나 (가령, 아미노산 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 또는 28중 임의의 하나에서 시작하고) 그리고 서열 식별 번호: 120

의 아미노산 92-113중 임의의 하나에 상응하는 위치에서 끝나는 (가령, 아미노산 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 또는 113중 임의의 하나에서 끝나는) ALK7의 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 기본적으로 구성되거나, 또는 구성된다.

[0548] 다른 예로는 서열 식별 번호: 120의 위치 21-28 (예를 들자면, 위치 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 또는 28), 24-28 (예를 들자면, 위치 24, 25, 26, 27, 또는 28중 임의의 하나), 또는 25-28 (예를 들자면, 위치 25, 26, 27, 또는 28중 임의의 하나)에서 시작하고, 서열 식별 번호: 120중 위치 93-112 (예를 들자면, 위치 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 또는 112중 임의의 하나), 93-110 (예를 들자면, 위치 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 또는 110중 임의의 하나, 93-100 (예를 들자면, 위치 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100중 임의의 하나), 또는 93-95 (예를 들자면, 위치 93, 94, 또는 95중 임의의 하나)에서 끝나는 구조체들이 내포된다. 이 범위 안에 변이체들, 특히, 서열 식별 번호: 120의 대응하는 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 변이체들이 특히 고려된다.

[0549] 본 명세서에 설명된 변형은 다양한 방식으로 결합될 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, ALK7 변이체는 리간드-결합 포켓 안에 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 15개의 보존 아미노산을 포함한다. 가변성이 특히 잘 용인될 수 있는 결합 포켓 외부의 위치는 세포외 도메인의 아미노 및 카르복시 말단 (상기 언급 한 바와 같음)을 포함한다.

[0550] F)폴리스테틴 폴리펩티드

[0551] 다른 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제는 폴리스테틴 폴리펩티드이다. 본원에서 기술된 바와 같이, 폴리스테틴 폴리펩티드는 심부전(예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 이용될 수 있고, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 심부전-연합된 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 이용될 수 있다.

[0552] 용어 "폴리스테틴 폴리펩티드"에는 임의의 자연 발생적 폴리스테틴 폴리펩티드, 뿐만 아니라 유용한 활성을 유지하는 임의의 이의 변이체들 (돌연변이체, 단편, 융합 및 펩티드모방체 형태 포함)이 내포된 폴리펩티드이며, 임의의 기능성 폴리스테틴 단량체 또는 다량체가 더 내포된다. 특정 바람직한 구체예들에서, 폴리스테틴 드본 명세서의 폴리펩티드는 액티빈, 구체적으로 액티빈 A에 결합하고 및/또는 이의 활성을 억제한다. 액티빈 결합 성질을 유지하는 폴리스테틴 폴리펩티드 변이체들은 폴리스테틴 및 액티빈 상호작용과 관련된 기존 연구에 근거하여 동정될 수 있다. 예를 들면, WO2008/030367은 액티빈 결합에 중요한 것으로 보이는 특이적 폴리스테틴 도메인 ("FSDs")을 공개한다. 하기 서열 식별 번호: 392-394에 나타난 바와 같이, 폴리스테틴 N-말단 도메인 ("FSND" 서열 식별 번호: 392), FSD2 (서열 식별 번호: 394), 그리고 다소 약한 FSD1 (서열 식별 번호: 393)은 액티빈 결합에 중요한 폴리스테틴 안에 있는 예시적인 도메인을 나타낸다. 또한, 폴리펩티드 라이브러리를 만들고 테스트하는 방법은 ActRII 폴리펩티드 관련 내용에서 설명되며, 이러한 방법들 또한 폴리스테틴의 변이체를 만들고, 테스트하는 방법에 속한다. 폴리스테틴 폴리펩티드는 폴리스테틴 폴리펩티드의 서열에 최소한 약 80% 동일한, 그리고 임의선택적으로 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 동일성을 갖는 임의의 공지의 폴리스테틴 서열로부터 유도된 폴리펩티드를 포함한다. 폴리스테틴 폴리펩티드의 예로는 예를 들면, WO2005/025601에서 설명된 인간 폴리스테틴 전구체 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 390)의 성숙 폴리스테틴 폴리펩티드 또는 더 짧은 아이소폼 또는 다른 변이체들을 포함한다.

[0553] 인간 폴리스테틴 전구체 폴리펩티드 아이소폼 FST344는 다음과 같다:

[0554] 1 MVRARHQPGG LCLLLLLLCQ FMEDRSAQAG NCWLRQAKNG RCQVLYKTEL

[0555] 51 SKECCSTGR LSTSWTEEDV NDNTLFKMMI FNGGAPNCIP CKETCENVDC

[0556] 101 GPGKKCRMNK KNKPRVCAP DCSNITWKGK VCGLDGKTYR NECALLKARC

[0557] 151 KEQPELEVQY QGRCKKTCRD VFCPGSSTCV VDQTNNAVCV TCNRICPEPA

[0558] 201 SSEQYLCGND GVTYSSACHL RKATCLLGRS IGLAYEGKCI KAKSCEDIQC

- [0559] 251 TGGKKCLWDF KVGRGRCSLC DELCPDSKSD EPVCASDNAT YASECAMKEA
- [0560] 301 ACSSGVLLEV KHSGSCNSIS EDTEEEEDE DQDYSFPISS ILEW
- [0561] (서열 식별 번호: 390; NCBI 참조 번호: NP_0375411)
- [0562] 상기 신호 펩티드는 밑줄로 표시되며; 또한 상기 밑줄은 하기에 나타낸 더 짧은 폴리스테틴 아이소폼으로부터 이 폴리스테틴 아이소폼을 구별시키는 C-말단 연장을 나타내는 마지막 27개 잔기다.
- [0563] 인간 폴리스테틴 전구체 폴리펩티드 아이소폼 FST317은 다음과 같다:
- [0564] 1 MVRARHQPVG LLLLLLLCQ FMEDRSAQAG NCWLRQAKNG RCQVLYKTEL
- [0565] 51 SKEECCSTGR LSTSWTEEDV NDNTLFKWWI FNGGAPNCIP CKETCENVDC
- [0566] 101 GPGKKCRMNK KNKPRVCAP DCSNITWKGK VCGLDGKTYR NECALLKARC
- [0567] 151 KEQPELEVQY QGRCKKTCRD VFPCGSSTCV VDQTNNAVCV TCNRICPEPA
- [0568] 201 SSEQYLCGND GVTYSSACHL RKATCLLGRS IGLAYEGKCI KAKSCEDIQC
- [0569] 251 TGGKKCLWDF KVGRGRCSLC DELCPDSKSD EPVCASDNAT YASECAMKEA
- [0570] 301 ACSSGVLLEV KHSGSCN (서열 식별 번호: 391; NCBI 참조 번호: NP_006341.1)
- [0571] 상기 신호 펩티드는 밑줄로 표시된다.
- [0572] 상기 폴리스테틴 N-말단 도메인 (FSND) 서열은 다음과 같다:
- GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDN
TLFKWMIFNGGAPNCIPCK (서열 식별 번호: 392; FSND)
- [0573]
- [0574] FSD1 및 FSD2 서열은 다음과 같다:
- [0575] ETCENVDCGPGKKCRMNKNKPRCV (서열 식별 번호: 393; FSD1)
- [0576] KTCRDVFPCGSSTCVVDQTNNAVCV (서열 식별 번호: 394; FSD2)
- [0577] **G) 융합 폴리펩티드**
- [0578] 특정 측면들에서, 본 명세서는 융합 폴리펩티드인 ActRII-ALK4 길항제를 제공한다. 상기 융합 폴리펩티드는 본원에 개시된 또는 당업계에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있다.
- [0579] 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 상기 융합 폴리펩티드 중 임의의 것은 다음 성분들을 포함한다: a) 본원에 기술된 임의의 폴리펩티드 (“A”) (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), b) 본원에 기술된 임의의 링커들 (“B”), c) 본원에 기술된 임의의 이중성 부분 (“C”) (예를 들자면, Fc 면역 글로불린 도메인), 및 임의선택적으로 리더 서열 (“X”) (예를 들자면, 조직 플라스미노겐 활성화제 리더 서열). 이러한 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 배열될 수 있다 (N-말단에서 C-말단으로): A-B-C 또는 C-B-A. 이러한 구체예에서, 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 배열될 수 있다 (N-말단에서 C-말단으로): X-A-B-C 또는 X-C-B-A. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 각각 A, B 및 C (그리고 임의선택적으로 리더 서열)를 포함하고, 100개, 90개, 80개, 70개, 60개, 50개, 40개, 30개, 20개, 10개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개를 넘지 않는 추가 아미노산을 포함한다 (그러나, 해독-후 변형들, 이를 테면, 당화가 내포될 수 있다).
- [0580] 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-A-B-C, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 A 사이에 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 아미노산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-C-B-A, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 A 사이에 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 아미노산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-A-B-C, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 A 사이에 알라닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-C-B-A, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 C 사이에 알라닌을 포함한다. 일부 구체예들에서,

상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-A-B-C, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 A 사이에 글리신과 알라닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-C-B-A, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 C 사이에 글리신과 알라닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-A-B-C, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 A 사이에 트레오닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-C-B-A, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 X와 C 사이에 트레오닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-A-B-C, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 A와 B 사이에 트레오닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 융합 폴리펩티드는 다음과 같은 방식으로 위치한 리더 서열을 포함하고 (N-말단에서 C-말단으로): X-C-B-A, 그리고 상기 융합 폴리펩티드는 C와 B 사이에 트레오닌을 포함한다.

[0581] 특정 측면들에서, 본 명세서의 융합 폴리펩티드들은 ActRII-ALK4 리간드 트랩 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 적어도 일부분과 하나 또는 그 이상의 이중성 부분 (예를 들자면, 면역글로불린 Fc 도메인), 그리고 임의선택적으로 ActRII-ALK4 리간드 트랩 도메인과 상기 하나 또는 그 이상의 이중성 부분 사이에 위치한 하나 또는 그 이상의 링커 도메인 서열을 포함한다. 이러한 이중성 부분의 잘 알려진 예로는 폴리히스티딘, Glu-Glu, 글루타티온 S 전달효소 (GST), 티오레독신, 단백질 A, 단백질 G, 면역글로불린 중쇄 불변 영역 (Fc), 말토즈 결합 단백질 (MBP), 또는 인간 혈청 알부민을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0582] 이중성 부분은 원하는 특성을 부여하도록 선택될 수 있다. 예를 들면, 일부 이중성 부분은 친화력 크로마토그래피에 의한 융합 단백질의 단리에 특히 유용하다. 친화력 정제를 목적으로, 친화력 크로마토그래피를 위한 관련 매트릭스, 이를 테면 글루타티온-, 아밀라제-, 및 니켈- 또는 코발트-접합된 수지가 이용된다. 이러한 매트릭스 중 많은 것들이 '키트' 형태로 이용가능한데, 이를 테면 Pharmacia GST 정제 시스템 및 (HIS₆) 융합 짝과 함께 유용한 QIAexpressTM 시스템(Qiagen)이 있다. 또다른 예로써, 이중성 부분은 상기 TβRII 폴리펩티드의 탐지를 용이하게 하기 위하여 선택될 수 있다. 이러한 탐지 도메인의 예로는 다양한 형광 단백질 (가령, GFP) 뿐만 아니라 “에피토프 태그”를 포함하는데, 특이적 항체가 이용가능한 짧은 펩티드 서열이 일반적이다. 특정 단클론 항체에 용이하게 이용되는 잘 공지된 에피토프 태그는 FLAG, 인플루엔자 바이러스 헤마글루티닌 (HA), 및 c-myc 태그를 포함한다. 일부 경우에서 상기 이중성 부분은 프로테아제 절단 부위, 이를 테면, 인자(인자) Xa 또는 트롬빈에 대한 절단부위를 가지고, 이에 의해 관련 프로테아제가 이 융합 단백질을 부분적으로 절단하고, 이로 인하여 이로부터 재조합 단백질이 유리된다. 유리된 단백질은 후속 크로마토그래피 분리에 의해 상기 이중성 부분으로부터 분리될 수 있다.

[0583] 특정 바람직한 구체예들에서, ActRII-ALK4 리간드 트랩 도메인 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)은 임의선택적으로 개입된 링커 도메인과 함께 생체내에서 ActRII-ALK4 리간드 트랩 도메인을 안정화시키는 이중성 도메인 (“안정화체” 도메인)에 융합된다. 일반적으로 “안정화 (stabilizing)”란 파괴 감소, 신장의 제거 감소 또는 약물의 다른 약물동태(pharmacokinetic) 효과로 인한 것인 지에 무관하게, 혈청 반감기를 증가시키는 임의의 것을 의미한다. 면역글로불린의 Fc 도메인과의 융합 폴리펩티드는 광범위한 단백질에 바람직한 약물 동태 학적 성질을 부여하는 것으로 알려져 있다. 유사하게, 인간 혈청 알부민과의 융합은 바람직한 성질을 부여 할 수 있다. 선택될 수 있는 다른 유형의 이중성 부분은 다량체화 (예를 들어, 이량체화, 사량체화) 도메인 및 기능성 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 안정화 도메인은 멀티머화 도메인, 예를 들어, Fc 면역글로불린 도메인을 비롯한 다중기능성 도메인으로서 기능할 수 있다. Fc 면역글로불린 도메인 및 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 트랩 도메인을 포함하는 Fc-융합 폴리펩티드들의 다양한 예시들이 본 명세서를 통하여 기술된다.

[0584] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 융합 폴리펩티드들에는 N-말단에 임의의 각종 리더 서열들이 추가적으로 내포될 수 있다. 이러한 서열은 펩티드가 진행 생물 시스템에서 발현되고, 분비 경로로 표적화될 수 있게 한다. 예를 들자면, Ernst et al., U.S. 특허 5,082,783 (1992) 참고. 대안으로, 토종 신호 서열을 이용하여 상기 세포로부터의 압출을 수행할 수 있다. 가능한 리더 서열에는 토종 리더, 조직 플라스미노겐 활성인자(TPA) 및 풀벌렐리틴 (차레로, 서열 식별 번호: 379, 9, 8, 및 7)이 내포된다. TPA 리더 서열이 통합된 융합 폴리펩티드들의 예시에는 서열 식별 번호: 6, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 51, 88, 92, 129, 133, 247, 276, 279, 333, 336, 339, 342, 345, 348, 351, 354, 381, 396, 402, 및 406이 내포된다. 신호 펩티드의 프로세싱은 다른 변수들 중에서 선택된 리더 서열, 사용된 세포 유형 및 배양 조건에 따라 다를 수 있고, 따라서 성숙 (예를 들자면,

ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드) 폴리펩티드의 실제 N-말단 시작 부위는 N-말단 또는 C-말단 방향으로 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 이동될 수 있다.

[0585] 바람직한 융합 폴리펩티드들은 다음중 임의의 것에서 제시된 아미노산 서열을 포함한다: 5, 6, 12, 31, 33, 34, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 54, 55, 88, 89, 92, 93, 129, 130, 133, 134, 247, 249, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 378, 380, 381, 385, 396, 398, 401, 402, 403, 406, 408, 및 409.

[0586] I. 다량체화 도메인

[0587] 특정 측면 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 적어도 하나의 다량체화 도메인을 포함한다. 본 명세서에서 공개된 바와 같이, 용어 “다량체화 도메인(multimerization domain)”은 최소한 제 1 폴리펩티드와 최소한 제 2 폴리펩티드 사이에 공유 또는 비-공유 상호작용을 촉진시키는 아미노산 또는 아미노산 서열을 지칭한다. 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 다량체화 도메인에 공유적 또는 비-공유적으로 결합될 수 있다. 일부 구체예들에서, 다량체화 도메인은 이형다량체 형성 (가령, 이형이량체 형성)을 촉진시키고, 임의선택적으로 동형다량체 형성 (가령, 동형이량체 형성)을 방해 또는 그렇지 않으면 이의 형성을 선호하지 않고, 이로 인하여 원하는 이형다량체가 증가되도록 하기 위하여, 제 1 폴리펩티드 (가령, ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드)와 제 2 폴리펩티드 (가령, ALK4 폴리펩티드 또는 ALK7 폴리펩티드) 간의 상호작용을 촉진시킨다(가령, 도 8B 참고). 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 공유적 상호작용을 통하여 이형이량체를 형성한다. 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 공유적 상호작용을 통하여 이형이량체를 형성한다. 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 공유적 상호작용과 비-공유적 상호작용 모두를 통하여 이형이량체를 형성한다. 일부 구체예들에서, 다량체화 도메인은 제 1 폴리펩티드와 제 2 폴리펩티드 간에 상호작용을 촉진시켜 동종다량체 형성을 촉진시키고, 및 임의선택적으로 이형다량체 형성을 방해 또는 그렇지 않으면 이의 형성을 선호하지 않고, 이로 인하여 원하는 동형다량체의 수율이 증가한다. 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 동형이량체들을 형성시킨다. 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 공유적 상호작용을 통하여 동형이량체들을 형성한다. 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 비-공유적 상호작용을 통하여 동형이량체들을 형성한다. 일부 구체예들에서, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)는 공유적 상호작용과 비-공유적 상호작용 모두를 통하여 동형이량체를 형성한다.

[0588] 특정 측면들에 있어서, 다량체화 도메인은 상호작용 쌍의 하나의 성분을 포함할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 폴리펩티드는 제 1 폴리펩티드 및 이에 공유적으로 또는 비-공유적으로 연합된 제 2 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 복합체를 형성할 수 있고, 이때 상기 제 1 폴리펩티드는 제 1 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)의 아미노산 서열과 상호작용 쌍의 제 1 구성원 (예를 들자면, 제 1 면역글로불린 Fc 도메인)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고 상기 제 2 폴리펩티드는 제 2 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)의 아미노산 서열과 상호작용 쌍의 제 2 구성원 (예를 들자면, 제 2 면역글로불린 Fc 도메인)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 폴리펩티드들은 제 2 폴리펩티드와 공유 또는 비-공유적으로 연합된 제 1 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 복합체를 형성할 수 있으며, 이때 제 1 폴리펩티드는 ActRIIA 폴리펩티드와 상기 상호작용 쌍(pair)의 제 1 구성요소의 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 제 2 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 또는 ALK7 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상기 상호작용 쌍의 제 2 구성요소의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 폴리펩티드들은 제 2 폴리펩티드와 공유 또는 비-공유적으로 연합된 제 1 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 복합체를 형성할 수 있으며, 이때 제 1 폴리펩티드는 ActRIIB 폴리펩티드와 상기 상호작용 쌍(pair)의 제 1 구성요소의 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 제 2 폴리펩티드는 ALK4 폴리펩티드 또는 ALK7 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상기 상호작용 쌍의 제 2 구성요소의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 상호작용 쌍은 이형이량체의 또는 동형이량체의 복합체들 간에, 이량체 복합체를 형성하기 위해 상호작용하는 임의의 두 개 폴리펩티드 서열일 수 있다. 개선된 성질/활성 이를 테면, 증가된 혈청 반감기를 부여하거나, 또는 개선된 성질/활성을 제공하기 위하여 또다른 모이어티가 부착된 어댑터로 작용하는 상호작용 쌍이 선택될 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜

모이어티 또는 당화 모이어티는 개선된 성질/활성, 이를 테면 개선된 혈청 반감기를 제공하기 위하여 상호작용 쌍의 한 성분 또는 양쪽 성분에 부착될 수 있다.

[0589] 상호작용 쌍의 제 1 구성요소 및 제 2 구성요소는 비대칭 쌍일 수도 있는데, 이것은 구성요소들이 자가-연합보다는 서로 선호적으로 연합된다는 것을 의미한다. 따라서, 비대칭 상호작용 쌍의 제 1 및 제 2 구성요소들은 이형이량체 복합체를 만들 수 있다. (가령, 도 8B 참고). 대안으로, 상호작용 쌍은 비-유도될 수 있는데, 이것은 상기 쌍의 구성원들이 실제적인 선호 없이 서로 연관되거나 또는 자가-연관될 수 있고, 그리고 따라서, 동일하거나 상이한 아미노산 서열을 가질 수 있다는 것을 의미한다 (가령, 도 8A 참고). 따라서, 비유도된 상호작용 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 연관하여 동종이합체성 복합체 또는 이형이합체성 복합체를 형성할 수 있다. 임의선택적으로, 상호작용 쌍(가령, 비-대칭 쌍 또는 비-유도 상호작용 쌍)의 제 1 구성 요소는 상호작용 쌍의 제 2 구성요소와 공유적으로 연합한다. 임의선택적으로, 상호작용 쌍(가령, 비-대칭 쌍 또는 비-유도 상호작용 쌍)의 제 1 구성 요소는 상호작용 쌍의 제 2 구성요소와 비-공유적으로 연합한다. 특정 바람직한 구체예들에서, 본원에 기술된 폴리펩티드는 이형이량체 또는 동형이량체 복합체를 형성하고, 비록 더 높은 차수의 이형다량체와 동형다량체 복합체, 이를 테면, 이형삼량체, 동형삼량체, 이형사량체, 동형사량체, 및 더 나아가 올리고머 구조들이 내포된, 그러나 이에 국한되지 않는, 복합체들이 내포될 수 있다(예를 들자면, 도 11-13을 참고, ActRII-ALK4 및 ActRII-ALK7 올리고머 구조 모두에도 또한 적용될 수 있다).

[0590] IaFc-융합 단백질

[0591] 다량체화 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드의 특이적 실시예로써, 본 명세서는 면역글로불린의 불변 도메인, 이를 테면, 면역글로불린의 CH1, CH2, 또는 CH3 도메인 또는 면역글로불린 Fc 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 융합된 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "면역 글로불린 Fc 도메인" 또는 간단히 "Fc"는 면역 글로불린쇄 불변 영역, 바람직하게는 면역 글로불린 중쇄 불변 영역의 카르복시-말단 부분, 또는 그의 일부분을 의미하는 것으로 이해된다. 예를 들면, 면역글로블린 Fc 영역은 1) CH1 도메인, CH2 도메인, 그리고 CH3 도메인, 2) CH1 도메인 및 CH2 도메인, 3) CH1 도메인 및 CH3 도메인, 4) CH2 도메인 및 CH3 도메인, 또는 5) 2개 또는 그 이상의 도메인과 면역글로블린 힌지 영역의 조합을 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에서, 상기 면역글로블린 Fc 영역은 최소한 면역글로블린 힌지 영역 CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하고, 그리고 바람직하게는 CH1 도메인이 결여된다. 일부 구체예들에서, 상기 면역글로블린 Fc 영역은 인간 면역글로블린 Fc 영역이다. 일부 구체예들에서, 상기 중쇄 불변 영역이 유도된 면역글로블린의 클래스는 IgG (Ig γ) (Ig γ 서브클래스 1, 2, 3, 또는 4)이다. 특정 바람직한 구체예들에서, 상기 불변 영역은 IgG1로부터 유래된다. 다른 클래스의 면역글로블린, IgA (Ig α), IgD (Ig δ), IgE (Ig ϵ) 및 IgM (Ig μ)이 이용될 수 있다. 적절한 면역글로블린 중쇄 불변 영역의 선택은 U.S. 특허 5,541,087 및 5,726,044 (이의 전문이 본원의 참고자료에 편입됨)에서 논의된다. 특정 결과를 달성하기 위해, 특정 면역글로블린 클래스 및 서브 클래스로부터 특정 면역글로블린 중쇄 불변 영역 서열의 선택은 당업자의 수준 내에 있는 것으로 간주된다. 일부 구체예들에서, 상기 면역글로블린 Fc 영역을 인코딩하는 DNA 구조체의 일부분은 바람직하게는 힌지 도메인의 최소한 일부분을 포함하고, 그리고 바람직하게는 Fc 감마의 CH3 도메인의 최소한 일부분 또는 임의의 IgA, IgD, IgE, 또는 IgM에 있는 상동성 도메인을 포함한다. 또한, 면역글로블린 중쇄 불변 영역 내의 아미노산의 치환 또는 결실이 본원에 개시된 방법 및 조성물의 실시예에 유용할 수 있는 것으로 고려된다. 하나의 예는 상부 CH2 영역에 아미노산 치환을 도입하여 Fc 수용체에 대한 친화력 감소된 Fc 변이체를 생성하는 것이다(Cole et al. (1997) J. Immunol. 159:3613). 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4로부터 유도된 Fc 도메인이 본 명세서에서 제공된다.

[0592] 인간 IgG1의 Fc 부분(G1Fc)에 이용될 수 있는 고유한 아미노산 서열은 하기에 예시된다 (서열 식별 번호: 13). 점선은 힌지 영역을 나타내며, 직선은 자연 발생적 변이체를 갖는 위치를 나타낸다. 부분적으로, 본 명세서는 서열 식별 번호:13에 대하여 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성되는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다.

[0593] G1Fc에서 자연 발생적 변이체는 서열 식별 번호: 13에서 이용된 넘버링 체계에 따라 E134D 및 M136L을 포함할 수 있다(Uniprot P01857 참고).

```

1  THTCPPCPAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
51  VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF
151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV
201 FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 13)

```

[0594]

[0595]

일부 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 13의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 하나 또는 그 이상의 Fc 폴리펩티드 도메인에 융합된 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 도메인 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드 도메인), including 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 동형다량체들 (예를 들자면, 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, 예를 들면, ActRIIA:ALK4, ActRIIB:ALK4, ActRIIA:ALK7, 및 ActRIIB:ALK7 이형이량체를 비롯한 이형이량체들)을 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0596]

인간 IgG2 의 Fc 부분(G2Fc)에 이용될 수 있는 고유한 아미노산 서열은 하기에 예시된다 (서열 식별 번호: 14). 점선은 힌지 영역을 나타내며, 이중 밑줄은 이 서열에서 데이터 베이스가 충돌하는 위치를 나타낸다 (UniProt P01859). 부분적으로, 본 명세서는 서열 식별 번호:14에 대하여 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성되는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다.

```

1  VECPPCPAPP VAGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVQ
51  FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLTVVHQDWL NGKEYKCKVS
101 NKGLPAPIEK TISKTKGQPR EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP
151 SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPMLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS
201 CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK (서열 식별 번호: 14)

```

[0597]

[0598]

일부 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 하나 또는 그 이상의 Fc 폴리펩티드 도메인에 융합된 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 도메인 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드 도메인), including 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 동형다량체들 (예를 들자면, 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, 예를 들면, ActRIIA:ALK4, ActRIIB:ALK4, ActRIIA:ALK7, 및 ActRIIB:ALK7 이형이량체를 비롯한 이형이량체들)을 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0599]

인간 IgG3의 Fc (G3Fc)부분에 이용될 수 있는 2가지 예시 아미노산 서열을 하기에 나타낸다. G3Fc의 힌지 영역은 다른 Fc쇄의 길이의 최대 4배가 될 수 있고, 유사한 17개-잔기 세그먼트를 앞세우고, 3개의 동일한 15개-잔기 세그먼트를 포함한다. 하기에 나타낸 제 1 G3Fc 서열(서열 식별 번호: 15)은 단일 15개-잔기 세그먼트로 구성된 짧은 힌지 영역을 포함하며, 반면 제2 G3Fc 서열 (서열 식별 번호: 16)은 전장 힌지 영역을 포함한다. 각 경우에서, 점선은 힌지 영역을 나타내며, 직선은 UniProt P01859에 따른 자연 발생적 변이체를 갖는 위치를 나타낸다. 부분적으로, 본 명세서는 서열 식별 번호:15에 대하여 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성되는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다. 부분적으로, 본 명세서는 서열 식별 번호:16에 대하여 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성되는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다.

1 EPKSCDTPPP CPRCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
51 VSHEDPEVQF KQYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTFRVSV LTVLHQDWLN
101 GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKTGQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL
151 TCLVKGFYPS DIAVEWESSG QPENNYNTTP PMLDSDGSFF LYSKLTVDKS
201 RWQQGNIFSC SVMHEALHNR FTQKSLSLSP GK (서열 식별 번호: 15)

[0600]

1 ELKTPLGDDT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK
51 SCDTPPPCPR CPAPELLGGP SVFLFPPKPK DTLISRTPPE VTCVVVDVSH
101 EDPEVQFKWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TFRVSVLTV LHQDWLNGKE
151 YKCKVSNKAL PAPIEKTISK TKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL
201 VKGFYPSDIA VEWESSGQPE NNYNTTPPML DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ
251 QGNIFSCSVM HEALHNRFTQ KSLSLSPGK (서열 식별 번호: 16)

[0601]

[0602]

G3Fc (예를 들면, Uniprot P01860)에서 자연 발생적 변이체들은 서열 식별 번호: 15에 이용된 넘버링 체계로 전환될 때 E68Q, P76L, E79Q, Y81F, D97N, N100D, T124A, S169N, S169del, F221Y를 포함하며, 본 명세서는 이들 변이중 하나 또는 그 이상을 함유하는 G3Fc 도메인이 포함된 융합 폴리펩티드를 제공한다. 또한, 인간 면역글로불린 IgG3 유전자 (*IGHG3*)는 상이한 힌지 길이에 의해 특징화되는 구조적 다형성을 나타낸다[Uniprot P01859]. 특히, 변이체 WIS는 대부분의 V 영역과 모든 CH1 영역이 부족하다. 힌지 영역에 정상적으로 존재하는 11개에 추가하여 위치 7에 여분의 쇠간 이황화결합이 있다. 변이체 ZUC는 대부분의 V 영역, 모든 CH1 영역, 그리고 일부 힌지가 부족하다. 변이체 OMM은 대립형질 형태 또는 또다른 감마 쇠 하위부류를 나타낼 수 있다. 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 이들 변이체를 함유하는 G3Fc 도메인이 포함된 추가적인 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0603]

일부 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 하나 또는 그 이상의 Fc 폴리펩티드 도메인에 융합된 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 도메인 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드 도메인), including 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 동형다량체들 (예를 들자면, 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, 예를 들면, ActRIIA:ALK4, ActRIIB:ALK4, ActRIIA:ALK7, 및 ActRIIB:ALK7 이형이량체를 비롯한 이형이량체들)을 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0604]

일부 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 하나 또는 그 이상의 Fc 폴리펩티드 도메인에 융합된 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 도메인 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드 도메인), including 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 동형다량체들 (예를 들자면, 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, 예를 들면, ActRIIA:ALK4, ActRIIB:ALK4, ActRIIA:ALK7, 및 ActRIIB:ALK7 이형이량체를 비롯한 이형이량체들)을 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0605]

인간 IgG4 (G4Fc)의 Fc 부분에 이용될 수 있는 고유한 아미노산 서열은 하기에 예시된다 (서열 식별 번호: 17). 점선은 힌지 영역을 나타낸다. 부분적으로, 본 명세서는 서열 식별 번호: 17에 대하여 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성되는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다.

1 ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLISRTPPE VTCVVVDVSQ
51 EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVSVLTV LHQDWLNGKE
101 YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL
151 VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ
201 EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (서열 식별 번호: 17)

[0606]

[0607]

일부 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 17의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 하나 또는 그 이상의 Fc 폴리펩티드 도메인에 융합된 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 도메인 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK4, 및 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다.

틴 폴리펩티드 도메인), including 이의 변이체들, 뿐만 아니라 이의 동형다량체들 (예를 들자면, 동형이량체들) 및 이형다량체들 (예를 들자면, 예를 들면, ActRIIA:ALK4, ActRIIB:ALK4, ActRIIA:ALK7, 및 ActRIIB:ALK7 이형이량체를 비롯한 이형이량체들)을 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0608]

Fc 도메인 안에 다양하게 조작된 돌연변이는 G1Fc 서열 (서열 식별 번호: 13)에 대하여 나타내며, G2Fc, G3Fc, 및 G4Fc에서 유사 돌연변이는 도 7에서 G1Fc와의 배열로부터 유도될 수 있다. 부등한 힌지 길이로 인해, 아이 소타입 정렬 (도 7)에 근거된 유사한 Fc 위치는 서열 식별 번호: 13, 14, 15, 및 17에서 상이한 아미노산 번호를 소유한다. 힌지, C_H2, 및 C_H3 영역 (가령, 서열 식별 번호: 13, 14, 15, 16, 또는 17)으로 구성된 면역글로불린 서열에서 주어진 아미노산 위치는 Uniprot 데이터베이스와 같이, IgG1 중쇄 불변 도메인 (C_H1, 힌지, C_H2, 및 C_H3 영역으로 구성됨) 전체를 포괄할 때, 동일한 위치가 아닌 상이한 번호로 확인될 것이라는 것을 또한 인지할 수 있을 것이다. 예를 들면, 인간 G1Fc 서열 (서열 식별 번호: 13), 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 (Uniprot P01857), 및 인간 IgG1 중쇄에서 선택된 C_H3 위치 간의 대응성은 다음과 같다.

상이한 번호매김 시스템에서 C _H 3 위치에 상응		
G1Fc (힌지 영역에서 제 1 트레오닌에서 번호매김 시작)	IgG1 중쇄 불변 도메인 (C _H 1 에서 번호매김 시작)	IgG1 중쇄 (Kabat et al., 1991*의 EU 번호매김 계획)
Y127	Y232	Y349
S132	S237	S354
E134	E239	E356
K138	K243	K360
T144	T249	T366
L146	L251	L368
N162	N267	N384
K170	K275	K392
D177	D282	D399
D179	D284	D401
Y185	Y290	Y407
K187	K292	K409
H213	H318	H435
K217	K322	K439
* Kabat et al. (eds) 1991; pp. 688-696 in <i>Sequences of Proteins of Immunological Interest</i> , 5 th ed., Vol. 1, NIH, Bethesda, MD.		

[0609]

일부 구체예들에서, 본 명세서는 공작된 또는 변이체 Fc 영역들을 갖는 항체 및 Fc 융합 폴리펩티드들을 제공한다. 이러한 항체들 및 Fc 융합 단백질은 예를 들면, 작동체 기능, 이를 테면, 항원-의존성 세포독성 (ADCC) 및 보체-의존성 세포독성 (CDC) 조정에 유용할 수 있다. 추가적으로, 상기 변형은 상기 항체 및 Fc 융합 단백질의 안정성을 개선시킬 수 있다. 항체 및 Fc 융합 단백질의 아미노산 서열 변이체는 적절한 뉴클레오타이드 변화를 이 DNA에 도입시킴으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 만들어질 수 있다. 이러한 변이체들에는 예를 들면, 본원에서 기술된 항체 및 Fc 융합 단백질의 아미노산 서열로부터 결손, 및/또는 이들 아미노산 서열 안으로 삽입 및/또는 잔기의 치환이 내포된다. 만일 최종 구조체가 바람직한 특징을 보유한 다면, 최종 구조체에 결손, 삽입, 및 치환의 임의의 조합이 있을 수 있다. 상기 아미노산 변화는 상기 항체 및 Fc 융합 단백질의 해독-후 처리를 변경시킬 수 있는데, 이를 테면 당화 부위의 수 또는 위치를 또한 변경시킬 수 있다.

[0611]

작동체 기능이 감소된 항체 및 Fc 융합 단백질은 Bluestone et al., (WO 94/28027 및 WO 98/47531 참고; 또한 Xu et al. 2000 Cell Immunol 200; 16-26 참고)에 의해 기술 된 Ala-Ala 돌연변이를 포함하지만, 이에 제한되

지 않는 아미노산 서열의 변화를 도입함으로써 생성될 수 있다. 따라서, 특정 구체예에서, Ala-Ala 돌연변이를 포함하는 불변 영역 내에서 돌연변이를 갖는 본 명세서의 Fc 융합 단백질을 사용하여 작동체 기능을 감소 시키거나 또는 제거할 수 있다. 이들 구체예에 따르면, 항체 및 Fc 융합 단백질은 위치 234에서 알라닌으로의 돌연변이를, 또는 위치 235에서 알라닌으로의 돌연변이를, 또는 이의 조합을 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 항체 또는 Fc 융합 단백질은 IgG4 틀구조(framework)를 포함하고, 이때 Ala-Ala 돌연변이는 위치 234에서 페닐 알라닌으로부터 알라닌으로의 돌연변이 및/또는 위치 235에서 류신으로 알라닌으로의 돌연변이를 만들 것이다. 또다른 구체예에서, 상기 항체 또는 Fc 융합 단백질은 IgG1 틀구조를 포함하고, 이때 Ala-Ala 돌연변이는 위치 234에서 류신으로부터 알라닌으로의 돌연변이 및/또는 위치 235에서 류신으로 알라닌으로의 돌연변이를 만들 것이다. 이들 부위의 알라닌 치환은 인간 항체 및 무린 항체 모두에서 ADCC 감소에 효과적이지만, 이러한 치환은 CDC 활성 감소에는 덜 효과적이다. Fc의 C1q 결합 부위를 맵핑하기 위한 무작위 돌연변이유발 접근법에 의해 확인된 또 다른 단일 변이체 P329A는 한편으로 ADCC 활성을 유지하면서, CDC 활성 감소에 매우 효과적이다. L234A, L235A 및 P329A(LALA-PG, Kabat 위치) 치환의 조합은 인간 IgG1 항체의 작동체 기능을 효과적으로 침묵시키는 것으로 나타났다. LALA, LALA-PG 및 기타 돌연변이에 대한 자세한 내용은 Lo et al. (2017) 1 Biol. Chem. 292:3900-3908에 기술되어 있으며, 그 내용은 그 전문이 본원의 참고자료에 편입된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 Fc 융합 단백질은 중쇄 Fc 영역에 L234A, L235A, 및 P329G 돌연변이 (LALA-PG; Kabat 위치)를 포함한다. 상기 항체 또는 Fc 융합 단백질은 CH2 도메인 안에 점 돌연변이 K322A를 비롯한 다른 돌연변이를 대안으로 또는 추가적으로 휴대할 수 있다 (Hezareh et al. 2001 J Virol. 75: 12161-8).

[0612] 특정 구체예들에서, 상기 항체 또는 Fc 융합 단백질은 보체 의존성 세포독성 (CDC)를 강화시키거나, 또는 억제 시키도록 변형될 수 있다. 조정된 CDC 활성은 Fc 영역 안에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환, 삽입, 또는 결손을 도입시킴으로써 달성될 수 있다(가령, U.S. 특허 6,194,551). 대안으로 또는 추가적으로, 시스테인 잔기(들)는 Fc 영역으로 도입될 수 있고, 이로써 이 영역에서 쇠 사이 이황화 결합 형성이 허용될 수 있다. 따라서, 동형이량체 항체 또는 Fc 융합 단백질은 내화(internalization) 능력이 개선되거나 또는 감소될 수 있거나, 및/또는 보체-매개된 세포 사멸의 증가 및 감소를 가질 수 있다. Caron et al., J. Exp Med. 176:1191-1195 (1992) 및 Shopes, B. J. Immunol. 148:2918-2922 (1992), W099/51642, Duncan & Winter Nature 322: 738-40 (1988); U.S. 특허 번호 5,648,260; U.S. 특허 번호 5,624,821; 및 W094/29351 참고.

[0613] Ib이형다량체

[0614] 본원에서 기술된 바와 같이, ActRIIB:ALK4 이형다량체들, ActRIIB:ALK7 이형다량체들, ActRIIA:ALK4 이형다량체들, 및 ActRIIA:ALK7 이형다량체들을 만들기 위해 당분에 공지된 많은 방법들이 이용될 수 있다. 예를 들면, 제 1 폴리펩티드 (가령, ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드)에 있는 자연 발생적 아미노산을 자유 티올-함유하는 잔기, 이를 테면 시스테인으로 대체하여, 이러한 자유 티올이 제 2 폴리펩티드 (가령, ALK4 또는 ALK7 폴리펩티드)에 있는 또다른 자유 티올-함유하는 잔기와 반응하고, 이황화결합이 제 1 폴리펩티드와 제 2 폴리펩티드들 사이에 형성되도록 함으로써, 비-자연 발생적 이황화결합이 구축될 수 있다. 이형다량체 형성을 촉진시키는 상호작용의 추가 예로는 Kjaergaard et al., W02007147901에서 설명된 이온 상호작용; Kannan et al., U.S.8,592,562에서 설명된 정전기적 스테어링; Christensen et al., U.S.20120302737에서 설명된 코일드-코일 상호작용; Pack & Plueckthun, (1992) Biochemistry 31: 1579-1584에서 설명된 류신 지퍼; Pack et al., (1993) Bio/Technology 11: 1271-1277에서 설명된 나선-탄-나선 모티프를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 다양한 세그먼트(segments)의 연계는 가령, 공유 결합 이를 테면 화학적 교차-연계, 펩티드 링커, 이황화물 다리 등을 통하여 얻어지거나, 또는 친화력 상호작용, 이를 테면 아비딘-비오틴 또는 류신 지퍼 기술에 의해 획득될 수 있다.

[0615] 특이적 예시으로써, 본 명세서에서는 이형다량체 형성을 촉진시키기 위해 변형되었던 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 및/또는 IgG4로부터 파생된 CH1, CH2, 또는 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 융합된, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, 또는 ALK7을 포함하는 융합 폴리펩티드들을 제공한다. 단일 세포계로부터 비대칭 면역글로불린-기반의 단백질의 대량 생산에서 발생하는 문제는 “쇄 연합 문제(chain association issue)”로 알려져 있다. 이종특이적 항체의 생산에서 주로 직면하는 바와 같이, 쇠-연합 문제는 상이한 중쇄 및/또는 경쇄가 단일 세포주에서 생성될 때 본질적으로 얻어지는 다수의 조합 중에서 원하는 다중 결합 단백질을 효율적으로 생산하려는 도전에 관한 것이다 [예를 들면, Klein et al (2012) mAbs 4:653-663 참고]. 이 문제는 두 개의 다른 중쇄와 두 개의 다른 경쇄가 동일한 세포에서 생산될 때 가장 심각한데, 이 경우 일반적으로 단 하나만을 원할 때, 총 16 개의 가능한 사슬 조합이 있다 (비록 일부는 동일하지만). 그럼에도 불구하고, 동일한 원리는 오직 2 개의 상이한 (비-대칭) 중쇄를 혼입시키는 원하는 다중쇄 융합 단백질의 수율 감소를 설명한다.

- [0616] 허용가능한 수율로 바람직한 비대칭 융합 단백질을 생산하기 위해 단일 세포주에서 Fc-함유 융합 폴리펩티드 쉼의 바람직한 페어링을 증가시키는 다양한 방법이 당업계에 공지되어있다[예를 들면, Klein et al (2012) mAbs 4:653-663; 및 Spiess et al (2015) Molecular Immunology 67(2A): 95-106 참고]. Fc-함유 쉼들의 바람직한 페어링을 얻는 방법은 하전-기반의 페어링 (정전기적 스티어링), “노브-인투-홀(knobs-into-holes)” 입체적 페어링, SEEDbody 페어링, 및 류신 지퍼-기반의 페어링을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.[예를 들면, Ridgway et al (1996) Protein Eng 9:617-621; Merchant et al (1998) Nat Biotech 16:677-681; Davis et al (2010) Protein Eng Des Sel 23:195-202; Gunasekaran et al (2010); 285:19637-19646; Wranik et al (2012) J Biol Chem 287:43331-43339; US5932448; WO 1993/011162; WO 2009/089004, 및 WO 2011/034605 참고.] 본원에서 기술된 바와 같이, 이들 방법을 이용하여 ActRIIB 폴리펩티드와 또다른, 임의선택적으로 상이한, ActRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드와 또다른, 임의선택적으로 상이한, ActRIIA 폴리펩티드, ActRIIB 폴리펩티드와 ActRIIA 폴리펩티드, ActRIIB 폴리펩티드와 ALK4 폴리펩티드, ActRIIB 폴리펩티드와 ALK7 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드와 ALK4 폴리펩티드, 또는 ActRIIA 폴리펩티드와 ALK7 폴리펩티드를 포함하는 이형이량체를 생성시킬 수 있다.
- [0617] 예를 들면, 이를 테면 Arathoon *et al.*, U.S.7,183,076 및 Carter *et al.*, U.S.5,731,168에서 설명된 바와 같이, 구멍에 맞는 돌기(protuberance-into-cavity) (노브-인투-홀) 상보적 영역을 작제함으로써 특정 폴리펩티드 간의 상호작용이 촉진될 수 있다. “돌기(Protuberances)”는 제 1 폴리펩티드 (가령, 제 1 상호작용 짝)의 경계면의 작은 아미노산 측쇄를 더 큰 측쇄 (가령, 티로신 또는 트립토판)로 대체함으로써 구축된다. 상기 돌기에 동일한 또는 더 작은 크기의 상보적 “구멍(cavities)”은 제 2 폴리펩티드 (가령, 제 2 상호작용 짝)의 경계면에서 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 측쇄 (가령, 알라닌 또는 트레오닌)로 대체함으로써 임의선택적으로 만든다. 제 1 또는 제 2 폴리펩티드의 경계면에 적절하게 위치되고, 적합한 크기의 돌기 또는 구멍이 존재하는 경우, 인접한 경계면에서 각각 대응하는 구멍 또는 돌기만 제조하면 된다.
- [0618] 중성 pH (7.0)에서, 아스파르트산 및 글루탐산은 음으로 하전되며, 리신, 아르기닌 및 히스티딘은 양으로 하전된다. 이들 하전된 잔기를 이용하여 이형이량체 형성을 촉진시키고, 동시에 동형이량체 형성을 방해할 수 있다. 인력 상호작용은 반대 하전 간에 일어나며, 척력 상호작용은 유사한 하전 사이에 발생된다. 부분적으로, 본 명세서에서 공개된 폴리펩티드 복합체들은 하전된 경계면 잔기의 부위 지향된 돌연변이유발을 실행함으로써, 이형 다량체 형성 (가령, 이형이량체 형성)을 촉진시키는 인력 상호작용, 그리고 임의선택적으로 동형이량체 형성 (가령, 동형이량체 형성)을 방해하는 척력 상호작용을 이용한다.
- [0619] 예를 들면, IgG1 CH3 도메인 경계면은 도메인-도메인 상호작용: Asp356-Lys439', Glu357-Lys370', Lys392-Asp399', 및 Asp399-Lys409' [제 2 쉼에서 잔기 넘버링은 (')로 표시됨]에 관여하는 4가지 독특한 하전 잔기 짝을 포함한다. IgG1 CH3 영역의 잔기를 지정하기 위해 여기에 사용된 넘버링 체계는 Kabat의 EU 번호 체계에 부합함을 유의해야 한다. CH3-CH3 도메인 상호 작용에 존재하는 2-배 대칭 때문에, 각각의 독특한 상호 작용은 구조에서 두 번 나타난다 (가령, Asp-399-Lys409' 및 Lys409-Asp399'). 야생형 서열에서, K409-D399'는 이형이량체와 동형이량체 형성을 모두 선호한다. 제 1 쉼에서 전하 극성을 전환시키는 단일 돌연변이 (가령, K409E; 양 전하를 음전하로)는 제 1 쉼 동형이량체 형성에 바람직하지 않은 상호 작용을 유도한다. 부적절한 상호작용은 동일한 전하 사이에 발생하는 척력 작용으로 인해 발생한다(음성-음성; K409E-D399'과 D399-K409E'). 제 2 쉼에서 전하 극성을 전환시키는 단일 돌연변이 (D399K'; 음전하를 양전하로)는 제 2 쉼 동형이량체 형성에 바람직하지 않은 상호 작용을 유도한다(K409'-D399K'와 D399K-K409'). 그러나, 동시에 이들 두 돌연변이 (K409E와 D399K')는 이형이량체 형성에 대한 우호적인 상호작용 (K409E-D399K'와 D399-K409')을 유도한다.
- [0620] 이형이량체 형성 및 동형이량체 방지에 있어서 정전기 스티어링 효과(steering effect)는 추가적인 전하 잔기의 돌연변이에 의해 추가로 강화될 수 있는데, 이들은 제 2 쉼에서 예를 들면, Arg355 및 Lys360을 포함하는 반대 하전된 잔기와 페어링되거나, 또는 되지 않을 수 있다. 하기 표는 본원에서 기술된 이종다량체의 이종다량체 형성을 향상시키기 위해 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있는 가능한 전하 변화 돌연변이를 열거한다.

이형이량체 형성을 강화시키기 위한 짝을 형성하는(Pair-Wise) 하전된 잔기 돌연변이의 예시			
제 1쇄에서 위치	제 1쇄에서 돌연변이	제 2쇄에서 상호작용 위치	제 2쇄에서 대응하는 돌연변이
Lys409	Asp 또는 Glu	Asp399'	Lys, Arg, 또는 His
Lys392	Asp 또는 Glu	Asp399'	Lys, Arg, 또는 His
Lys439	Asp 또는 Glu	Asp356'	Lys, Arg, 또는 His
Lys370	Asp 또는 Glu	Glu357'	Lys, Arg, 또는 His
Asp399	Lys, Arg, 또는 His	Lys409'	Asp 또는 Glu
Asp399	Lys, Arg, 또는 His	Lys392'	Asp 또는 Glu
Asp356	Lys, Arg, 또는 His	Lys439'	Asp 또는 Glu
Glu357	Lys, Arg, 또는 His	Lys370'	Asp 또는 Glu

[0621]

[0622]

일부 구체예들에 있어서, 본 출원의 융합 폴리펩티드에서 CH3-CH3 경계면을 만드는 하나 또는 그 이상의 잔기는 하전된 아미노산으로 대체되고, 따라서 상호작용은 정전기적으로 비선호적으로 된다. 예를 들면, 경계면에 있는 양-하전된 아미노산 (가령, 리신, 아르기닌, 또는 히스티딘)은 음으로 하전된 아미노산 (가령, 아스파르트산 또는 글루탐산)으로 대체된다. 전술한 치환에 대한 대안으로, 또는 이와 복합되어, 경계면에서 음으로-하전된 아미노산은 양으로-하전된 아미노산으로 대체된다. 특정 구체예들에 있어서, 상기 아미노산은 원하는 하전 특징을 갖는 비-자연 발생적 아미노산으로 대체된다. 음으로 하전된 잔기 (Asp 또는 Glu)를 His으로 돌연변이시키면, 측쇄 부피가 증가되고, 이는 입체적 문제를 야기할 수 있음을 주지해야 한다. 더욱이, His 양성자 공여자-형태 및 수용자-형태는 국소 환경에 따라 달라진다. 이러한 문제는 설계 전략과 함께 고려되어야 한다. 경계면 잔기는 인간 및 마우스 IgG 하위부류에서 매우 보존되어 있기 때문에, 본 명세서에서 공개된 정전기 스테어링 효과는 인간 및 마우스 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4에 적용될 수 있다. 이 전략은 또한 CH3 도메인 경계면에서 하전되지 않은 잔기를 하전된 잔기로 변형시키는 것으로 확장될 수 있다.

[0623]

특정 측면들에서, 본원에 기술된 방법에 따라 이용될 수 있는 ActRII-ALK4 리간드 트랩은 공유적으로 또는 비-공유적으로, 적어도 하나의 ActRII 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA 또는 ActRIIB 폴리펩티드)에 연합된 적어도 하나의 ALK 폴리펩티드 (예를 들자면, ALK4 또는 ALK7 폴리펩티드)를 포함하는 이형다량체 복합체다. 바람직하게는, 본원에 기술된 폴리펩티드는 이형이량체 복합체를 형성할 수 있고, 비록 더 높은 차수의 이형다량체 복합체 (이형다량체들), 이를 테면, 이형삼량체, 이형사량체, 그리고 더 나아가 올리고머 구조들이 내포되나, 이에 국한되지 않는다 (예를 들자면, 도 11-13 참고, 이는 ActRII-ALK4 및 ActRII-ALK7 올리고머 구조 모두에도 또한 적용될 수 있다). 일부 구체예들에서, ALK 및/또는 ActRII 폴리펩티드는 적어도 하나의 다량체화 도메인을 포함한다. 본원에 기술된 폴리펩티드는 공유적으로 또는 비-공유적으로 다량체화 도메인에 결합될 수 있다. 바람직하게는 다량체화 도메인은 이형다량체 형성 (가령, 이형이량체 형성)을 촉진시키고, 임의선택적으로 동형다량체 형성 (가령, 동형이량체 형성)을 방해 또는 그렇지 않으면 이의 형성을 선호하지 않고, 이로 인하여 원하는 이형다량체가 증가되도록 하기 위하여, 제 1 폴리펩티드 (가령, ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드)와 제 2 폴리펩티드 (가령, ALK4 또는 ALK7 폴리펩티드) 간의 상호작용을 촉진시킨다(가령, 도 12 참고).

[0624]

부분적으로, 본 명세서는 전하 페어링 (정전기적 스테어링)에 근거하여 상보적으로 작제된 Fc 서열을 이용한 비대칭 Fc-함유 폴리펩티드 쌍들의 바람직한 페어링을 제공한다. 정전기 상보성을 갖는 한 쌍의 Fc 서열 중에서 하나는 임의선택적 링커가 있거나 또는 없이, 구조체의 ctRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드에 임의적으로 융합되어, ActRIIB-Fc, ActRIIA-Fc, ALK4-Fc, 또는 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 만들 수 있다. 이 단일 쌍은 원하는 다중쇄 구조체(예를 들자면, ActRIIB-Fc-ALK4-Fc 이형다량체) 생성을 선호하는 제1 Fc 서열에 상보적인 Fc 서열과 함께 선택 세포에서 공동발현될 수 있다. 정전기적 스테어링에 기반을 둔 본 실시예에서, 서열 식별 번호: 18 [인간 G1Fc(E134K/D177K)] 및 서열 식별 번호: 19 [인간 G1Fc(K170D/K187D)]는 상보적 Fc 서열의 예가 되며, 이때 조작된 아미노산 치환은 이중 밑줄로 나타내며, 이 구조체의 ActRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18 또는 서열 식별 번호: 19에 융합될 수 있지만, 이들 모두에 융합되지는 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc의 대응하는 위치에서 아미노산 치환 (도 7)으로 상보적 Fc 짝이 생성되며, 이는 하기 상보적 hG1Fc 짝(서열 식별 번

호: 18 및 19)을 대신하여 이용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0625] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0626] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0627] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSRSEMTKNQ VSLTCLVKGF

[0628] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLSKSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV

[0629] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 18)

[0630] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0631] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0632] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF

[0633] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYD TTPPVLDSDG SFFLYSDLTV DKSRWQQGNV

[0634] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 19)

[0635] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0636] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0637] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0638] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도

75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0639] 부분적으로, 본 명세서는 입체적 상보성에 근거하여 상보적으로 작제된 Fc 서열을 이용한 비대칭 Fc-함유 폴리펩티드 쌍들의 바람직한 페어링을 제공한다. 부분적으로, 본 명세서는 입체적 상보성의 예로써 노브-인투-홀 페어링(knobs-into-holes pairing)을 제공한다. 입체 상보성을 갖는 한 쌍의 Fc 서열 중에서 하나는 임의선택적 링커가 있거나 또는 없이, 구조체의 ctRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드에 임의적으로 융합되어, ActRIIB-Fc, ActRIIA-Fc, ALK4-Fc, 또는 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 만들 수 있다. 이 단일 쌍은 원하는 다중체 구조체 생성을 선호하는 제1 Fc 서열에 상보적인 Fc 서열과 함께 선택 세포에서 공동발현될 수 있다. 노브-인투-홀 대합에 근거된 이러한 실례에서, 서열 식별 번호: 20 [인간 G1Fc(T144Y)] 및 서열 식별 번호: 21 [인간 G1Fc(Y185T)]는 상보성 Fc 서열의 실례인데, 여기서 가공된 아미노산 치환은 이중 밑줄로 표시되고, 그리고 구조체의 ActRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20 또는 서열 식별 번호:21에 융합될 수 있지만, 둘 모두에 융합되지는 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc의 대응하는 위치에서 아미노산 치환 (도 7 참고)으로 상보적 Fc 짝이 생성되며, 이는 하기 상보적 hG1Fc 짝(서열 식별 번호: 20 및 21)을 대신하여 이용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0640] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0641] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0642] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSREEMTKNQ VSLYCLVKGF

[0643] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV

[0644] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 20)

[0645] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0646] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0647] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF

[0648] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLTSLKTV DKSRWQQGNV

[0649] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 21)

[0650] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0651] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는

ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0652] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0653] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 21의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0654] 조작된 이황화결합과 복합된 노브-인투-홀 페어링에 근거한 Fc 상보성의 예는 서열 식별 번호: 22 [hG1Fc(S132C/T144W)] 및 서열 식별 번호: 23 [hG1Fc(Y127C/T144S/L146A/Y185V)]에서 공개된다. 상기 조작된 아미노산 치환은 이중 밀줄로 나타내며, 구조체의 ActRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22 또는 서열 식별 번호: 23에 융합될 수 있지만, 이들 모두에 융합되지 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc의 대응하는 위치에서 아미노산 치환 (도 7)으로 상보적 Fc 짝이 생성되며, 이는 하기 상보적 hG1Fc 짝 (서열 식별 번호: 22 및 23)을 대신하여 이용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0655] 1 THTCPPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0656] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0657] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL P CREEMTKNQ VSLWCLVKGF

[0658] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV

[0659] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 22)

[0660] 1 THTCPPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0661] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0662] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLSCAVKGF

[0663] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLVSKLTV DKSRWQQGNV

[0664] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 23)

[0665] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도

75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0666] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0667] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0668] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0669] 부분적으로, 본 명세서는 인간 IgG의 β 가닥 세그먼트와 IgA C_H3 도메인이 서로 맞물리게 되도록 작제된 Fc 서열을 이용한 비대칭 Fc-함유 폴리펩티드 쌍들의 바람직한 패어링을 제공한다. 이러한 방법들은 가닥-교환 조작된(engineered) 도메인 (SEED) C_H3 이형이량체를 이용하여 SEEDbody 융합 폴리펩티드가 형성되는 것을 포함한다 [예를 들면, Davis et al (2010) Protein Eng Design Sel 23:195-202 참고]. SEEDbody 상보성을 갖는 한 쌍의 Fc 서열 중에서 하나는 임의선택적 링커가 있거나 또는 없이, 구조체의 제 1 변이체 ActRIIB 폴리펩티드, 또는 제 2 ActRIIB 폴리펩티드에 임의적으로 융합되어, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드를 만든다. 이 단일 쌍은 원하는 다중쇄 구조체 생성을 선호하는 제1 Fc 서열에 상보적인 Fc 서열과 함께 선택 세포에서 공동발현될 수 있다. SEEDbody (Sb) 대합에 근거된 이러한 실례에서, 서열 식별 번호: 24 [hG1Fc(Sb_{AG})] 및 서열 식별 번호: 25 [hG1Fc(Sb_{GA})]은 상보성 IgG Fc 서열의 실례인데, 여기서 IgA Fc로부터 가공된 아미노산 치환은 이중 밑줄로 표시되고, 구조체의 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 또는 제 2 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24 또는 서열 식별 번호: 25에 융합될 수 있지만 둘 모두에 융합되지는 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG1Fc, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc의 대응하는

위치에서 아미노산 치환 (도 7 참고)으로 Fc 단량체가 생성되며, 이는 하기 상보적 IgG-IgA 쌍(서열 식별 번호: 24 및 25)을 대신하여 이용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0670] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0671] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0672] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PFRPEVHLLP PSREEMTKNQ VSLTCLARGF

[0673] 151 YPKDIAVEWE SNGQPENNYK TTPSRQEPSQ GTTFAVTSK LTVDKSRWQQ

[0674] 201 GNVFSCSMVM EALHNHYTQK TISLSPGK (서열 식별 번호: 24)

[0675] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0676] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0677] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPP SEELALNE LVTLTCLVKG

[0678] 151 FYPSDIAVEW ESNGQELPRE KYLTWAPVLD SDGSFFLYSI LRVAEDWKK

[0679] 201 GDTFSCSMVM EALHNHYTQK SLDRSPGK (서열 식별 번호: 25)

[0680] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0681] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0682] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0683] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동

일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 25의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0684] 부분적으로, 본 명세서는 Fc C_H3 도메인의 C-말단에 부착된 절단가능한 류신 지퍼 도메인을 갖는 비대칭 Fc-함유 폴리펩티드 쌍의 바람직한 페어링을 제공한다. 류신 지퍼의 부착은 이형이량체성 항체 중쇄들의 선호적 어셈블리를 제공하는데 충분하다. 예를 들자면, Wranik et al (2012) J Biol Chem 287:43331-43339 참고. 본원에서 기술된 바와 같이, 류신 지퍼-형성 가닥에 부착된 Fc 서열 쌍중 하나는 임의선택적 링커가 있거나 또는 없이, 구조체의 제 1 변이체 ActRIIB 폴리펩티드, 또는 제 2 ActRIIB 폴리펩티드에 임의적으로 융합되어, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드를 만든다. 이 단일 쌍은 원하는 다중쇄 구조체 생성을 선호하는 상보적 류신 지퍼-형성 가닥에 부착된 Fc 서열과 함께 선택 세포에서 공동발현될 수 있다. 정제 후 박테리아 엔도단백질분해효소 Lys-C로 이 구조체의 단백질분해성 절단으로 류신 지퍼 도메인이 방출되며, 고유의 Fc의 구조와 동일한 Fc 구조체가 생성된다. 류신 지퍼 페어링에 기반을 둔 본 실시예에서, 서열 식별 번호: 26 [hG1Fc-Ap1 (산성)] 및 서열 식별 번호: 27 [hG1Fc-Bp1 (염기성)]는 상보적 IgG Fc 서열의 예가 되며, 이때 조작된 상보적 류신 지퍼 서열은 밑줄로 표시되며, 이 구조체의 ActRIIB 폴리펩티드 또는 제 2 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26 또는 서열 식별 번호: 27에 융합될 수 있지만, 이들 모두에 융합되지는 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG1Fc, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc에 임의선택적 링커와 함께 또는 링커없이 부착된 류신 지퍼-형성 서열 (도 7 참고)은 하기 상보적 류신 지퍼-형성 쌍(서열 식별 번호: 26 및 27)에 이용될 수 있는 Fc 단량체를 만들 수 있음을 인지할 것이다.

[0685] 1 THTCPPCPAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0686] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0687] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF

[0688] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV

[0689] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGKGSAQ LEKELQALEK ENAQLWELEQ

[0690] 251 ALEKELAQGA T (서열 식별 번호: 26)

[0691] 1 THTCPPCPAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE

[0692] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK

[0693] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF

[0694] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV

[0695] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGKGSAQ LKKKLQALK KNAQLKWKLQ

[0696] 251 ALKKLAQGA T (서열 식별 번호: 27)

[0697] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

- [0698] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0699] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0700] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0701] 일부분으로, 본 명세서는 상기에서 기술된 방법을 통하여, Fc 도메인에 원하는 이종체 종의 정제를 용이하게 하는 추가 돌연변이와 조합된 비대칭 Fc-함유 폴리펩티드 쉼의 바람직한 페어링을 제공한다. 실시예는 서열 식별 번호: 22 및 23에서 개시된 바와 같은 조작된 이황화 결합과 조합된 노브-인투-홀 페어링에 더하여, 하나의 Fc-함유 폴리펩티드 쉼에서 2개의 음으로 하전된 아미노산 (아스파르트산 또는 글루탐산) 및 상보성 Fc-함유 폴리펩티드 쉼 (서열 식별 번호: 28-29)에서 2개의 양으로 하전된 아미노산 (가령, 아르기닌)의 추가 치환을 갖는 Fc 도메인의 상보성을 이용한다. 이들 4개의 아미노산 치환은 등전점 또는 순 분자 전하의 차이에 기초하여, 이종 폴리펩티드 혼합물로부터 원하는 이종체 융합 폴리펩티드의 선택적인 정제를 용이하게 한다. 상기 조작된 아미노산 치환은 이중 밀줄로 나타내며, 구조체의 ActRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28 또는 서열 식별 번호: 29에 융합될 수 있지만, 이들 모두에 융합되지 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc의 대응하는 위치에서 아미노산 치환 (도 7 참고)으로 상보적 Fc 짝이 생성되며, 이는 하기 상보적 hG1Fc 짝(서열 식별 번호: 28-29)을 대신하여 이용될 수 있음을 인지할 것이다.
- [0702] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
- [0703] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
- [0704] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPCREEMTENQ VSLWCLVKGF
- [0705] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRRWQGNV
- [0706] 201 FSCSVMEAL HNHYTQDSLS LSPGK (서열 식별 번호: 28)

[0707] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
 [0708] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
 [0709] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLSCAVKGF
 [0710] 151 YPSDIAVEWE SRGQPENNYK TTPPVLSRG SFFLVSKLTV DKSRWQQGNV
 [0711] 201 FSCSVMEAL HNHYTQKSL SPSGK (서열 식별 번호: 29)

[0712] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0713] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0714] 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 138에 글루탐산, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 217에 아스파르트산을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.

[0715] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0716] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0717] 또다른 실시예는 서열 식별 번호: 22-23에서 기술된 바와 같은 조작된 이황화 결합이 조합된 노브-인투-홀 페어링에 더하여, 하나의 Fc-함유 폴리펩티드 쇠 (서열 식별 번호: 30)에서 위치 213에 히스티딘-에서-아르기닌으로의 치환을 기반으로 하는 Fc 도메인의 상보성과 관련된다. 이 치환 (Kabat et al.의 번호매김 시스템에서 H435R로 표시됨)은 단백질 A에 대한 치환력 차이를 기반으로 바람직하지 않은 동형이량체로부터 바람직한 이형이량체 분리를 촉진시킨다. 조작된 아미노산 치환은 이중 밀줄로 나타내며, 이 구조체의 ActRIIB 폴리펩티드, ActRIIA 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 또는 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30 또는 서열 식별 번호: 23에 융합될 수 있지만, 이들 모두에 융합되지는 않는다. 고유의 hG1Fc, 고유의 hG2Fc, 고유의 hG3Fc, 및 고유의 hG4Fc 간에 아미노산 동일성 수준이 높다면, hG2Fc, hG3Fc, 또는 hG4Fc의 대응하는 위치에서 아미노산 치환 (도 7 참고)으로 상보적 Fc 짝이 생성되며, 이는 서열 식별 번호: 30 (하기) 및 서열 식별 번호: 23의 상보적 hG1Fc 쌍을 대신하여 이용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0718] 1 THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
 [0719] 51 VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
 [0720] 101 VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PCREEMTKNQ VSLWCLVKGF

- [0721] 151 YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV
- [0722] 201 FSCSVMHEAL HNRYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 30)
- [0723] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0724] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0725] 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.
- [0726] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0727] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0728] 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 138에 글루탐산, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 217에 아스파르트산을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다. 일부 구체예들에서, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.
- [0729] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0730] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIB:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0731] 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치

138에 글루탐산, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 217에 아스파르트산을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 138에 글루탐산, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 217에 아스파르트산을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.

[0732] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0733] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0734] 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 138에 글루탐산, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 217에 아스파르트산을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 138에 글루탐산, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 217에 아스파르트산을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 아미노산 위치 162에 아르기닌, 아미노산 위치 179에 아르기닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.

[0735] 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.

[0736] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0737] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.

[0738] 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 그리고 아미노산 위치

185에 발린을 포함한다.

- [0739] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK4 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0740] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 ActRIIA:ALK7 이형다량체 폴리펩티드에 관계하며, 이때 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 30의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함하고, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0741] 일부 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 132에 시스테인, 아미노산 위치 144에 트립토판, 그리고 아미노산 위치 435에 아르기닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드 Fc 도메인은 아미노산 위치 127에 시스테인, 아미노산 위치 144에 세린, 아미노산 위치 146에 알라닌, 그리고 아미노산 위치 185에 발린을 포함한다.
- [0742] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 제 1 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 제 2 변이체 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이며, 이때 상기 제 1 변이체 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 제 2 변이체 ActRIIB 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 이형다량체는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 이형다량체는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)의 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 이형다량체는 이형이량체이다.
- [0743] 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: L38N, E50L, E52N, L57E, L57I, L57R, L57T, L57V, Y60D, G68R, K74E, W78Y, L79F, L79S, L79T, L79W, F82D, F82E, F82L, F82S, F82T, F82Y, N83R, E94K, 및 V99G. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 촉진시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 억제시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이형다량체는

이형이량체이다.

[0744]

특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 36의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 1 ActRIIB 폴리펩티드, 그리고 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 2 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이며, 이때 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 55에 상응하는 아미노산 위치에 글루탐산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 55에 상응하는 아미노산 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, 및 D80 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 촉진시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 억제시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이종다량체는 이형이량체이다.

[0745]

특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 39의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 1 ActRIIB 폴리펩티드, 그리고 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 2 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이며, 이때 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 82에 상응하는 아미노산 위치에 이소류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 82에 상응하는 아미노산 위치에 페닐알라닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, 및 D80 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80N, 및 D80R. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, 및 D80 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80N, 및 D80R. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 촉진시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 억제시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이종다량체는 이형이량체이다.

[0746]

특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 42의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 1 ActRIIB 폴리펩티드, 그리고 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 2 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이며, 이때 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1

ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 82에 상응하는 아미노산 위치에 리신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 82에 상응하는 아미노산 위치에 리신을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 82에 상응하는 아미노산 위치에 페닐알라닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, 및 D80 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80M, D80N, 및 D80R. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 L79, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, 및 D80 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79A, L79D, L79E, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80M, D80N, 및 D80R. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 촉진시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 억제시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이종다량체는 이형이량체이다.

[0747]

특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 45의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 1 ActRIIB 폴리펩티드, 그리고 서열 식별 번호: 48의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 2 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이며, 이때 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 아미노산 위치에 산성 아미노산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 산성 아미노산은 아스파르트산이다. 일부 구체예들에서, 상기 산성 아미노산은 글루탐산이다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 아미노산 위치에 산성 아미노산 (가령, 아스파르트산 또는 글루탐산)을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 아미노산 위치에 류신을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 촉진시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 이종다량체 형성을 억제시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이종다량체는 이형이량체이다.

[0748]

특정 측면들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 50의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 1 ActRIIB 폴리펩티드, 그리고 서열 식별 번호: 52의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 제 2 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이며, 이때 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 아미노산 위치에 산성 아미노산을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 산성 아미노산은 아스파르트산이다. 일부 구체예들에서, 상기 산성 아미노산은 글루탐산이다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 아미노산 위치에 산성 아미노산 (가령, 아스파르트산 또는 글루탐산)을 포함하지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 위치 79에 상응하는 아미노산 위치에 류신을 포함한다. 일부 구체예

들에서, 상기 제 1 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, L79P, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80N, D80R, 및 F82A. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 ActRIIB 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 2의 F82, A24, K74, R64, P129, P130, E37, R40, D54, R56, W78, D80, 및 F82 중 임의의 하나에 대응하는 위치에 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A24N, K74A, R64K, R64N, K74A, P129S, P130A, P130R, E37A, R40A, D54A, R56A, K74F, K74I, K74Y, W78A, D80A, D80F, D80G, D80I, D80K, D80M, D80N, D80R, 및 F82A.

[0749]

특정 측면들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 ALK4 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422 및 이의 변이체들), 그리고 하나 또는 그 이상의 ActRIIB 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 1, 2, 5, 6, 12, 31, 33, 34, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 357, 385, 386, 387, 388, 389, 396, 398, 402, 403, 406, 408, 409 및 이의 변이체들)를 포함하는 이형다량체들, 그리고 이의 용도 (예를 들자면 심부전 치료를 요하는 환자에서 이를 치료하는)에 관계하며, 본 명세서는 일반적으로 본원에서 “ActRIIB:ALK4 이형다량체 ” 또는 “ActRIIB-ALK4 이형다량체들” 으로 지칭되며 이의 용도 (예를 들자면, 심부전 치료를 요하는 환자에서 이를 치료하는)에 관계한다. 바람직하게는, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 가용성이다 [예를 들자면, 이형다량체 복합체는 ALK4 수용체의 가용성 부분 (도메인) 및 ActRIIB 수용체 가용성 부분 (도메인)을 포함한다]. 일반적으로, ALK4와 ActRIIB의 세포외 도메인은 이들 수용체의 가용성 부분에 상응한다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 ALK4 수용체의 세포외 도메인과 ActRIIB의 세포외 도메인 수용체를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다 (예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 및 422의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 ActRIIB:ALK4 이형다량체 복합체는 서열 식별 번호: 84의 아미노산 24-34, 25-34, 또는 26-34중 임의의 하나에 상응하는 잔기에서 시작하고, 서열 식별 번호: 84의 위치 101-126, 102-126, 101-125, 101-124, 101-121, 111-126, 111-125, 111-124, 121-126, 121-125, 121-124, 또는 124-126의 위치에서 끝나는 ALK4 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 최소한 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 84의 아미노산 34-101에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 2, 5, 6, 12, 31, 33, 34, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 357, 385, 386, 387, 388, 389, 396, 398, 402, 403, 406, 408, 및 409중 임의의 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체 복합체는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29, 20-24, 21-24, 22-25, 또는 21-29중 임의의 하나에 상응하는 잔기에서 시작하고, 서열 식별 번호: 1의 위치 109-134, 119-134, 119-133, 129-134, 또는 129-133 에서 끝나는 ActRIIB 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 최소한 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예

들에서, ActRIIB:ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ActRIIB:ALK4 이형다량체 복합체는 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하고, 이때 서열 식별 번호: 2의 L79에 대응하는 위치는 산성 아미노산이 아니다 (즉, 자연 발생적 D 또는 E 아미노산 잔기가 아니거나, 또는 인위적인 산성 아미노산 잔기다). 본 명세서의 ActRIIB:ALK4 이형다량체들에는 가령, 이형이량체, 이형삼량체, 이형사량체, 및 고차 올리고머 구조가 내포된다. 예를 들자면, 도 11-13 참고, 이는 ActRII:ALK7 올리고머 구조체에도 또한 적용될 수 있다. 특정 바람직한 구체예들에서, 본 명세서의 이형다량체 복합체는 ActRIIB:ALK7 이형이량체다.

[0750] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 적어도 하나의 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드와 적어도 하나의 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)의 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형다량체들은 이형이량체다.

[0751] 특정 구체예들에 있어서, 본 명세서는 최소한 하나의 ALK7 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체에 관계하며, 여기에는 이의 단편들, 기능성 변이체들 그리고 변형된 형태들이 포함된다. 바람직하게는 본원에 기술된 바와 같은 용도에 이용되는 ALK7 폴리펩티드들 (가령, ALK7 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체들과 이의 용도들)은 가용성 (가령, ALK7의 세포외 도메인)이다. 다른 바람직한 구체예들에서, 본원에 기술된 바와 같은 용도에 이용되는 ALK7 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10) 수퍼패밀리 리간드에 결합하고 및/또는 활성화 (가령, Smad 신호생성을 유도)를 억제(길항)한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 120, 121, 또는 122의 아미노산 21-28 (가령, 아미노산 잔기 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 및 28)중 임의의 하나에서 시작하고, 서열 식별 번호: 120, 121, 또는 122의 아미노산 92-113 (가령, 아미노산 잔기 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 및 113)중 임의의 하나에서 종료되는 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK7 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 120, 121, 또는 122의 아미노산 28-92에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK7 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 120, 121, 또는 122의 아미노산 21-113에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK7 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 120, 123, 124, 125, 121, 126, 122, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 또는 134중 임의의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 ALK7 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 이종다량체는 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 또는 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 적어도 하나의 ALK7 폴리펩티드로 구성되거나, 또는 필수적으로 구성된다.

[0752] 특정 측면들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 ALK7 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 134 및 이의 변이체들) 및 하나 또는 그 이상의 ActRIIB 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 1, 2, 5, 6, 12, 31, 33, 34, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 357, 385, 386, 387, 388, 389, 396, 398, 402, 403, 406, 408, 409 및 이의 변이체들)를 포함하는 이형다량체 복합체에 관계하며, 본 명세서는 일반적으로 본원에서 “ActRIIB:ALK4 이형다량체” 또는 “ActRIIB-ALK4 이형다량체들”으로 지칭되며 이의 용도 (예를 들자면, 심부전 치료를 요하는 환자에서 이를 치료하는)에 관계한다. 바람직하게는, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 가용성이다 [예를 들자면, 이형다량체 복합체는 ALK7 수용체의 가용성 부분 (도메인) 및 ActRIIB 수용체가용성 부분 (도메인)을 포함한다]. 일반적으로, ALK7과 ActRIIB의 세포외 도메인은 이들 수용체의 가용성 부분에 상응한다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 ALK7 수용체의 세포외 도메인과 ActRIIB의 세포외 도

메인 수용체를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다(예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 및 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ALK7 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 서열 식별 번호: 2, 5, 6, 12, 31, 33, 34, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 276, 278, 279, 332, 333, 335, 336, 338, 339, 341, 342, 344, 345, 347, 348, 350, 351, 353, 354, 356, 357, 385, 386, 387, 388, 389, 396, 398, 402, 403, 406, 408, 및 409중 임의의 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 ActRIIB-ALK7 이형다량체 복합체는 서열 식별 번호: 2의 아미노산 20-29, 20-24, 21-24, 22-25, 또는 21-29중 임의의 하나에 상응하는 잔기에서 시작하고, 서열 식별 번호: 1의 위치 109-134, 119-134, 119-133, 129-134, 또는 129-133 에서 끝나는 ActRIIB 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 최소한 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 서열 식별 번호: 2의 아미노산 29-109에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIB-ALK7 이형다량체들은 서열 식별 번호: 2의 아미노산 25-131에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ActRIIB-ALK7 이형다량체 복합체는 적어도 하나의 ActRIIB 폴리펩티드를 포함하고, 이때 서열 식별 번호: 2의 L79에 대응하는 위치는 산성 아미노산이 아니다 (즉, 자연 발생적 D 또는 E 아미노산 잔기가 아니거나, 또는 인위적인 산성 아미노산 잔기다). 본 명세서의 ActRIIB-ALK7 이형다량체들에는 가령, 이형이량체, 이형삼량체, 이형사량체, 및 고차 올리고머 구조가 내포된다. 예를 들자면, 도 11-13 참고, 이는 ActRII-ALK4 및 ActRII-ALK7 올리고머 구조체 모두에 또한 적용될 수 있다. 특정 바람직한 구체예들에서, 본 명세서의 이형다량체 복합체는 ActRIIB-ALK7 이형이량체다.

[0753] 특정 측면들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 ALK7 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 134 및 이의 변이체들) 및 하나 또는 그 이상의 ActRIIA 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 364, 366, 367, 368, 369, 378, 380, 381, 384 및 이의 변이체들)를 포함하는 이형다량체 복합체에 관계하며, 본 명세서는 일반적으로 본원에서 “ActRIIA:ALK7 이형다량체 ” 또는 “ActRIIA-ALK7 이형다량체들” 으로 지칭되며 이의 용도 (예를 들자면, 심부전 치료를 요하는 환자에서 이를 치료하는)에 관계한다. 바람직하게는, ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 가용성이다 [예를 들자면, 이형다량체 복합체는 ALK7 수용체의 가용성 부분 (도메인) 및 ActRIIA 수용체가용성 부분 (도메인)을 포함한다]. 일반적으로, ALK7과 ActRIIA의 세포외 도메인은 이들 수용체의 가용성 부분에 상응한다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 ALK7 수용체의 세포외 도메인과 ActRIIA의 세포외 도메인 수용체를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다(예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 서열 식별 번호: 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 133, 및 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ALK7 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 서열 식별 번호: 364, 366, 367, 368, 369, 378, 380, 381, 384중 임의의 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIA 폴리펩티드를 포함한다. 특정 바람직한 구체예들에서, 본 명세서의 이형다

량체 복합체는 ActRIIA-ALK7 이형이량체다.

[0754] 특정 측면들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 ALK4 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 422 및 이의 변이체들) 및 하나 또는 그 이상의 ActRIIA 수용체 폴리펩티드 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 364, 366, 367, 368, 369, 378, 380, 381, 384 및 이의 변이체들)를 포함하는 이형다량체 복합체에 관계하며, 본 명세서는 일반적으로 본원에서 “ActRIIA:ALK7 이형다량체” 또는 “ActRIIA-ALK7 이형다량체들”으로 지칭되며 이의 용도 (예를 들자면, 심부전 치료를 요하는 환자에서 이를 치료하는)에 관계한다. 바람직하게는, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 가용성이다 [예를 들자면, 이형다량체 복합체는 ALK7 수용체의 가용성 부분 (도메인) 및 ActRIIA 수용체가용성 부분 (도메인)을 포함한다]. 일반적으로, ALK4와 ActRIIA의 세포외 도메인은 이들 수용체의 가용성 부분에 상응한다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 ALK4 수용체의 세포외 도메인과 ActRIIA의 세포외 도메인 수용체를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)를 억제한다 (예를 들자면, Smad 신호전달). 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 84, 85, 86, 87, 88, 89, 92, 93, 247, 249, 421, 및 422의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 ActRIIA-ALK4 이형다량체 복합체는 서열 식별 번호: 84의 아미노산 24-34, 25-34, 또는 26-34중 임의의 하나에 상응하는 잔기에서 시작하고, 서열 식별 번호: 84의 위치 101-126, 102-126, 101-125, 101-124, 101-121, 111-126, 111-125, 111-124, 121-126, 121-125, 121-124, 또는 124-126의 위치에서 끝나는 ALK4 부분에 최소한 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 최소한 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 84의 아미노산 34-101에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ALK4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-ALK4 이형다량체들은 서열 식별 번호: 364, 366, 367, 368, 369, 378, 380, 381, 384중 임의의 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하고, 이로 기본적으로 구성된, 또는 구성된 적어도 하나의 ActRIIA 폴리펩티드를 포함한다. 특정 바람직한 구체예들에서, 본 명세서의 이형다량체 복합체는 ActRIIA-ALK4 이형이량체다.

[0755] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 제 1 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드와 제 2 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드를 포함하는 이형다량체에 관계하며, 이때 상기 제 2 변이체 ActRIIA-Fc 융합 폴리펩티드는 상기 제 1 폴리펩티드에 존재하는 것과는 상이하다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc:ActRIIA-Fc 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc:ActRIIA-Fc 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)의 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, ActRIIA-Fc:ActRIIA-Fc 이형다량체들은 이형이량체다.

[0756] II. 링커

[0757] 본 명세서는 추가 본원에 기술된 폴리펩티드에 융합된, 예를 들면, 이중성 부분 (예를 들자면, Fc 부분)에 융합될 수 있는 ActRII-ALK4 리간드 트랩 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, ALK7, 및 폴리스테틴 폴리펩티드와 이의 변이체들)를 제공한다. 이들 구체예에서, 상기 폴리펩티드 부분 (예를 들자면, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, ALK7, 및 폴리스테틴 폴리펩티드 및 이의 변이체들)은 링커에 의해 추가 폴리펩티드 (예를 들자면, 이중성 부분 이를 테면, Fc 도메인)에 연결된다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 글리신 및 세린 풍부 링커다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 글리신 (가령, 2-10, 2-5, 2-4, 2-3개 글리신 잔기) 또는 글리신 및 프롤린 잔기가 많을 수 있고, 예를 들면, 트레오닌/세린 및 글리신의 단일 서열을 함유하거나, 또는 트레오닌/세린 및/또는 글리신의 반복 서열, 가령, GGG (서열 식별 번호: 261), GGGG (서열 식별 번호: 262), TGGGG (서열 식별 번호: 263), SGGGG (서열 식별 번호: 264), TGGG (서열 식별 번호: 265), 또는 SGGG (서열 식별 번호: 266) 단독부(singlets), 또는 반복부를 함유한다. Thr, Asn, Pro 및 Ala와 같은 다른 중성에 가까운 아미노산이 또한 링커 서열에 사용될 수 있지만, 이에 국한되지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 Gly 및 Ser을 함

유하는 아미노산 서열의 다양한 순열치환(permutations)을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 링커의 길이는 10개 이상의 아미노산이다. 추가 구체예들에서, 상기 링커는 최소한 12개, 15개, 20개, 21개, 25개, 30개, 35개, 40개, 45개 또는 50개의 아미노산을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 40개, 35개, 30개, 25개, 22개 또는 20개 미만의 아미노산이다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 10-50개, 10-40개, 10-30개, 10-25개, 10-21개, 10-15개, 10개, 15-25개, 17-22개, 20개, 또는 21개의 아미노산 길이를 갖는다. 바람직한 구체예에서, 상기 링커는 아미노산 서열 GlyGlyGlyGlySer (GGGGS) (서열 식별 번호: 267), 또는 (GGGGS) n 의 반복을 포함하며, 이때 $n \geq 2$ 이다. 특정 구체예들에서, $n \geq 3$, 또는 $n = 3-10$. 일부 구체예들에서, $n \geq 4$, 또는 $n = 4-10$. 일부 구체예들에서, (GGGGS) n 링커에서 n 은 4보다 크지 않다. 일부 구체예들에서, $n = 4-10$, 4-9, 4-8, 4-7, 4-6, 4-5, 5-8, 5-7, 또는 5-6. 일부 구체예들에서, $n = 3, 4, 5, 6$, 또는 7. 특정 구체예들에서, $n = 4$. 일부 구체예들에서, (GGGGS) n 서열을 포함하는 링커는 또한 N-말단 트레오닌을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 다음중 임의의 하나이다:

- [0758] GGGSGGGGS (서열 식별 번호: 268)
- [0759] TGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 269)
- [0760] TGGGSGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 270)
- [0761] TGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 271)
- [0762] TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 272)
- [0763] TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 273) 또는
- [0764] TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 274).
- [0765] 일부 구체예들에서, 상기 링커는 TGGGPKSCDK (서열 식별 번호: 275)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 N-말단 트레오닌이 결여된, 서열 식별 번호: 268-275중 임의의 하나이다. 일부 구체예들에서, 상기 링커는 서열 식별 번호: 273 또는 274의 아미노산 서열을 포함하지 않는다.
- [0766] 일부 구체예들에서, 기술된 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, ALK7, 및 폴리스테틴, 이의 변이체들을 비롯한 폴리펩티드)는 링커에 의해 모이어티에 융합된 폴리펩티드가 내포될 수 있다. 일부 구체예들에서, 이 모이어티는 상기 폴리펩티드의 안정성을 증가시킨다. 일부 구체예들에서, 이 모이어티는 Fc 도메인 단량체, 야생형 Fc 도메인, 아미노산 치환 (가령, 이량체화를 감소시키는), 알부민-결합 펩티드, 피브로넥틴 도메인, 또는 인간 혈청 알부민을 갖는 Fc 도메인으로 구성된 군에서 선택된다. 적합한 펩티드 링커들은 당분야에 공지되어 있고, 예를 들면, 유연성 아미노산 잔기, 이를 테면, 글리신, 알라닌, 및 세린을 함유하는 폴리펩티드 링커가 내포된다. 일부 구체예들에서, 링커는 모티프, 가령, GA, GS, GG, GGA, GGS, GGG (서열 식별 번호: 261), GGGA (서열 식별 번호: 280), GGGG (서열 식별 번호: 281), GGGG (서열 식별 번호: 262), GGGGA (서열 식별 번호: 282), GGGGS (서열 식별 번호: 267), GGGGG (서열 식별 번호: 283), GGAG (서열 식별 번호: 284), GGSG (서열 식별 번호: 285), AGGG (서열 식별 번호: 286), 또는 SGGG (서열 식별 번호: 266)의 다중 또는 반복 모티프를 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 링커는 GA 또는 GS의 모티프, 가령, GA, GS, GAGA (서열 식별 번호: 287), GSGS (서열 식별 번호: 288), GAGAGA (서열 식별 번호: 289), GSGSGS (서열 식별 번호: 290), GAGAGAGA (서열 식별 번호: 291), GSGSGSGS (서열 식별 번호: 292), GAGAGAGAGA (서열 식별 번호: 293), GSGSGSGSGS (서열 식별 번호: 294), GAGAGAGAGAGA (서열 식별 번호: 295), 및 GSGSGSGSGSGS (서열 식별 번호: 296)을 비롯한, 2 ~ 12개 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 링커는 GGA 또는 GGS의 모티프, 가령, GGA, GGS, GGAGGA (서열 식별 번호: 297), GGS GGS (서열 식별 번호: 298), GGAGGAGGA (서열 식별 번호: 299), GGS GGS GGS (서열 식별 번호: 300), GGAGGAGGAGGA (서열 식별 번호: 301), 및 GGS GGS GGS GGS (서열 식별 번호: 302)을 비롯한, 3 ~ 12개 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 링커는 GGAG (서열 식별 번호: 303), GGSG (서열 식별 번호: 304), GGAGGGAG (서열 식별 번호: 305), GGS GGS GGS (서열 식별 번호: 306), GGAGGGAGGGAG (서열 식별 번호: 307), 및 GGS GGS GGS GGS GGS (서열 식별 번호: 308)의 모티프를 비롯한, 4 ~ 12개 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 링커는 GGGGA (서열 식별 번호: 309) 또는 GGGGS (서열 식별 번호: 267), 가령, GGGGGGGGAGGGGA (서열 식별 번호: 310) 및 GGGSGGGSGGGGS (서열 식별 번호: 311) 모티프를 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 모이어티 (가령, Fc 도메인 단량체, 야생형 Fc 도메인, 이량체화를 감소시키는 아미노산 치환 (가령, 하나 또는 그 이상의 치환)을 갖는 Fc 도메인, 알부민-결합 펩티드, 피브로넥틴 도메인, 또는 인간 혈청 알부민)와 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, ALK7, 및 폴리스테틴 이의 변이체들을 비롯한 폴리펩티드) 사이의 아미노산 링커는 GGG, GGGA (서열 식별 번호: 280), GGGG (서열 식별

번호: 262), GGGAG (서열 식별 번호: 312), GGGAGG (서열 식별 번호: 313), 또는 GGGAGGG (서열 식별 번호: 314)일 수 있다.

[0767] 일부 구체예들에서, 링커는 또한 글리신, 알라닌, 및 세린 이외의 아미노산을 함유할 수 있는데, 가령, AAAL (서열 식별 번호: 315), AAK (서열 식별 번호: 316), AAR (서열 식별 번호: 317), EGKSSGSGSESKST (서열 식별 번호: 318), GSAGSAAGSGEF (서열 식별 번호: 319), AEAAAKEAAKA (서열 식별 번호: 320), KESGSVSSEQLAQFRSLD (서열 식별 번호: 321), GENLYFQSGG (서열 식별 번호: 322), SACYCELS (서열 식별 번호: 323), RSIAT (서열 식별 번호: 324), RPACKIPNDLKQKVMNH (서열 식별 번호: 325), GGSAGGSGSGSGSGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (서열 식별 번호: 326), AAANSSIDLISVPVDSR (서열 식별 번호: 327), 또는 GSGSGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSGGS (서열 식별 번호: 328)이다. 일부 구체예들에서, 링커는 모티프, 가령, EAAAK (서열 식별 번호: 329)의 다중 또는 반복 모티프를 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 링커는 모티프, 가령, 프롤린-풍부 서열의 다중 또는 반복 모티프, 이를 테면, (XP)_n [이때 X는 임의의 아미노산 (가령, A, K, 또는 E)일 수 있고, n은 1-5이며], 및 PAPAP (서열 식별 번호: 330)를 함유할 수 있다.

[0768] 사용된 펩티드 링커 및 아미노산의 길이는 관련된 2개의 폴리펩티드 및 최종 폴리펩티드 융합 폴리펩티드에서 원하는 유연성 정도에 따라 조정될 수 있다. 링커의 길이는 적절한 폴리펩티드 폴딩을 보장하고, 응집체 형성을 피하기 위해 조정될 수 있다.

[0769] H) 폴리펩티드 변이체 및 변형들

[0770] 부분적으로, 본 명세서는 변이체 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)인 ActRII-ALK4 길항제에 관계한다. 본 명세서의 변이체 폴리펩티드에는 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환, 결손, 추가 또는 이의 조합, 뿐만 아니라 하나 또는 그 이상의 해독-후 변형들 (예를 들자면, 아세틸화, 카르복실화, 당화, 포스포릴화, 지질화, 및 아실화를 비롯한, 그러나 이에 국한되지 않는)의 변이에 의해 만들어진 변이체 폴리펩티드가 내포된다. 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형들을 포함하는 변이체 폴리펩티드를 만드는 방법, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 원하는 속성들을 갖는 변이체 폴리펩티드를 만드는 방법들은 본원에 기술되거나, 또는 그렇지 않으면 당분야에 공지되어 있다. 유사하게, 변이체 폴리펩티드가 하나 또는 그 이상의 원하는 속성들 (예를 들자면, 리간드 결합 및/또는 길항성 활성에서의 변경)을 갖는 지를 결정하는 각종 방법들이 본원에 기술되거나, 또는 그렇지 않으면 당분야에 공지되어 있다. 이들 방법을 이용하여 본원에서 기술된 변이체 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 만들고, 뿐만 아니라 이들의 활성 (또는 다른 속성들)을 입증할 수 있다.

[0771] 상기에서 기술된 바와 같이, 본 명세서는 자연 발생적 폴리펩티드와 서열 동일성 또는 유사성을 공유하는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공한다. 2개의 아미노산 서열 또는 2개의 핵산 서열의 동일성 백분율을 결정하기 위하여, 상기 서열들은 최적의 비교 목적으로 배열되며 (가령, 최적의 정렬을 위해 제 1 및 제 2 아미노산 또는 핵산 서열 중 하나 또는 둘 모두에 갭이 도입될 수 있고, 비-상동성 서열은 비교 목적으로 무시될 수 있다). 그 다음, 대응하는 아미노산 위치에서 해당 아미노산 잔기가 비교된다. 제 1 서열의 한 위치를 제 2 서열의 대응 위치에 있는 동일한 아미노산 잔기가 차지하는 경우, 이들 분자는 해당 위치에서 동일하다(본원에 사용된 아미노산 "동일성"은 아미노산 "상동성"과 등가이다). 두 서열의 최적 배열을 위하여 도입이 필요했던 각 갭의 수, 각 갭의 길이를 고려하여, 2개의 서열 간의 동일성 백분율은 이들 서열에 의해 공유되는 동일한 위치들의 수에 대한 함수가 된다.

[0772] 서열들의 비교 및 2개의 서열 간의 동일성 및 유사성 백분율 결정은 수학적 알고리즘을 이용하여 실행될 수 있다. (Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; 그리고 Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991).

[0773] 한 구체예에서, 2 개의 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 GCG 소프트웨어 패키지에서 GAP 프로그램에 통합된 Needleman 및 Wunsch (J Mol. Biol. (48) : 444-453 (1970)) 알고리즘을 사용하여 결정된다 (<http://www.gcg.com>에서 이용가능). 특정 구체예에서, GAP 프로그램에서 사용되는 매개 변수는 다음과 같다 : Blosum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 그리고 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4의 갭 가중치 및 1, 2, 3의 길이 가중치 4, 5 또는 6. 여전히 또다른 구체예에서, 두 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 백분율은 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램을 사용하여 결정된다(Devereux, J., *et al.*, Nucleic Acids. 12(1):387 (1984))

(<http://www.gcg.com>에서 이용가능). 예시적인 파라미터는 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70 또는 80의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중치를 사용하는 것을 포함한다. 달리 명시되지 않는 한, 두 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 Blosum 62 매트릭스, GAP 가중치 10 및 길이 가중치 3을 사용하는 GAP 프로그램을 사용하여 결정되며, 이러한 알고리즘이 원하는 백분율 동일성을 계산할 수 없다면, 적합한 본원에 게시된 대안이 선택되어야 한다.

[0774] 또다른 구체예에서, 두 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 E. Myers and W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989))의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있으며, 이는 PAM120 중량 잔기 테이블, 갭 길이 페널티 12 그리고 갭 페널티 4를 이용하여 ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 통합되었다.

[0775] 2 개의 아미노산 서열 사이의 최상의 전체 정렬을 결정하기 위한 다른 구체 예는 Brutlag *et al.* (Comp. App. Biosci., 6:237-245 (1990))의 알고리즘에 기초한 FASTDB 컴퓨터 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다. 서열 정렬에서, 의문(query) 서열 및 대상(subject) 서열은 모두 아미노산 서열이다. 전술한 글로벌(global) 서열 정렬의 결과는 동일성 백분율로 제시된다. 한 구체예에서, 아미노산 서열 동일성은 *et al.* (Comp. App. Biosci., 6:237-245 (1990))의 알고리즘에 기초한 FASTDB 컴퓨터 프로그램을 사용하여 수행된다. 특정 구체예에서, 아미노산 정렬의 동일성 및 유사성 백분율을 계산하기 위해 사용된 파라미터는 다음을 포함한다: 매트릭스 = PAM 150, k-튜플 = 2, 불일치 페널티 = 1, 합류 페널티 = 20, 랜덤화 그룹 길이 = 0, 컷오프 점수 = 1, 갭 페널티 = 5 및 갭 크기 페널티 = 0.05.

[0776] 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서는 치료 효과 또는 안정성을 강화시킬 목적으로 (가령, 반감기 증가 및/또는 단백질분해에 대한 저항성 증가), 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 구조를 변경시켜 기능적 변이체 폴리펩티드의 제조를 고려한다. 아미노산 치환, 결손, 추가, 또는 이의 조합들에 의해 변이체들이 만들어질 수 있다. 예를 들면, 류신을 이소류신 또는 발린으로 치환, 아스파르테이트를 글루탐산염으로 치환, 트레오닌을 세린으로 치환, 또는 아미노산을 구조적으로 관련된 아미노산 (가령, 보존 돌연변이)으로 단리된 치환은 생성 분자의 생물학적 활성에 주요한 영향을 주지 않을 것으로 합리적으로 예측할 수 있다. 보존적 치환은 측쇄와 관련된 아미노산 패밀리 내에서 일어나는 것들이다. 본 명세서의 폴리펩티드의 아미노산 서열의 변화로 기능적 동소체가 생성되는 지의 여부는 생성된 변이체 폴리펩티드가 이의 야생형 폴리펩티드와 유사한 방식으로 세포 안에서 반응을 만드는 능력, 또는 예를 들면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6 및 BMP10을 포함하는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합하는 능력을 평가함으로써 용이하게 결정될 수 있다.

[0777] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드) 폴리펩티드의 당화를 변경시키기 위해, 이들 폴리펩티드의 특이적 돌연변이를 고려한다. 하나 또는 그 이상의 글리코실화 부위, 이를 테면, O-연계된 또는 N-연계된 글리코실화 부위를 도입시키거나, 또는 제거하기 위해 이러한 돌연변이들이 선택될 수 있다. 아스파라긴-연계된 당화 인지 부위는 일반적으로 적절한 세포의 당화 효소에 의해 특이적으로 인지되는 삼펩티드 서열, 아스파라긴-X-트레오닌 또는 아스파라긴-X-세린 (여기에서 "X"는 임의의 아미노산임)이다. 이러한 변경은 하나 또는 그 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기를 상기 폴리펩티드(O-연계된 당화 부위의 경우)에 추가 또는 치환시켜 만들 수도 있다. 당화 인지 부위의 제1 또는 제3 아미노산 위치중 하나 또는 둘 모두에서 다양한 아미노산 치환 또는 결손 (및/또는 제 2 위치에서 아미노산 결손)으로 변형된 삼펩티드(tripeptide) 서열에서 비-당화가 초래된다. 폴리펩티드의 탄수화물 모이어티의 수를 증가시키는 또다른 수단은 상기 단백질에 화학 또는 효소적으로 글리코시드를 결합시키는 것이다. 이용되는 결합 방식에 따라, 이들 당(들)은 (a) 아르기닌 및 히스티딘; (b) 자유 카르복실기; (c) 자유 술포히드릴기, 이를 테면 시스테인의 기; (d) 자유 히드록실 기, 이를 테면 세린, 트레오닌, 또는 히드록시프롤린; (e) 방향족 잔기, 이를 테면 페닐알라닌, 티로신, 또는 트립토판의 기; 또는 (f) 글루타민의 아미드 기에 부착될 수 있다. 폴리펩티드 상에 있는 하나 또는 그 이상의 탄수화물 모이어티는 화학적 및/또는 효소적으로 제거될 수 있다. 화학적 탈당화는 예를 들면, 트리플루오로메탄설폰산 또는 이에 등가의 화합물에 대한 폴리펩티드의 노출을 필요할 수 있다. 이 처리는 아미노산 서열을 손상시키지 않으면서, 연계당 (N-아세틸 글루코사민 또는 N-아세틸 갈락토사민)을 제외한 대부분 또는 모든 당을 절단하게 된다. 폴리펩티드상의 탄수화물 모이어티의 효소 절단은 Thotakura *et al.*, [Meth. Enzymol. (1987) 138:350]에서 설명된 바와 같이, 다양한 엔도- 및 엑소-글리코시다제의 사용에 의해 이루어질 수 있다. 포유류, 효모, 곤충 및 식물 세포는 모두 펩티드의 아미노산 서열에 의해 영향을 받을 수 있는 상이한 당화 패턴을 도입시킬 수 있기 때문에 폴리펩티드의 서열은 이용되는 발현계 유형에 따라 적절하게 조정될 수 있다. 일반적으로, 인간에 사용하기 위한 본 명세서의 폴리펩티드는 적절한 당화를 제공하는 포유류 세포계, 이를 테면 HEK293 또는 CHO 세포계에서 발현될 수 있지만, 다른 포유류 발현 세포계

또한 마찬가지로 유용할 것으로 예상된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 당화되고, CHO 세포에서 이들 폴리펩티드로부터 획득가능한 글리코실화 패턴을 갖는다.

[0778] 본 명세서는 돌연변이, 구체적으로 폴리펩티드(예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 조합적 돌연변이 세트, 뿐만 아니라 절두 돌연변이를 만드는 방법을 더 고려한다. 복합 돌연변이체의 푸올은 기능적으로 활성인 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 결합) ActRIIB 서열을 동정하는데 특히 유용하다. 이러한 복합 라이브러리들을 스크리닝하는 목적은 변경된 성질, 이를 테면 변경된 약동학적 또는 변경된 리간드 결합을 갖는 폴리펩티드들 변이체를 만들기 위함을 수도 있다. 다양한 스크리닝 분석이 하기에 제공되며, 이러한 분석을 이용하여 변이체들을 평가할 수 있다. 예를 들면, 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드) 변이체들, 동일한 것을 포함하는 동형다량체들, 및 이형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합하는 능력, ActRII-ALK4 리간드가 ActRII 및/또는 ALK4 폴리펩티드, 뿐만 아니라 이의 동형다량체들 또는 이의 이형다량체들에 결합을 방해하는 능력, 및/또는 ActRII-ALK4 리간드에 의해 야기되는 신호전달을 간섭하는 능력에 대해 스크리닝된다.

[0779] 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들, 또는 이의 변이체의 활성은 세포-기반 또는 생체내 분석에서 또한 테스트될 수 있다. 예를 들면, 심부전 발병기전에 관련된 유전자의 발현에 있어서 폴리펩티드, 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들, 또는 이의 변이체의 표가 평가되었다. 이 평가는 필요에 따라, 하나 또는 그 이상의 재조합 리간드 단백질들 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)의 존재 하에서 실행될 수 있고, 세포는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 및 임의 선택적으로, ActRII-ALK4 리간드를 생산하기 위해 형질감염될 수 있다. 마찬가지로, 폴리펩티드, 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들, 또는 이의 변이체들은 마우스 또는 다른 동물에게 투여될 수 있으며, 당분야-인지된 방법들을 이용하여 심부전 발병기전에서 효과가 평가될 수 있다. 유사하게, 폴리펩티드 또는 이의 변이체의 활성은 세포의 성장에 임의의 효과에 대하여, 예를 들면, 본 명세서에서 설명된 바와 같이 분석과 당분야의 공통적인 지식에 의해 테스트될 수 있다. SMAD-반응성 리포터 유전자를 이러한 세포계에서 이용하여 하류 신호전달에 대한 효과를 모니터링할 수 있다.

[0780] 특정 측면들에서, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드, 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 적어도 1×10^{-7} M의 K_D 로 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 결합한다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드는 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, 및 BMP10로 구성된 군에서 선택된다.

[0781] 특정 측면들에서, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 패밀리 리간드를 억제시킨다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드, 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드의 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드, 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드의 Smad 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드, 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 세포-기반 분석에서 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드의 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드, 이의 이형다량체들 또는 이의 동형다량체들은 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, 및 BMP10로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드를 억제시킨다.

[0782] 기준 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들과 비교하여 선택성이 증가된 또는 전반적으로 효능이 증가된 복합-유도된 변이체가 만들어질 수 있다. 이러한 변이체들은 재조합 DNA 구조체로부터 발현될 때, 유전자 요법 프로토콜에 이용될 수 있다. 마찬가지로, 돌연변이생성은 대응하는 변형안된 폴리펩티드, 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들과는 상당히 상이한 세포내 반감기를 갖는 변이체를 만들 수 있다. 예를 들면, 상기 변경된 단백질은 변형되지 않은 폴리펩티드의 파괴 또는 그렇지 않으면 불활성을 초래하는 단백질분해 또는 다른 세포 과정에 더 안정적이거나 또는 덜 안정적이 될 수 있다. 이러한 변이체 및 이들을 코딩하는 유전자는 폴리펩티드의 반감기를 조절함으로써 폴리펩티드 복합체 수준을 변경시키는데 이용될 수 있다. 예를 들면, 짧은 반감기는 더욱 일

시적인 생물학적 효과를 일으킬 수 있고, 유도성 발현 시스템의 일부는 세포 안에 제조할 폴리펩티드 복합체 수준을 더 엄밀하게 조절할 수 있다. Fc 융합 폴리펩티드에서, 상기 폴리펩티드, 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들의 반감기를 변경하기 위하여, 링커(존재한다면) 및/또는 Fc 부분에 돌연변이를 만들 수 있다.

[0783] 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들의 적어도 일부분이 내포된, 폴리펩티드의 라이브러리를 인코딩하는 유전자의 축중 라이브러리에 의해 복합 라이브러리가 만들어질 수 있다. 예를 들면, 합성 올리고뉴클레오타이드의 혼합물은 유전자 서열에 효소적으로 결합되어, 잠재적 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열의 축중 세트는 개별 폴리펩티드로 발현되거나, 또는 대안으로, 더 큰 융합 단백질 (가령, 파아지 디스플레이의 경우)로 발현가능하다.

[0784] 잠재적 상동체(homologs)의 라이브러리는 축중 올리고뉴클레오타이드 서열로부터 만들어질 수 있는 많은 방법들이 있다. 축중(degenerate) 유전자 서열의 화학적 합성은 자동 DNA 합성기에서 실행될 수 있고, 그 다음 합성 유전자는 적절한 발현 벡터 안에 결합될 수 있다. 축중 올리고뉴클레오타이드 합성은 당분야에 공지되어 있다 [Narang, SA (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura *et al.* (1981) Recombinant DNA, Proc. 3rd Cleveland Sympos. Macromolecules, ed. AG Walton, Amsterdam: Elsevier pp273-289; Itakura *et al.* (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura *et al.* (1984) Science 198:1056; 및 Ike *et al.* (1983) Nucleic Acid Res. 11:477]. 이러한 기술은 다른 단백질의 유도된 진화에 이용되어 왔다 [Scott *et al.*, (1990) Science 249:386-390; Roberts *et al.* (1992) PNAS USA 89:2429-2433; Devlin *et al.* (1990) Science 249: 404-406; Cwirla *et al.*, (1990) PNAS USA 87: 6378-6382; 뿐만 아니라 U.S. 특허 번호: 5,223,409, 5,198,346, 및 5,096,815].

[0785] 대안으로, 다른 형태의 돌연변이유발을 이용하여 조합 라이브러리를 만들 수 있다. 예를 들면, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들은 만들어지고, 예를 들면, 알려진 스캐닝 돌연변이유발을 이용한 스크리닝[가령, Ruf *et al.* (1994) Biochemistry 33:1565-1572; Wang *et al.* (1994) J. Biol. Chem. 269:3095-3099; Balint *et al.* (1993) Gene 137:109-118; Grodberg *et al.* (1993) Eur. J. Biochem. 218:597-601; Nagashima *et al.* (1993) J. Biol. Chem. 268:2888-2892; Lowman *et al.* (1991) Biochemistry 30:10832-10838; 그리고 Cunningham *et al.* (1989) Science 244:1081-1085], 링커 스캐닝 돌연변이유발 [가령, Gustin *et al.* (1993) Virology 193:653-660; 그리고 Brown *et al.* (1992) Mol. Cell Biol. 12:2644-2652; McKnight *et al.* (1982) Science 232:316], 포화 돌연변이유발 [가령, Meyers *et al.*, (1986) Science 232:613]; PCR 돌연변이유발 [가령, Leung *et al.* (1989) 방법 Cell Mol Biol 1:11-19]; 또는 화학적 돌연변이유발을 포함하는 무작위 돌연변이유발[가령, Miller *et al.* (1992) A Short Course in Bacterial Genetics, CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY; 및 Greener *et al.* (1994) Strategies in Mol Biol 7:32-34]에 의해 분리될 수 있다. 링커 스캐닝 돌연변이유발은 특히 복잡한 환경에서 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들 절두된 (생활성) 형태를 확인하는 매력적인 방법이다.

[0786] 점 돌연변이 및 절두에 의해 만들어진 복합 라이브러리의 유전자 산물을 스크리닝하기 위한, 그리고 이와 같은 경우, 특정 성질을 갖는 유전자 산물의 cDNA 라이브러리를 스크리닝하기 위한 광범위한 기술이 당분야에 공지되어 있다. 이러한 기술은 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들의 복합 돌연변이유발에 의해 생성된 유전자 라이브러리의 신속한 스크리닝에 일반적으로 적합할 것이다. 큰 유전자 라이브러리를 스크리닝하는 가장 광범위하게 이용되는 기술은 전형적으로 유전자 라이브러리를 복제가능한 발현 벡터에 클로닝하고, 적절한 세포를 벡터의 생성 라이브러리로 형질전환시키고, 원하는 활성의 탐지는 해당 유전자의 산물이 탐지되는 해당 유전자를 인코딩하는 벡터를 상대적으로 용이하게 분리할 수 있는 조건하에 복합 유전자를 발현시키는 것을 포함한다. 바람직한 분석에는 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10) 결합 분석 및/또는 리간드-매개된 세포 신호전달 분석이 내포된다.

[0787] 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 본원에 기술된 돌연변이, 변이체 또는 변형의 대부분은 핵산 수준에서, 또는 경우에 따라, 해독-후(post-translational) 변형 또는 화학 합성에 의해 만들어 질 수 있다. 이러한 기술은 당해 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 그 중 일부는 본 명세서에 기술되어 있다. 부분적으로, 본 명세서는 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들의 기능적으로 활성 부분 (단편들) 및 변이체들을 확인하고, 이는 본원에 기술된 방법 및

용도의 범위 내에서 다른 변이체 폴리펩티드를 생성 및 사용하기 위한 지침으로서 사용될 수 있다.

[0788] 특정 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들의 기능적 활성 단편들은 본원에 기술된 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산의 대응 단편으로부터 재조합적으로 생산된 폴리펩티드를 스크리닝함으로써 획득될 수 있다. 추가적으로, 단편은 이를 테면, 통상의 Merrifield 고체상 f-Moc 또는 t-Boc 화학과 같은 당업계에 공지된 기술을 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 상기 단편들이 생성되고 (재조합적으로 또는 화학 합성에 의해), ActRII 및/또는 ALK4 수용체 및/또는 하나 또는 그 이상의 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)의 길항제 (억제제)로 기능을 할 수 있는 이들 펩티드 단편을 식별하기 위하여 테스트될 수 있다.

[0789] 특정 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들 또는 이의 변이체들은 이들 폴리펩티드 내에 자연적으로 존재하는 것에 더하여 해독후-변형을 더욱 포함할 수 있다. 이러한 변형에는 아세틸화, 카르복실화, 당화, 인산화, 지질화 및 아실화가 내포되하나, 이에 한정되지 않는다. 그 결과, 상기 폴리펩티드, 그리고 이의 동형다량체들 및 이의 이형다량체들은 비-아미노산 원소, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 지질, 다당류 또는 단당류 및 인산염을 함유할 수 있다. 폴리펩티드의 기능에 대하여 본 명세서에 기재된 바와 같이, 다른 폴리펩티드의 기능에서 이러한 비-아미노산 요소들의 효과를 테스트할 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드가 초기 형태 (nascent form)의 폴리펩티드를 절단함으로써 세포에서 생산되는 경우, 해독후-가공은 또한 단백질의 정확한 폴딩 및/또는 기능에 중요할 수 있다. 상이한 세포들 (가령, CHO, HeLa, MDCK, 293, WI38, NIH-3T3 또는 HEK293)은 이러한 해독후 활성에 대하여 특이적 세포 기전 및 특징들을 보유하고, 그리고 상기 폴리펩티드의 정확한 변형 및 프로세싱을 확보하도록 선택될 수 있다.

[0790] I) 핵산 및 제조 방법

[0791] 특정 측면들에서, 본 명세서는 본원에 기술된 임의의 폴리펩티드, 예를 들면, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, 또는 ALK7 폴리펩티드 (예를 들자면, 가용성 ActRIIB, ActRIIA, ALK4, 또는 ALK7 폴리펩티드), 또는 폴리스테틴 폴리펩티드, 뿐만 아니라 본원에 기술된 임의의 변이체들을 인코딩하는 단리된 및/또는 재조합 핵산을 제공한다. 예를 들면, 서열 식별 번호: 4는 자연 발생적 ActRIIB 전구체 폴리펩티드를 인코딩하는 한편, 서열 식별 번호: 3은 가용성 ActRIIB 폴리펩티드를 인코딩한다. 대상 핵산은 단일-가닥이거나 또는 이중 가닥일 수 있다. 이러한 핵산은 DNA 또는 RNA 분자일 수 있다. 이들 핵산은 예를 들면, ActRIIB, ActRIIA, ALK4, 또는 ALK7 폴리펩티드를 만드는 방법에 이용되거나, 또는 직접적인 치료제 (가령, 유전자 요법 접근법에서)로 이용되는 만드는 방법에 이용될 수 있다.

[0792] 특정 측면들에서, 본 명세서는 본원에서 기술된 하나 또는 그 이상의 ActRIIB, ActRIIA, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드(들)에 대한 코딩 서열을 포함하는 단리된 핵산 및/또는 재조합 핵산에 관계한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 3, 4, 10, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 221, 222, 223, 224, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 248, 250, 251, 252, 255, 277, 331, 334, 337, 340, 343, 346, 349, 352, 355, 369, 370, 382, 397, 407, 423, 및 424중 임의의 하나에 대응하는 핵산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 단리된 폴리뉴클레오티드 서열 및/또는 재조합 폴리뉴클레오티드 서열은 본원에서 기술된 코딩 서열 (가령, 서열 식별 번호: 서열 식별 번호: 3, 4, 10, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 221, 222, 223, 224, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 248, 250, 251, 252, 255, 277, 331, 334, 337, 340, 343, 346, 349, 352, 355, 369, 370, 382, 397, 407, 423, 및 424중 임의의 하나에 대응하는 핵산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산)에 작동가능하도록 연계된 프로모터 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 본원에서 기술된 단리된 및/또는 재조합 핵산 (예를 들자면, 서열 식별 번호: 3, 4, 10, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 221, 222, 223, 224, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 248, 250, 251, 252, 255, 277, 331, 334, 337, 340, 343, 346, 349, 352, 355, 369, 370, 382, 397, 407, 423, 및 424중 임의의 하나에 대응하는 핵산 서열에

대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산)을 포함하는 세포에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 CHO 세포이다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 COS 세포이다.

[0793] 특정 구체예들에서, 변이체 ActRIIB (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체), ALK4 또는 ALK7 본 명세서의 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산에는 서열 식별 번호: 3, 4, 10, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 221, 222, 223, 224, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 248, 250, 251, 252, 255, 277, 331, 334, 337, 340, 343, 346, 349, 352, 355, 369, 370, 382, 397, 407, 423, 및 424중 임의의 하나의 서열의 변이체인 핵산이 내포되는 것으로 이해된다. 변이체 뉴클레오티드 서열에는 대립유전자 변이체를 비롯한, 하나 또는 그 이상의 뉴클레오티드 치환, 추가 또는 결실에 의해 상이한 서열이 내포되며, 따라서, 서열 식별 번호: 3, 4, 10, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 221, 222, 223, 224, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 248, 250, 251, 252, 255, 277, 331, 334, 337, 340, 343, 346, 349, 352, 355, 369, 370, 382, 397, 407, 423, 및 424중 임의의 하나의 서열로 명시된 뉴클레오티드 서열과는 상이한 코딩 서열이 내포될 것이다.

[0794] 특정 구체예들에서, 변이체 ActRIIB (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체), 본 명세서의 ALK4, 또는 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 3, 4, 10, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 221, 222, 223, 224, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 248, 250, 251, 252, 255, 277, 331, 334, 337, 340, 343, 346, 349, 352, 355, 369, 370, 382, 397, 407, 423, 및 424중 임의의 하나의 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 3에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 4에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 10에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 32에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 35에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 38에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 41에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 44에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 47에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0795] 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 277에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 331에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 334에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 변이체 ActRIIB 폴리펩티드 (또는 동종다량체 또는 이의 이종다량체)는 서열 식별 번호: 337에

적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 236에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 237에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 238에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 239에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK7 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 240에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0799] 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 243에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 248에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 250에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 251에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 252에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 255에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 및/또는 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0800] 특정 측면에서, 변이체 ActRIIB 폴리펩티드를 인코딩하는 대상 핵산은 서열 식별 번호: 3의 변이체인 핵산이 내포되는 것으로 더 이해된다. 변이체 뉴클레오티드 서열은 하나 또는 그 이상의 뉴클레오티드 치환, 부가 또는 결실에 의해 다른 서열, 예를 들면, 대립형질 변이체를 포함하고; 그리고, 이런 이유로, 서열 식별 번호: 4로 지정된 코딩 서열의 뉴클레오티드 서열과 상이한 코딩 서열을 포함할 것이다.

[0801] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 3에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 단리된 핵산 서열 또는 재조합 핵산 서열을 제공한다. 서열 식별 번호: 3에 상보적인 핵산 서열, 그리고 서열 식별 번호: 3의 변이체는 본 명세서의 범위 안에 또한 속한다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 추가 구체예들에서, 본 명세서의 핵산 서열은 단리되거나, 재조합되거나, 및/또는 이중성 뉴클레오티드 서열에 융합되거나 또는 DNA 라이브러리 안에 있을 수 있다.

[0802] 다른 구체예들에 있어서, 본 명세서의 핵산에는 동중체 형태 또는 이중체 형태의 ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드, 본 명세서의 ALK4, 또는 ALK7 폴리펩티드, 또는 본 명세서의 폴리스테틴 폴리펩티드, 보체 서열, 또는 이의 단편들을 인코딩하는 핵산에 혼성화되는 뉴클레오티드 서열들이 또한 내포된다. 상기에서 논의된 바와 같이, 당업자는 DNA 혼성화를 촉진시키는 적절한 엄격 조건은 가변적일 수 있다는 것을 용이하게 이해할 것이다. 당업자는 DNA 혼성화를 촉진시키는 적절한 엄격 조건은 가변적일 수 있다는 것을 용이하게 이해할 것이다. 예를 들면, 약 45° C에서 6.0 x 염화나트륨/구연산나트륨 (SSC)에서 혼성화를 실시하고, 이어서 50° C에서 2.0 x SSC로 세척할 수 있다. 예를 들면, 세척 단계에서 염 농도는 약 2.0 x SSC, 50° C의 낮은 엄격성에서부터 약 0.2 x SSC, 50° C의 높은 엄격성에서 선택될 수 있다. 또한, 세척 단계에서 온도는 약 22° C, 실온의 낮은 엄격성 상태에서부터 약 65° C의 높은 엄격성 상태로 증가될 수 있다. 다른 변수가 변경되는 동안, 온도 및 염이 모두 변할 수 있거나 온도 또는 염 농도가 일정하게 유지되고, 다른 변수들이 변경될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서는 실온에서 6 x SSC의 낮은 엄격성 조건하에 혼성화되고, 이어서 실온에서 2 x SSC에서 세척된 핵산을 제공한다.

[0803] 유전자 코드에서 축중성으로 인해 본 명세서에서 제시된 바와 같은 핵산과 상이한 단리된 핵산 역시 본 발명의

범위 내에 있다. 예를 들면, 다수의 아미노산은 하나 이상의 삼중항으로 표시된다. 동일한 아미노산을 특정하는 코돈, 또는 동의 코돈 (예를 들면, CAU와 CAC는 히스티딘의 경우 동의코돈임)으로 이 폴리펩티드의 아미노산 서열에 영향을 주지 않은 “침묵(silent)” 돌연변이가 된다. 그러나, 포유류 세포 중에 본 폴리펩티드의 아미노산 서열의 변화를 유도하는 DNA 서열 다형성이 존재할 것으로 기대된다. 당업자는 특정 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산의 하나 이상의 뉴클레오티드 (뉴클레오티드의 최대 약 3 내지 5%)에서의 이러한 변이가 자연 대립 유전자 변이로 인해 주어진 종의 개체들 사이에 존재할 수 있음을 인식할 것이다. 임의의 그리고 모든 이러한 뉴클레오티드 변이 및 결과의 아미노산 다형성은 본 발명의 범위 안에 있다.

[0804]

일정한 구체예에서, 본 발명의 재조합 핵산은 발현 구조체 내에서 하나 또는 그 이상의 조절 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 조절 뉴클레오티드 서열은 일반적으로, 발현에 이용된 숙주 세포에 적합할 것이다. 다양한 숙주 세포에 있어서 다수 유형의 적절한 발현 벡터 및 적합한 조절 서열이 당분야에 공지되어 있다. 전형적으로, 전술한 하나 또는 그 이상의 조절 뉴클레오티드 서열은 프로모터 서열, 리더 또는 신호 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 개시 및 종료 서열, 해독 개시 및 종료 서열, 및 인핸서 또는 활성자 서열을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 당분야에 공지된 구성적 프로모터 또는 유도성 프로모터가 본 명세서에서 고려된다. 상기 프로모터는 자연 발생적 프로모터이거나, 또는 하나 이상의 프로모터 요소들이 복합된 하이브리드 프로모터일 수 있다. 발현 구조체는 세포 안 에피솜 상에, 이를 테면 플라스미드로 존재하거나, 또는 발현 구조체는 염색체 안에 삽입될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 발현 벡터는 선택가능한 표지 유전자를 포함하여, 형질전환된 숙주 세포의 선별이 가능하다. 선택가능한 표지 유전자는 당분야에 공지되어 있으며, 이용되는 숙주 세포에 따라 가변적일 것이다.

[0805]

일정한 양상에서, 주체 핵산은 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 인코딩하고, 최소한 하나의 조절 서열에 작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터에서 제공된다. 조절 서열은 당분야에서 인식되고, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 발현을 주도하도록 선별된다. 따라서, 용어 “조절 서열”에는 프로모터, 인핸서, 및 기타 발현 조절 요소들이 내포된다. 예시적인 조절 서열은 Goeddel; *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology*, Academic Press, San Diego, CA (1990)에서 설명되고 있다. 가령, 자신에게 작동가능하게 연결될 때 DNA 서열의 발현을 제어하는 임의의 매우 다양한 발현 제어 서열이 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 인코딩하는 DNA 서열을 발현하기 위해 이들 벡터에서 이용될 수 있다. 이러한 유용한 발현 조절 서열에는 예를 들면, SV40의 초기 및 후기 프로모터, *tet* 프로모터, 아데노바이러스 또는 사이토메갈로바이러스 즉각 초기 프로모터, RSV 프로모터, lac 시스템, *trp* 시스템, TAC 또는 TRC 시스템, T7 RNA 중합효소에 의해 발현이 지시되는 T7 프로모터, 파아지 람다의 주요 오퍼레이터 및 프로모터 영역, fd 피복 단백질의 조절 영역, 3-포스포글리세레이트 키나제 또는 다른 글리콜분해 효소의 프로모터, 산 포스파타제의 프로모터, 가령, Pho5, 효모 α-메이팅 인자들의 프로모터, 베칼로바이러스 시스템의 폴리헤드론 프로모터, 또는 진핵 세포 또는 이의 바이러스의 발현을 제어하는 것으로 알려진 기타 서열, 및 다양한 이의 조합들이 내포된다. 발현 벡터의 설계는 형질전환된 숙주 세포의 선택 및/또는 발현되기를 원하는 폴리펩티드의 유형과 같은 인자에 좌우될 수 있음을 알아야 한다. 더욱이, 벡터의 복사체 수, 복사체 수를 조절하는 능력, 그리고 이 벡터에 의해 인코딩되는 임의의 다른 폴리펩티드, 가령, 항생제 표지 등의 발현이 또한 고려된다.

[0806]

본 명세서의 재조합 핵산은 원핵 또는 진핵 세포 (효모, 조류, 곤충 또는 포유류), 또는 이들 모두에서 발현하는데 적합한 벡터에 클론된 유전자 또는 이의 일부분을 결합시킴으로써 만들어질 수 있다. 재조합 변이체 ActRIIB 폴리펩티드의 생산을 위한 발현 수송체는 플라스미드 및 다른 벡터를 포함한다. 예를 들면, 적합한 벡터는 이들 유형의 플라스미드를 포함한다: 원핵 세포, 이를 테면 대장균에서 발현을 위한 pBR322-유도된 플라스미드, pEMBL-유도된 플라스미드, pEX-유도된 플라스미드, pBTac-유도된 플라스미드 및 pUC-유도된 플라스미드.

[0807]

일부 포유류 발현 벡터는 박테리아에서 벡터의 증식을 실행하는 원핵(prokaryotic) 서열과 진핵 세포에서 발현된 진핵(eukaryotic) 전사 단위를 모두 포함한다. pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo 및 pHyg 유도된 벡터는 진핵 세포의 형질감염에 적합한 포유류 발현 벡터의 예들이다. 이들 벡터중 일부는 박테리아 플라스미드, 이를 테면 pBR322의 서열로 변형되어, 진핵 세포와 원핵 세포 모두에서 복제 및 약물 저항성 선별이 가능하다. 대안으로, 바이러스, 이를 테면 소의 유두종 바이러스 (BPV-1), 또는 Epstein-Barr 바이러스 (pHEBo, pREP-유도된 그리고 p205)의 유도체들이 진핵 세포에서 폴리펩티드의 일시적 발현에 이용될 수 있다. 다른 바이러스 (레트로바이러스 포함) 발현 시스템의 예는 하기 유전자 요법 운반 시스템의 설명에서 찾아볼 수 있다. 플라스미드의 준비 및 숙주 유기체의 형질전환에 이용

되는 다양한 방법들이 당분야에 공지되어 있다. 원핵 세포와 진핵 세포 모두에 적합한 다른 발현 시스템, 뿐만 아니라 전반적인 재조합 과정은 *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) Chapters 16 및 17을 참고한다. 일부 경우들에 있어서, 벡로로바이러스 발현 시스템의 사용에 의해 재조합 폴리펩티드를 발현시키는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 벡로로바이러스 발현 시스템의 예로는 pVL-유도된 벡터 (이를 테면 pVL1392, pVL1393 및 pVL941), pAcUW-유도된 벡터 (이를 테면 pAcUW1), 및 pBlueBac-유도된 벡터 (이를 테면 β -gal 함유 pBlueBac II)들이 내포된다.

[0808] 바람직한 구체예에서, 벡터, 예를 들면, Pcmv-스크립트 벡터 (Stratagene, La Jolla, Calif.), pcDNA4 벡터 (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) 및 pCI-neo 벡터 (Promega, Madison, Wisc.)는 CHO 세포에서 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 생산하도록 설계될 것이다. 명백한 바와 같이, 대상 유전자 구조체는 예로서, 폴리펩티드, 융합 폴리펩티드, 또는 정제를 위한 폴리펩티드를 생산하기 위해, 배양액에서 증식된 세포에서 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 발현을 유발하는데 이용될 수 있다.

[0809] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드), 뿐만 아니라 이를 포함하는 동형다량체 및 이형다량체들, 그 만드는 방법에 관한 것이다. 이런 방법은 본원에서 개시된 핵산 중에서 한 가지를 적합한 세포 (가령, CHO 세포 또는 COS 세포)에서 발현시키는 것이 내포될 수 있다. 이러한 방법은 다음을 포함할 수 있다: a) 본 명세서의 가용성 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 발현에 적합한 조건 하에서 세포를 배양시키고, 이때 전술한 세포는 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 발현 구조체를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 발현된 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 회수하는 것을 더 포함한다. 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 세포 배양액으로부터 단백질을 획득하기 위한 널리 공지된 기술 중에서 한 가지를 이용하여, 미가공의, 부분적으로 정제된, 또는 고도로 정제된 분획물로서 회수될 수 있다.

[0810] 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)에 대한 코딩 서열이 내포된 재조합 유전자로 형질감염된 숙주 세포에 또한 관계한다. 상기 숙주 세포는 임의의 원핵 세포 또는 진핵 세포일 수 있다. 예를 들면, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 박테리아 세포, 이를 테면 대장균, 곤충 세포 (가령, 벡로로바이러스 발현 시스템을 이용), 효모, 또는 포유류 세포에서 발현될 수 있다. 당업자들에게는 다른 적합한 숙주 세포들이 또한 알려져 있다.

[0811] 따라서, 본 명세서는 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 생산하는 방법에 더 관계한다. 예를 들면, 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 인코딩하는 발현 벡터로 형질감염된 숙주 세포는 이러한 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 발현이 발생하도록 허용하는 적절한 조건 하에 배양될 수 있다. 상기 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 분리되고, 상기 폴리펩티드를 함유하는 세포와 배지 혼합물로부터 분리될 수 있다. 대안으로, 상기 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 세포질 또는 막 분획 내에 보유될 수 있으며, 세포는 수거되고, 용해되고, 단백질은 분리된다. 세포 배양물은 숙주 세포, 배지 및 다른 부산물을 포함한다. 세포 배양에 적합한 배지는 당분야에 공지되어 있다. 대상이 되는 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 이온-교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 한외여과, 전기영동, 그리고 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 특정 에피토프에 특이적인 항체를 이용한 면역침화력 정제를 비롯한, 단백질을 정제하는데 공지된 기술을 이용하여 세포 배양 배지, 숙주 세포, 또는 이 둘 모두로부터 분리될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 상기 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)는 정제를 용이하게 하는 도메인을 함유하는 융합 폴리펩티드이다.

[0812] 바람직한 구체예들에서, 본원에서 기술된 방법에 이용될 ActRII 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, ALK7 폴리펩티드, 및 ActRIIB-ALK4, ActRIIB-ALK7, ActRIIA-ALK4, 및 ActRIIA-ALK7 이형다량체들은 분리된 폴리펩티드이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 분리된 단백질 또는 폴리펩티드 (또는 폴리펩티드 복합체)는 자연 환

경의 성분으로부터 분리된 것이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 폴리펩티드는 예를 들면, 전기영동 (가령, SDS-PAGE, 등전초점조절 (IEF), 모세관전기이동) 또는 크로마토그래피 (가령, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의해 측정되었을 때, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 이상의 순도로 정제된다. 순도 측정 방법은 당분야에 공지되어 있다[가령, Flatman *et al.*, (2007) *J. Chromatogr. B* 848:79-87 참조]. 일부 구체예들에서, 본 발명에 따른 방법에 이용될 ActRII 폴리펩티드, ALK4 폴리펩티드, 및 ActRIIB-ALK4 이형다량체들은 재조합 폴리펩티드다.

[0813] 특정 구체예들에서, 본 명세서의 ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드는 당업계에 공지된 다양한 기술에 의해 생산될 수 있다. 예를 들면, 이러한 ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드는 표준 단백질 화학 기술, 예를 들면, Bodansky, M. *Principles of Peptide Synthesis*, Springer Verlag, Berlin (1993) and Grant G. A. (ed.), *Synthetic Peptides: A User's Guide*, W. H. Freeman and Company, New York (1992)에서 설명된 것들을 이용하여 합성될 수 있다. 이에 더하여, 자동화된 펩티드 합성장치는 상업적으로 가용하다 (가령, Advanced ChemTech Model 396; Milligen/Bioscience 9600). 대안으로, ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드, 이의 단편들 또는 이의 변이체들은 당분야에 공지된 다양한 발현 시스템 (가령, 대장균, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, COS 세포, 벡로마바이러스)을 이용하여 재조합적으로 만들어질 수 있다(또한 상기 참조). 추가 구체예에서, ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드는 예로서, 프로테아제, 예를 들면, 트립신, 서몰리신, 키모트립신, 펩신, 또는 대합된 염기성 아미노산 전환 효소 (PACE)를 이용함으로써, 자연발생적 또는 재조합적으로 생산된 전장의 ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드의 절단에 의해 생산될 수 있다. 단백질분해가능한 절단 부위는 컴퓨터 분석(시판되는 소프트웨어, 가령, MacVector, Omega, PCGene, Molecular Simulation, Inc.)을 이용하여 식별해낼 수 있다. 대안으로, 이러한 ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드는 화학적 절단(예를 들어, 시아노겐 브로마이드, 하이드록실아민)과 같은 당업계에 공지된 표준 기술과 같은 자연 발생 또는 재조합적으로 생성된 전장의 ActRIIB 또는 ActRIIA 폴리펩티드로부터 생성될 수 있다.

[0814] 또다른 구체예에서, 본 명세서의 재조합 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)의 원하는 부분의 N 말단에서 정제 리더 서열, 예를 들면, 폴리-(His)/엔테로키나아제 개열 부위 서열을 코딩하는 융합 유전자는 Ni^{2+} 금속 수지를 이용한 친화성 크로마토그래피에 의한 발현된 융합 폴리펩티드의 정제를 허용할 수 있다. 이후, 정제 리더 서열은 정제된 정제된 본 명세서의 폴리펩티드 (예를 들자면, 변이체 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, ALK7, 또는 폴리스테틴 폴리펩티드)를 제공하기 위해, 엔테로키나아제로 처리에 의해 차후 제거될 수 있다(가령, Hochuli *et al.*, (1987) *J. Chromatography* 411:177; 그리고 JJanknecht *et al.*, *PNAS USA* 88:8972 참고).

[0815] 융합 유전자를 만드는 기술은 공지되어 있다. 기본적으로, 상이한 폴리펩티드 서열을 인코딩하는 다양한 DNA 단편의 결합은 결합을 위한 블런트-단부 또는 스테거(stagger)-단부를 이용, 적절한 말단을 제공하기 위한 제한효소 절단, 바람직하지 못한 결합 및 효소적 결합을 피하기 위하여 적절한 알칼리 포스포타제 처리와 같은 코헤시브 단부(cohesive ends)의 메우기를 이용하는 통상의 기술에 따라 실행된다. 또다른 구체예에서, 융합 유전자는 자동화된 DNA 합성기가 포함된 통상적인 기술에 의해 합성될 수 있다. 대안으로, 유전자 단편들의 PCR 증폭은 2개의 연속 유전자 단편 간에 상보적 오버행(overhangs)을 만드는 앵커 프라이머를 이용하여 실행되고, 후속적으로 어닐링시켜 키메라 유전자 서열을 만들 수 있다(예를 들면, *Current Protocols in Molecular Biology*, eds. Ausubel *et al.*, John Wiley & Sons: 1992 참고).

[0816] 3. 항체 길항제

[0817] 특정 측면들에서, 본원의 방법 및 용도 (예를 들자면, 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증을 치료, 예방, 또는 감소) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제는 항체 (ActRII-ALK4 길항제 항체), 또는 항체의 조합이다. ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합할 수 있다. 본원에서 기술된 바와 같이, 심부전(예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 이용될 수 있고, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 심부전-연관된 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 ActRII-ALK4 길항제 항체는 단독으로 이용되거나, 또는 하나 또는 그 이상의 지지 요법 또는 작용제들과 조합하여 이용될 수 있다.

[0818] 특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티

빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE, 및/또는 액티빈 BE)을 저해하는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 액티빈에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 액티빈 항체 (또는 항-액티빈 항체)은 일반적으로 충분한 친화력으로 액티빈에 결합하고, 따라서 이 항체는 액티빈을 표적으로 하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용한 것을 지칭한다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-액티빈 단백질에 액티빈항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, 액티빈에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, 액티빈 항체는 상이한 종의 액티빈에서 보존된 액티빈의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에서, 항-액티빈 항체는 인간 액티빈에 결합한다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 항체는 액티빈이 유형 I 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 액티빈-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 액티빈 A는 액티빈 B에 일부 서열 상동성을 공유하고, 따라서 일부 경우에 액티빈 A에 결합하는 항체는 또다른 액티빈 B에 결합하고 및/또는 이를 저해할 수 있고, 이는 또한 항-액티빈 B 항체에 적용된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 액티빈에 결합하고, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 하나 또는 그 이상의 유형 I 수용체 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 더 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체), 및 이의 용도에 관계한다. 일부 구체예들에서, 액티빈에 결합하는 다중특이적 항체는 BMP9에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 BMP9에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 액티빈에 결합하는 다중특이적 항체는 액티빈 A에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 액티빈 A에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 액티빈 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 항체를 포함하는 항체의 조합은 BMP9 항체를 포함하지 않는다.

[0819]

특정 양태들에 있어서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 액티빈 B를 억제하는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 액티빈 B에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 액티빈 B 항체 (또는 항-액티빈 B 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 액티빈 B에 결합할 수 있고, 따라서 이 항체는 액티빈 B를 표적으로 하는 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-액티빈 B 단백질에 액티빈 B 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, 액티빈 B에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, 액티빈 B 항체는 상이한 종의 액티빈 B에서 보존된 액티빈 B의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-액티빈 B 항체는 인간 액티빈 B에 결합한다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 B 항체는 액티빈 B가 유형 I 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 액티빈 B-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 B 항체는 액티빈 B가 공동-수용체에 결합하는 것을 저해할 수 있고, 따라서 액티빈 B-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 액티빈 B는 액티빈 A와 유사한 서열 상동성을 가지며, 따라서 일부 경우에 액티빈 B에 결합하는 항체는 또한 액티빈 A에 결합 및/또는 이를 저해할 수 있음을 유의해야 한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 액티빈 B에 결합하고, 그리고 추가로 예를 들면, 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 더 결합하고, 그리고 이의 용도에 관계한다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 B에 결합하는 다중특이적 항체는 BMP9에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 BMP9에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 액티빈 B에 결합하는 다중특이적 항체는 액티빈 A에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 액티빈 A에 결합

하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 액티빈 B 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 B 항체를 포함하는 항체의 조합은 BMP9 항체를 포함하지 않는다. 일부 구체예들에 있어서, 액티빈 B 항체를 포함하는 항체의 조합은 액티빈 A 항체를 포함하지 않는다.

[0820]

특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 GDF8을 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 GDF8에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, GDF8 항체 (또는 항-GDF8 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 GDF8에 결합하는 항체로, 이 항체는 GDF8을 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-GDF8 단백질에 GDF8 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, GDF8에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, GDF8 항체는 상이한 종의 GDF8에서 보존된 GDF8의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-GDF8 항체는 인간 GDF8에 결합한다. 일부 구체예들에 있어서, GDF8 항체는 GDF8이 유형 I 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 GDF8-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, GDF8 항체는 GDF8이 공동-수용체에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 GDF8-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. GDF8은 GDF11과 높은 서열 상동성을 가지고, 따라서 일부 경우에 GDF8에 결합하는 항체는 GDF11에 결합하고 및/또는 이를 저해할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 GDF8에 결합하고, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 더 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체), 및 이의 용도에 관계한다. 일부 구체예들에 있어서, GDF8에 결합하는 다중특이적 항체는 BMP9에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 BMP9에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, GDF8에 결합하는 다중특이적 항체는 액티빈 A에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 액티빈 A에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 GDF8 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, GDF8 항체를 포함하는 항체의 조합은 BMP9 항체를 포함하지 않는다. 일부 구체예들에 있어서, GDF8 항체를 포함하는 항체의 조합은 액티빈 A 항체를 포함하지 않는다.

[0821]

특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 GDF11을 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 GDF11에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, GDF11 항체 (또는 항-GDF11 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 GDF11에 결합하는 항체로, 이 항체는 GDF11을 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-GDF11 단백질에 GDF11 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, GDF11에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, GDF11 항체는 상이한 종의 GDF11에서 보존된 GDF11의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-GDF11 항체는 인간 GDF11에 결합한다. 일부 구체예들에 있어서, GDF11 항체는 GDF11이 유형 I 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 GDF11-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, GDF11 항체는 GDF11이 공동-수용체에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 GDF11-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. GDF11은 GDF8과 높은 서열 상동성을 가지고, 따라서 일부 경우에 GDF11에 결합하는 항체는 GDF8에 결합하고 및/또는 이를 저해할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 GDF11에 결합하고, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가

ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 하나 또는 그 이상의 유형 I 수용체 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4) 및/또는 하나 또는 그 이상의 공동-수용체에 결합하는 더 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체) 및 이의 용도에 관계한다. 일부 구체예들에 있어서, GDF11에 결합하는 다중특이적 항체는 BMP9에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 BMP9에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, GDF11에 결합하는 다중특이적 항체는 액티빈 A에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 액티빈 A에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 본 명세서에서는 항체의 조합 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 GDF11 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, GDF11 항체를 포함하는 항체의 조합은 BMP9 항체를 포함하지 않는다. 일부 구체예들에 있어서, GDF11 항체를 포함하는 항체의 조합은 액티빈 A 항체를 포함하지 않는다.

[0822]

특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 BMP6을 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 BMP6에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, BMP6 항체 (또는 항-BMP6 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 BMP6에 결합하는 항체로, 이 항체는 BMP6을 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-BMP6 단백질에 BMP6 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, BMP6에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, BMP6 항체는 상이한 종의 BMP6에서 보존된 BMP6의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-BMP6 항체는 인간 BMP6에 결합한다. 일부 구체예들에 있어서, BMP6 항체는 BMP6이 유형 I 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 BMP6-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, BMP6 항체는 BMP6이 공동-수용체에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 BMP6-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서에서는 BMP6에 결합하고, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 더 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체), 및 이의 용도에 관계한다. 일부 구체예들에 있어서, BMP6에 결합하는 다중특이적 항체는 BMP9에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 BMP9에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, BMP6에 결합하는 다중특이적 항체는 액티빈 A에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 액티빈 A에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 본 명세서에서는 항체의 조합 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 BMP6 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, BMP6 항체를 포함하는 항체의 조합은 BMP9 항체를 포함하지 않는다. 일부 구체예들에 있어서, BMP6 항체를 포함하는 항체의 조합은 액티빈 A 항체를 포함하지 않는다.

[0823]

특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 BMP10을 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 BMP10에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, BMP10 항체 (또는 항-BMP10 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 BMP10에 결합하는 항체로, 이 항체는 BMP10을 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-BMP10 단백질에 BMP10 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, BMP10에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, BMP10항체는 상이한 종의 BMP10에서 보존된 BMP10의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-BMP10 항체는 인간 BMP10에 결합한다

다. 일부 구체예들에 있어서, BMP10 항체는 BMP10이 유형 I 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 ALK4)에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 BMP10-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, BMP10 항체는 BMP10이 공동-수용체에 결합하는 것을 저해시킬 수 있고, 따라서 BMP10-매개된 신호전달 (가령, Smad 신호전달)을 저해할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서에서는 BMP10에 결합하고, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 더 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체), 및 이의 용도에 관계한다. 일부 구체예들에 있어서, BMP10에 결합하는 다중특이적 항체는 BMP9에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 BMP9에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 일부 구체예들에 있어서, BMP10에 결합하는 다중특이적 항체는 액티빈 A에 결합하지 않거나, 또는 실질적으로 결합하지 않는다 (가령, 1×10^{-7} M 이상의 K_D 로 액티빈 A에 결합하거나, 또는 상대적으로 보통의 결합, 가령, 약 1×10^{-8} M 또는 약 1×10^{-9} M을 갖는다). 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 BMP10 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, BMP10 항체를 포함하는 항체의 조합은 BMP9 항체를 포함하지 않는다. 일부 구체예들에 있어서, BMP10 항체를 포함하는 항체의 조합은 액티빈 A 항체를 포함하지 않는다.

[0824] 특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 ActRIIB를 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 ActRIIB에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, ActRIIB 항체 (항-ActRIIB 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 ActRIIB에 결합하는 항체를 말하며, 이 항체는 ActRIIB를 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-ActRIIB 단백질에 항-ActRIIB 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질-단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, ActRIIB에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, ActRIIB 항체는 상이한 종의 ActRIIB에서 보존된 ActRIIB의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-ActRIIB 항체는 인간 ActRIIB에 결합한다. 일부 구체예들에서, 항-ActRIIB 항체는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)가 ActRIIB에 결합하는 것을 저해시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, 항-ActRIIB 항체는 ActRIIB에 결합하고, 그리고 하나 또는 그 이상의 ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (예를 들자면, ActRIIA), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4)에 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체)이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합, 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 항-ActRIIB 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4), 및/또는 추가 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. ActRIIB는 ActRIIA와 서열 유사성을 가지고, 따라서 일부 경우에 ActRIIB에 결합하는 항체는 ActRIIA에 결합하고 및/또는 이를 저해할 수 있다.

[0825] 특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 ActRIIA를 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 ActRIIA에 결합한다. 본원에서 사용된 바와 같이, ActRIIA 항체 (항-ActRIIA 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 ActRIIA에 결합하는 항체를 말하며, 이 항체는 ActRIIA를 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-ActRIIA 단백질에 항-ActRIIA 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질-단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, ActRIIA에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에서, 항-ActRIIA 항체는 상이한 종의 ActRIIA에서 보존된 ActRIIA의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에서, 항-ActRIIA 항체는 인간 ActRIIA에 결합한다. 일부 구체예들에서, 항-ActRIIA 항체는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)가 ActRIIA에 결합하는 것을 저해시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, 항-ActRIIA 항체는 ActRIIA에 결합하고, 그리고 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리

간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4), 및/또는 추가 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIB)에 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체)이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합, 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 항-ActRIIA 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4), 및/또는 추가 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIB)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다. ActRIIA는 ActRIIB와 서열 유사성을 가지고, 따라서 일부 경우에 ActRIIA에 결합하는 항체는 ActRIIB에 결합하고 및/또는 이를 저해할 수 있다.

[0826]

특정 측면들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 ALK4를 저해시키는 항체다. 따라서, 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 길항제 항체, 또는 항체의 조합은 적어도 ALK4에 결합한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, ALK4 항체 (또는 항-ALK4 항체)는 일반적으로 충분한 친화력으로 ALK4에 결합하는 항체로, 이 항체는 ALK4를 표적화하는데 있어서 진단 및/또는 치료 물질로 유용하다. 특정 구체예들에 있어서, 무관한, 비-ALK4 단백질에 ALK4 항체의 결합 정도는 예를 들면, 방사능면역분석 (RIA), Biacore, 또는 다른 단백질-단백질 상호작용 또는 결합 친화력 분석에 의해 측정하였을 때, ALK4에 이 항체가 결합하는 것의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 미만, 또는 약 1% 미만이다. 특정 구체예들에 있어서, 항-ALK4항체는 상이한 종의 ALK4에서 보존된 ALK4의 에피토프에 결합한다. 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 항-ALK4 항체는 인간 ALK4에 결합한다. 일부 구체예들에서, 항-ALK4 항체는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)가 ALK4에 결합하는 것을 저해시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, 항-ALK4 항체는 ALK4, 그리고 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB)에 결합하는 다중특이적 항체 (예를 들자면, 이중-특이적 항체)이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 항체의 조합, 및 이의 용도에 관계하며, 이때 상기 항체의 조합은 항-ALK4 항체, 그리고 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 및/또는 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB)에 결합하는 하나 또는 그 이상의 추가 항체를 포함한다.

[0827]

용어 항체는 본 명세서에서 단클론 항체, 다클론 항체, 다중특이적 항체 (가령, 이중특이적 항체), 그리고 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하나, 이에 국한되지 않은 다양한 항체 구조를 포괄하는 광범위한 의미로 이용된다. 항체 단편은 손상되지 않은(intact) 항체가 결합하는 항원에 결합하는 손상되지 않은 항체의 부분을 포함하는 손상되지 않은 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예로는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디(diabodies); 선형 항체; 단일쇄 항체 분자 (예: scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중 특이적 항체를 포함하나, 이에 국한되지 않는다[가령, Hudson 등, (2003) Nat. Med. 9:129-134; Plückthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); WO 93/16185; 그리고 U.S. 특허 번호. 5,571,894; 5,587,458; 및 5,869,046]. 디아바디는 2가 또는 이중-특이적일 수 있는 2 개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다 [가령, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9:129-134 (2003); 그리고 Hollinger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 참고]. 트리아바디(Triabodies) 및 테트라바디(tetrabodies) 또한 Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9:129-134에서 설명된다. 단일 도메인 항체는 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부, 또는 항체의 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 구체예들에 있어서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체다 [가령, U.S. 특허 번호. 6,248,516 참고]. 본 명세서에서 공개된 항체는 다클론 항체 또는 단클론 항체일 수 있다. 특정 구체예들에 있어서, 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 거기에 부착되어, 탐지가 가능하게 만드는 라벨을 포함할 수 있다 (예를 들어, 라벨은 방사성 동위 원소, 형광 화합물, 효소 또는 효소 보조 인자 일 수 있다). 특정 바람직한 구체예들에 있어서, 본 명세서의 항체는 단리된 항체다. 특정 바람직한 구체예들에서, 본 명세서의 항체는 재조합 항체다.

[0828]

본 발명의 항체는 임의의 부류일 수 있다. 항체의 부류는 그 중쇄가 갖는 불변 영역 또는 불변 영역의 유형을 말한다. 항체에는 5 가지 주요 부류가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 그리고 이들중 몇몇은 하위부류(아이소타입), 예를 들면, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가 세분될 수 있다. 면역 글로불린의 상이한 부류에 반응하는 중쇄 불변 도메인은 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤(mu)라고 불린다.

[0829]

일반적으로, 본원에 개시된 방법에서 사용하기 위한 항체는 바람직하게는 높은 결합 친화력으로 그 표적 항원에 결합한다. 친화력은 K_D 값으로 표현될 수 있으며, 고유 결합 친화력을 반영한다 (가령, 최소화된 항체결합력 (avidity) 효과). 전형적으로, 결합 친화력은 시험 관내에서 무(free)-세포 또는 세포와 관련된 환경에서 측정

된다. 예를 들면, Biacore, 방사능라벨된 항원-결합 분석 (RIA), 및 ELISA가 포함된 본원에 개시된 것들을 포함하여, 당해 분야에 공지된 다수의 임의의 분석을 사용하여 결합 친화력 측정할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서의 항체는 최소한 K_D 값이 1×10^{-7} 또는 더 강하게, 1×10^{-8} 또는 더 강하게, 1×10^{-9} 또는 더 강하게, 1×10^{-10} 또는 더 강하게, 1×10^{-11} 또는 더 강하게, 1×10^{-12} 또는 더 강하게, 1×10^{-13} 또는 더 강하게, 또는 1×10^{-14} 또는 더 강하게 이들의 표적 항원 (예를 들자면, ActRIIA, ActRIIB, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10)에 결합한다.

[0830] 특정 구체예들에 있어서, K_D 는 하기 분석에 기재된 바와 같이, 관심있는 항체의 Fab 버전 및 그의 표적 항원으로 수행된 RIA에 의해 측정된다. 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화력은 라벨되지 않은 항원의 적정 시리즈의 존재하에 방사성 라벨된 항원 (예 : ^{125} I-라벨된)의 최소 농도로 Fab를 평형화시킨 다음, 결합된 항원을 항-Fab 항체 -코팅된 플레이트로 포획시킴으로써 측정된다 [가령, Chen *et al.* (1999) J. Mol. Biol. 293:865-881 참고]. 상기 분석의 조건을 확립하기 위하여, 다중-웰 플레이트 (가령, MICROTITER[®], Thermo Scientific)는 포획 용 항-Fab 항체 (가령, Cappel Labs)로 피복하고(가령, 하룻밤동안), 후속적으로 바람직하게는 실온 (대략 23°C)에서 소 혈청 알부민으로 차단한다. 비-흡착성 플레이트에서 방사능라벨된 항원은 일련의 관심 대상 Fab 희석물과 혼합된다 [가령, 항-VEGF 항체, Fab-12의 측정과 일관되게, Presta *et al.*, (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]. 관심 있는 Fab을 바람직하게는 밤새 배양하지만, 배양은 평형에 도달하도록 더 긴 기간 (예를 들어, 약 65 시간) 동안 계속 될 수 있다. 그 후, 혼합물을 바람직하게는 실온에서 약 1 시간 동안 배양을 위해 포획 플레이트로 이동시킨다. 상기 용액은 제거되고, 플레이트는 바람직하게는 폴리소르베이트 20 및 PBS 혼합물로 수차례 세척된다. 상기 플레이트가 건조되면, 섬광제(scintillant) (가령, MICROSCINT[®], Packard)가 추가되고, 이 플레이트는 감마 카운터 (가령, TOPCOUNT[®], Packard)상에서 카운트된다.

[0831] 또다른 구체예에 따르면, K_D 는 예를 들면, BIACORE[®] 2000 또는 BIACORE[®] 3000 (Biacore, Inc., Piscataway, N.J.)을 이용하여, 고정된 항원 CM5 칩, 약 10 반응 단위 (RU)와 함께 표면 플라즈몬 공명 분석에 의해 측정된다. 간략하게 설명하자면, 카르복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, BIACORE, Inc.)은 공급업자에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙시니미드 (NHS)로 활성화시킨다. 예를 들면, 항원은 결합된 단백질의 대략 10 반응 단위(RU)를 얻기 위하여 분당 5 μ l의 유속으로 주사하기 전, 10 mM 아세트이트 나트륨, pH 4.8으로 5 μ g/ml (약 0.2 μ M)로 희석시킬 수 있다. 항원 주입 후, 1 M 에탄올아민을 주입하여 미-반응 그룹을 차단한다. 역동학 측정을 위하여, 0.05% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20[®]) 계면활성제 (PBST)와 함께 Fab의 2-배 일련의 희석물 (0.78 nM 에서 500 nM)은 PBS에서 분당 대략 25 μ l의 유속으로 주사된다. 연합 속도(k_{on}) 및 해리 속도(k_{off})는 연합 및 해리 센소그램의 동시 피팅에 의해, 예를 들면, 단순한 일대일(one-to-one) Langmuir 결합 모델 (BIACORE[®] Evaluation Software version 3.2)을 이용하여 산출된다. 평형 해리 상수 (K_D)는 k_{off}/k_{on} 비율로 산출된다[가령, Chen 등, (1999) J. Mol. Biol. 293:865-881]. 상기 표면 플라즈몬 공명 분석에 의해 연합 속도가 예를 들면, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 를 초과한다면, 분광계, 이를 테면 스탑-플로우(stop-flow) 구비된 분광광도계 (Aviv Instruments) 또는 교반 큐빗이 있는 8000-시리즈 SLM-AMINCO[®] 분광광도계(ThermoSpectronic)에서 측정될 때, 항원의 농도를 증가시키면서 PBS 안에 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 형광 방출 강도(가령, 여기=295 nm; 방출=340 nm, 16 nm 밴드-패스)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 켄칭 기술에 의해 연합 속도(on-rate)는 측정될 수 있다.

[0832] 항체 단편은 다양한 기술에 의해 제조될 수 있으며, 이에 는 손상되지 않은 항체의 단백질분해 절단뿐만 아니라, 본 명세서에서 기술된 바와 같이, 재조합 숙주 세포(가령, 대장균(E. coli) 또는 파아지)에 의한 생산된 항체를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 인간 ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 액티빈 (액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 및 액티빈 E), GDF11, GDF8, BMP10, 및 BMP6의 핵산 및 아미노산 서열은 당분야에 공지되어 있다. 또한, 항체를 생성하기 위한 수많은 방법이 당업계에 공지되어 있으며, 그 중 일부는 본원에 기술되어 있다. 따라서, 본 개시 내용에 따라 사용하기 위한 항체 길항제는 본원에 제공된 기술 및 교시에 기초하여, 당업자에 의해 통상적으로 제조될 수 있다.

[0833] 특정 구체예들에 있어서, 본 발명의 항체는 키메라 항체다. 키메라 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 공급원 또는 종으로부터 유래된 반면, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지 부분은 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래된

항체를 지칭한다. 특정 키메라 항체는 예를 들면, U.S. 특허 번호. 4,816,567; 그리고 Morrison *et al.* (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855에서 설명된다. 일부 구체예들에 있어서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역 (가령, 마우스, 랫, 햄스터, 토끼, 또는 비-인간 영장류, 이를 테면 원숭이로부터 유도된 가변 영역)과 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 모 항체의 부류 또는 하위부류에서 변경된 "부류 전환(class switched)"항체다. 일반적으로, 키메라 항체는 이의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0834] 특정 구체예들에 있어서, 키메라 본 발명의 항체는 인간화된 항체다. 인간화된 항체는 비-인간 초가변 영역(HVRs)의 아미노산 잔기와 인간 틀-구조 영역(FRs)의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 말한다. 특정 구체예들에 있어서, 인간화된 항체는 실질적으로 최소한 하나의, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 모두 포함하는데, 이때 HVRs (가령, CDRs)의 모든 또는 실질적으로 모든 것은 비-인간 항체에 대응하며, FRs의 모든 또는 실질적으로 모든 것은 인간 항체의 것에 대응한다. 인간화된 항체는 임의선택적으로 인간 항체로부터 유도된 항체 불변 영역의 최소한 일부를 포함할 수 있다. 항체의 "인간화된 형태", 가령, 비-인간 항체는 인간화를 겪은 항체를 말한다. 인간화된 항체 및 이를 만드는 방법은 예를 들면, Almagro and Fransson (2008) Front. Biosci. 13:1619-1633에서 검토되며, 그리고 예를 들면 Riechmann *et al.*, (1988) Nature 332:323-329; Queen *et al.*, (1989) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033; U.S. 특허 번호. 5,821,337; 7,527,791; 6,982,321; 그리고 7,087,409; Kashmiri *et al.*, (2005) Methods 36:25-34 [SDR (a-CDR) 그래프팅을 설명]; Padlan, Mol. Immunol. (1991) 28:489-498 ("재표면화"를 설명); Dall'Acqua 등., (2005) Methods 36:43-60 ("FR 서플링"을 설명); Osbourn *et al.*, (2005) Methods 36:61-68; 그리고 Klimka *et al.*, Br. J. 암 (2000) 83:252-260 (FR 서플링에 대한 "유도된 선별" 방식을 설명)에서 설명되고 있다. 인간화에 이용되는 인간 틀-구조 영역은 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: "best-fit" 방법을 이용하여 선택된 틀-구조 영역 [가령, Sims *et al.*, (1993) J. Immunol. 151:2296]; 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정 하위집단의 인간 항체의 콘센수스 서열로부터 유도된 틀-구조 영역 [가령, Carter *et al.*, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285; 그리고 Presta *et al.*, (1993) J. Immunol., 151:2623]; 인간 성숙 (체세포적으로 성숙된) 틀-구조 영역 또는 인간 생식계 틀-구조 영역 [가령, Almagro and Fransson (2008) Front. Biosci. 13:1619-1633]; 그리고 FR 라이브리리 스크리닝으로부터 유도된 틀-구조 영역 [가령, Baca *et al.*, (1997) J. Biol. Chem. 272:10678-10684; 그리고 Rosok *et al.*, (1996) J. Biol. Chem. 271:22611-22618 참고].

[0835] 특정 구체예들에 있어서, 본 발명의 항체는 인간 항체다. 인간 항체는 당분야에 공지된 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 van Dijk and van de Winkel (2008) Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459에서 기술된다. 예를 들면, 인간 항체는 항원 공격에 대하여 손상되지 않은 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 가진 손상되지 않은 항체를 만들도록 변형된 이식유전자를 가진 동물에게 면역원(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4))을 투여하여 만들 수 있다. 그러한 동물은 전형적으로 내인성 면역 글로불린 좌를 대체하거나, 또는 염색체 외적으로 존재하거나 무작위로 동물의 염색체에 통합된 인간 면역 글로불린 좌 전부 또는 일부를 포함한다. 이러한 이식유전자를 가진 동물에서 내인성 면역 글로불린 유전자 좌는 일반적으로 불활성화되었다. 이식유전자를 가진 동물로부터 인간 항체를 얻는 방법은 예를 들면, Lonberg (2005) Nat. Biotech. 23:1117-1125; U.S. Pat. Nos. 6,075,181 및 6,150,584 (XENOMOUSE™technology 설명); U.S. 특허 번호. 5,770,429 (HuMab® technology 설명); U.S. 특허 번호. 7,041,870 (K-MMOUSE® technology 설명); 그리고 U.S. 특허 출원 공개 No. 2007/0061900 (VelociMouse® technology 설명)을 참고한다. 그러한 동물에 의해 생성된 손상되지 않은 항체로부터 인간 가변 영역은 예를 들어 상이한 인간 불변 영역과 결합시킴으로써 추가로 변형 될 수 있다.

[0836] 본 발명의 인간 항체는 하이브리도마-기반 방법에 의해 또한 만들어질 수 있다. 인간 단클론 항체를 생산하기 위하여 인간 골수종 및 마우스-인간 이형골수종 세포 계통이 설명되었다 [가령, Kozbor J. Immunol., (1984) 133: 3001; Brodeur *et al.* (1987) Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63, Marcel Dekker, Inc., New York; 그리고 Boerner *et al.* (1991) J. Immunol., 147: 86 참고]. 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통하여 만들어진 인간 항체는 Li *et al.*, (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562에서 설명되고 있다. 추가 방법은 예를 들면, U.S. 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포 계통에서 단클론 인간 IgM 항체를 생산하는 것을 설명) 및 Ni, Xiandai Mianyixue (2006) 26(4):265-268 (2006) (인간-인간 하이브리도마를 설명)에서 설명된 것들을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술(Trioma technology)은

또한 Vollmers and Brandlein (2005) *Histol. Histopathol.*, 20(3):927-937 (2005) and Vollmers and Brandlein (2005) *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 27(3):185-91에서 설명된다. 본 발명의 인간 항체는 인간-유래 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리함으로써 생성될 수 있다. 이러한 가변-도메인 서열은 그 다음 원하는 인간 불변 도메인에 복합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선별하는 기술은 당분야에 공지되어 있으며, 본 명세서에서 기술하고 있다.

[0837] 예를 들면, 본 발명의 항체는 원하는 활성 또는 작용을 가진 항체에 대하여 복합 라이브러리 스크리닝에 의해 단리될 수 있다. 파아지 디스플레이 라이브러리를 만들고, 원하는 결합 특성을 가진 항체에 대하여 이러한 라이브러리를 스크리닝하는 다양한 방법들이 당분야에 공지되어 있다. 이러한 방법들은 예를 들면, Hoogenboom *et al.* (2001) in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37, O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, N.J.에서 기술되며, 그리고 예를 들면, McCafferty *et al.* (1991) *Nature* 348:552-554; Clackson *et al.*, (1991) *Nature* 352: 624-628; Marks *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.* 222:581-597; Marks and Bradbury (2003) in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175, Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J.; Sidhu *et al.* (2004) *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310; Lee *et al.* (2004) *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093; Fellouse (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472; 그리고 Lee *et al.* (2004) *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132.에서 더 검토된다.

[0838] 특정 파아지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 중합효소 체 반응 (PCR)에 의해 별도로 클론되고, 그 다음 파아지 라이브러리에 무작위로 재복합되고, 그 다음 Winter *et al.* (1994) *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455에서 설명된 바와 같이, 항원-결합 파아지에 대하여 스크리닝될 수 있다. 파아지는 전형적으로 단일-쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편의 항체 단편을 디스플레이한다. 면역화된 원천으로부터 라이브러리는 하이브리도마 구축 없이도 면역원 (예를 들자면, ActRII 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체 (ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4))에 대한 고-친화력 항체를 제공한다. 대안으로, 순수(naive) 레퍼토리가 클론되어 (가령, 인간으로부터) Griffiths *et al.* (1993) *EMBO J.*, 12: 725-734에서 설명된 바와 같이 임의의 면역화없이 광범위의 비-자가 및 자가 항원에 대한 항체의 단일 원천을 제공할 수 있다. 끝으로, 순수 라이브러리는 줄기 세포로부터 재배치되지 않은 V- 유전자 단편을 클로닝하고, 고도로 가변적인 CDR3 영역을 인코딩하고, 시험 관내에서 재배열을 수행하기 위하여 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용하여, 합성에 의해 만들어 질 수 있다(Hoogenboom and Winter (1992) *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388). 인간 항체 파아지 라이브러리를 설명하는 특허 공개는 예를 들면: U.S. 특허 번호. 5,750,373, 및 U.S. 특허 공개 번호. 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360를 포함한다.

[0839] 특정 구체예들에 있어서, 본 발명의 항체는 다중특이적 항체, 예를 들면, 이중특이적 항체다. 다중특이적 항체 (전형적으로 단클론 항체)는 하나 또는 그 이상의 (가령, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 그 이상의) 항원에서 최소한 2 개의 상이한 에피토프 (가령, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개 또는 그 이상의)에 대한 결합 특이성을 갖는다.

[0840] 다중특이적 항체를 만드는 기술은 상이한 특이성을 가진 2개의 면역글로블린 중쇄/경쇄의 재조합 공동-발현을 포함하나, 이에 국한되지 않는다 [가령, Milstein and Cuello (1983) *Nature* 305: 537; 국제특허공개. WO 93/08829; 그리고 Traunecker *et al.* (1991) *EMBO J.* 10: 3655, 및 U.S. 특허 번호 5,731,168 ("노브-인-홀" 공작)]. 다중특이적 항체는 항체 Fc-이형이량체 분자를 만드는 정전기적 스티어링 효과 (가령, WO 2009/089004A1); 2개 또는 그 이상의 항체 또는 단편의 가교 [가령, U.S. Pat. No. 4,676,980; 그리고 Brennan *et al.* (1985) *Science*, 229: 81]; 이중특이적 항체를 만들기 위하여 류신 지퍼 이용 [가령, Kostelny *et al.* (1992) *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553]; 이중특이적 항체 단편을 만들기 위하여 "디아바디" 기술 이용 [가령, Hollinger *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448]; 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체 이용 [가령, Gruber *et al.* (1994) *J. Immunol.*, 152:5368]; 그리고 삼중특이적 항체 준비 (가령, Tutt *et al.* (1991) *J. Immunol.* 147: 60)에 의해 또한 만들어질 수 있다. 다중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로 준비될 수 있다. "Octopus 항체"를 포함하는 3개 또는 그 이상의 기능성 항원-결합 부위를 가진 조작된 항체 또한 본 명세서에 포함된다 [가령, US 2006/0025576A1].

[0841] 특정 구체예들에 있어서, 본 발명의 항체는 단클론 항체다. 단클론 항체는 실질적으로 동질성 항체 집단으로부터 획득된 항체를 말하는데, 가령, 개별 항체는 동일한 집단 및/또는 같은 에피토프에 결합하는 집단을 포함하는데, 다만, 변이체 항체, 가령, 자연 발생적 돌연변이 또는 단클론 항체 체제를 만드는 동안 발생하는 돌연변이를 가진 변이체 항체 가능성이 있으며, 이러한 변이체들은 일반적으로 소량으로 존재한다. 상이한 에피토프로 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다클론 항체 체제와 대조적으로, 단클론 항체 체제의 각각의 단일

클론 항체는 항원상의 단일 항원 결정기를 지향한다. 따라서, 수식어 "단클론(monoclonal)"은 실질적으로 동질성 항체 집단으로부터 수득된 것으로서의 항체의 특성을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로서 해석되어서는 안된다. 예를 들면, 본 방법에 따라 사용될 단클론 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파아지-디스플레이 방법 그리고 인간 면역 글로불린 좌의 전부 또는 일부를 함유하는 이식유전자를 가진 동물을 이용하는 방법을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있고, 이들 방법 및 다른 예시적인 방법이 본원에 기술되어 있다.

[0842] 예를 들면, 액티브로부터 유도된 면역원을 이용하여, 항-단백질/항-펩티드 항혈청 또는 단클론 항체를 표준 프로토콜에 의해 만들어질 수 있다 [가령, *Antibodies: A Laboratory Manual* ed. by Harlow and Lane (1988) Cold Spring Harbor Press: 1988 참고]. 포유류, 이를 태면, 마우스, 햄스터, 또는 토끼는 액티브 폴리펩티드의 면역원 형태, 항체 반응을 유도할 수 있는 항원 단편, 또는 융합 단백질로 면역화될 수 있다. 단백질 또는 펩티드에 면역원성을 부여하는 기술은 운반체에 대한 접합을 포함하고, 또는 당업계에 널리 공지된 다른 기술을 포함한다. 액티브 폴리펩티드의 면역원 부분은 어췌버트 존재하에 투여될 수 있다. 면역화 과정은 혈장 또는 혈청에서 항체 역가 탐지에 의해 모니터링될 수 있다. 표준 ELISA 또는 다른 면역분석은 항체 생산 수준 및/또는 결합 친화력 수준을 평가하기 위하여 항원으로 면역원을 이용한다.

[0843] 액티브 항원 제제로 동면을 면역화시킨 후, 항혈청이 수득되며, 원하는 경우, 혈청으로부터 다클론 항체가 단리될 수 있다. 단클론 항체를 생산하기 위하여, 항체 생성 세포 (립프구)를 면역화 동물로부터 수확하고, 골수종 세포와 같은 불멸화 세포와의 표준 체세포 융합 과정에 의해 융합시켜 하이브리도마 세포를 수득할 수 있다. 이러한 기술은 당 업계에 잘 공지되어 있으며, 예를 들면, 인간 단클론 항체를 생산하기 위한 하이브리도마 기술 [가령, Kohler and Milstein (1975) *Nature*, 256: 495-497], 인간 B 세포 하이브리도마 기술 [가령, Kozbar *et al.* (1983) *Immunology Today*, 4:72], 및 EBV-하이브리도마 기술 [Cole *et al.* (1985) *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. pp. 77-96]을 포함한다. 하이브리도마 세포는 액티브 폴리펩티드와 특이적으로 반응하는 항체 및 그러한 하이브리도마 세포를 포함하는 배양 물로부터 단리된 항체의 생산을 위해 면역화학적으로 스크리닝될 수 있다.

[0844] 특정 구체예들에 있어서, 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형이 본 발명의 항체의 Fc 영역 안으로 도입되고, 이로 인하여 Fc 영역 변이체가 만들어질 수 있다. 상기 Fc 영역 변이체는 하나 또는 그 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (가령, 치환, 결손, 및/또는 추가)이 포함된 인간 Fc 영역 서열 (가령, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0845] 예를 들면, 본원의 개시 내용은 전체 작동체 기능이 아닌 일부만을 보유하는 항체 변이체를 고려하는데, 이들 변이체는 항체의 반감기도 중요하지만, 특정 작동체 기능 [가령, 보체-의존적 세포독성 (CDC) 및 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC)]은 불필요하거나 또는 유해한 용도에 바람직한 후보물질이 될 수 있다. *시험관내* 및/또는 *생체내* 세포독성 분석을 실행하여 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인할 수 있다. 예를 들면, Fc 수용체 (FcR) 결합 분석을 실행하여, 상기 항체는 Fc γ R 결합 (이로 인하여 ADCC 활성이 결합될 가능성이 있음)은 없지만, 여전히 FcRn 결합 능력은 유지하고 있다는 것을 확인할 수 있다. ADCC를 중개하는 일차 세포, NK 세포는 오직 Fc γ RIII만을 발현시키고, 반면 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ R II 및 Fc γ RIII를 발현시킨다. 조혈 세포에서 FcR 발현은 예를 들면, Ravetch and Kinet (1991) *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 분석하기 위한 시험관내 분석의 비-제한적인 예는 U.S. 특허 번호 5,500,362; Hellstrom, I. *et al.* (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:7059-7063; Hellstrom, I *et al.* (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1499-1502; U.S. 특허 번호 5,821,337; Bruggemann, M. *et al.* (1987) *J. Exp. Med.* 166:1351-1361에서 설명된다. 대안으로, 비-방사능활성 분석 방법이 이용될 수 있다 (가령, ACTI™, 유동 세포측정용 비-방사능활성 세포독성 분석; CellTechnology, Inc. Mountain View, Calif.; 그리고 CytoTox 96® 비-방사능활성 세포독성 분석, Promega, Madison, Wis.). 이러한 분석을 위한 유용한 작동체 세포는 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMC) 및 천연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안으로, 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은 예를 들면, 동물 모델에서 생체에서 평가될 수 있는데, 이를 태면 Clynes *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:652-656에서 설명된다. 이 항체가 C1q에 결합할 수 없으므로, CDC 활성이 결핍된다는 것을 확인하기 위하여 C1q 결합 분석이 또한 시행될 수 있다 [가령, C1q 및 C3c 결합 ELISA, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402]. 보체 활성화 평가를 위하여, CDC 분석이 실행될 수 있다 [가령, Gazzano-Santoro *et al.* (1996) *J. Immunol. Methods* 202:163; Cragg, M. S. *et al.* (2003) *Blood* 101:1045-1052; 그리고 Cragg, M. S. and M. J. Glennie (2004) *Blood* 103:2738-2743 참고] FcRn 결합 및 *생체내* 제거/반감기 측정은 당분야에 공지된 방법에 의해 또한 실행될 수 있다 [가령, Petkova, S. B. *et al.* (2006) *Intl. Immunol.* 18(12):1759-1769]. 감소된 작동체 기능을 가진

본 발명의 항체는 하나 또는 그 이상의 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329에 치환을 갖는 것들을 포함한다 (U.S. 특허 번호 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체는 잔기 265 및 297이 알라닌으로 치환된 소위 "DANA" Fc 돌연변이체가 포함된, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327중 2개 또는 그 이상이 치환된 Fc 돌연변이체를 포함한다 (U.S. 특허 번호 7,332,581).

[0846] 특정 구체예들에 있어서, 항체의 하나 또는 그 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 대체된, 시스테인 조작된 항체, 가령, "thioMAbs"를 만드는 것이 바람직할 수 있다. 구체적으로 구체예에서, 상기 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 일어난다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써, 반응활성 티올기는 이 상체의 접근가능한 부위에 위치하게 되고, 다른 모이어티, 이를 테면 하기에서 설명되는 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 이 항체가 접합되어 면역접합체가 생성될 수 있다. 특정 구체예들에 있어서, 임의의 하나 또는 그 이상의 다음 잔기는 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (Kabat 번호매김); 중쇄의 A118 (EU 번호매김); 그리고 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 번호매김). 시스테인 조작된 항체는 예를 들면, U.S. 특허 번호 7,521,541에서 설명된 바와 같이 만들어질 수 있다.

[0847] 또한, 원하는 항체를 동정하기 위하여 항체를 스크리닝하는데 이용되는 기술은 수득되는 항체의 성질에 영향을 줄 수 있다. 예를 들면, 항체가 용액 내 항원을 결합시키는데 사용되는 경우, 용액 결합을 시험하는 것이 바람직할 수 있다. 특히 바람직한 항체를 확인하기 위해, 항체와 항원 사이의 상호 작용을 시험하기 위한 다양한 기술을 이용할 수 있다. 이러한 기술에는 ELISAs, 표면 플라즈몬 공명 결합 분석 (가령, Biacore 결합 분석, Biacore AB, Uppsala, Sweden), 샌드위치 분석 (가령, 반자성 비드 시스템, IGEN International, Inc., Gaithersburg, Maryland), 웨스턴 블랏, 면역침전 분석, 및 면역조직 화학이 포함된다.

[0848] 특정 구체예들에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 아미노산 서열 변이체들도 고려된다. 예를 들면, 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 결합 친화력 및/또는 다른 생물학적 성질을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 아미노산 서열 변이체들은 항체 및/또는 결합 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변형을 도입시키거나, 또는 펩티드 합성에 의해 만들어질 수 있다. 이러한 변형은 예를 들면, 이 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 아미노산 서열 안에 잔기의 결손 및/또는 삽입 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 만일 최종 구조체가 원하는 성질, 가령, 표적-결합 (가령, 및 액티빈 이를 테면 액티빈 E 및/또는 액티빈 C 결합)을 보유한다면, 최종 구조체에 결손, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 만들어질 수 있다.

[0849] 예를 들면, 항체 친화력을 개선시키기 위하여 변경 (가령, 치환)은 HVRs에서 만들어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR에서 "hotspots", 가령, 체세포 성숙 과정 동안 고빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 인코딩되는 잔기에서 만들어질 수 있고[가령, Chowdhury (2008) Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)], 및/또는 SDRs (a-CDRs), 생성된 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화력에 대하여 테스트된다. 2 차 라이브러리로부터의 재구성 및 선택에 의한 친화성 성숙은 당업계에 기술되어 있다[가령, Hoogenboom 외, in Methods in Molecular Biology 178:1-37, O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, N.J., (2001). 친화력 성숙의 일부 구체예들에 있어서, 다양성은 다양한 방법들 중 임의의 방법에 의해 성숙을 위해 선택된 가변 유전자들에 도입된다(가령, 오류-발생(error-prone) PCR, 섹 서플링, 또는 올리고뉴클레오티드-지향된 돌연변이생성). 제 2 라이브러리가 생성된다. 이어서, 이 라이브러리를 스크리닝하여, 원하는 친화력을 갖는 임의의 항체 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지향된 접근법을 포함하는데, 이때 몇개 HVR 잔기 (가령, 한번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관여하는 HVR 잔기는 가령, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 이용하여 특이적으로 동정될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 대개 표적이 된다.

[0850] 특정 구체예들에 있어서, 치환, 삽입, 또는 결손은 이러한 변경으로 이 항체가 항원에 결합하는 능력이 실질적으로 감소되지 않는 한, 하나 또는 그 이상의 HVRs에 발생할 수 있다. 예를 들면, 결합 친화력을 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (가령, 본 명세서에서 제공된 보존적 치환)이 HVRs에 만들어 질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟(hotspots)" 또는 SDRs 밖에 있을 수 있다. 상기에서 제시된 변이체 VH 및 VL의 특정 구체예들에 있어서, 각 HVR은 변경되지 않거나, 또는 1개, 2개 또는 3개 이상의 아미노산 치환을 함유한다.

[0851] 돌연변이유발의 표적이 될 수 있는 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 잔기 또는 영역을 동정하는데 유용한 방법은 Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085에서 설명된 바와 같이, "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"이라고 불린다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기 집단 (가령, 하전된 잔기, 이를 테면 Asp, Arg, His, Lys, 및 Glu)는 동정되고, 그리고 항체-항원의 상호작용이 영향을 받는지를 판단하기 위하여 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (가령, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체된다. 추가 치환이 상기 아미노산 위치에 도입되어,

초기 치환에 대한 기능적 민감성을 입증할 수 있다. 대안으로, 또는 추가로, 항원-항체 복합체의 결정(crystal) 구조를 결정하여 항체와 항원 간의 접촉 점을 동정한다. 이러한 접촉 잔기와 이웃 잔기는 치환의 후보로 표적화되거나, 또는 제거될 수 있다. 변이체들이 원하는 성질을 보유하는지를 판단하기 위하여 이 변이체들이 스크리닝될 수 있다.

[0852] 아미노산 서열 삽입에는 한 개 잔기에서 수백 또는 그 이상의 잔기가 함유된 폴리펩티드 범위, 뿐만 아니라 단일 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열내 삽입이 포함된 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합이 내포된다. 말단 삽입의 예로는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체가 내포된다. 이 항체 분자의 다른 삽입 변이체들에는 이 항체의 N- 또는 C-말단을 효소(가령, ADEPT를 위한) 또는 이 항체의 반감기를 증가시키는 폴리펩티드에 융합된 것이 내포된다.

[0853] 특정 구체예들에 있어서, 본원에서 제공된 항체 및/또는 결합 폴리펩티드는 당업계에 공지되어 있고, 쉽게 입수할 수 있는 추가의 비-단백질성 잔기를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 유도체화에 적합한 부분에는 물 가용성 중합체들이 내포되지만, 이에 국한되지 않는다. 수용성 중합체의 예로는 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로오스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥소레인, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레 무수물 공중합체, 폴리아미노산(동종중합체 또는 무작위 공중합체), 그리고 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 동종중합체, 프로일프로필렌 산화물/에틸렌 산화물 공동-중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올(가령, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 및 이의 혼합물. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데하이드는 물에서의 안정성으로 인하여 제작에서 장점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 분기형 또는 비-분기형일 수 있다. 항체 및/또는 결합 폴리펩티드에 부착된 중합체의 수는 다양할 수 있으며, 하나 이상의 중합체가 부착되는 경우, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 항체 유도체 및/또는 결합 폴리펩티드 유도체가 규정된 상태하에 치료에 사용될 것인지 여부에 관계없이, 개선되는 항체 및/또는 결합 폴리펩티드의 특정 특성 또는 기능을 포함하는, 고려사항에 근거하여 결정될 수 있다.

[0854] 4. 소분자 길항제

[0855] 특정 측면들에서, 본원의 방법 및 용도(예를 들자면, 심부전(예를 들자면, 확장성 심근병증(DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증을 치료, 예방, 또는 감소) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합병증을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제는 소분자(ActRII-ALK4 소분자 길항제), 또는 소분자 길항제들의 조합이다. ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제의 조합은 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII 리간드(예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), ActRII 수용체(ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 유형 I 수용체(예를 들자면, ALK4), 유형 II 수용체(예를 들자면, ActRIIB 및/또는 ActRIIA), 및/또는 하나 또는 그 이상의 신호전달 인자들을 억제시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 세포-기반 분석, 이를 테면, 본원에서 설명된 것들에서 측정되었을 때, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 의해 매개된 신호전달을 억제시킨다. 본원에서 기술된 바와 같이, 심부전의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키기 위해, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 심부전-연관된 합병증의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키기 위해, ActRII-ALK4 소분자 길항제가 단독으로 이용될 수 있거나, 또는 하나 또는 그 이상의 지지 요법 또는 작용제들과 조합하여 이용될 수 있다.

[0856] 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 GDF11을 억제하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈(예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 GDF8을 억제하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF11, 액티빈(예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 액티빈(액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE)를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 액티빈 B를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, GDF11,

BMP6, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다.. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 BMP6을 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), GDF11, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, , 및 하나 또는 그 이상의 Smad 단백질들 (예를 들자면, Smads 2 및 3)을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 BMP10을 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 ActRIIB를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, BMP10, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 ActRIIB를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, BMP10, ActRIIA, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 적어도 ALK4를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 본원에서 기술된 바와 같이, BMP9를 억제하지 않거나, 또는 실질적으로 억제하지 않는다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 본원에서 기술된 바와 같이, 액티빈 A를 억제하지 않거나, 또는 실질적으로 억제하지 않는다.

[0857] ActRII-ALK4 소분자 길항제는 직접 또는 간접 억제제일 수 있다. 예를 들면, 간접적인 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제의 조합은 적어도 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4), 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 하나 또는 그 이상의 하류 신호전달 성분들 (예를 들자면, Smads)의 발현 (가령, 전사, 해독, 세포성 분비, 또는 이의 조합)을 억제할 수 있다. 대안으로, 직접적인 소분자 길항제, 또는 소분자 길항제들의 조합은 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4), 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 하나 또는 그 이상의 하류 신호전달 성분들 (예를 들자면, Smads)에 직접적으로 결합하고, 이를 저해시킬 수 있다. 하나 또는 그 이상의 간접적 그리고 하나 또는 그 이상의 직접적 ActRII-ALK4 소분자 길항제의 조합은 본 명세서에 따라 이용될 수 있다.

[0858] 본 명세서의 소-분자 길항제의 결합은 공지의 방법을 이용하여 동정 및 화학적으로 합성될 수 있다 (가령, PCT 공개번호 WO 00/00823 및 WO 00/39585). 일반적으로, 본 명세서의 소분자 길항제는 보통 약 2000 달톤 크기, 대안으로 약 1500, 750, 500, 250 또는 200 달톤 미만의 크기이며, 이때 이러한 유기 소분자는 본 명세서에서 기술된 바와 같은 폴리펩티드에 바람직하게 특이적으로 결합할 수 있다. 이들 소분자 길항제는 잘 알려진 기술을 사용하여 과도한 실험없이 확인 될 수 있다. 이와 관련하여, 폴리펩티드 표적에 결합할 수 있는 분자에 대한 유기 소분자 라이브러리를 스크리닝하는 기술은 당업계에 잘 공지되어 있다(가령, 국제 특허 공개 번호. W000/00823 및 W000/39585).

[0859] 본 명세서의 결합 유기 소분자는 예를 들면, 알데히드, 케톤, 옥심, 히드라존, 세미카르바존, 카르바지드, 1 차 아민, 2 차 아민, 3 차 아민, N-치환된 히드라진, 히드라지드, 알코올, 에테르, 티올, 티오에테르, 디설파이드, 카르복실산, 에스테르, 아마이드, 우레아, 카르바메이트, 카르보네이트, 케탈, 티오케탈, 아세탈, 티오아세탈, 아릴 할로겐화물, 아릴 술포네이트, 알킬 할로겐화물, 알킬 술포네이트, 방향족 화합물, 헤테로시클릭 화합물, 아닐린, 알켄, 알킨, 디올, 아미노 알코올, 옥사졸리딘, 옥사졸린, 티아졸리딘, 티아졸린, 에나민, 술폰아미드, 에폭시드, 아지리딘, 이소시아네이트, 술폰일 클로라이드, 디아조 화합물 및 산 클로라이드를 포함한다.

[0860] 5. 폴리뉴클레오타이드 길항제

[0861] 특정 측면들에서, 본원의 방법 및 용도 (예를 들자면, 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증을 치료, 예방, 또는 감소) 또는 하나 또는 그 이상의 심부전 합

병증을 치료, 예방, 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는)에 이용되는 ActRII-ALK4 길항제는 폴리뉴클레오티드 (ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드), 또는 폴리뉴클레오티드들의 조합이다. ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP6, BMP10), 유형 I 수용체 (예를 들자면, ALK4), 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB), 및/또는 하류 신호전달 성분 (예를 들자면, Smads)을 억제시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드, 또는 폴리뉴클레오티드들의 조합은 세포-기반 분석, 이를 테면, 본원에서 설명된 것들에서 측정되었을 때, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드에 의해 매개된 신호전달을 억제시킨다. 본원에서 기술된 바와 같이, 본원에서 기술된 바와 같이, 심부전(예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 이용될 수 있고, 구체적으로 하나 또는 그 이상의 심부전-연관된 합병증을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제는 단독으로 이용되거나, 또는 하나 또는 그 이상의 지지 요법 또는 작용제들과 조합하여 이용될 수 있다.

[0862]

일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 GDF11을 저해하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, BMP10, ActRIIA ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 GDF8을 저해하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF11, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, BMP10, ActRIIA ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 액티빈 (액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE)을 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 액티빈 B를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, GDF11, BMP6, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 BMP6을 저해하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), GDF11, BMP10, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 단백질들 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 BMP10을 저해하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, ActRIIA, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 ActRIIA를 저해하고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, BMP10, ActRIIB, ALK4, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 ActRIIB를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, ActRIIA, ActRIIB, BMP10, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합은 적어도 ALK4를 저해시키고, 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 GDF8, 액티빈 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 E, 액티빈 AB, 액티빈 AC, 액티빈 BC, 액티빈 AE 및/또는 액티빈 BE), BMP6, GDF11, ActRIIA, ActRIIB, BMP10, 및 하나 또는 그 이상의 Smad 신호전달 인자들을 더 저해시킨다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합, 본원에서 기술된 바와 같이 BMP9를 억제하지 않거나, 또는 실질적으로 억제하지 않는다. 일부 구체예들에서, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 또는 폴리뉴클레오티드 길항제의 조합, 본원에서 기술된 바와 같이 액티빈 A를 억제하지 않거나, 또는 실질적으로 억제하지 않는다.

[0863]

일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 폴리뉴클레오티드 길항제는 안티센스 핵산, RNAi 분자 [가령, 작은 간섭 RNA (siRNA), 작은-헤어핀 RNA (shRNA), microRNA (miRNA)], 압타머 및/또는 리보자임일 수 있다. 인간 GDF11,

GDF8, 액티빈 (액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 및 액티빈 E), BMP6, ActRIIA, ActRIIB, BMP10, ALK4, 및 Smad 신호전달 인자들의 핵산 서열과 아미노산 서열은 당분야에 공지되어 있다. 또한, 폴리뉴클레오티드 길항제를 만드는 상이한 많은 방법들이 당분야에 공지되어 있다. 따라서, 본 개시 내용에 따라 사용하기 위한 폴리뉴클레오티드 길항제는 본원에 제공된 기술 및 교시에 기초하여, 당업자에 의해 통상적으로 제조될 수 있다.

[0864] 안티센스 기술은 안티센스 DNA 또는 RNA를 통해 또는 삼중 나선 형성을 통해 유전자 발현을 조절하는 데 사용될 수 있다. 안티센스 기술은 예를 들면, Okano (1991) J. Neurochem. 56:560; Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, Fla. (1988)에서 논의된다. 삼중-나선 형성은 예를 들면, Cooney *et al.* (1988) Science 241:456; 그리고 Dervan *et al.* (1991) Science 251:1300에서 논의된다. 상기 방법은 상보적 DNA 또는 RNA에 대한 폴리뉴클레오티드의 결합에 기초한다. 일부 구체예들에 있어서, 안티센스 핵산은 본원에 개시된 유전자의 RNA 전사체의 적어도 일부에 상보적인 단일 가닥 RNA 또는 DNA 서열을 포함한다. 그러나, 절대적인 상보성이 바람직하지만, 반드시 요구되지는 않는다.

[0865] 본원에서 언급된 "RNA의 적어도 일부에 상보적인" 서열은 RNA와 혼성화되어 안정한 이중을 형성할 수 있는 충분한 상보성을 갖는 서열을 의미하고; 본원에 개시된 유전자의 이중 가닥 센스 핵산의 경우, 상기 이중 가닥 DNA의 단일 가닥을 시험할 수 있거나, 삼중체 형성을 검정할 수 있다. 혼성화하는 능력은 상보성의 정도 및 안티센스 핵산의 길이 모두에 따라 달라질 것이다. 일반적으로, 혼성화되는 핵산이 많을수록 RNA와의 염기 미스매치가 더 많이 포함될 수 있으며, 여전히 안정한 듀플렉스 (또는 경우에 따라 트리플렉스)를 형성할 수 있다. 당업자는 혼성화된 복합체의 용점을 결정하기 위하여 표준 절차에 따라 허용가능한 정도의 불일치를 확인할 수 있다.

[0866] 메시지의 5' 말단, 예를 들어 AUG 개시 코돈까지의 5'-비-해독되는 서열과 상보적인 폴리뉴클레오티드는 해독을 억제하는데 가장 효율적으로 작용해야 한다. 그러나, mRNA의 3'-비-해독 서열에 상보적인 서열은 mRNA의 해독 저해에도 효과적임이 밝혀졌다 [가령, Wagner, R., (1994) Nature 372:333-335]. 따라서, 본 발명의 유전자의 5'- 또는 3'- 비-해독된 비-코딩 영역 중 어느 하나에 상보적인 올리고뉴클레오티드는 내인성 mRNA의 해독을 억제하기 위한 안티센스 접근법에서 사용될 수 있다. mRNA의 5'-비-해독 영역에 상보적인 폴리뉴클레오티드는 AUG 개시 코돈의 보체를 포함해야 한다. mRNA 코딩 영역에 상보적인 안티센스 폴리뉴클레오티드는 해독에 다소 효과가 적은 억제제이지만, 본 명세서의 방법에 이용될 수 있다. 본 명세서의 mRNA의 5'-, 3'- 또는 코딩 영역에 혼성화되도록 기획된다면, 안티센스 핵산은 길이가 최소한 6개 뉴클레오티드이어야 하고, 바람직하게는 올리고뉴클레오티드의 길이는 6 내지 약 50개 뉴클레오티드가 된다. 특이적 측면에서, 상기 올리고뉴클레오티드는 최소한 10개 뉴클레오티드, 최소한 17개 뉴클레오티드, 최소한 25개 뉴클레오티드 또는 최소한 50개 뉴클레오티드이다.

[0867] 한 구체예에서, 본 명세서의 안티센스 핵산은 외인성 서열로부터 선자에 의해 세포 안에서 생성된다. 예를 들면, 벡터 또는 이의 부분이 전사되어, 본 명세서의 유전자의 안티센스 핵산 (RNA)이 만들어진다. 이러한 벡터는 원하는 안티센스 핵산을 인코딩하는 서열을 함유할 것이다. 이러한 벡터는 목적하는 안티센스 RNA를 생산하도록 전사될 수 있는 한, 에피솜 (episomal)으로 남아있거나 또는 염색체에 통합될 수 있다. 이러한 벡터는 당업계의 표준 재조합 DNA 기술 방법에 의해 작제될 수 있다. 벡터는 플라스미드, 바이러스성, 또는 척추동물 세포에서 복제 및 발현에 이용되는 당분야에 공지된 다른 것들이 될 수 있다. 본 명세서의 바람직한 유전자를 인코딩하는 서열 또는 이의 단편은 척추동물, 바람직하게는 인간 세포에서 작용하는 것으로 당분야에 알려진 임의의 프로모터에 의해 발현될 수 있다. 이러한 프로모터는 유도성 또는 구성적 프로모터일 수 있다. 이러한 프로모터는 SV40 초기 프로모터 영역 [가령, Benoist and Chambon (1981) Nature 290:304-310], Rous 육종 바이러스의 3' 긴-말단 반복부에 포함된 프로모터 [가령, Yamamoto *et al.* (1980) Cell 22:787-797 참고], 허피스 티미딘 프로모터 [가령, Wagner *et al.* (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445 참고], 그리고 메탈로티오닌 유전자의 조절 서열 [가령, Brinster, *et al.* (1982) Nature 296:39-42 참고]을 포함한다.

[0868] 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드 길항제는 하나 또는 그 이상의 GDF11, GDF8, 액티빈 (액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 C, 및 액티빈 E), BMP6, ActRIIA, ActRIIB, BMP10, ALK4, 및 Smad 신호전달 인자들의 발현을 표적으로 하는 간섭 RNA(RNAi) 분자다. RNAi는 표적화된 mRNA의 발현을 방해하는 RNA의 발현을 의미한다. 구체적으로, RNAi는 siRNA(작은 간섭 RNA)를 통해 특정 mRNA와 상호작용하여 표적 유전자를 침묵시킨다. 그런 다음, ds RNA 복합체는 이 세포에 의한 분해의 표적이 된다. siRNA 분자는 길이가 10 내지 50개 뉴클레오티드의 이중-가닥으로 된 RNA 듀플렉스로, 충분히 상보적인(가령, 이 유전자에 최소 80% 동일성) 표적 유전자의 발현을 간섭한다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 siRNA 분자는 이 표적 유전자의 뉴클레오티드 서열에 대하여 최소한 85,

90, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0869] 추가 RNAi 분자는 짧은-헤어핀 RNA (shRNA)을 포함하며; 또한 짧은-간섭 헤어핀 및 microRNA (miRNA)을 포함한다. 상기 shRNA 분자는 루프에 의해 연결된 표적 유전자의 센스 및 안티센스 서열을 함유한다. 상기 shRNA는 핵으로부터 세포질로 운반되며, mRNA와 함께 분해된다. Pol III 또는 U6 프로모터는 RNAi를 위한 RNAs 발현에 이용될 수 있다. Paddison *et al.* [Genes & Dev. (2002) 16:948-958, 2002]는 RNAi에 영향을 주는 수단으로 헤어핀으로 접힌 작은 RNA 분자를 사용했다. 따라서, 이러한 짧은-헤어핀 RNA (shRNA) 분자는 본 명세서에서 기술된 방법에 또한 유익하게 이용된다. 기능적 shRNA의 줄기와 루프의 길이는 다양하며; 줄기 길이는 약 25 내지 약 30nt 범위일 수 있고, 루프 크기는 침묵 활성화에 영향을 미치지 않고, 4 내지 약 25nt 범위일 수 있다. 특정 이론에 구속되기를 바라지는 않지만, 이들 shRNA는 DICER RNase의 이중 가닥으로 된 RNA (dsRNA)와 유사하며, 특정 유전자 발현 억제에 동일한 능력을 갖는다. 상기 shRNA는 렌티바이러스성 벡터로부터 발현될 수 있다. miRNA는 길이가 약 10 ~ 70개 뉴클레오타이드의 단일 가닥으로 된 RNA이며, "스텝 루프 (stem-loop)" 구조를 특징으로 하는 pre-miRNA로 먼저 전사되고, 후속적으로 RISC를 통해 추가 처리후 성숙 miRNA로 처리된다.

[0870] siRNA를 포함하나, 이에 국한되지 않는 RNAi를 매개하는 분자는 화학적 합성 (Hohjoh, FEBS Lett 521:195-199, 2002), dsRNA의 가수분해 (Yang *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 99:9942-9947, 2002), T7 RNA 중합효소와 시험관내 전사 (Donzeet *et al.*, Nucleic Acid Res 30:e46, 2002; Yu *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 99:6047-6052, 2002), 그리고 뉴클레아제, 이를 테면 대장균(*e. coli*) RNase III를 이용하여 이중-가닥으로 된 RNA의 가수분해 (Yang *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 99:9942-9947, 2002)에 의해 시험관 안에서 만들어질 수 있다.

[0871] 또다른 측면에 따르면, 본 명세서는 decoy DNA, 이중-가닥으로 된 DNA, 단일-가닥으로 된 DNA, 복합체화된 DNA, 포집화된(encapsulated) DNA, 바이러스성 DNA, 플라스미드 DNA, 네이키드(naked) RNA, 포집화된 RNA, 바이러스성 RNA, 이중-가닥으로 된 RNA, RNA 간섭을 만들 수 있는 분자, 또는 이의 조합을 포함하나, 이에 국한되지 않는 폴리뉴클레오타이드 길항제를 제공한다.

[0872] 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 폴리뉴클레오타이드 길항제는 압타머(aptamers)이다. 압타머는 이중-가닥으로 된 DNA와 단일-가닥으로 된 RNA 분자를 포함하는 핵산 분자로서, 표적 분자에 특이적으로 결합하여, 4차 구조를 형성한다. 압타머의 일반적 그리고 치료 용도는 당분야에 잘 확립되어 있다 (가령, U.S. 특허 번호. 5,475,096) 압타머에 대한 추가 정보는 U.S. 특허 출원 공개 번호 20060148748에서 찾아볼 수 있다. 핵산 압타머는 당업계에서 공지된 방법, 예를 들어, 지수적 농축 (SELEX) 프로세스에 의한 리간드의 체계적 진화 (Systemigen Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) 과정을 통해 선택된다. SELEX는 가령, U.S. 특허 번호 5,475,096; 5,580,737; 5,567,588; 5,707,796; 5,763,177; 6,011,577; 그리고 6,699,843에서 설명된 바와 같이, 표적 분자에 매우 특이적 결합을 하는 핵산 분자의 시험관내 진화를 위한 방법이다. 압타머를 동정하기 위한 또다른 스크리닝 방법은 U.S. 특허 번호 5,270,163에 설명되어 있다. SELEX 과정은 다양한 2-차원 및 3-차원 구조를 형성하기 위한 핵산의 능력 뿐만 아니라, 실제 모든 화합물과 함께 리간드 (특정 결합 쌍을 형성)로 작용하는 뉴클레오타이드 단량체 내에서 이용 가능한 화학적 다양성을 기반으로 하는데, 이들 단량체 또는 중합체는 다른 핵산 분자 및 폴리펩티드를 포함할 수도 있고, 포함하지 않을 수도 있다. 임의의 크기 또는 조성의 분자가 표적으로 작용할 수 있다. SELEX 방법은 후보 올리고 뉴클레오타이드의 혼합물로부터의 선택 및 원하는 결합 친화도 및 선택성을 달성하기 위해, 동일한 일반 선택 방안을 사용하여 결합, 분할 및 증폭의 단계적 반복을 포함한다. 무작위화된 서열의 세그먼트를 포함할 수 있는 핵산 혼합물로부터 시작하여, 상기 SELEX 방법은 결합에 우호적인 조건하에 표적에 상기 혼합물을 접촉시키는 단계; 표적 분자에 특이적으로 결합된 핵산으로부터 결합안된 핵산을 분할시키는 단계; 핵산-표적 복합체를 해리시키는 단계; 핵산-표적 복합체로부터 해리된 핵산을 증폭시켜, 핵산의 리간드 농축된 혼합물을 생산하는 단계를 포함한다. 상기 결합, 분할, 해리 및 증폭 단계 들은 표적 분자에 높은 친화력과 특이성으로 결합하는 핵산 리간드를 만들기 위하여 필요한 수의 주기로 반복된다.

[0873] 전형적으로, 이러한 결합 분자는 동물에 별도로 투여되지만 [가령, O'Connor (1991) J. Neurochem. 56:560 참고], 그러나 이러한 결합 분자는 숙주 세포가 취한 폴리뉴클레오타이드로부터 발현될 수 있고, 생체내에서 발현될 수 있다 [가령, Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, Fla. (1988) 참고].

[0874] 6. 심부전

[0875] 부분적으로, 본 명세서는 심부전을 치료하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-

ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 확장성 심근병증 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 근육 이영양증 (예를 들자면, DMD)과 연합된 심부전 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 근육 소모성 질환과 연합된 심부전 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 전성 심근병증 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Duchenne 근육 이영양증 (DMD)과 연합된 심부전 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 사지 근(girdle) 근육 이영양증 (LGMD)과 연합된 심부전 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Friedreich 운동실조증과 연합된 심부전 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 근긴장성 이영양증과 연합된 심부전 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 확장성 심근병증 (DCM)이 있는 심부전 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 비대성 심근병증 (HCM) 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 부정맥성 심근병증 (AC) 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 좌심실 비압박 심근병증 (LVNC) 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 제한성 심근병증 (RC) 치료 방법에 관계한다.

[0876] 이러한 방법들은 특히 동물, 더 구체적으로, 인간의 치료 및 예방 치료를 목표로 한다. 용어 "대상체", "개체", 또는 "환자"라는 용어들은 명세서를 통하여 호환되며, 일반적으로 인간 또는 비-인간 동물을 지칭한다. 이러한 용어에는 인간, 비-인간 영장류, 실험실 동물, 가축 (소, 돼지, 낙타 등 포함), 반려 동물 (예: 개, 고양이, 기타 길들인 동물 등) 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 랫)를 포함한다. 특정 구체예들에서, 상기 환자, 대상체 또는 개체는 인간이다.

[0877] 용어 "치료", "치료하는", "완화" 및 이와 유사한 것들은 본원에서 일반적으로 원하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 얻는 것을 의미하는 것으로 사용되며, 치료되는 병태 (예를 들자면, 심부전)의 임상적 합병증들중 하나 또는 그 이상의 중증도의 개선, 완화 및/또는 감소를 지칭하기 위해 사용될 수도 있다. 상기 효과는 질환, 상태 또는 이의 합병증의 개시 또는 재발을 완전하게 또는 부분적으로 방지하는 점에 있어서 예방적이거나, 및/또는 질환 또는 상태 및/또는 이 질환 또는 상태의 원인이 되는 역 효과의 부분적인 또는 완전한 치료에 있어서 치료요법적일 수 있다. 본원에 사용된 "치료"는 포유동물, 특히 인간의 질병 또는 병태의 임의의 치료를 포괄한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 장애 또는 병태를 "방지하는" 치료는 통계적 시료에서 처리안된 대조 시료와 비교하여 처리된 시료에서 장애 또는 상태의 발생이 감소되거나, 또는 처리안된 대조 시료와 비교하여 장애 또는 병태의 개시를 지연시키는 화합물을 지칭한다.

[0878] 일반적으로, 본 명세서에서 설명된 질환 또는 상태의 치료 또는 예방은 하나 또는 그 이상의 본 명세서의 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 "효과량"을 투여하여 이루어진다. 작용제의 유효량이란 필요한 치료 또는 예방 결과를 달성하는데 필요한 투여량 및 필요한 시간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 본 발명의 작용제의 "치료학적 유효량"은 질환 상태, 개체의 나이, 성별 및 체중, 및 개체에서 원하는 반응을 유도하는 약제의 능력에 따라 달라질 수 있다. 물질의 "예방차원의 유효량"이란 원하는 예방 결과를 달성하는데 필요한 투여량 및 필요한 시간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0879] HF를 설명하는 데 사용되는 주요 용어는 좌심실 박출물(LVEF) 측정을 기반으로 한다. HF는 광범위한 환자를 포함한다(표 1). 일부 환자는 정상 LVEF를 가지며, 이는 일반적으로 $\geq 50\%$ 로 간주되며, 박출물 보존 HF(HFpEF)라고 지칭한다. 다른 환자들은 LVEF가 감소된 HF(HFrEF)가 있으며, 일반적으로 $<40\%$ 로 간주된다. 약 40% ~ 약 49% 범위의 LVEF를 가진 환자는 "회색 영역"을 나타내며, 이는 때때로 중간 범위 박출물(HFmrEF)이 있는 HF로 정의된다. 때때로 "회색 영역"에 있는 이러한 환자들은 임상적에 따라, HFrEF를 갖는 것으로 확인된다. LVEF를 기반으로 한 HF 환자들의 감별은 근본적인 병인, 인구 통계, 동반이환 및 치료법에 대한 반응이 다르기 때문에 중요하다. 1990년 이후 발표된 대부분의 임상 시험은 LVEF(일반적으로 심장초음파, 방사성 핵종 기술 또는 심장 자기 공명(CMR)을 사용하여 측정됨)에 기반으로 환자들을 선별했고, 그리고 우리가 아는 한, HFrEF 환자에게서만 치료에 의해 이환율과 사망률을 모두 감소시키는 것으로 나타난다.

[0880] 표 1. 좌심실 박출을 분석에 의한 심부전 정의

HF 유형		HFrEF	HFmrEF	HFpEF
심부전	1	증상 ± 징후	증상 ± 징후	증상 ± 징후
	2	LVEF <40%	LVEF 40-49%	LVEF ≥50%
	3	-	1. 나트륨이뇨성 펩티드의 상승된 수준 2. 적어도 하나의 추가 기준: a. 관련된 구조적 심장 질환 (LVH 및/또는 LAE) b. 확장기 기능장애	1. 나트륨이뇨성 펩티드의 상승된 수준 2. 적어도 하나의 추가 기준: a. 관련된 구조적 심장 질환 (LVH 및/또는 LAE) b. 확장기 기능장애

[0882] 증상: 예를 들자면, 숨가쁨, 발목 부종 및 피로

[0883] 징후: 예를 들자면, 경정맥압 상승, 폐 수포음 및 말초 부종. HF의 초기 단계 (특히, HFpEF에서) 및 이뇨제로 치료받는 환자에서는 징후가 나타나지 않을 수 있다.

[0884] 증상 및 징후는 구조적 및/또는 기능적 심장 이상으로 인해 발생한다.

[0885] HF = 심부전; HFmrEF = 중간-범위 박출을 갖는 심부전; HFpEF = 박출물이 보존된 심부전; HFrEF = 박출물이 감소된 심부전; LAE = 좌심방 확대; LVEF = 좌심실 박출율; LVH = 좌심실 비대;

[0886] 특정 측면들에서, 본 명세서는 박출을 보존 (HFpEF) 심부전의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 정상적인 LVEF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 정상적인 LVEF 및 ≥50%의 LVEF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 정상적인 LVEF 및 박출을 보존(HFpEF)과 연관된 HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HFpEF 및 상승된 수준의 나트륨이뇨성 펩티드를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HFpEF, 상승된 수준의 나트륨이뇨성 펩티드, 및 구조적 심장 질환 및/또는 확장기 기능장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0887] 특정 측면들에서, 본 명세서는 박출을 감소된 (HFpEF) 심부전의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 감소된 LVEF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 감소된 LVEF 및 <40%의 LVEF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 감소된 LVEF 및 감소된 박출율 (HFrEF)와 연관된 HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0888] 특정 측면들에서, 본 명세서는 중간-범위 박출을 (HFmrEF) 심부전의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 중간-범위 LVEF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 중간-범위 LVEF 및 약 40% 내지 약 49%의 LVEF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 중간-범위 LVEF 및 중간-범위 박출율 (HFmrEF)과 연관된 HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HmrEF 및 상승된 수준의 나트륨이뇨성 펩티드를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HFmrEF 그리고 상승된 수준의 나트륨이뇨성 펩티드, 및 구조적 심장 질환 및/또는 확장기 기능장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0889] HFpEF의 진단은 HFrEF의 진단보다 더 어려울 수 있다. HFpEF 환자들은 일반적으로 확장된 LV가 없지만, 대신 LV 벽이 두꺼워 지는 경우나 및/또는 좌심방(LA) 크기가 증가되는 경우가 흔히 있는데, 이것은 충전압의 증가로 인한 징후다. 대부분은 확장기 기능장애로도 또한 분류되는, LV 충전 또는 흡입 능력장애의 추가 '증거'를 갖고, 이것은 일반적으로 이러한 환자들에서 HF 원인일 가능성으로 받아들여진다(따라서 '확장기 HF'라는 용어). 그러

나 대부분의 HFrEF(이전에 '수축기 HF'라고 지칭됨) 환자들은 확장기 기능장애도 함께 가지고 있고, 수축기 기능의 미묘한 이상이 HFpEF 환자들에게서 나타났다. 따라서, 보존되거나 또는 축소된 '수축기 기능'을 증가하는 보존되거나 또는 축소된 LVEF로 지정하는 것이 선호된다.

[0890] 이전 지침에서, HFrEF와 HFpEF 사이에 회색 영역이 존재한다는 것을 확인했다. 이들 환자의 LVEF 범위는 40~49% 이므로, HFmrEF라는 용어가 사용된다. HFmrEF 환자들은 주로 경미한 수축기 기능장애가 있을 가능성이 높지만, 확장기 기능장애의 특징도 있다.

[0891] LV 심근 질환이 감지되지 않는 환자들은 HF에 대한 다른 심혈관 원인 (예를 들자면, 폐 고혈압, 심장 판막 질환, 등등)이 있을 수 있다. 비-심혈관 질환(예를 들자면, 빈혈, 폐, 신장 또는 간 질환) 환자들은 심부전과 유사하거나, 또는 동일한 증상을 보일 수 있고, 각각은 HF 증후군을 복잡하게 만들거나 또는 악화시킬 수 있다.

[0892] NYHA 기능적 분류(표 2)는 증상의 중증도 및 운동 불내성 설명에 사용되었다. 그러나, 비록 증상의 중증도와 생존 간에 명확한 관계가 있지만, 증상의 중증도는 LV 기능 관련 많은 측정치와 관련성은 낮고; 경미한 증상을 보이는 환자들은 여전히 입원 및 사망 위험이 증가할 수 있다. 때때로, '진행성 HF'라는 용어는 심각한 증상, 재발성 대상부전(decompensation) 및 심각한 심장 기능장애가 있는 환자를 특징짓는 데 사용된다.

[0893] 표 2. New York Heart Association (NYHA) 증상 및 신체 활동의 중증도에 기반한 심부전의 기능 분류

클래스 I	신체 활동의 제약 없음. 일상적인 신체 활동은 과도한 숨가쁨, 피로 또는 심계항진을 유발하지 않는다.
클래스 II	신체 활동의 약간의 제약. 안정 시에는 편안하지만, 일상적인 신체 활동은 과도한 숨가쁨, 피로 또는 심계항진을 유발.
클래스 III	신체 활동의 현저한 제약. 안정 시에는 편안하지만, 일상적인 신체 활동보다 적은 활동에도 과도한 숨가쁨, 피로 또는 심계항진이 발생.
클래스 IV	불편함 없이 신체 활동을 수행할 수 없음. 휴식 시 증상이 나타날 수 있다. 신체 활동을 하면 불편함이 증가됨.

[0894]

[0895] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 NYHA 클래스 I HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 I HF 환자는 신체 활동에 제약이 없다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 I HF 환자의 신체 활동에서 과도한 숨가쁨, 피로, 및/또는 심계항진을 야기하지 않는다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 NYHA 클래스 II HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 II HF 환자는 신체 활동에 약간의 제약이 있다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 II HF 환자의 정상적인 신체 활동에서 과도한 숨가쁨, 피로, 또는 심계항진을 겪는다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 NYHA 클래스 III HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 III HF 환자는 신체 활동에 상당한 제약이 있다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 III HF 환자는 일상 활동보다 적은 활동에서도 과도한 숨가쁨, 피로, 또는 심계항진을 겪는다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 NYHA 클래스 IV HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, NYHA 클래스 IV HF 환자는 불편함 없이 임의의 신체 활동을 할 수는 없다. 일부 구체예들에서, 환자 with NYHA 클래스 IV HF 환자는 임의의 신체 활동을 할 때 뿐만 아니라 휴식 시에도 증상을 경험하고, 불편함은 증가된다.

[0896] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 NYHA 기능적 심부전 클래스는 개선된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NYHA 클래스를 클래스 IV에서 클래스 III로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NYHA 클래스를 클래스 IV에서 클래스 II로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NYHA 클래스를 클래스 IV에서 클래스 I로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NYHA 클래스를 클래스 III에서 클래스 II로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NYHA 클래스를 클래스 III에서 클래스 I로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NYHA 클래스를 클래스 II에서 클래스 I로 낮추는 것에 관계한다.

[0897] American College of Cardiology Foundation/American Heart Association (ACCF/AHA) 분류는 구조적 변화 및 증상을 기반으로 HF 발달 단계를 설명한다(표 3). ACC/AHA 분류 시스템은 중양학에서 일반적으로 사용되는 접근

방식과 유사하게, 질환의 단계 및 발달에 중점을 둔다. 이러한 HF 단계는 선행 위험 요인(단계 A)에서 무증상 심장 기능 장애(단계 B), 증상이 있는 HF(단계 C), 마지막으로 불응성 말기-질환(단계 D)으로 진행된다. ACC/AHA 단계는 단계 A에서 단계 D로 진행된다.

표 3. American College of Cardiology Foundation/American Heart Association (ACCF/AHA)에 따른 심부전 단계

A	심부전의 위험이 높지만, 구조적 심장 질환이나 심부전 증상이 없는 경우.
B	HF의 징후 또는 증상이 없는 구조적 심장 질환.
C	HF의 이전 또는 현재 증상이 있는 구조적 심장 질환.
D	전문적인 개입이 필요한 난치성 HF.

일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACCF/AHA 단계 A HF를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, ACCF/AHA 단계 A HF 환자는 HF의 위험이 높지만, 구조적 심장 질환이나 HF 증상이 없다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACCF/AHA 단계 B HF를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 단계 B HF 환자는 구조적 심장 질환은 있지만, HF의 징후 또는 증상이 없는 구조적 심장 질환은 없다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACCF/AHA 단계 C HF를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, ACCF/AHA 단계 C HF 환자는 HF의 이전 또는 현재 증상이 있는 구조적 심장 질환이 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACCF/AHA 단계 D HF를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, ACCF/AHA 단계 D HF 환자는 전문적 개입이 필요한 난치성 HF를 가지고 있다.

특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 개선된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 C로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 B로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 D에서 단계 A로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 C에서 단계 B로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 C에서 단계 A로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 ACCF/AHA 단계는 단계 B에서 단계 A로 낮추는 것에 관계한다.

Killip 분류는 심근 경색 후 급성 환경에서 환자 상태의 중증도를 설명하는 데 사용될 수 있다. HF 합병증 급성 심근경색(AMI) 환자는 Killip 및 Kimball에 따라 표 4에 표시된 클래스로 분류할 수 있다.

표 4. HF 합병 AMI의 Killip 분류

클래스 I	임상적 HF 징후 없음
클래스 II	수포음 및 S3 말달림심장음이 있는 HF
클래스 III	노골적 급성 폐부종
클래스 IV	심인성 쇼크, 저혈압(SBP, 90 mmHg) 및 혈관 수축의 증거, 이를 테면, 핏뇨, 청색증 및 발한

일부 구체예들에서, 본 명세서는 Killip 클래스 I HF 합병 AMI를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, Killip 클래스 I HF 합병 AMI 환자에서 임상적 HF 징후는 없다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Killip 클래스 II HF 합병 AMI를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, Killip 클래스 II HF 합병 AMI 환자는 수포음 및 S3 말달림심장음이 있는 HF를 갖고 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Killip 클래스 III HF 합병 AMI를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, Killip 클래스 III HF 합병 AMI 환자는 노골적인 급성 폐부종을 갖고 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Killip 클래스 IV HF 합병 AMI를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, Killip 클래스 IV HF 합병 AMI 환자는 심인성 쇼크, 저혈압(SBP, 90 mmHg) 및 혈관 수축의 증거, 이를 테면, 핏뇨, 청색증 및 발한을 가지고 있다.

특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방

법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 Killip HF 분류가 개선된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 Killip 클래스를 클래스 IV에서 클래스 III로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 Killip 클래스를 클래스 IV에서 클래스 II로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 Killip 클래스를 클래스 IV에서 클래스 I로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 Killip 클래스를 클래스 III에서 클래스 II로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 Killip 클래스를 클래스 III에서 클래스 I로 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 Killip 클래스를 클래스 II에서 클래스 I로 낮추는 것에 관계한다.

[0907] 심부전 진단을 위한 Framingham 기준(표 5)은 적어도 2개의 주요 기준, 또는 적어도 1개의 주요 기준과 2개의 부기준이 있어야 한다. 이러한 기준은 수십 년 동안 황금 참조 표준으로 사용되었지만, 주로 휴식 상태에서 율혈 존재에 대개 근거한다. 중요한 것은, 이러한 임상적 특징이 잘-보상된 HF가 있는 외래 환자 또는 운동 중에만 비정상적인 혈역학이 발생하는 HF 환자에게는 흔히 없다는 것이다. 따라서, 매우 구체적임에도 불구하고, Framingham 기준은 HF 진단에 대한 민감도가 낮은 경향이 있다.

[0908] 표 5. 심부전 진단용 Framingham 기준

주요 기준	발작성 야간 호흡곤란 또는 기립호흡 경정맥 확장 수포음 방사선헌적 심비대 급성 폐부종 S3 말달림심장음 16cm 이상의 물의 정맥압 증가 25 초에 등가의 또는 그 이상의 순환 시간 간경정맥 반사작용 치료에 대한 반응으로 5 일 동안 4.5kg 에 대등한 또는 그 이상의 체중 감소
부기준	양측 발목 부종 야행성 기침 일상적인 활동 시 호흡곤란 간비대 흉수 폐활량이 기록된 최대치의 1/3 로 감소 빈맥 (분당 120 회 이상의 심박수)

[0909]

[0910] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HF 진단을 위한 하나 또는 그 이상의 주요 Framingham 기준을 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 환자는 발작성 야간 호흡곤란 또는 기립호흡, 경정맥 확장, 수포음, 방사선헌적 심비대, 급성 폐부종, S3 말달림심장음, 16cm 이상의 물의 정맥압 증가, 25초에 등가의 또는 그 이상의 순환 시간, 간경정맥 반사작용, 및 치료에 대한 반응으로 5일 동안 4.5kg에 대등한 또는 그 이상의 체중 감소 중 하나 또는 그 이상을 갖는다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HF 진단을 위한 하나 또는 그 이상의 Framingham 부기준을 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 환자는 양측 발목 부종, 야행성 기침, 일상적인 활동 시 호흡곤란, 간비대, 흉수, 폐활량이 기록된 최대치의 1/3로 감소, 및 빈맥 (분당 120회 이상의 심박수)중 하나 또는 그 이상을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 적어도 2개의 Framingham 주요 기준을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 적어도 하나의 Framingham 주요 기준과 적어도 2개의 Framingham 부기준을 갖는다.

[0911] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 증중도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 심부전에 대한 Framingham 분류 수치가 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자가 보유한 심부전에 대한 Framingham 주요 기준 수치가 낮아진다. 일부 구체예들에서, 상기 방법으로 환자가 보유한 심부전에 대한 Framingham 부기준 수치가 낮아진다.

[0912] 의료 전문가가 심부전 진단과 관련하여 찾을 수 있는 알려진 심부전 증상 및 징후가 많이 있다. 일부 증상들은 비-특이적일 수 있고, 따라서 HF와 다른 문제들 간을 구별해내는 데 도움이 되지 않는다. 체액 저류로 인한 HF의 증상 및 징후는 이뇨 요법으로 신속하게 해결할 수 있다. 징후, 이를 테면, 경정맥압 상승 및 정단 임펄스의 변위는 더 특이적일 수 있지만, 감지하기 어렵고 재현성이 떨어진다. HF는 관련 병력(예를 들자면, 심장 손상의 잠재적 원인)이 없는 개체에게는 흔하지 않고, 반면 특정 속성, 구체적으로 이전의 심근 경색은 적절한 증상 및 징후가 있는 환자에서 HF의 가능성을 크게 증가시킨다. 증상과 징후는 치료 및 안정성에 대한 시간 경과에 따른 환자 반응의 모니터링에 중요하다. 치료에도 불구하고 증상이 지속되면 일반적으로 추가 치료가 필요함을 나타내고, 증상 악화는 심각한 전개 (환자를 응급실 입원 및 사망 위험에 처하게 함)이며, 신속한 치료가 필요하다.

[0913] 표 6. 심부전의 징후 및 증상

증상	징후
전형적인	좀더 특이적인
숨가쁨 기립호흡 발작성 야간 호흡곤란 운동 내성 감소 피로, 지침, 운동 후 회복까지의 시간 증가 발목 부종	경정맥압 상승 간경정맥 역류 제 3의 심음 (말달림심장음 리듬) 측면으로 변위된 정단 임펄스
전형성이 덜한	특이성이 덜한
야행성 기침 쌉쌉거림 부유하는 느낌 식욕 상실 작란 (특히 노인에게서) 우울 심계항진 현기증 졸도 몸을 숙일때 호흡곤란	체중 증가 (>2 kg/주) 체중 감소 (진행된 HF에서) 조직 소모성 (악액질) 심장 잡음 말초 부종 (발목, 천골, 음낭) 폐 섬광 폐 기저부에서 충격에 대한 공기 유입 감소 및 둔감 (흉수) 빈맥 불규칙한 맥박 빈호흡 Cheyne Stokes 호흡 간비대 복수 수족냉증 핍뇨 좁은 맥압

[0914]

[0915] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HF의 하나 또는 그 이상의 전형적인 및/또는 전형성이 덜한 증상을 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HF의 하나 또는 그 이상의 특이적인 및/또는 특이성이 덜한 징후를 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HF의 하나 또는 그 이상의 전형적인 증상, 전형성이 덜한 증상, 특이적인 징후, 및/또는 특이성이 덜한 징후를 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HF의 하나 또는 그 이상의 전형적인 증상을 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 환자는 숨가쁨, 기립호흡, 발작성 야간 호흡곤란, 운동 내성 감소, 피로, 지침, 운동 후 회복까지의 시간 증가, 및 발목 부종으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 증상을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 HF의 하나 또는 그 이상의 덜 전형적인 증상을 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 환자는 야행성 기침, 쌉쌉거림, 부유하는 느낌, 식욕 상실, 작란 (특히 노인에게서), 우울, 심계항진, 현기증, 졸도, 및 몸을 숙일때 호흡곤란으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 덜 전형적인 증상을 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 하나 또는 그 이상의 HF 징후를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 환자는 경정맥압 상승, 간경정맥 역류, 제 3 심음 (말달림심장음 리듬), 측면으로 변위된 정단 임펄스로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 HF 징후를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 하나 또는 그 이상의 덜 특이적인 HF 징후를 갖는다. 일부 구체예들에서, 환자는 체중 증가 (>2 kg/주), 체중 감소 (진행된 HF에서), 조직 소모성 (악액질), 심장 잡음, 말초 부종 (발목, 천골, 음낭), 폐 섬광, 폐 기저부에서 충격(percussion)에 대한 공기 유입 감소 및 둔감 (흉수), 빈맥, 불규칙한 맥박, 빈호흡, 체인 스톱스 호흡(체인 스톱스 호흡), 간비대, 복수(ascites), 수족냉증, 핍뇨(oliguria), 및 좁은 맥압으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 덜 특

이적인 HF 징후를 갖는다.

[0916] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자가 가지고 있는 심부전의 징후 및/또는 증상의 갯수가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자가 가지고 있는 심부전 징후의 수를 줄이는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자가 가지고 있는 심부전 증상의 수를 줄이는 것에 관계한다.

[0917] 유전성 심근병증

[0918] 유전성 심근병증은 그중에서도 확장성 심근병증 (DCM), 비대성 심근병증 (HCM), 부정맥성 심근병증 (AC), 및 제한성 심근병증 (RCM)으로 전통적으로 나뉘지며, 이들 각각은 HF 증상의 원인일 수 있다. 이러한 표현형 사이에는 광범위한 중복이 있을 수 있는데; 예를 들면, HCM, 좌심실 비압박 심근병증 (LVNC), 및/또는 AC는 수축기 기능장애가 있는 확장된 심실로 진행하고, 이로 인하여 DCM이 나타날 수 있다. HF의 다른 형태인 유전성 심근병증에서, 진행된 이미징은 기능적 정보와 함께 구조적 기반의 분류 세분을 제공하여, 형태학적 표현형을 보완시켜, 수축성, 확장기 기능, 긴장(strain), 동시성, 섬유증 및 에너지에 대한 통찰력을 제공한다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 유전성 심근병증을 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 유전성 심근병증을 가지고 있는 환자에게서 확장성 심근병증 치료에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 유전성 심근병증을 가지고 있는 환자에서 비대성 심근병증 치료에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 유전성 심근병증을 가지고 있는 환자에서 부정맥성 심근병증 치료에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 유전성 심근병증을 가지고 있는 환자에서 좌심실 비압박 심근병증 치료에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 유전성 심근병증을 가지고 있는 환자에서 제한성 심근병증 치료에 관한 것이다.

[0919] 유전성 심근병증은 연령과 인구에 따라 크게 다를 수 있지만, 대체로 HF에서 작은 비율을 나타낸다. HF가 있는 소아 집단에서, 가족성 및 추정 단일 기원이 빈번하게 확인된다. HF가 있는 젊은 성인의 경우, 유전 질환의 유병률 또한 높다. 마찬가지로, 성인의 특발성 DCM에서, 가족 스크리닝에서 발견된 가족 질환의 비율은 일반적으로 대략 >30%로 높다. HF에 대한 감수성은 또한 복잡한 형질(trait)로 유전될 수 있으며, HF를 가진 <75세 부모가 있다는 것은 HF 발병의 중요한 위험 요소인 것으로 밝혀졌다.

[0920] 유전성 심근병증의 몇 가지 일반적인 특징이 나타났다. 첫째, 개별 유전자 내의 상이한 변이체들은 대조되는 표현형을 생성할 수 있다. 예를 들어, 육종체 단백질 심장 트로포닌 I을 암호화하는 유전자(TNNI3)의 돌연변이는 HCM, DCM 또는 RCM 표현형을 유발시킬 수 있다. 중요한 것은, 거의 모든 경우에서 각각의 특정 돌연변이가 동일한 정성적 표현형을 일관되게 생성한다는 것이다(예를 들자면, 주어진 변이체가 DCM 또는 HCM을 유발하지만, 둘 모두다 유발하지는 않음). 그러나, 질환 유전자와 대립유전자가 동일한 경우(표현형 이질성(phenotypic heterogeneity)이라고 지칭함)에도, 주어진 심근병증 표현형에는 상당한 정량적 변동성이 있다. 둘째, 각 심근병증 표현형은 수많은 유전적 돌연변이(유전적 이질성) 중 하나에 의해 발생된다. 예를 들면, 50개가 넘는 유전자의 돌연변이는 DCM 표현형(좌위 이질성)을 유발할 수 있으며, 이들 유전자 내에서 수많은 상이한 병원성 돌연변이가 기록된다(대립유전자 이질성). 따라서, 많은 돌연변이들은 희귀하고, 흔히 개별 가족에 특이적이며, 핫스팟이나 공통 돌연변이는 거의 없다. 이러한 이질성의 결과로 알려진 대립유전자에 대해서만 환자를 테스트하는 것이 진단 테스트로 빈번하게 효과적이지 않으며, 대신 체계적인 시퀀싱이 일반적으로 필요하다는 것이다. 더욱이, 인간 계통에서 희귀 변이의 높은 빈도를 감안할 때, 프로밴드(proband)에서 식별된 미스센스 변이의 병원성(pathogenicity)은 검증되어야 한다. 셋째, 유전성 심근병증은 같은 가족 내에서도 다양한 침투성(예를 들자면, 표현형을 나타내는 병원성 돌연변이를 지닌 개체의 비율)를 나타낸다. 발현도(예를 들자면, 병원성 돌연변이가 있는 환자에서 발생하는 표현형의 중증도)도 매우 가변적이며, 임상적 현시, 질환 과정 및 결과는 영향을 받은 가족 내에서 극적으로 다를 수 있음을 의미한다.

[0921] 근육 소모성 질환

[0922] 근육 소모란 이를 테면, 움직임을 제어하는 골격 또는 수의근, 심장을 제어하는 심장 근육(심근병증) 및 평활

근의 근육량의 점진적인 손실 및/또는 근육의 점진적인 약화 및 퇴화를 지칭한다. 만성적 근육 소모는 근육량의 점진적인 손실, 근육의 약화 및 퇴화로 특징되는 만성적 병태(즉, 오랜 기간에 걸쳐 지속됨)이다.

[0923] 근육 소모 동안 발생하는 근육량의 손실은 이화 작용에 의한 근육 단백질 분해로 특징화될 수 있다. 단백질 이화작용은 비정상적으로 높은 단백질 분해 속도, 비정상적으로 낮은 단백질 합성 속도 또는 이 둘의 조합으로 인해 발생된다. 높은 수준의 단백질 분해 또는 낮은 수준의 단백질 합성으로 인해 발생하는 근육 단백질 이화작용은 근육량 감소 및 근육 소모로 이어진다.

[0924] 근육 소모는 만성적, 신경학적, 유전적 또는 감염성 병리, 질환, 질병 또는 병태와 연관된다. 여기에는 근육 이영양증(예를 들자면, Becker 근육 이영양증 (BMD), 선천성 근이영양증 (CMD), Duchenne 근육 이영양증 (DMD), Emery-Dreifuss 근육 이영양증 (EDMD), 안면건갑상완 근육 이영양증 (FSHD), 사지-근 근이영양증 (LGMD), 근긴장성 이영양증 (DM), 및 안구인두 근육 이영양증 (OPMD)); 근육 위축 이를 테면, Post-Polio 근육 위축 (PPMA); 악액질 이를 테면, 심장 악액질, AIDS 악액질 및 암 악액질), 영양실조, 나병, 당뇨병, 신장 질환, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 암, 말기 병기 신부전, 근감소증, 폐기종, 골연화증, HIV 감염 및 AIDS가 내포된다.

[0925] 또한, 다른 상황과 병태가 근육 소모와 연결되어 원인이 될 수 있다. 여기에는 만성 요통, 고령, 중추신경계 (CNS) 손상, 말초신경 손상, 척수 손상, 화학적 손상, 중추신경계(CNS) 손상, 말초신경 손상, 척수 손상, 화학적 손상, 화상, 팔다리가 움직이지 않을 때 발생하는 미사용 상태악화(disuse deconditioning), 질병이나 부상으로 인한 장기 입원, 알코올 중독이 내포된다.

[0926] 근육 소모를 방지하면, 건강에 심각한 결과를 초래할 수 있다. 예를 들면, 근육 소모 동안 발생하는 변화로 약해진 신체 상태로 이어지고, 이는 개체의 건강에 해로우며, 그 결과 굴절(infraction)에 대한 민감성이 증가하고, 수행능 상태가 나빠진다. 또한, 근육 소모는 악액질 및 AIDS로 고통받는 환자의 이환율 및 사망률의 강력한 예측인자다. 근육 소모, 특히 만성 근육 소모를 예방하고 치료하기 위해서는 기초 과학 및 임상 수준 모두에서 혁신적인 접근 방식이 시급히 필요하다.

[0927] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 근육 소모 질환을 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 하나 또는 그 이상의 근육 소모성 질환을 갖는 HFrEF 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 근육 이영양증인 근육 소모 질환을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Becker 근육 이영양증 (BMD), 선천성 근이영양증 (CMD), Duchenne 근육 이영양증 (DMD), Emery-Dreifuss 근육 이영양증 (EDMD), 안면건갑상완 근육 이영양증 (FSHD), 사지-근 근이영양증 (LGMD), 근긴장성 이영양증 (DM), 및 안구인두 근육 이영양증 (OPMD)으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 근육 이영양증을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 근육 위축, 이를 테면, Post-Polio 근육 위축 (PPMA)을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심장 악액질, AIDS 악액질 및 암 악액질로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 악액질을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 영양실조에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 나병을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 당뇨병에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 신장 질환에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 암에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 말기 신부전에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 근육감소증을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 골연화증에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 HIV 감염에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 AIDS에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심근병에 걸린 환자를 치료하는 방법에 관계한다.

[0928] **근육 이영양증**

[0929] *Duchenne 근육 이영양증*

[0930] Duchenne 근육 이영양증 (DMD)은 남성의 5000명중 1명꼴로 영향을 미치는 X-연계된 열성 장애이며, 근육 이영양

증의 가장 흔한 유형이다. DMD는 디스트로핀(DMD 유전자에 의해 인코딩됨)이 없기 때문에 발생하고, 디스트로핀은 근절과 세포의 기질을 연결하는 단백질로써, 근섬유의 가장 바깥쪽 근섬유 층에 근섬유를 고정시킨다. DMD는 근육 소모 및 쇠약, 골격 변형, 10세까지 독립적인 보행 상실, 20세까지 호흡 기능 장애, 종국에 20세에서 40세 사이에 심폐 기능 장애 및 사망을 특징으로 하는 진행성 유아 신경근 질환이다. 임상학의 인식이 높아졌음에도 불구하고, 증상의 시작 시점에서부터 최종 진단 시점까지 평균 2.5년이 지체된다. DMD의 심혈관 현상은 확장성 심근병증(DCM), 부정맥 및 울혈성 심부전(HF)으로 가장 일반적으로 나타난다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 DMD를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 DMD를 갖고 있는 HFrEF 심부전 환자의 치료에 관계한다.

[0931] DMD 환자에서 발견되는 가장 빈번한 돌연변이(대략적으로 65%)는 인간 게놈에서 가장 큰 유전자 중 하나인 디스트로핀 유전자(DMD)의 하나 또는 그 이상의 엑손이 결실된 것으로, 이로 인하여 성숙한 단백질 디스트로핀이 완전히 없는 상태가 된다. 사례의 6%-10%에서 중복(Duplications)이 발생하고, 넌센스, 미스센스 및 심부 인트론 변화들은 모두 함께 모두 분자 결함의 나머지 25%를 차지한다. 디스트로핀은 골격 및 심장 근육속막의 내측에 위치하고, 그것은 많은 수의 막 단백질과 상호 작용하여 신호 전달 조절에 중요한 역할을 한다. DMD 환자에서 디스트로핀의 결핍으로 디스트로핀-연합된 당단백질 복합체(DGC)의 불안정화를 초래하여, 근섬유분절에 의해 생성된 힘 전달의 감소와 함께, 수축 및 이완의 반복 주기 동안 근섬유분절의 불안정하게 된다. 심장에서, 막 일체성(integrity)과 함께 디스트로핀의 결핍은 L-형 칼슘 채널과 기계적인 스트레치-활성화된 수용체의 기능에 영향을 미친다. 이로 인해 세포 내 칼슘 수치가 증가하고, 결과적으로 수축성 단백질을 분해하는 칼파인 및 프로테아제를 활성화시켜, 세포 사멸 및 섬유증이 촉진된다.

[0932] DMD 진단을 위한 현재 치료 표준은 근육 생검을 건너뛰고, 먼저 유전자 검사를 수행하는 것을 제안한다. 대다수의 환자들에서 하나 또는 그 이상의 엑손의 결실 및 중복이 확인되기 때문에, 멀티플렉스 결찰-의존적 프로브 증폭(MLPA)으로 이러한 돌연변이를 확인하는 것이 비용-측면에서 가장 효율적이다. 초기 유전자 검사의 관련성은 상이한 유형의 돌연변이들이 상이한 예후 및 표현형 특성을 가지고 있다는 사실에서 명백하다. 예를 들면, DMD의 5'-(엑손 3-9) 또는 3'-말단(엑손 48-52)에서 발생하는 결손은 비록 기전적 설명을 명확하게 하지 못하지만, 더 빈번한 심장 침범(involverment)이 있다.

[0933] 6세에 처음으로 ECG 및 심초음파로 수행한 다음, 증상이 없는 10세까지 기본적인 심장 평가를 2년마다 수행하는 것을 권장한다. ECG 및 심초음파를 통한 정기적인 연간 평가로 전환하는 것은 10세에, 또는 심장 징후 및 증상이 더 일찍 발생하는 경우, 이들이 개시된 시점에 수행하는 것을 권장한다. 동성 빈맥은 짧은 PR 간격 및 우심실 비대와 함께, 어린 시절 (심지어 이들이 움직일 수 없을 때에도) DMD 환자에서 흔히 발견된다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 사용하여 심부전 및 DMD를 갖는 환자를 평가한다. 일부 구체예들에서, ECG를 사용하여 심부전 및 DMD를 갖는 환자를 평가한다.

[0934] 심초음파 및 ECG는 비록 이러한 도구가 질환 진행의 초기 임상적 무증상 단계를 감지하는 데 항상 적합한 것은 아니지만, DMD 환자들에서 심혈관 이상을 스크리닝하고, 감지하는 데 표준으로 사용된다. 이와 관련하여, 후기 가돌리늄 증강을 통한 심혈관 자기 공명(CMR)은 DMD 환자들에서 조기 심장 침범을 감지하는 유망한 방법으로 부상하고 있다. 심장 기능 장애의 조기 발견으로 다양한 종류의 약물, 이를 테면, 코르티코스테로이드, 베타-차단제, ACE 억제제, 항-미네랄로코르티코이드 이노제의 치료 제도, 그리고 이 환자 그룹을 위한 다중 모드 및 다수 분야에 걸친 치료에서 새로운 약리학적 그리고 외과적 해결책을 허용한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 심부전 및 DMD를 갖는 환자를 평가한다. 일부 구체예들에서, 후기 가돌리늄 증강을 통한 CMR을 사용하여 심부전 및 DMD를 갖는 환자를 평가한다.

[0935] HF가 있는 DMD 환자들에게 처방되는 것으로 알려진 심부전에 대한 몇 가지 알려진 치료법이 있다. LV 기능장애 개시를 지연 및/또는 치료하기 위해, 코르티코스테로이드 (예를 들자면, 미네랄코르티코이드, 글루코코르티코이드), 레닌-안지오텐신 시스템 억제제 (RAAS) (예를 들자면, ACE 억제제), 및/또는 베타 차단제가 전형적으로 처방된다. 코르티코스테로이드는 DMD 환자의 치료에 도입되는 가장 적절한 종류의 약물로, 질환의 자연적인 병력에 큰 영향을 미친다. 조기 스테로이드 치료는 골격근 소모 및 기능 장애를 효과적으로 늦추고, 보행을 유지시키며, 척추 측만증 위험 및 폐기능 저하와 관련있다. 추가적으로, 스테로이드 투여는 DMD 환자의 LV 기능에 긍정적인 영향을 미칠 수 있지만, 이 과정의 기본 기전은 현재 명확하지 않다. 더욱이, 9.5세~13세 사이의 DMD 환

자들을 하나 또는 그 이상의 ACE 억제제로 조기 치료하면, LV 기능 장애의 발병 및 진행을 지연시키는 것으로 나타났다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 코르티코스테로이드 (예를 들자면, 미네랄코르티코이드, 글루코코르티코이드), 레닌-안지오텐신 시스템의 억제제 (RAAS) (예를 들자면, ACE 억제제), 및/또는 베타 차단제가 또한 투여된다.

[0936] 더욱이, DMD 환자들은 최근 DMD 환자 치료에 도입된 하나 또는 그 이상의 COX-억제성 산화질소 공여자를 처방받을 수 있다. 이 종류의 약물은 비-스테로이드성 항-염증제와 유사한 구조를 가지고 있지만, 산화질소를 수송 능력이 더 높고, 따라서 골격근과 심근 모두의 염증을 감소시킨다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 COX-억제성 산화질소 공여자를 또한 투여한다.

[0937] DMD 치료를 위한 다른 요법에는 정지 코돈 판독-접근 방식, 바이러스 벡터-기반 유전자 요법 및 엑손 스킵핑을 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드(AON)(예를 들자면, 모르폴리노)가 내포되지만, 이에 국한되지 않는다. DMD에서 유전자 치료에서, 주요 목표는 디스트로핀 유전자의 대체 사본을 전달하는 것이다. DMD에서 유전자 전달을 달성하기 위해, 일부는 바이러스, 구체적으로 AAV 바이러스의 작용을 활용하는 것을 목적으로 하며, 이는 디스트로핀 단백질을 제조하기 위해, 이론적으로 디스트로핀 유전자를 근육 세포에 전달하여 할 것이다. 디스트로핀 유전자의 큰 크기는 바이러스가 운반할 수 있는 부하의 크기에 제한이 있기 때문에 문제가 될 수 있다. 이를 해결하기 위해, 더 작지만 여전히 기능적인 버전의 디스트로핀이 일반적으로 유전자 치료에 사용된다. 미니 디스트로핀 (rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀)은 DMD가 있는 소년에서 테스트된 소형화된, 작동 디스트로핀 유전자다. 더욱이, 마이크로디스트로핀이라고 불리는 더 작은 버전의 디스트로핀이 개발되었고, 이것은 기능성 단백질 생산에 필요한 디스트로핀 유전자의 최소한의 정보를 함유하고 있다. SGT-001은 공작된 마이크로디스트로핀을 전달하는 유전자 치료제다. 또다른 유사한 약물은 rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀이다. DMD 치료를 위해 개발 중인 다른 유전자 요법에는 SRP-9001 및 GALGT2가 내포되지만, 이에 국한되지 않는다. 아데노-연합된 바이러스(AAV) 벡터 또는 전달 비히클에 싸인 마이크로디스트로핀 유전자는 정맥(IV) 주입을 통해 신체에 전신 투여된다. 엑손 스킵핑을 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드(AON)는 상보적인 표적 mRNA 서열에 결합하고, 엔도뉴클레아제-매개된 전사체 녹다운 또는 스플라이스 변조를 유도하는 짧은 합성 핵산 서열이다. AON-매개된 엑손 스킵핑은 DMD pre-mRNA에서 프레임-외 엑손 또는 엑손을 제거하여 판독 프레임을 교정함으로써, 절두된 그러나 부분적으로 기능적인 디스트로핀 단백질을 생성할 수 있다. 1세대 AON은 변형되지 않은 포스포리보스 백본을 가지고 있고, 이것은 뉴클레아제에 의한 분해에 취약하게 한다. 2세대 및 3세대 AON은 뉴클레아제 분해에 대한 AON 저항성을 증가시킬 뿐만 아니라, 약리학적 속성들을 향상시키는 화학적으로 변형된 구조를 함유한다. 포스포로디아미데이트 몰포리노 올리고머 (PMOs)는 DMD에 대한 안티센스 요법의 가장 발전된 용도를 나타낸다. PMOs는 디옥시리보스/리보스 모이어티가 모르폴린 고리로 대체되고 하전된 포스포디에스테르 서브유닛-간 연결이 충전되지 않은 포스포로디아미데이트 연결로 대체되어 PMO를 뉴클레아제-저항성 및 전하-중성으로 만들고, 이는 일반적으로 하전된 분자를 표적으로 하는 뉴클레아제에 훨씬 더 큰 저항성을 부여한다. 또한 전하가 없기 때문에, PMOs는 병원성 물질에 대한 선천적 면역 반응 생성과 관련된 수용체 클래스인 Toll-유사 수용체를 활성화할 가능성이 없기 때문에 더 안전하다. DMD 치료용 RNAi 기술에는 다음의 것들이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 및 트리사페르센 (PRO051). 다른 유사 요법에는 펩티드 핵산 (PNA) (예를 들자면, PNA-ssODN 표적으로 하는 DMD 엑손 10)으로 만들어진 단일-가닥 올리고데옥시뉴클레오티드(ssODNs), 키메라 펩티드-PMO 콘주게이트 (예를 들자면, 근육-특이적인 펩티드 (MSP) 및 세포-침투 펩티드 (B 펩티드)에 포스포로디아미데이트 몰포리노 올리고머 (PMO), M12-PMO, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)가 에 콘주게이트된)가 내포된다. 아미노 글리코시드-유래 화합물은 리보솜의 60S 서브유닛에 결합하고, 미성숙 정지 코돈을 '이완'시키고, 나이브(naïve) 넌센스 삼중항에 영향을 미친다는 증거는 없기 때문에 최근 DMD 환자에게 사용되었다. 이 클래스에 속

하는 화합물인 Atalurenhas는 최근 DMD 치료용으로 승인되었다. 디스트로핀과 매우 유사한 단백질인 유트로핀의 과발현은 디스트로핀 발현의 부분적 구조자(rescuer)로 입증되었다. 근육 피사 및 섬유증을 줄이거나 또는 예방함으로써 이 질환 진행을 표적으로 하거나(예를 들자면, 타다라필), 또는 근육량을 증가시켜 질환 진행을 표적으로 하는(예를 들자면, 미오스타틴 억제제) 몇 가지 다른 치료 전략이 현재 연구 중에 있다. *크트로*, 세포 요법을 통해 정상적인 디스트로핀-발현 위성 세포를 환자의 골격근에 이식 가능하고, 상주 근육 섬유와의 융합을 얻고, 결과적으로 디스트로핀 발현이 환자의 세포로 확산된다. 비록 심근 세포에서 테스트되지는 않았지만, 이러한 접근법은 잠재적으로 심장의 디스트로핀 복원에 유망하다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 정지 코돈 판독 접근법, 바이러스성 벡터-기반 유전자 요법, 엑손 스킵핑을 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드 (AON), Atalurenhas, 유트로핀 과다발현, 타다라필, 미오스타틴 억제제, 및 세포 요법이 또한 투여된다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀, SGT-001, rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀, SRP-9001, 및 GALGT2이 또한 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 rAAV2.5-CMV-미니디스트로핀의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 SGT-001의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 rAAVrh74.MHCK7.마이크로-디스트로핀의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 SRP-9001의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 GALGT2의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 에테필르센 (SRP-4051), 고로디르센 (SRP-4053), 카시메르센 (SRP-4045), 펩티드-콘주게이트된 에테필르센 (SRP-5051), SRP-5053, SRP-5045, SRP-5052, SRP-5044, SRP-5050, 빌토라르센 (NS-065/NCNP-01), NS-089/NCNP-02 (엑손 스킵핑 44), DS-5141b (엑손 스킵핑 45), 수보디르센 (WVE-210,201), 트리사페르센 (PRO051), PNA-ssODN, M12-PMO (엑손 23 스킵핑), 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)를 또한 투여한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행

및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 에테필르센의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 카시메르센 (SRP-4045)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 SRP-5053의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 SRP-5045의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 SRP-5052의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 SRP-5044의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 빌토라르센의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 DS-5141b

(엑손 스킵핑 45)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 수보디르센 (WVE-210,201)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 트리사페르센의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 PNA-ssODN의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 M12-PMO (엑손 23 스킵핑)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 M12-PMO (엑손 10 스킵핑)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다.

[0938] 사지 근 근육 이영양증

[0939] 사지 근 근육 이영양증 (LGMD)란 원위부 쇠약보다 근위부 쇠약이 더 큰, 진행성 근육 질환의 대규모 집합체를 지칭한다. 그것은 주로 엉덩이와 어깨 근육에 영향을 미치는 진행성 근육 소모를 특징으로 한다. 상염색체 우성 병태는 LGMD 1X로 지칭되며, 이때 X는 현재 A에서 H까지의 범위이고, 상염색체 열성 병태는 LGMD 2X이며, 이때 X는 현재 A에서 Q까지다. LGMD 목록은 길고, 계속 확장되며, 각 범주의 새 문자가 정기적으로 나타난다. 보다 일반적인 LGMD 중 일부는 유형 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C-2F, 2I 및 2L이다. LGMD 유형 1A는 미오틸린 (*MYOT*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 1B는 라민 A/C (*LMNA*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 1C는 카베오린-3 (*CAV3*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 2A는 칼페인-3 (*CAPN3*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 2B는 디스페린 (*DYSF*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 2C-F는 차례로 γ -사르코글리칸 유전자(*SGCG*), α -사르코글리칸 유전자 (*SGCA*), β -사르코글리칸 유전자 (*SGCB*), 및/또는 δ -사르코글리칸 유전자 (*SGCD*)에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 2I는 *FKRP* 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다. LGMD 유형 2L은 아녹타민-5 (*ANO5*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 연루된다.

[0940] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 사지 근 근육 이영양증을 또한 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 사지 근 근육 이영양증이 있는 HFrEF 심부전 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 미오틸린 (*MYOT*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 라민 A/C (*LMNA*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 카베오린-3 (*CAV3*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 칼페인-3 (*CAPN3*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에 있어서 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 디스페린 (*DYSF*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 γ -사르코글리칸 (*SGCG*), α -사르코글리칸 (*SGCA*), β -사르코글리칸 (*SGCB*), 및/또는 δ -사르코글리칸 (*SGCD*) 유전자들에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체

예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 푸쿠틴-관련 단백질 (*FKRP*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에서, 사지 근 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 아노타민-5 (*ANO5*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다.

[0941] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 SRP-9003, SRP-9004, SRP-9005, SRP-6004, SRP-9006, 및 LGMD2A가 또한 투여된다.

[0942] *Friedreich* 운동실조증

[0943] *Friedreich* 운동실조증 (FRDA 또는 FA)은 보행 장애, 팔다리의 감각 상실, 언어 장애가 시간이 지남에 따라 악화되는 상염색체 열성 유전 질환이다. 증상은 5세 ~ 15세 사이에 시작될 수 있으며, 많은 환자에서 비대성 심근병증이 발생되며, 이들의 10대에는 지팡이, 보행기 또는 휠체어와 같은 이동 보조 장치가 필요하다. 질환이 진행됨에 따라 환자들은 시력과 청력을 잃는다. 다른 합병증에는 척추측만증 및 진성 당뇨병이 내포된다. FRDA 환자들의 심장에서 종종 약간의 섬유증이 발생하고, 시간이 지남에 따라 많은 환자가 좌심실 비대 및 좌심실 확장이 발생된다.

[0944] 이 병태는 9번 염색체에 있는 *FXN* 유전자의 돌연변이로 인해 일어난다. *FXN* 유전자는 프락타신이라고 불리는 단백질을 인코딩한다. FRDA 환자는 프락타신을 덜 만든다. 척수의 신경 조직의 변성은 운동 실조증을 유발하고; 특히 소뇌와의 연결을 통해 팔과 다리의 근육 운동 지시에 필수적인 감각 뉴런이 영향을 받는다. 척수는 가늘어지고, 신경 세포는 수초 일부를 상실한다.

[0945] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 *Friedreich* 운동실조를 또한 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 *Friedreich* 운동실조증 근육 이영양증이 있는 HFrEF 심부전 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, *Friedreich* 운동실조증 근육 이영양증 및 심부전을 갖는 환자는 프락타신 (*FXN*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다.

[0946] 근긴장성 이영양증

[0947] 근긴장성 이영양증은 근육 기능에 영향을 미치는 장기적인(long-term) 상염색체 우성 유전 질환이다. 증상에는 점진적으로 악화되는 근육 손실 및 쇠약이 내포되며, 근육은 종종 수축하여 이완할 수 없다(근긴장증). 다른 증상으로는 백내장, 지적 장애 및 심장 전도 문제가 내포될 수 있다. 근긴장성 이영양증은 전 세계적으로 8,000명 중 1명 이상 꼴로 걸린다. 근긴장성 이영양증은 모든 연령대에서 발생할 수 있지만, 일반적으로 20대와 30대에 발병된다.

[0948] 두 가지 주요 유형의 근긴장성 이영양증이 있는데: 유형 1은 근긴장성 이영양증 단백질 키나제를 인코딩하는 *DMPK* 유전자에서의 돌연변이로 인한 것이며, 유형 2는 CCHC-유형 아연 핑거 핵산 결합 단백질을 인코딩하는 *CNBP* 유전자에서 돌연변이로 인한 것이다. 증상과 징후의 발현은 유형에 따라 상당히 다르며, 유형 2는 더 가벼운 질환인 경향이 있다. 증상은 유아기부터 성인기까지 언제든지 나타날 수 있다. 근긴장성 이영양증은 일반적으로 손, 발, 목 또는 얼굴의 근육에서 시작되는 일반적인 쇠약을 일으킨다. 근긴장성 이영양증은 심장을 비롯한 다른 근육 그룹이 연루되도록 천천히 진행된다. 유형 1과 관련된 근력 약화는 특히 하퇴부(lower legs), 손, 목 및 얼굴에 영향을 미친다. 유형 2의 근육 약화는 주로 목, 어깨, 팔꿈치 및 엉덩이의 근육이 관련된다.

[0949] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 근긴장성 이영양증을 또한 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 근긴장성 이영양증을 가지고 있는 HFrEF 심부전 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 근긴장성 이

영양증을 가지고 있는 심부전 환자는 근긴장성 이영양증 단백질 키나제 (*DMPK*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구체예들에서, 근긴장성 이영양증을 가지고 있는 심부전 환자는 CCHC-유형 아연 핑거 핵산 결합 단백질 (*CNBP*) 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다.

[0950] **확장성 심근병증 (DCM)**

[0951] 확장성 심근병증 (DCM)은 박출률 감소(HFrEF)가 있는 HF의 두 번째로 흔한 병인이다. DCM의 20~50%가 Mendelian 방식으로 유전되는 유전적 돌연변이에 의해 발생하는 것으로 추정되지만, 자체적으로 여러 병인을 가진 이질적인 장애다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 확장성 심근병증의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 DCM를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다.

[0952] DCM은 병리학적으로 좌심실 확장, 기능적으로 점진적인 수축 실패, 조직학적으로 심근세포 비대, 근섬유 소실 및 간질 섬유증을 특징으로 한다. DCM 환자들은 처음에는 무증상일 수 있지만 좌심실이 기능을 상실함에 따라 운동성 호흡곤란, 기립호흡 및 피로가 발생한다. 우심실 부전은 심근병증에 의한 동시 침범(*involvement*) 또는 좌심실 부전에 부차적으로 발생하기 때문에 빈번하게 나타난다. DCM의 합병증, 이를 테면, 부정맥, 승모판 역류 또는 심장 내 혈전의 색전증이 이 질환의 특징으로 나타날 수 있다. 진행성 HF 또는 부정맥 급사로 사망률이 문제가 된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 좌심실 확장을 갖는 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. DCM 자체는 심장에 대한 다양한 손상으로 인해 발생할 수 있으며, 그 중 하나는 유전 질환이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 진행성 수축 부전을 갖는 환자를 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 심근세포 비대, 근섬유의 손실, 및 간질 섬유증을 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 유전적 형태의 DCM를 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0953] 현재 DCM과 관련된 50개 이상의 유전자가 알려져 있으며, 대부분은 심근 세포 근섬유분절의 단백질을 인코딩한다. DCM의 주요 질환 유전자는 표 7에 나와 있다. 돌연변이는 가족성 DCM 환자의 약 30~35%에서 현재 확인되었고, 다음 4가지 유전자가 대부분을 차지한다: 티틴 (*TTN*), 라민 A/C (*LMNA*), β -미오신 중쇄 (*MYH7*), 및 심장 트로포닌 T (*TNNI3*). 티틴 돌연변이가 가장 흔한 것으로 보인다. 전도 이상이 있는 경우, LMNA의 돌연변이는 일반적으로 최대 1/3의 사례에서 발견된다. 보고된 유전자의 다양성은 다양한 세포 경로를 나타내고, 이들 모두는 분명히 임상적으로 구별할 수 없는 거시적 DCM 표현형으로 수렴된다. 통일된 세포 병리생리학이 없는 것으로 보이지만, DCM 유전자들은 수축력 생성 및 조절, 힘 전달 및 기계적 감지, 핵 단백질 및 전사 인자에 대한 병인 효과에 의해 광범위하게 그룹화될 수 있다 (표 7). 이러한 범주 외에도, 광범위한 세포 효과를 가진 추가 후보 유전자들이 제안되었으며, 예를 들어, 이온 채널 기능, 자가포식 및 미토콘드리아 조절에 대해 계속해서 나타날 것이지만, 그러나 DCM으로 이어지는 기계적 경로로서 완전히 검증되거나 또는 되풀이되어야 한다.

[0954] 표 7. 확장성 심근병증 (DCM)에서 주요 질환 유전자들

유전자	설명
힘 생성/조절	
ACTC1	액틴, α , 심장 근육 1
MYH7	미오신, 중쇄 7, 심장 근육, β
TNNT2	트로포닌 T 유형 2 (심장)
TNNI3	트로포닌 I 유형 3 (심장)
TNNC1	트로포닌 C 유형 1 (느린)
PLN	포스포람반
힘 변환/기계적감지	
TTN	티틴
DMD	디스트로핀
SGCD	사르코글리칸, Δ (35-kDa 디스트로핀-연합된)
DES	데스민
핵 단백질/전사	
LMNA	라민 A/C
기타	
RBM20	RNA-결합 모티프 단백질 20
연루되었지만, 연계/동일 분리에 의해 아직 뒷받침되지 않은 것들	
ACTN2	액티닌, α 2
VCL	빈쿨린
TMPO	티모포에틴
TCAP	티틴-cap
BAG3	BCL2-연합된 아타노젠 3
LDB3	LIM 도메인-결합 3
ANKRD1	안키린 반복 도메인 1 (심장 근육)

[0955]

[0956]

두껍고 얇은 근섬유 단백질의 돌연변이는 DCM을 유발할 수 있다. 유형 II 미오신에 의한 수축력 생성에 내재된 β -미오신 중쇄(MYH7)는 DCM에서 가장 일반적으로 돌연변이되는 육종 유전자다. MYH7 돌연변이는 DCM 사례의 5~10%에서 발견된다. 대립 유전자 이질성은 광범위하며, 상이한 수많은 돌연변이가 보고되었다. 얇은 필라멘트 단백질 심장 액틴(ACTC1)은 HCM 및 LVNC 외에도 DCM의 드문 원인이지만, 확인된 최초의 근섬유분절 DCM 유전자다. ActC1 디스트로핀-결합 부위의 돌연변이는 일반적으로 DCM의 발달과 관련있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 MYH7에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACTC1에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACTC1 및 MYH7에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0957]

근섬유분절 수축의 조절은 주로 트로포미오신과 T, I 및 C 소단위로 구성된 트로포닌 복합체에 의해 매개된다. 트로포미오신에 결합하는 트로포닌 T (TNNT2)는 얇은 필라멘트와 트로포닌 복합체의 상호작용을 조절한다. 트로포닌 I (TNNI3)는 확장기 동안 액틴-미오신 결합에 대한 억제 효과를 통해 근섬유분절 활성화를 조절하고, 트로포닌 C (TNNC1)는 수축기 동안 칼슘과 결합하고, 액틴과 미오신 사이의 가교 형성을 촉진하여 수축을 일으킨다. DCM-유발 돌연변이는 3개의 소단위 모두에서 확인되었으며, 손상된 칼슘 감수성과 관련이 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 TNNT2에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 TNNI3에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 TNNC1에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0958]

근섬유분절을 넘어, 수축력 생성의 조절 장애는 분명히 DCM의 발달과 관련있다. 포스포람반 (PLN)은 근섬유에 의한 하류 힘 생산에 영향을 미치는 근섬유분절 세망 칼슘 흡수를 조절하는 작고, 고도로 보존된 인단백질이다. PLN에서 돌연변이는 상염색체 우성 DCM을 유발하고, 드물지만 심실성 부정맥과의 관련성이 두드러지는 Arg14del 돌연변이와 함께 특징이 잘 알려져 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 PLN에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0959]

근섬유분절, 세포의 세포골격, 및 세포외 매트릭스를 통한 힘의 효율적인 전달은 정상적인 심장 수축 기능에 필수적이다. 1차 구조 기능을 가진 다중 단백질 또는 근섬유분절을 조절하는 기계적 센서로 작용하는 단백질은 가족성 DCM에 연계된다. 주요 예로는 티틴, 디스트로핀, 및 데스민이 있다. Z 디스크에서 M 라인까지 근섬유분절

의 절반에 걸쳐 있는 거대 단백질 티틴은 수동적 장력과 능동적 수축을 조절하는 탄성 분자 스프링으로 기능한다. 티틴 유전자 (*TTN*)는 363개 엑손, 그리고 대략적으로 33,000개 아미노산을 함유하며, 텔레토닌, α -액티닌, 그리고 아마도 Z 디스크에 있는 추정 기계 센서 복합체의 근육 LIM을 비롯한, >20 다른 구조적, 신호전달, 및 조절 단백질들과 상호작용한다. 티틴병증의 스펙트럼에는 사지-근 근육 이영양증, 경골 근육 이영양증, 및 조기 호흡 부전을 동반한 유전성 근병증이 내포된 골격근 근육 표현형이 내포되지만; 그러나, DCM-유발 돌연변이와 골격근 근육 침범(*involvement*)에 대한 증거는 아직 거의 없다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *TTN*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0960] 힘 변환의 주요 단백질의 또다른 예는 보고된 최초의 DCM 질병 유전자인 디스트로핀(*DMD*)이다. X-연계된 확장성 심근병증 (DCM)에 추가적으로, *DMD*의 돌연변이는 점진적인 골격근 약화를 특징으로 하는 Duchenne 근육 이영양증 및 Becker 근육이영양증을 유발한다. 디스트로핀은 근섬유분절과 세포외 매트릭스, 디스트로핀-연합된 당단백질 복합체 사이에서 다른 단백질들 이를 테면, 사르코글리칸과 함께 막통과 링크를 형성하는 거대한 세포골격근 단백질이다. δ -사르코글리칸 (*SGCD*)에서 돌연변이는 사지-근 근육 이영양증의 전형적인 원인이기는 하지만, 또한 DCM에 연루되어 있었다. 데스민 (*DES*) 돌연변이는 DCM의 드문 원인이지만, HF와 함께 부정맥과의 연관성에 중요하다. 데스민 단일-헤드 도메인의 설립(founder) 돌연변이는 주로 전도 질환을 동반한 우심실 심근증을 유발하는 것으로 보고되었다. 데스민은 마이크로필라멘트와 미세-소관이 있는 중간 필라멘트 단백질로써, 세포 골격 기반 구조와 세포 내 공간 구성을 유지시킨다. DCM 외에도, 데스민 돌연변이는 근섬유 근병증 및 견갑골 증후군을 포함한 골격근 근육 질환을 유발할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *DMD*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *DES*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *SGCD*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0961] *LMNA* 돌연변이로 인한 DCM은 진행성 전도 질환, 초기 방실 차단 및 급성 심장사(SCD) 위험이 높기 때문에 임상적으로 구별된다. 전도 이상은 전형적으로 DCM의 발달에 선행하며, 이는 골격근 근육 질환으로부터 분리되거나, 또는 연합될 수 있다. 다른 희귀 심장 표현형에는 조기 심방세동, LVNC, RCM, 및 HCM이 내포되는 것으로 또한 보고되었다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *LMNA*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0962] DCM에 연루된 다른 유전자들이 표 7에 나와 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *RBM20*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *ACTN2*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *VCL*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *TMPO*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *TCAP*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *BAG3*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *LDB3*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *ANKRD1*에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0963] 유전적 DCM의 발달은 장기간 무증상 단계를 갖고, 시간이 지남에 따라 발생되는데, 무증상 기간에는 일반적으로 심장이 처음에는 형태학적 및 기능적으로 거시적으로 정상이다. 개체가 유전자형적으로 양성이며, 표현형 음성인 것으로 알려진 경우(예를 들자면, 공지된 DCM을 가진 가족내 개체), 표현형의 시기와 중증도는 발현 및 침투력의 가변성을 고려할 때, 예측하기 어렵다. 일련의 후속 조치를 통해, 심초음파 또는 자기 공명 영상에 의한 영상으로 일반적으로 명백한 증상이 나타나기 전에, 심장 크기 또는 기능의 이상을 감지한다. 명확한 증상이 나타나면, 비록 확장기 기능, 부정맥, 승모판 역류, 우측 HF 및 기타 동반이환과 같은 다른 요인이 상호 작용이 있긴 하지만, 좌심실 기능 장애의 정도와 대략적인 상관 관계가 있다.

[0964] 일반 집단에서 유병률을 고려할 때, 비록 일부 강력한 암시적 속성(예를 들자면, 55세 미만(남성) 또는 65세 미만(여성) 1촌의 심장마비, 60세 미만의 1촌의 어린 사람들의 설명할 수 없는 급사, 재발성 또는 설명할 수 없는 심병(syncope) 또는 심병에 가까운, 또는 1촌의 심장이식)이 있긴 하지만, HF의 가족력만으로는 일반적으로 가족성 DCM의 진단을 나타내기엔 충분하지 않다. 비록 돌연변이를 품고 있는 모든 가족 구성원에서 DCM이 발달되지는 않지만, DCM의 유전 패턴은 가장 흔히 상염색체 우성이다. X-연계된, 상염색체 열성 및 미토콘드리아 형태의 유전성 DCM도 있다. 현시성도 가변적이며, DCM 표현형의 심각도는 영향을 받는 가족 구성원 간에 크게 다를 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 상염색체 우성 DCM을 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 상염색체 열성 DCM을 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서,

본 명세서에서는 X-연계된 DCM을 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 미토콘드리아 DCM을 갖는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0965] 확장성 심근병증(DCM) 환자의 대략 25%는 사망률과 이환율의 독립적인 예측 인자인 중벽(mid-wall) 섬유증의 증거를 갖게 될 것이다. 중벽 섬유증이 있는 DCM 환자들은 허혈성 질환이 있는 환자와 유사한 결과를 보였다. 따라서, 허혈성 심근병증과 마찬가지로, 섬유증/반흔의 존재는 불리한 결과 및 장치 치료에 대한 더 나쁜 반응의 지표다.

[0966] DCM은 심부전의 좌심실 확장 표현형이다. 확장된 표현형은 편심 리모델링 또는 비대 및 손상된 수축성을 가진 큰 좌심실(LV) 공동을 특징으로 하는 이질적인 집단이다. 이러한 표현형은 일반적으로 판막 질환 또는 고혈압, 중증 관상 동맥 질환 또는 선천성 질환, 또는 DCM과 같은 유전된 또는 후천성 심근병증과 같이, 주로 심장 근육에 국한된 비정상적인 부하 상태에 대한 반응일 수 있다. 경흉부 심초음파는 표현형을 식별하기 위한 일선 영상 도구로 사용된다. 이미지는 국부 벽 운동 이상이 있거나 또는 없는, 전역(global) 좌심실 또는 이심실 운동저하증을 전형적으로 보여준다. 심실 및 심방 확장, 심장 내 혈전 및 고리 확장으로 인한 기능적 승모판 역류도 나타날 수 있다. 도플러 매개변수는 판막 이상과 확장기 기능 장애의 중증도의 정량화에 도움이 될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 편심 리모델링 또는 비대 및 손상된 수축력이 있는 하나 이상의 큰 좌심실(LV) 공동이 있는 DCM 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0967] 심초음파는 DCM의 일선 진단 도구이지만, 3D 심초음파에서 얻은 용적 및 박출물(EF)은 심장 자기 공명 영상(CMR)과 더 잘 연관되며, 가능한 경우 이의 사용을 권장한다. CMR은 표현형 평가에서 중심적인 역할을 한다.

[0968] **비대성 심근병증 (HCM)**

[0969] 비대성 심근병증 (HCM)은 500명 중 1명의 유병률을 보이는, 가장 흔한 유전성 심장 질환이다. HCM은 부적절한 심근 비대가 특징이며, 이는 압력 과부하(예를 들자면, 고혈압, 대동맥 협착증) 또는 침윤(예를 들자면, 아밀로이드증)이 없을 때 발생한다. HCM의 비대는 고전적으로 심실 중격에 영향을 미치고, 좌심실 유출로 폐쇄를 유발하지만, 이는 정점, 분절성(segmental) 또는 동심적(concentric)일 수 있다. 조직학적 질환 특징은 간질성 섬유증, 근세포 확대 및 혼란(disarray)이다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 비대성 심근병증 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 HCM을 갖는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 압력 과부하 및/또는 침윤이 없는 상태에서 부적절한 심근 비대증이 있는 HCM 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 하나 또는 그 이상의 간질 섬유증, 근세포 확대, 및/또는 혼란을 갖는 HCM 환자의 치료에 관계한다.

[0970] HCM 환자의 최대 20%는 평균 연령 48±19세에 HF가 발생하고, ICD 이식으로 심장 돌연사로 인한 사망률이 감소함에 따라 HF 비율이 증가할 가능성이 있다. 세 가지 HF 하위 유형이 임상적으로 설명된다. 첫째, HF가 있는 HCM 환자들의 약 30%는 "소진된(burnt-out)" HCM으로 설명되는 진행성 좌심실 확장, 가늘어짐 및 수축기 기능 장애가 발생한다. HF가 있는 HCM 환자들의 약 20%는 좌심실 유출로 폐쇄에 의한 압력 과부하로 인한 좌심실 수축 기능 장애가 발생한다. 마지막으로, HF가 있는 HCM 환자들의 최대 50%는 확장기 HF의 증거를 보이며, 정상 또는 초-정상 박출물을 보이지만, 심실 이완 장애, 확장기-말기 압력 상승, 좌심방 확장 및 심방 세동을 보인다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 진행성 좌심실 확장, 얇아짐, 및 수축기 기능장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 "소진된" HCM를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 좌심실 유출로 폐쇄에 의한 압력 과부하로 인한 좌심실 수축기 기능 장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 정상 또는 초-정상 박출물을 보이지만, 심실 이완 장애, 확장기-말기 압력 상승, 좌심방 확장 및 심방 세동을 보이는 확장기 HF를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0971] HCM은 주로 임상 코호트의 약 60%에서 검출된 수축성 또는 조절 단백질을 인코딩하는 8개의 근섬유분절 유전자에서 돌연변이가 있는 (표 8)근섬유분절의 질환이다. 세포 수준에서 HCM 돌연변이는 근필라멘트 감도와 칼슘에 대한 친화력을 증가시키고, 액틴-활성화된 ATPase 활성을 증가시킨다. DCM 및 AC와 마찬가지로, 유전은 일반적으로 상 염색체 우성이며, 유전자좌 및 대립 유전자 이질성을 가지며, 일반적으로 다양한 표현형이 출현하기 전에 침묵 보상 기간이 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 근섬유분절 유전자에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 환자는 상염색체 우성 돌연변이를 갖는다.

[0972] 가장 공통적인 HCM 유전자, β -미오신 중쇄 (MYH7) 및 미오신-결합 단백질 C (MYBPC3)는 함께 HCM 질환의 대략 50%를 차지한다. MYH7에서만 대략 200개의 돌연변이가 발견되었다. 다른 주요 유전자는 표 8에 나와 있다. 나머지 근섬유분절 유전자들은 심장 트로포닌 T (TNNT2), 심장 트로포닌 I (TNNI3), α -트로포미오신 (TPM1), 심장 액틴 (ACTC1), 필수 미오신 경쇄 3 (MYL3), 및 조절 미오신 경쇄 (MYL2)들이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 β -미오신 중쇄 (MYH7)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 미오신-결합 단백질 C (MYBPC3)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심장 트로포닌 T (TNNT2)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심장 트로포닌 I (TNNI3)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 α -트로포미오신 (TPM1)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심장 액틴 (ACTC1)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 필수 미오신 경쇄 3 (MYL3)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 조절 미오신 경쇄 (MYL2)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0973] HCM 환자들의 약 40%에서, 알려진 HCM 질병 유전자에서 원인 돌연변이를 확인할 수 없다(표 8). 이것은 더 많은 유전자가 정의되어야 한다거나 또는 비-멘델적 유전 또는 비-유전적 요인도 역할을 한다는 것을 의미할 수 있다. 유전의 멘델적 패턴을 따르는 단일유전자 질환으로서의 HCM 모델은 점차 지나치게 단순화된 것으로 인식되고 있다. 병원성 돌연변이 외에도, HCM 표현형의 유전적, 후생유전적, 환경적 변형 인자가 중요하지만, 아직 잘 모르고 있다. 이러한 요인들은 동일한 유전자형을 가진 환자의 비대 패턴과 임상 과정 모두에서 큰 표현형 가변성을 기반으로 한다.

[0974] 표 8. 비대성 심근병증 (HCM)에서 주요 질환 유전자들

유전자	설명
근섬유분절	
MYH7	미오신, 중쇄 7, 심장 근육, β
MYBPC3	미오신-결합 단백질 C, 심장
TNNT2	트로포닌 T 유형 2 (심장)
TNNI3	트로포닌 I 유형 3 (심장)
TPM1	트로포미오신 1 (α)
MYL2	미오신, 경쇄 2, 조절 심장, 느린
MYL3	미오신, 경쇄 3, 알칼리, 심실, 골격근, 느린
ACTC1	액틴, α , 심장 근육 1
비-근섬유분절	
CSRP3	시스테인 및 글리신-풍부 단백질 3 (심장 LIM 단백질)
비대성 심근병증 표현형모사	
PRKAG2	단백질 키나제, AMP-활성화된, γ 2 비-촉매성 소단위
LAMP2	리소좀-연합된 막 단백질 2
GLA	갈락토시다제, α
FHL1	4.5 LIM 도메인 1

[0975]

[0976] **부정맥성 심근병증 (AC)**

[0977] 부정맥성 심근병증 (AC)은 환자의 부정맥, HF 및 SCD를 유발하는 심실 심근의 진행성 섬유지방 대체를 특징으로 한다. 부정맥성 심근병증은 고전적으로 우심실의 질병으로 기술되며, 때로는 부정맥 유발성 우심실 심근병증 (ARVC)이라고도 하며, 그러나 좌심실 침범이 점점 더 인식되고 있다. 좌심실 AC는 이의 반점형(patchy) 침범과 주어진 정도의 수축기 기능장애에 대한 부정맥에 대한 불균형한 경향에 의해 DCM과 구별된다. 우심실, 좌심실 또는 양심실 침범(involvement)이루가 있을 수 있기 때문에, 표현형은 더 정확하게 AC로 이름이 변경되었다. 특징적인 조직학적 소견은 반점형 섬유증, 염증, 근세포 사멸, 세포벽 얇아짐 및 동맥류 형성이다. AC는 전형적으로 악성 부정맥이 있는 프로토펙스에 나타나며, 이는 청소년기 또는 젊은 성인기에 질병의 첫 징후로 심장 돌연사를 일으킬 수 있다. 부정맥 속성인 "숨겨진" 단계는 일반적으로 명백한 심근병증에 선행한다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 부정맥성 심근병증의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 AC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심실 심근의 진행성 섬유지방 대체가 있는 AC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료

에 관계한다.

[0978] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심실 심근의 진행성 섬유지방 대체를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 부정맥을 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 반점형 섬유증, 염증, 근세포 사멸, 벽 얇아짐 및 동맥류 형성 중 하나 이상을 갖는 환자의 치료 방법에 관계한다.

[0979] AC 환자들의 약 10% ~ 약 20% 사이에서 우심실 또는 좌심실(또는 둘 다) 수축 기능 장애가 있는 HF가 발생하며, 이는 드물게 질병의 특징일 수 있다. AC는 사례의 50% 이상에서 가족 질환이며, 추정 유병률은 1/1000 ~ 1/5000 이다. DCM 및 HCM과 마찬가지로, AC는 표현형, 유전자형 및 대립 유전자가 이질적이다. 고전적으로는 상염색체 우성 유전으로 설명되지만 이는 지나친 단순화일 가능성이 있고, 많은 환자들이 >1개의 질환 유전자(이중 또는 복합 이형접합)에서 돌연변이를 갖는다. 다른 심근병증과 마찬가지로 연령에 따라 달라지는 침투력이 낮고; 두 가지 상염색체 열성 형태의 AC(심장 피부 장애 Naxos 질환 및 Carvajal 증후군)가 기술되었으며, 여기에는 AC, 손바닥 발바닥 각피증 및 양털 같은 머리털(woolly hair)을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 우심실 수축기 기능장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 좌심실 수축기 기능장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 우심실 및 좌심실 수축기 기능장애를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Naxos 질환을 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 Carvajal 증상을 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0980] AC는 데스모솜 복합체를 인코딩하는 5개의 유전자에서 병원성 돌연변이가 확인된 "데스모솜 질환"으로 유전적으로 등장했다(표 9). 데스모솜은 개재된(intercalated) 디스크에 기여하는 세포 간 막에 걸쳐 강화 및 신호 역할을 수행하는 대칭 연결 복합체다. 이들은 데스모솜성 캐드헤린 (예를 들자면, 데스모골린 2 (DSC2) 및 데스모글레인 2 (DSG2)), 아르마딜로 단백질들 (정선 플라코글로빈 (JUP) 및 플라코필린 2 (PKP2)을 비롯한), 및 플라킨 (예를 들자면, 데스모플라킨 (DSP))으로 구성된다. DSG2 및 DSC2 는 데스모솜의 막경유 성분을 형성하고, 플라코글로빈 및 플라코필린 2에 의해 이 세포내에서 고정되며, 이것은 데스모플라킨의 N-말단 도메인에 결합한다. 데스모플라킨은 다시 차례로 C-말단에서 데스민 중간 필라멘트에 연계된다. 구조적 역할 외에도, 데스모솜은 플라코필린 2에 의해 Wnt/ β -카테닌 신호 전달 경로에 연결되어 있으며, 이는 유전자 발현을 수정하기 위해 핵으로 전위된다. 부차반점, 데스모솜 AC의 병원성 돌연변이는 데스모솜 수의 잘못된 국소화 및 감소, 간극 연결의 비정상적인 형성과 관련된 삽입된 디스크의 리모델링 및 데스모플라킨/플라코글로빈의 잘못된 통합을 유발한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 데스모골린 2 (DSC2)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 데스모글레인 2 (DSG2)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 데스모플라킨 (DSP)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 정선 플라코글로빈 (JUP)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 플라코필린 2 (PKP2)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 막경유 단백질 43 (TMEM43)에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0981] TMEM43 및 TGFB3를 비롯하여 몇 가지 엑스트라데스모솜 유전자가 AC를 유발하는 것으로 보고되었다. TTN 및 PLN 을 비롯하여, AC에 대한 추가 후보 유전자도 제안되었지만, 이들의 연계는 뒷받침되지 않았고, 고전적인 부정맥 유발 우심실 심근병증, 좌-우성 AC 및 부정맥이 있는 DCM 사이의 표현형 경계는 명확하지 않다. LMNA의 돌연변이는 최근 AC 표현형을 모방하는 것으로 보고되었다.

[0982] 표 9. 부정맥성 심근병증 (AC)에서 주요 질환 유전자

유전자	설명
데스모솜성	
PKP2	플라코필린 2
DSC2	데스모골린 2
DSG2	데스모글레인 2
DSP	데스모플라킨
JUP	정선 플라코글로빈
엑스트라데스모솜성	
TMEM43	막경유 단백질 43

[0983]

[0984] **좌심실 비압박 심근병증 (LVNC)**

- [0985] 좌심실 비압박 심근병증 (LVNC)은 심근의 심부 소주(trabeculation)가 진행성 수축 기능장애와 연관되어 있는 산발성 또는 가족성 심근병증은 드물지만, 점차 인식되고 있다. LVNC 표현형은 HCM 및 DCM과 광범위하게 겹치며 구조적 심장 질환, 예를 들면, Ebstein 기형, 폐 폐쇄증, 심방/심실 중격 결손, 동맥관 개존증(patent ductus arteriosus)과 함께 자주 발생한다. 또한 Barth 증상 및 Noonan 증상을 비롯하여, 심장과 관련된 다중 시스템 장애의 특징이다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 좌심실 비압박 심근병증의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 LVNC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 가족성-LVNC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 특발성 LVNC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 LVNC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계하며, 이때 심근의 심부 소주는 진행성 수축 기능 장애와 관련있다.
- [0986] LVNC의 병리학적 특징은 비-압축성 2-층 심근이다. 비록 LVNC가 발생하기 전에 정상적인 심근 모양이 보고되었지만, 배아 발달 심장에서 지속되는 비 압축이 발병기전이 되는 것으로 제안되었다. LVNC에 대한 진단 민감도는 심초음파보다 심장 자기 공명 영상에서 훨씬 더 높다.
- [0987] LVNC는 HF, 혈전색전증, 부정맥 또는 심장 돌연사와 함께 임상적으로 나타난다. 수축기 기능장애 및 확장기 기능장애가 일반적이며, 환자들의 절반 이상에서 HF가 보고되었다. HF 발달의 정확한 기전은 불분명하지만, 미세 혈관 허혈과 섬유증이 기여 요인일 가능성이 있다. 현시는 자궁 내, 유아기, 아동기 또는 성인기에 발생할 수 있으며, 이는 가족 내에서도 광범위하게 가변적이다.
- [0988] TAZ 는 DCM 또는 LVNC를 유발하는 X-연계된 질환인 Barth 증후군, 골격근병증, 순환성 호중구감소증 및 성장 제한이 있는 환자에서 LVNC에 연루된 첫 번째 유전자다. TAZE는 타파진(tafazzins)이라는 단백질을 인코딩하며, 이는 정상적인 미토콘드리아 형태 및 OXPHOS에 필요한 미토콘드리아 카디올리핀의 리모델링에 필요한 아실트랜스퍼라제 기능을 가지고 있다. LVNC 표현형이 가족 구성원에게 일관되게 나타나는 경우(전형적인 HCM 또는 DCM 이 있는 가족의 개체에게서 발생하는 것과 반대로), 근섬유분절, 세포골격근, 및 핵 막 유전자들에서 돌연변이가 발견되었다 (예를 들자면, *MYH7*, *ACTC*, *TNNI2*, *MYBPC3*, 및 *TPM1*에서 돌연변이). 유전은 상염색체 우성, 열성 또는 X-연계될 수 있으며, 침투는 가변적이다. LVNC가 있는 특정된 코호트에서도 공지 질환 유전자 스크리닝에서 돌연변이의 수율은 낮다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 TAZ에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 MYH7에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACTC에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 TNNI2에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 MYBPC3에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 TPM1에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.
- [0989] LVNC 표현형은 또한 선천성 심장 결함, 주로 α-디스트로브레빈(*DTNA*)의 돌연변이로 인한 심실 중격 결함과 함께 보고되었다. α-디스트로브레빈은 디스트로빈-기반 세포골격에 대한 세포외 매트릭스의 정상적인 링크지에 필요한 디스트로빈 관련 당단백질 복합체에 기여한다. α-디스트로브레빈에서 돌연변이는 또한 근육 이영양증 표현형의 원인이다. 일부 구체예들에서, 환자는 DTNA에 돌연변이를 갖는다.
- [0990] DCM에 추가적으로, *LDB3* (Cypher/ ZASP)에서 돌연변이가 LVNC에 보고된다. *LMNA*, *MIB1*, 미토콘드리아 유전자들 비롯한 몇 가지 다른 유전자들에서 돌연변이, 및 염색체 불균형/ 결손과 연합된 특발성 또는 가족성 질환에 대한 보고가 있다. 부정맥 위험을 수정하기 위해 *SCN5a*의 변이체가 제안되었다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *LDB3*에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *LMNA*에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *MIB1*에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.
- [0991] **제한성 심근병증 (RCM)**
- [0992] 제한성 심근병증 (RCM)은 상대적으로 정상적인 심실 벽 두께 및 수축기 기능을 갖고, 심실 충전 및 확장기 기능 장애를 특징으로 하는 희귀 심근병이다. RCM의 병인은 광범위하여 유전적 질환(산발성 또는 가족성), 침윤(예를 들자면, 아밀로이드증, 유육종증), 결함 조직 질환(예를 들자면, 전신 경화증), 글리코겐 저장 질환, 약물 및 방사선이 내포된다. 비율은 유전적일 가능성이 있는 특발성으로 남아 있으며, 명확한 원인 돌연변이가 알려져 있지 않다. 제한적 생리학은 여러 다른 심근병증, 구체적으로 HCM의 특징이며, 이 두 가지 표현형에는 약간의

중첩이 있다. 일반적으로 고전적인 RCM 속성을 가진 개체는 대부분의 영향을 받는 구성원이 전형적인 HCM을 가진 가족에서 확인된다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 제한성 심근병증의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 RC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 상대적으로 정상적인 심실 벽 두께와 수축기 기능을 가진 심실 충전 장애 및 확장기 기능이 있는 RC를 갖고 있는 HFrEF 환자의 치료에 관계한다.

[0993] 특히, 소아에서 RCM의 예후는 HCM 또는 DCM보다 더 나쁜 결과를 갖고, 겨우 약 22%의 5년 무-이식 생존율을 갖는다. 심방 확대, 심방 세동 및 혈전색전증의 위험으로 이어지는 확장기-말기 좌심실 압력 상승이 일반적이다. 확장기 기능 장애에서 난치성 수축기 HF로 진행되어 종종 심장 이식이 필요하다.

[0994] 일부 RCM 환자는 *TNNI3*에 돌연변이가 있는 것으로 밝혀졌다. 이후 RCM 환자에서 여러 근섬유분절 유전자 유전자의 돌연변이가 보고되었지만, 대부분의 경우 보고된 대립유전자와 RCM의 특이적인 표현형 사이에 설득력 있는 연관성은 없다. 비-근섬유분절 RCM 돌연변이도 보고되었다. DCM에 추가적으로, 중간 필라멘트 단백질 테스민(*DES*)에서 돌연변이도 전도 질환이 있는 RCM 표현형을 유발할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *TNNI3*에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 *DES*에 돌연변이를 갖는 환자 치료 방법에 관계한다.

[0995] 7. 심부전 진단

[0996] HFpEF의 진단은 여전히 어렵다. HFpEF 환자에서, LVEF는 정상이며, HF에 대한 징후와 증상은 종종 비-특이적이며, HF와 다른 임상 병태를 잘 구별하기 힘들다. 만성 HFpEF의 진단, 특히 동반질환(co-morbidities)이 있고, 중추 체액 과부하의 명백한 징후가 없는 전형적인 노인 환자에서 진단은 번거롭고, 검증된 황금 표준을 찾기 어렵다. HFpEF 진단의 특이성을 향상시키기 위해, 임상 진단은 안정 시 또는 운동 중 심장 기능 장애의 객관적인 측정으로 뒷받침되어야 한다. HFpEF 진단에는 일반적으로 다음이 필요하다: HF의 증상 및/또는 징후의 존재; '보존된' EF(LVEF $\geq 50\%$ 또는 때때로 HFmrEF의 경우 40-49%로 정의됨); 상승된 수준의 NPs (BNP > 35 pg/mL 및/또는 NT-proBNP > 125 pg/mL); HF의 기저에 있는 다른 심장 기능 및 구조적 변경의 객관적인 증거; 그리고 불확실한 경우 확진을 위해, 스트레스 테스트 또는 침습적으로 측정된 상승된 좌심실 충전압이 필요할 수 있다.

[0997] 나트륨이뇨성 펩티드

[0998] BNP 및 NT-proBNP를 비롯한 나트륨이뇨성 펩티드(NPs)의 혈장 농도는 특히 심초음파를 즉시 사용할 수 없는 비-급성 환경에서 초기 진단 테스트로 사용할 수 있다. 높은 NPs는 추가로 심장 조사가 필요한 사람들을 식별하여, 초기 작업 진단 설정에 도움이 된다. 중요한 심장 기능 장애를 배제하기 위한 컷오프 포인트 미만의 값을 가진 환자들은 일반적으로 심 초음파 검사가 필요하지 않다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 상승된 수준의 하나 또는 그 이상의 나트륨이뇨성 펩티드를 보유한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 환자 치료에 관계하며, 이때 해당 환자는 상승된 수준의 BNP를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 환자 치료에 관계하며, 이때 해당 환자는 상승된 수준의 NT-proBNP를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 환자의 NP (예를 들자면, BNP 및/또는 NT-proBNP)는 유사한 연령 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 상승되어 있다.

[0999] BNP와 NT-proBNP는 모두 심내압 증가로 인한 심방 및 심실 팽창의 지표다. New York Heart Association (NYHA)는 증상의 중증도에 따라, 울혈성 심부전(CHF)에 대한 4단계 기능적 분류 시스템을 개발했다. 연구에 따르면 순환하는 BNP 및 NT-proBNP의 측정된 농도는 NYHA 분류에 따라 CHF의 중증도에 따라 증가한다.

[1000] 혈장 NP 농도가 정상인 환자들은 HF가 있을 가능성이 낮다. B형 나트륨이뇨성펩티드(BNP)의 비-급성 환경에서의 정상 상한치는 35 pg/mL이며, N-말단 pro-BNP (NT-proBNP)의 경우 125 pg/mL이며; 급성 환경에서는 더 높은 값이 이용되어야 한다[예를 들자면, BNP의 경우, 100 pg/mL; NT-proBNP의 경우, 300 pg/mL; 그리고 중간-영역 pro A-유형의 나트륨이뇨성 펩티드 (MR-proANP)의 경우, 120 pmol/L]. 진단 값은 HFrEF 및 HFpEF에 유사하게 적용된다. 평균적으로, 이 값은 일반적으로 HFrEF보다 HFpEF에서 더 낮다.

[1001] HF에서 진단 유용성을 약화시킬 수 있는, 상승된 NP의 수많은 심혈관 및 비-심혈관 원인이 있다. 그 중에서,

AF, 연령 및 심부전은 NP 측정의 해석을 방해하는 가장 중요한 요소들이다. 반면에, NP 수준은 비만 환자에서 불균형적으로 낮을 수 있다.

[1002] BNP

[1003] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 상승된 수준의 BNP를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 35 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 40 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 50 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 60 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 70 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 80 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 90 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 100 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 150 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 200 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 300 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 400 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 500 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 1000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 5000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 10,000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 15,000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 BNP 수준이 적어도 20,000 pg/mL인 환자에 관계한다.

[1004] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자에서 하나 또는 그 이상의 나트륨이뇨성 펩티드를 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 조정하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 5 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 10 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 50 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 100 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 200 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 500 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 1000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 5000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1005] 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 5% (예를 들자면, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%) 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당

환자의 BNP를 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 BNP를 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1006] NT-proBNP

[1007] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자의 NT-proBNP 수준은 적어도 100 pg/mL (예를 들자면, 100, 125, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 3000, 5000, 10,000, 15,000, 20,000, 25,000, 또는 30,000 pg/mL)이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 100 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 125 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 150 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 200 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 300 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 400 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 500 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 1000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 5000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 10,000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 15,000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 20,000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 25,000 pg/mL인 환자에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 NT-proBNP 수준이 적어도 30,000 pg/mL인 환자에 관계한다.

[1008] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자에서 하나 또는 그 이상의 나트륨이뇨성 펩티드를 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 조정하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 10 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 25 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 50 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 100 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 200 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 500 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 1000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 5000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 10,000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 15,000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 20,000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 25,000 pg/mL 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1009] 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 5% (예를 들자면, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%) 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 40% 감소

시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 NT-proBNP를 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1010] 트로포닌 수준

[1011] 트로포닌 또는 트로포닌 복합체는 평활근이 아니라, 골격근 및 심근의 근육 수축에 필수적인 3가지 조절 단백질(트로포닌 C, 트로포닌 I 및 트로포닌 T)의 복합체다. 비록 이 측정의 민감도는 낮지만, 혈중 트로포닌 수치는 뇌졸중 진단 마커로 사용될 수 있다. 심장 특정 트로포닌 I 및 T의 측정은 심근 경색 및 급성 관상 동맥 증후군 관리에서 진단 및 예후 지표로 광범위하게 사용된다.

[1012] 트로포닌의 특정 하위유형(심장 I 및 T)은 심장 근육(심근) 손상의 민감하고, 구체적인 지표다. 흉통이나 급성 관상동맥 증후군이 있는 사람의 불안정 협심증과 심근경색(심장마비)을 구별하기 위해 혈액에서 측정된다. 최근에 심근 경색을 앓은 사람은 심장 근육이 손상된 부분이 있고, 혈중 심장 트로포닌 수치가 상승되어 있다. 이는 또한 심장 혈관의 심한 수축을 포함하는 심근 경색의 일종인 관상 동맥 경련이 있는 사람에게서 발생할 수 있다. 심근경색 후, 트로포닌은 최대 2주 동안 높게 유지될 수 있다.

[1013] 심장 트로포닌은 심장 근육 손상의 지표다. 심근 경색을 나타내는 상승된 트로포닌에 대한 진단 기준은 WHO에 의해 현재 2 µg 이상의 역치로 설정되어 있다. 크레아틴 키나제와 같은 다른 심장 바이오마커의 임계 수준도 관련있다. 직간접적으로 심장 근육 손상 및 사망으로 이어지는 다른 병태도 신부전과 같은 트로포닌 수치를 증가시킬 수 있다. 정상적인 관상 동맥을 가진 개체에서 심각한 빈맥(예를 들면, 상심실성 빈맥으로 인한)도 예를 들어, 트로포닌 증가로 이어질 수 있는데, 이것은 증가된 산소 요구량과 심장 근육에 대한 불충분한 공급으로 인한 것으로 추정된다.

[1014] 트로포닌은 심부전 환자에서 증가하며, 이때 사망 및 심실 리듬 이상을 예측하기도 한다. 심근염 및 심장 근육 침범이 있는 심낭염(당시 심낭염이라고 함)과 같은 염증 상태에서 증가할 수 있다. 트로포닌은 또한 여러 형태의 심근병증을 나타낼 수 있는데, 이를 테면, 확장성 심근병증, 비대성 심근병증 또는 (좌) 심실 비대, 주산기(peripartum) 심근병증, Takotsubo 심근병증, 또는 침윤성 장애, 이를 테면, 심장 아밀로이드증을 나타낼 수 있다.

[1015] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 상승된 수준의 트로포닌을 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자에서 하나 또는 그 이상의 매개변수를 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 조정하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 1% (예를 들자면, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%) 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 1% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서,

상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 트로포닌 수준을 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1016] **우심실 비대**

[1017] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 우심실 비대를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자에서 하나 또는 그 이상의 매개변수를 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 조정하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 1% (예를 들자면, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%) 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 1% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 우심실 비대를 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1018] **좌심실 비대**

[1019] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 좌심실 비대를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자에서 하나 또는 그 이상의 매개변수를 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 조정하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 1% (예를 들자면, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%) 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 1% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 좌심실 비대를 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1020] **평활 근육 비대**

[1021] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자는 좌심실 비대를 가지고 있다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자에서 하나 또는 그 이상의 매개변수를 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 조정하는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 1% (예를 들자면, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%) 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 1% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은

해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 평활 근육 비대를 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1022] 입원율

[1023] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 입원율 (예를 들자면, 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%)이 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 1% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 2% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 3% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 4% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 입원율을 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1024] 심부전 악화속도

[1025] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방

법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 심부전 악화속도(예를 들자면, 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%)가 감소된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 1% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 2% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 3% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 4% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 5% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 10% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 15% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 20% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 25% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 30% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 35% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 40% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 45% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 50% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 55% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 60% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 65% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 70% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 75% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 80% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 85% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 90% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 95% 감소시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심부전 악화속도를 적어도 100% 감소시키는 것에 관한 것이다.

[1026] 확장기 기능

[1027] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전(예를 들자면, 확장성 심근병증(DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 LV 확장기 기능(예를 들자면, 적어도 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%)이 증가된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 5% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 10% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 15% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 20% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 25% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 30% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 35% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 40% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 45% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 50% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 55% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 60% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 65% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 70% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 75% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 80% 증가

시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 85% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 90% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 95% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 LV 확장기 기능을 적어도 100% 증가시키는 것에 관한 것이다.

[1028] **박출율**

[1029] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자의 박출율은 45% (예를 들자면, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 또는 45%) 미만이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 10% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 15% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 20% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 25% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 30% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 35% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 40% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 45% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 50% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 박출율이 55% 미만인 환자에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 박출율은 우심실 박출율이다. 일부 구체예들에서, 상기 박출율은 좌심실 박출율이다. 일부 구체예들에서, 상기 박출율은 심초음파를 이용하여 측정된다. 일부 구체예들에서, 해당 환자의 좌심실 박출율은 유지된다.

[1030] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전 환자의 박출율을 좀더 정상적인 수준 (예를 들자면, 유사한 나이 및 성별의 건강한 사람들과 비교하여 정상적 수준)으로 증가시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 1% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 5% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 10% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 15% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 20% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 25% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 30% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 35% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 40% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 45% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 50% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 55% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 60% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 65% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 70% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 75% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 80% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 85% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 90% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 95% 증가시키는 것과 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 박출율을 적어도 100% 증가시키는 것과 관한 것이다.

[1031] **심장 박출량(Output)**

[1032] 일반적으로, 휴식 시 정상적인 심박출량은 약 2.5-4.2 L/분/m²이며, 심박출량은 정상 한계를 벗어나지 않고 거의 40%까지 감소될 수 있다. 약 2.5 L/분/m² 미만의 낮은 심장 지수는 일반적으로 심혈관 기능 장애를 나타낸다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자

에게 부여하는 것을 포함하고, 이때 상기 방법으로 해당 환자의 심박출량 (예를 들자면, 적어도 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%)이 증가된다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 심박출량을 적어도 5% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 이 방법은 환자의 심박출량을 적어도 10% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 15% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 20% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 25% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 30% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 35% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 40% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 45% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 50% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 55% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 60% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 65% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 70% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 75% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 80% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 85% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 90% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 95% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 100% 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 해당 환자의 심박출량을 적어도 4.2 L/분/m²로 증가시키는 것에 관한 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 심박출량은 휴식 상태에서 측정된다. 일부 구체예들에서, 상기 심박출량은 우측 심장 카테터를 사용하여 측정된다.

[1033] 운동 능력 (6MWD 및 BDI)

[1034] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 증중도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 부여하는 것을 포함한다. 운동 능력의 임의의 적절한 척도를 사용할 수 있다. 예를 들면, 환자가 6-분 동안 걸을 수 있는 거리, 즉 6-분 보행 거리(6MWD)를 측정하는 6-분 보행 테스트(6MWT)의 운동 능력은 심부전 및 질환 평가에 자주 사용된다. Borg 호흡곤란 지수(BDI)는 인지된 호흡곤란(호흡 불편함)을 평가하기 위한 수치 척도다. 예를 들어, 6MWT 완료-후, 숨가쁨 정도를 측정하는데, 여기서 BDI가 0이란 호흡 없음을 나타내고, 10은 최대 호흡 곤란을 나타낸다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 10 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 30 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 40 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 60 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 70 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 80 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 90 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 있는 환자에서 6MWD를 적어도 100 미터 증가시키는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 4주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 8주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 12주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자

가 본원에 개시된 치료를 16주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 20주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 22주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 24주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 26주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 6MWD는 해당 환자가 본원에 개시된 치료를 28주간 받은 후에 테스트된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 0.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 1 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 1.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 2 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 2.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 3 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 3.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 4 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 4.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 5.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 6 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 6.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 7 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 7.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 8 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 8.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 9 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 9.5 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 3 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증) 환자에서 BDI를 적어도 10 인덱스 포인트 낮추는 것에 관계한다.

[1035] 심장 영상화

[1036] 심초음파

[1037] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “심초음파(echocardiography)”란 2-차원/3-차원 심초음파, 펄스 및 연속파 Doppler, 색류 Doppler, 조직 Doppler 영상(TDI) 대비 심초음파, 변형 영상(변형률 및 변형률), 경흉부 심초음파(TTE)를 지칭한다. TE는 일반적으로 좌심실과 우심실 모두의 심근 수축기 및 확장기 기능을 평가하기 위한 전형적인 선택 방법이다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부

구체예들에서, 2-차원 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 3-차원 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 펄스 및 연속파 Doppler 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 색류 Doppler 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 조직 Doppler 영상 (TDI) 대비 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 변형 영상(변형 및 변형률) 심초음파를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 경흉부 심초음파 (TTE)를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1038] 비정상적인 심전도(ECG)는 HF 진단 가능성을 높이지만, 그러나 특이도는 낮다. ECG의 일부 비정상 원인(예를 들자면, 심근 경색)에 대한 정보를 제공하고, ECG의 소견은 치료에 대한 적응증을 제공할 수 있다(예를 들자면, AF의 항응고, 서맥의 조절 등). HF는 완전히 정상적인 ECG(민감도 89%)를 나타내는 환자에서 발생 가능성이 낮다. 따라서, ECG의 일상적인 사용은 주로 HF를 배제하는 것을 권장한다. 심초음파는 HF가 의심되는 환자에게 진단을 내리기 위해 유용하고 널리 이용 가능한 검사다. 이는 LV 벽 두께 (LVWT), LV 덩어리 (LVM), LV 확장기말 직경 (LVEDD), LV 수축기말 직경 (LVESD), 분획성 단축(fractional shortening) (FS) ($FS = 100\% \times [(EDD - ESD)/EDD]$ 식을 이용하여 산출), LV 이완 말기 용적 (LVEDV), LV 수축 말기 용적 (LVESV), 박출율 ($EF = 100\% \times [(EDV - ESV)/EDV]$ 식을 이용하여 산출), 비대 지수 (LVM과 LVESV의 비율로 산출됨), 및 상대적 벽 두께 (LVWT와 LVESD의 비율로 산출됨)를 비롯한, 그러나, 이에 국한되지 않는, LV 구조 및 수축기 기능 (예를 들자면, 유두근 수준에서 흉골주위 단축 뷰에서 M-모드로 측정)에 대한 정보를 제공한다. 이 정보는 진단을 확립하고 적절한 치료를 결정하는 데 중요하다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 LV 벽 두께 (LVWT)를 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 LV 양(LVM)을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 LV 확장기말 직경 (LVEDD)을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 LV 수축기말 직경 (LVESD)을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 분획성 단축 (FS)을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 LV 이완 말기 용적 (LVEDV)을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 LV 수축 말기 용적 (LVESV)을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 박출율을 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 비대 지수를 측정한다. 일부 구체예들에서, 심초음파를 이용하여 환자의 상대적 벽 두께를 측정한다. 임상적 현시 인자들, 심초음파 속성 및 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)을 나타낼 수 있는 다른 속성들이 다수 있다. 일부 구체예들에서, 환자에게서 수행된 심초음파는 구조적 좌심장 비정상을 보여준다. 일부 구체예들에서, 좌심장의 구조적 비정상은 좌심장 판막의 질환이다. 일부 구체예들에서, 좌심장의 구조적 비정상은 좌심방 확대 (예를 들자면, >4.2 cm). 일부 구체예들에서, 환자에게서 수행된 심전도는 좌심실 비대 (LVH) 및/또는 좌심방 비대/확장 (LAH)을 보여준다. 일부 구체예들에서, 환자에게서 수행된 심전도는 심방 조동/심방세동 (AF/Afib)을 보여준다. 일부 구체예들에서, 환자에게서 수행된 심전도는 좌각 차단 (LBBB)을 보여준다. 일부 구체예들에서, 환자에게서 수행된 심전도는 Q 파의 존재를 보여준다. 예를 들자면, Galie N., et al Euro Heart J. (2016) 37, 67-119 참고.

[1039] 좌심부전 증상이 있는 환자의 경우, 다양한 매개변수를 평가하기 위해 심초음파를 시행할 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 심초음파 using Doppler를 사용하여 환자에게 시행한 심초음파 검사는 충전압 증가 및/또는 확장기 기능 장애(예를 들자면, 증가된 E/E' 또는 >유형 2-3 승모판 흐름 이상)의 지표를 보여줄 수 있다. 일부 구체예들에서, 환자에서 시행된 영상화 (예를 들자면, 심초음파, CT 스캔, 흉부 X-선 촬영, 또는 MRI)에서 Kerley B 라인을 보여준다. 일부 구체예들에서, 환자에서 시행된 영상화 (예를 들자면 심초음파, CT 스캔, 흉부 X-선 촬영, 또는 MRI)에서 흉수를 보여준다. 일부 구체예들에서, 환자에서 시행된 영상화 (예를 들자면 심초음파, CT 스캔, 흉부 X-선 촬영, 또는 MRI)에서 폐 부종을 보여준다. 일부 구체예들에서, 환자에서 시행된 영상화 (예를 들자면, 심초음파, CT 스캔, 흉부 X-선 촬영, 또는 MRI)에서 좌심방 확대를 보여준다. Id.

[1040] HFpEF/HFmrEF 심부전의 주요 구조적 변화는 좌심방 용적 지수(LAVI) >34 mL/m² 및/또는 좌심실 질량 지수 (LVMI)가 남성의 경우, ≥ 115 g/m², 여성의 경우, ≥ 95 g/m²로 구성된다.

[1041] HFpEF/HFmrEF 심부전의 주요 기능적 변화는 E/e' ≥ 13 및 평균 e' 중격 및 측벽 <9 cm/s로 구성된다. 기타(간접) 심초음파로 유도된 측정값은 세로 변형 또는 삼첨판 역류 속도(TRV)이다.

[1042] 심초음파 검사에는 우심실(RV) 구조 및 기능 평가, 이를 테면, RV 및 우심방(RA) 크기, RV 수축기 기능 및/또는 폐동맥압 추정을 비롯한, 그러나 이에 국한되지 않는 평가가 또한 내포될 수 있다. RV 수축기 기능을 반영하는 매개변수 중에서 다음 측정이 특히 중요하다: 삼첨판 고리형 평면 수축기 편위(TAPSE; 비정상적인 TAPSE <17 mm는 RV 수축기 기능장애를 나타냄) 및 조직 Doppler-파생된 삼첨판 측면 고리형 수축기 속도(s')(s' 속도 <9.5

cm/s는 RV 수축기 기능장애를 나타냄). 수축기 폐동맥 압력은 최대 삼첨판 역류 제트 및 삼첨판 수축기 구배의 최적 기록과 하대정맥(IVC) 크기 및 호흡 관련 허탈을 기준으로, RA 압력 추정치에서 파생된다. 운동 또는 약리학 적 스트레스 심초음파는 유도성 허혈 및/또는 심근 생존능력의 평가 및 판막 질환(예를 들자면, 동적 승모판 역류증, 저류-저구배 대동맥 협착증) 환자들의 일부 임상 시나리오에서 사용될 수 있다. 운동성 호흡곤란, 보존된 LVEF 및 휴식시 결정적이지 않은 확장기 매개변수가 있는 환자의 운동 노출과 관련된 확장기 기능장애를 스트레스 심초음파가 감지할 수 있다는 제안 또한 있다.

[1043] 경흉부 심초음파 (TTE)는 HFrEF, HFmrEF 또는 HFpEF의 진단을 확립하기 위해, HF가 의심되는 환자의 심근 구조 및 기능 평가에 권장된다. 더욱이, TTE는 HFrEF에 권장되는 증거-기반 약리 및 장치(ICD, CRT) 치료에 적합한 HF 환자를 식별하기 위해 LVEF 평가; HFrEF, HFmrEF 또는 HFpEF 진단을 이미 확인한 환자의 판막 질환, 우심실 기능 및 폐동맥압 평가를 위해 판막 질환 교정에 적합한 것을 식별하기 위해; 및/또는 잠재적으로 심근을 손상시킬 수 있는 치료(예를 들자면, 화학 요법)에 노출된 환자의 심근 구조 및 기능 평가를 위해, 권장된다. 전임상 단계 에서 심근 기능 장애를 확인하기 위해 HF 발병 위험이 있는 환자의 TTE 프로토콜에서 다른 기술(수축기 조직 Doppler 속도 및 변형 지수, 즉 변형 및 변형률 포함)을 고려해야 한다.

[1044] **심장 자기 공명 (CMR)**

[1045] CMR은 좌심실과 우심실 모두의 용적, 질량 및 EF 측정을 위한 황금 표준으로 인지되고 있다. 비-진단적 심초음파 연구(특히, 오른쪽 심장 영상의 경우) 환자를 위한 최상의 대체 심장 영상 기법이며, 복합적 선천성 심장 질환 환자에서 선택하는 방법이다. 심장 자기 공명 (CMR)은 비-침습적 조직 특성화의 독특한 기능을 사용하여, 심장 해부학적 정량화 및 기능적 정량화를 모두 측정하며, 심초음파를 잘 보완한다. 정점에서 기저부까지 단축으로 LV를 담고 있는 CMR 영상은 좌심실(LV) 용적, 박출률(EF) 및 국소 기능을 측정하는 데 사용된다. 3D 데이터 세트는 기하학적 가정의 영향을 받지 않으므로, 특히 리모델링된 심실에서 2-차원(2D) 심초음파에 비해 오류가 발생할 가능성이 적다. 새로운 CMR 조직 특성화 기술을 CMR 이완측정법(T1 및 T2 매핑 및 세포외 부피 분율(ECV))이라고 하는데, 이것은 조직 특성화에 대한 보다 상세하고, 정량적인 접근과 강내(intracavitary) 흐름에 대한 정량적 정보를 제공하는 4D-Flow를 허용한다. 비록 임상 실행에서의 적용 가능성을 확인하기 위해 전통적인 Doppler 및 조직 Doppler(예를 들자면, 심초음파) 분석과 구체적인 비교가 필요하지만, 현재 용도적용은 확장기 기능장애 감지에 특히 유용한 것으로 보인다. 비-혈관재생술 결정 전, 비-침습적 스트레스 영상화(CMR, 스트레스 심초음파, SPECT, PET)는 HF 및 CAD 환자의 심근 허혈 및 생존 능력 평가(관상동맥재관류술에 적합한 것으로 간주됨)를 위해 고려할 수 있다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, CMR 이완측정법(T1 및 T2 매핑 및 세포외 부피 분율(ECV))을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, CMR 및 4D-Flow를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1046] CMR은 LV 벽 두께 (LVWT), LV 덩어리 (LVM), LV 확장기말 직경 (LVEDD), LV 수축기말 직경 (LVESD), 분획성 단축(fractional shortening) (FS) ($FS = 100\% \times [(EDD - ESD)/EDD]$ 식을 이용하여 산출), LV 이완 말기 용적 (LVEDV), LV 수축 말기 용적 (LVESV), 박출률 ($EF = 100\% \times [(EDV - ESV)/EDV]$ 식을 이용하여 산출), 비대 지수 (LVM과 LVESV의 비율로 산출됨), 및 상대적 벽 두께 (LVWT와 LVESD의 비율로 산출됨)를 비롯한, 그러나, 이에 국한되지 않는, LV 구조 및 수축기 기능에 대한 정보를 제공한다. 이 정보는 진단을 확립하고 적절한 치료를 결정하는 데 중요하다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 LV 벽 두께 (LVWT)를 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 LV 질량 (LVM)을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 LV 확장기말 직경 (LVEDD)을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 LV 수축기말 직경 (LVESD)을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 분획성 단축 (FS)을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 LV 이완 말기 용적 (LVEDV)을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 LV 수축 말기 용적 (LVESV)을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 박출률을 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 비대 지수를 측정한다. 일부 구체예들에서, CMR을 사용하여 환자의 상대적 벽 두께를 측정한다.

[1047] CMR은 T1 매핑과 함께 후기 가돌리늄 증강(LGE)을 사용하여, 심근 섬유증 평가에 선호되는 영상화 방법이며, HF 병인 확립에 유용할 수 있다. 예를 들면, LGE를 사용한 CMR은 HF의 허혈성 기원과 비-허혈성 기원 간의 구별을 허용하고, 심근 섬유증/흉터를 시각화시킬 수 있다. 또한, CMR에 의해 심근염, 아밀로이드증, 유육종증, Chagas 질환, Fabry 비-압축성 심근병증 및 혈색소침착증의 심근 조직의 특성을 규명할 수 있다. CMR은 HF 및 관상 동맥 질환(CAD) 환자의 심근 허혈 및 생존 능력 평가에 또한 사용될 수 있다(관상 혈관 재생술에 적합한 것으로 간주됨). 일부 구체예들에서, 후기 가돌리늄 증강 (LGE) 및/또는 T1 맵핑을 사용한 CMR을 이용하여 환자의 심부

전을 평가한다. 일부 구체예들에서, CMR을 이용하여 환자 심장에서 섬유증 및/또는 반흔을 측정한다.

[1048] CMR의 임상적 한계에는 국소 전문성, 심초음파에 비해 낮은 가용성 및 높은 비용, 금속 임플란트(심장 장치 포함) 환자들에서 안전성에 대한 불확실성, 빈맥성 부정맥 환자들에서 측정 신뢰도 저하가 내포된다. 밀실 공포증은 CMR의 중요한 제한 사항이다. 선형 가돌리늄-기반 조영제는 사구체 여과율(GFR)이 30mL/분/1.73m² 미만인 개체에게 금기되며, 그 이유는 신장성 전신 섬유증을 유발할 수 있기 때문이다(새로운 고리형 가돌리늄-기반 조영제에 대한 우려가 적을 수 있음).

[1049] CMR은 음향 창(acoustic window)이 불량한 환자 및 복합 선천성 심장 질환 환자(CMR에 대한 주의/금기 사항 고려)의 심근 구조 및 기능(오른쪽 심장 포함) 평가에 권장된다. 모호한 임상적 데이터 및 기타 영상 데이터의 경우, (CMR에 대한 주의/금기 사항을 고려하여) 허혈성 및 비-허혈성 심근 손상을 구별하기 위해, 확장성 심근병증 환자에서 LGE를 사용한 CMR을 고려해야 한다. 의심되는 심근염, 아밀로이드증, 유육종증, Chagas 질환, Fabry 비-압축성 심근병증 및 혈액소침착증의 심근 조직의 특성을 규명하는 용도로 CMR이 권장된다 (CMR에 대한 주의/금기 사항을 고려하여).

[1050] **다중게이트 획득 (MUGA)**

[1051] 방사성핵종 혈관조영술은 심장의 우심실과 좌심실의 기능을 보여주는 영상을 전문으로 하는 핵의학 분야이며, 따라서 심부전에 대한 정보에 입각한 진단 개입이 허용된다. 그것은 환자에게 주입된 방사성 의약품과 획득을 위한 감마 카메라의 사용이 관련된다. MUGA 스캔(다중 게이트 획득)은 심장 주기의 서로 다른 지점에서 트리거(게이트) 획득과 관련된다. MUGA 스캐닝은 평형 방사성핵종 혈관심장조영술, 방사성핵종 심실조영술(RNVG) 또는 게이트 혈액 풀 영상화 및 SYMA 스캐닝(동기화 다중게이트 획득 스캐닝)이라고도 한다. 일부 구체예들에서, MUGA를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 평형 방사성핵종 혈관심장조영술을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 방사성핵종 뇌실조영술(RNVG)을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, 게이트 혈액 풀 영상화를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다. 일부 구체예들에서, SYMA 스캐닝(동기화된 다중 게이트 획득 스캐닝)을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1052] MUGA는 뛰는 심장의 영사(cine) 유형 이미지(예를 들자면, 심장 주기 전체에 걸쳐 심장 움직임을 보여줄 수 있는 짧은 영화)를 제공하며, 이를 해석하는 자는 개별 심장 판막과 챔버의 효율성을 결정할 수 있도록 한다. MUGA/Cine 스캐닝은 심초음파에 대한 강력한 부속물을 나타낸다. 심박출량(Q) 획득에 관한 계산은 수축기에 있는 심장/심근의 생성물로서 박출물을 뒷받침하는 다른 저렴한 모델이며, 뿐만 아니라 이러한 방법 모두에 의해 잘 제공된다. 심초음파나 혈관조영에 비교하여, MUGA 스캔의 주요 이점 중 하나는 이의 정확도이다. 심초음파는 심실의 단축 부분을 측정하며, 사용자의 능력에 따라 제한된다. 더욱이, 혈관 조영술은 침습적이며, 대개 더 고가이다. MUGA 스캔은 심장 박출물을 보다 정확하게 나타낸다.

[1053] **흉부 X-선 촬영**

[1054] 흉부 X-선 촬영은 HF가 의심되는 환자의 진단 작업에 제한적으로 사용된다. 비록 흉부의 컴퓨터 단층 촬영(CT)이 현재 이러한 유형의 폐 질환에 대한 치료의 표준이기는 하지만, 환자의 증상 및 징후(예를 들자면, 폐암 및/또는 간질성 폐질환)에 대한 대안적인 폐 설명을 식별하는 데 가장 유용하다. 천식 또는 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD) 진단을 위해서 폐활량계를 이용한 폐기능 검사가 필요하다. 그러나, 흉부 X-선 촬영에서 심부전 환자는 폐정맥 울혈 또는 부종을 보일 수 있으며, 비-급성 상황보다 급성 상황에서 더 도움이 된다. 일부 구체예들에서, 흉부 X-선 촬영을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1055] **단일 광자 방출 컴퓨터화된 단층 촬영 (SPECT) 및 방사성핵종 뇌실조영술**

[1056] 단일 광자 방출 CT(SPECT)는 허혈 및 심근 생존 능력 평가에 유용할 수 있다. Gated SPECT는 심실 용적과 기능에 대한 정보를 또한 제공할 수 있지만, 이온화 방사선에 환자가 노출된다. 3,3-디포스포노-1,2-프로파노디카르복실산(DPD) 신티그래피는 트랜스티레틴 심장 아밀로이드증 검출에 유용할 수 있다. 일부 구체예들에서, SPECT를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1057] **양전자 방출 단층 촬영 (PET)**

[1058] 양전자 방출 단층 촬영 (PET)을 사용하여 허혈 및 생존 능력을 평가할 수 있지만, 그러나 흐름 추적자(N-13 암모니아 또는 O-15 물)에는 현장(on-site) 사이클로트론이 필요하다. 루비듐은 상대적으로 저렴한 비용으로 현장에서 생산할 수 있는 PET를 사용한 허혈 검사를 위한 대체 추적자다. 제한된 가용성, 방사선 노출 및 비용이 주요 제한 사항이다. 일부 구체예들에서, PET를 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1059] **관상 동맥 조영술**

[1060] 관상 동맥 조영술은 단서조항으로, 환자가 관상 동맥 재생술에 적합하다면, 내과적 치료에 저항하는 협심증으로 고통받는 심부전 환자에게 권장된다. 관상 동맥 조영술은 심실성 부정맥 증상이 있거나 또는 중단된 심장박동 정지 환자에게도 권장된다. 허혈성 병인과 CAD 중증도를 확립하기 위해, 비-침습적 스트레스 검사에서 허혈의 존재와 관상동맥 질환(CAD)의 사전 검사 확률이 중간 내지 높은 HF 환자의 경우 관상 동맥 조영술을 고려해야만 한다. 일부 구체예들에서, 관상 동맥 조영술을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1061] CAD 및 그 중증도의 진단을 확립하기 위해, 침습적 관상동맥 조영술은 약물 치료에 저항하는 심부전 및 협심증 환자 또는 증후성 심실성 부정맥 또는 중단된 중단된 심장박동 환자(잠재적 관상동맥 재생술에 적합하다고 간주되는 환자)에게 권장된다. CAD 및 그 중증도의 진단을 확립하기 위해, 침습적 관상동맥 조영술은 비-침습적 스트레스 검사에서 CAD의 사전-검사 확률이 중간 내지 높고, 허혈이 있는 HF 환자(잠재적 관상동맥 재생술에 적합하다고 간주되는 환자)에서 고려되어야만 한다.

[1062] **심장 컴퓨터 단층 촬영 (CT)**

[1063] 상대적 금기 사항이 없는 경우 CAD 진단을 배제하기 위해, HF 환자에서 심장 CT의 주요 용도는 관상 동맥 질환(CAD)의 사전-검사 확률이 낮은 하위 중간 수준인 HF 환자들, 또는 모호한 비-침습적 스트레스 검사를 받는 환자들에서 관상 동맥 해부학을 시각화하기 위한 비-침습적 수단이다. 그러나, 이 테스트는 그 결과가 치료 결정에 영향을 미칠 수 있는 경우에만 필요하다. 관상 동맥 협착증을 배제하기 위해, HF 환자와 CAD의 사전 검사 확률이 낮거나 중간인 환자들, 또는 모호한 비침습적 스트레스 검사를 받은 환자들에서 심장 CT를 고려할 수 있다. 일부 구체예들에서, 심장 컴퓨터 단층 촬영을 사용하여 환자의 심부전을 평가한다.

[1064] **환자에게서 혈액학적 매개변수 측정**

[1065] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 환자의 하나 또는 이상의 혈액학적 매개변수를 측정함으로써, 본 개시물의 하나 또는 이상의 하나 이상의 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)로 치료되거나 치료될 후보 물질을 관리하는 방법을 제공한다. 혈액학적 매개변수는 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료될 후보인 환자에 대한 적절한 투약을 평가하고, 치료 동안 혈액학적 매개변수를 모니터링하고, 본 명세서의 하나 또는 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 투약하는 동안 투약량을 조절할지 여부를 평가하기 위해 사용될 수 있거나, 및/또는 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 적절한 유지 투여량을 평가할 수 있다. 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수가 정상 수준을 벗어나면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여는 감소, 지연 또는 종료될 수 있다.

[1066] 본원에서 제공된 방법에 따라 측정될 수 있는 혈액학적 매개변수는 예를 들어 적혈구 수준, 혈압, 철 저장 및 당업계에서 인정된 방법을 사용하여 증가된 적혈구 수준과 상호 관련이 있는 체액에서 발견되는 다른 약제를 포함한다. 이러한 매개변수는 환자의 혈액 샘플을 사용하여 결정될 수 있다. 적혈구 수치, 헤모글로빈 수치 및/또는 적혈구 용적률 수치가 증가하면 혈압이 상승할 수 있다.

[1067] 한 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료될 후보인 환자에서 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수가 정상 범위를 벗어나거나 정상의 상측에 있는 경우, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여 개시는 혈액학적 매개변수가 자연적으로 또는 치료적 중재를 통해 정상 또는 허용 수준으로 되돌아 올 때까지 지연될 수 있다. 예를 들면, 후보 환자가 고혈압 또는 전-고혈압 환자인 경우, 환자의 혈압을 낮추기 위해 혈압 강하제로 치료할 수 있다. 개별 환자의 상태에 적합한 임의의 혈압 강하제, 예를 들면, 이뇨제, 아드레날린 억제제(알파 차단제 및 베타 차단제), 혈관확장제, 칼슘 채널 차단제, 안지오텐신-전환 효소(ACE) 억제제, 또는 안지오텐신 II 수용체 차단제가 이용될 수 있다. 혈압은 대안으로 식이 요법과 운동 요법으로 치료될 수 있다. 유사하게, 후보 환자가 정상보다 낮은 철 저장 또는 정상보다 낮은 철 저장을 보유한다면, 환자의 철 저장이 정상 수준 또는 수용 가능한 수준으로 회복될 때까지 환자는 적절한 식이 요법 및/또는 철 보충제를 사용하여 치료할 수 있다. 적혈구 수치가 정상보다 높거나 헤모글로빈 수치가 높은 환자의 경우, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여는 또는 수용가능한 수준으로 회복될 때까지 지연될 수 있다.

[1068] 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료될 후보인 환자에서 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수가 정상 범위를 벗어나거나 정상의 상측에 있는 경우, 상기 투여 개시는 지연되지 않을 수 있다. 그러나, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제를 투여하는 투약량 또는 투여 빈도는 본 발명

의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여시 발생하는 혈액학적 매개변수의 허용할 수 없는 증가의 위험을 감소시키는 양으로 설정할 수 있다. 대안으로, 상기 환자를 위하여 바람직하지 않은 수준의 혈액학적 매개변수를 다루는 치료제와 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제를 결합시킨 치료 요법이 개발될 수 있다. 예를 들면, 환자가 고혈압을 갖는 경우, 혈압 강하제와 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여를 포함하는 치료 요법이 설계될 수 있다. 바람직한 철 저장보다 낮은 수준의 환자의 경우, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제 및 철 보충제가 관련된 치료요법이 개발될 수 있다.

[1069] 한 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수에 대한 기저 수준 매개변수(들)은 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료를 받게 될 후보 환자에 대해 확립될 수 있으며, 상기 기저수준 값(들)에 근거하여 환자에 대한 적절한 투약 요법이 확립될 수 있다. 대안으로, 환자의 병력에 근거하여 확립된 기저수준 매개변수를 사용하여 환자에 대한 적절한 ActRII-ALK4 길항제 약물 투약 요법을 알릴 수 있다. 예를 들면, 건강한 환자는 정의된 정상 범위 이상인 확립된 기저수준 혈압을 보유한다면, 상기 환자의 혈압을 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료하기에 앞서, 일반 집단의 경우 정상으로 간주되는 범위로 가져갈 필요는 없다. 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료하기 앞서, 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수에 대한 환자의 기저 수준 값은 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료하는 동안 혈액학적 매개변수로의 임의의 변화를 모니터링하기 위한 관련 비교 값으로도 또한 이용될 수 있다.

[1070] 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수는 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료될 환자에서 측정된다. 상기 혈액학적 매개변수는 치료하는 동안 상기 환자를 모니터링하는데 이용할 수 있고, 그리고 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투약의 조정 또는 종료, 또는 다른 치료제의 추가 투여의 조정 또는 종료하는데 이용될 수 있다. 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제 길항제의 투여로 혈압, 적혈구 수준, 또는 헤모글로빈 수준의 증가, 또는 철 저장의 감소가 초래된다면, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제는 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수에 대한 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 효과를 감소시키기 위하여 그 양 또는 빈도를 줄일 수 있다. 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여로 인하여 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수가 상기 환자에게 불리하게 변화된다면, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제는 상기 혈액학적 매개변수(들)이 수용 가능한 수준으로 회복될 때까지 일시적으로 종료될 수 있거나, 또는 영구적으로 종료될 수 있다. 유사하게, 하나 또는 그 이상의 혈액학적 매개변수가 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여량 또는 빈도의 감소후 수용가능한 범위내에 있지 않는 경우, 상기 투여는 종료될 수 있다. 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투여량 감소 또는 종료에 대체로 또는 추가로, 상기 환자에게 예를 들어, 혈압 강하제 또는 철 보충제와 같은 혈액학적 매개변수(들)의 바람직하지 않은 수준을 다루는 추가의 치료제를 투여할 수 있다. 예를 들면, 만일 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제로 치료될 환자가 고혈압이 있다면, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제의 투약은 동일한 수준으로 지속될 수 있고, 혈액-압력-강하제는 치료 섭생에 추가되며, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 길항제의 투약이 감소되거나 (가령, 양 및/또는 빈도), 그리고 혈액-압력-강하제는 상기 치료 섭생이 추가되거나, 또는 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 길항제의 투약은 종료될 수 있고, 상기 환자는 혈액-압력-강하제로 치료될 수 있다.

[1071] 8. 심부전을 위한 추가 치료 및 공동-요법

[1072] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키기 위한 하나 또는 그 이상의 추가 작용제 또는 다른 보조 요법과 조합하여 ActRII-ALK4 길항제의 사용을 고려한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "~와 복합하여", "~의 조합" "~와 조합된" 또는 "공동(conjoint)" 투여는 추가 활성제 또는 보조 요법(가령, 제2의, 제3의, 제4의, 등등)이 여전히 신체에서 효과적계 투여하는 임의의 형태를 의미한다 (예를 들어, 다수 화합물이 일정 기간 동안 환자에서 동시에 효과적이며, 이들 화합물의 공조상승효과를 포함할 수 있음). 유효성은 혈액, 혈청 또는 혈장에서 측정가능한 약물 농도와 관련이 없을 수도 있다. 예를 들면, 상이한 치료 화합물은 동일한 제형 또는 별도 제형으로, 동시, 순차적 또는 상이한 일정에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 그러한 치료를 받는 대상체는 상이한 활성제 또는 치료법의 결합된 효과로부터 이익을 얻을 수 있다. 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제는 이를 테면, 본원에서 기술된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 다른 추가적인 물질들 또는 보조 요법과 동시에, 이보다 앞서, 또는 후속적으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 각각의 활성 작용제 또는 요법은 특정 작용제에 대해 결정된 투여량 및/또는 일정으로 투여될 것이다. 요법에 사용되는 특정 조합은 본 명세서의 ActRII-ALK4 길항제와 추가 활성 작용제 또는 요법 및/또는 원하는 효과 효

과의 양립 가능성을 고려할 것이다.

[1073]

HF 환자들의 치료 목표 중 일부는 환자들의 임상 상태, 기능적인 능력 및 삶의 질을 개선하고 및/또는 입원을 예방하고 사망률을 줄이는 것이다. 신경-호르몬 길항제(예: ACEI, MRA 및 베타 차단제)는 HFrEF 환자의 생존율을 향상시키는 것으로 나타났으며, 급기 사상이 없거나, 용인된다면 HFrEF 환자의 치료에 권장되었다. 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연관된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에 관계하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 해당 환자에게 하나 또는 그 이상의 안지오텐신-전환 효소 억제제 (ACE 억제제), 베타-차단제, 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARB), 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRA) 또는 이식형 제세동기 (ICD)를 또한 투여한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 안지오텐신-전환 효소 억제제 (ACEI)를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 베타-차단제를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARB)를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRA)를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 이식형 제세동기 (ICD)를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 안지오텐신 수용체 네프릴리신 억제제 (ARNI)를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 이노제를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제) 및 하나 또는 그 이상의 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산(PUFA), 및 I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것에 관계한다.

[1074]

임의선택적으로, 심부전의 치료, 예방 또는 감소, 특히 심부전의 하나 이상의 동반이환의 치료, 예방 또는 이의 진행 속도 및/또는 중증도의 치료, 예방 또는 감소를 위한 본원에 기술된 방법은 상기 환자에게 심부전 치료를 위한 하나 또는 그 이상의 보조 요법 또는 추가적인 활성제를 투여하는 것을 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 환자에게 다음의 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 지원 요법 또는 추가 활성제가 투여될 수 있다: ACE 억제제 (예를 들자면, 베나제프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 페린도프릴, 라미프릴 (예를 들자면, 라미펜), 트란돌라프릴 및 조페노프릴); 베타 차단제 (예를 들자면, 아세부톨롤, 아테놀롤, 베타솔롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 카르베딜롤, 라베탈롤, 메토프롤롤, 나돌롤, 네비볼롤, 펜부톨롤, 핀돌롤, 프로프라놀롤, 소탈롤 및 티몰롤); ARBs (예를 들자면, 로사르탄, 이르베사르탄, 올메사르탄, 칸데사르탄, 발사르탄, 피마사르탄, 아질사르탄, 살프리스아르탄, 및 텔미사르탄); 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRAs) (예를 들자면, 프로게스테론, 에플레레논, 스피로노락톤); 글루코코르티코이드 (예를 들자면, 베클로메타손, 베타메타손, 부테소나이드, 코르티손, 데플라자코트, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 메틸프레드니손, 프레드니손, 트리암시놀론, 피네레논); 스타틴 (예를 들자면, 아토바르스태틴 (Lipitor), 플루바스타틴 (Lescol), 로바스타틴 (Mevacor, Altacor), 프라바스타틴 (Pravachol), 피타바스타틴 (Livalo), 심바스타틴 (Zocor), 및 로수바스타틴 (Crestor)); 나트륨-포도당 공동-수송체 2 (SGLT2) 억제제 (예를 들자면, 카나글리플로진, 다파글리플로진 (예를 들자면, Farxiga), 및 엠파글리플로진); 이식형 제세동기 (ICD); 안지오텐신 수용체 네프릴리신 억제제 (ARNI) (예를 들자면, 발사르탄과 사쿠비트릴 (네프릴리신 억제제)); 이노제 (예를 들자

면, 푸로세미드, 부메타니드, 토라세미드, 벤드로플루메티아지드, 히드로클로로티아지드, 메톨라존, 인다파미드, 스피로노락톤/에플레논, 아밀로리드 및 트리암테렌); 및 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산(PUFA), 및 I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)을 비롯한 다른 요법.

[1075] **안지오텐신-전환 효소 (ACE) 억제제**

[1076] ACE 억제제는 심부전의 발병을 예방 또는 지연시키고, 생명을 연장하기 위해, 심근경색의 병력이 있고, 무증상인 좌심실 수축기 기능장애가 있는 환자들에서, 또는 HF의 발병을 예방 또는 지연시키기 위해, 심근경색의 병력이 없는 무증상의, 좌심실 수축기 기능장애가 있는 환자들에서 ACE 억제제가 권장된다. ACE 억제제는 심부전의 발병을 예방하거나 또는 지연시키기 위해, 좌심실 수축 기능장애가 없다는 치더라도 안정적인 CAD 환자에서 고려되어야 한다. ACE 억제제는 HFrEF 환자의 사망률과 이환율을 감소시키는 것으로 나타났으며, 모든 증상이 있는 환자들에게 금기 사항이 없거나 또는 내약성이 없는 경우가 아니면 권장된다.

[1077] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 ACE 억제제를 투여함으로써 심부전 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, ACE 억제제는 베나제프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 페린도프릴, 라미프릴 (예를 들자면, 라미펜), 트란도라프릴, 및 조페노프릴로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 베나제프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 캅토프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 에날라프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 리시노프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 페린도프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 라미프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 트란도라프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 조페노프릴이 투여된다. 일부 구체예들에서, ACE 억제제가 투여된다.

[1078] 일부 구체예들에서, ACE 억제제의 투여는 환자에게서 심부전의 개시가 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ACE 억제제의 투여로 환자에게서 심부전의 개시를 막는다. 일부 구체예들에서, ACE 억제제의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, ACE 억제제의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, ACE 억제제의 투여는 환자의 입원을 방지한다.

[1079] **베타 차단제**

[1080] 심부전의 발병을 예방하거나 지연시키거나 수명을 연장하기 위해 무증상 좌심실 수축기 기능 장애와 심근 경색 병력이 있는 환자들에게 베타 차단제가 권장된다. 베타-차단제는 ACEI 및 대부분의 경우, 이노제로 치료에도 불구하고, 증상이 있는 HFrEF 환자의 사망률과 이환율을 감소시킬 수 있지만, 그러나 울혈 또는 대상부전 환자들에 대해서는 테스트되지 않았다. 베타-차단제와 ACEI가 보완적이며, HFrEF 진단이 내려지는 즉시 함께 시작할 수 있다는 합의가 있다.

[1081] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 베타 차단제를 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 베타 차단제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 아세부톨롤, 아테놀롤, 베타솔롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 카르베딜롤, 라베탈롤, 메토프롤롤, 나돌롤, 네비볼롤, 펜부톨롤, 핀돌롤, 프로프라놀롤, 소탈롤 및 티몰롤. 일부 구체예들에서, 환자에게 아세부톨롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 아테놀롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 베타솔롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 비소프롤롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 카르테올롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 카르베딜롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 라베탈롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 메토프롤롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 나돌롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 네비볼롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 펜부톨롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 핀돌롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 프로프라놀롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 소탈롤이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 티몰롤이 투여된다.

[1082] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때 이 환자에게 베타 차단제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 ACE 억제제에 불내성인 경우, 이 환자에게 베타 차단제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 베타 차단제는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 베타 차단제는 환자에게서 심부전의 개시를 막는다. 일부 구체예들에서, 베타 차단제의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, 베타 차단제의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, 베타 차단제의 투여로 환자의 입원을 방지한다.

[1083] **안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARBs)**

[1084] 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARBs)는 ACE 억제제에 불내성일 수 있는 환자들에게 대체제다. 칸테사르탄은 심

혈관계 사망률을 감소시키는 것으로 나타났다. 발사르탄은 배경 ACEI를 받고 있는 HFrEF 환자의 HF로 인한 입원 (모든 원인으로 인한 입원은 아님)에 효과를 보였다.

[1085] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 ARBs를 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 ARBs는 다음의 군으로 구성된 군에서 선택된다: 로사르탄, 이르베사르탄, 올메사르탄, 칸데사르탄, 발사르탄, 피마사르탄, 아질사르탄, 살프리스아르탄, 및 텔미사르탄. 일부 구체예들에서 환자에게 로사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 이르베사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 올메사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 칸데사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 발사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 피마사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 아질사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 살프리스아르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 텔미사르탄이 투여된다.

[1086] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때, 이 환자에게 안지오텐신 길항제 (예를 들자면, 안지오텐신 수용체 차단제, ARB)를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 ACE 억제제에 불내성인 경우, 이 환자에게 ARB를 투여한다. 일부 구체예들에서, ARB는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ARB는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ARB의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, ARB의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, ARB의 투여는 환자의 입원을 방지한다.

[1087] **코르티코스테로이드**

[1088] 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRAs)는 다 스테로이드 호르몬 수용체 (예를 들자면 코르티코스테로이드, 안드로겐)와는 상이한 정도의 친화력으로 알도스테론에 결합하는 수용체를 차단한다. 스피로나락톤 또는 에플레레논은 사망률과 심부전 입원을 줄이기 위해, HFrEF 및 LVEF가 $\leq 35\%$ 인 증상이 있는 심부전 환자 (ACE 억제제 및/또는 베타 차단제로 치료에도 불구하고)에서 권장된다.

[1089] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 코르티코스테로이드를 투여함으로써 심부전 환자 치료 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 이 환자에게 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRA)가 투여된다. 일부 구체예들에서, 해당 환자에게 글루코코르티코이드를 투여한다. 일부 구체예들에서, 환자에게 프로게스테론, 에플레레논 및 스피로나락톤으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 미네랄코르티코이드/알도스테론 수용체 길항제 (MRAs)를 투여한다. 일부 구체예들에서, 환자에게 에플레레논이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 스피로나락톤이 투여된다.

[1090] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때 이 환자에게 MRA를 투여한다. 일부 구체예들에서, MRA는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, MRA는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, MRA의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, MRA의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, MRA의 투여는 환자의 입원을 방지한다.

[1091] 일부 구체예들에서, 심부전 환자에게 하나 또는 그 이상의 글루코코르티코이드를 투여한다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드의 투여는 초기 치료법이다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드는 베클로메타손, 베타메타손, 부테소니드, 코르티손, 데플라자코르트, 텍사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 메틸프레드니손, 프레드니손, 트리암시놀론 및 피네레논으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, 심부전 환자에게 프레드니손이 투여된다. 일부 구체예들에서, 심부전 환자에게 프레드니솔론이 투여된다. 일부 구체예들에서, 심부전 환자에게 피네레논이 투여된다. 일부 구체예들에서, 심부전 환자에게 데플라자코르트가 투여된다.

[1092] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때 이 환자에게 글루코코르티코이드를 투여한다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드는 환자에게서 심부전의 개시를 방지한다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, 글루코코르티코이드의 투여로 환자의 입원을 방지한다.

[1093] **스타틴**

[1094] 심부전의 발병을 예방하거나 또는 지연시키고, 생명을 연장하기 위해, 좌심실 수축 기능장애가 있는지 여부에 관계없이, CAD가 있거나 또는 고위험군인 환자들에게 스타틴 치료가 권장된다.

- [1095] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 스타틴을 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 스타틴은 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 아토르바스태틴 (Lipitor), 플루바스타틴 (Lescol), 로바스타틴 (Mevacor, Altacor), 프라바스타틴 (Pravachol), 피타바스타틴 (Livalo), 심바스타틴 (Zocor), 및 로수바스타틴 (Crestor). 일부 구체예들에서, 환자에게 아토르바스태틴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 플루바스타틴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 로바스타틴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 프라바스타틴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 피타바스타틴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 심바스타틴이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 로수바스타틴이 투여된다.
- [1096] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때 이 환자에게 스타틴을 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 관상 동맥 질환 (CAD)의 고위험군일 때 이 환자에게 스타틴을 투여한다. 일부 구체예들에서, 환자가 관상 동맥 질환 (CAD)이 있을 때, 해당 환자에게 스타틴을 투여한다. 일부 구체예들에서, 스타틴은 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 스타틴은 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 스타틴의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, 스타틴의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, 스타틴의 투여로 환자의 입원을 방지한다.
- [1097] **나트륨-포도당 공동-수송체 2 (SGLT2) 억제제**
- [1098] 나트륨-포도당 공동-수송체 2 (SGLT2) 억제제는 일반적으로 제2형 당뇨병이 있는 성인의 혈당을 낮추기 위해 식이요법 및 운동과 함께 투여된다. SGLT2 억제제는 신장이 소변을 통해 신체에서 당을 제거하도록 하여 혈당을 낮춘다. 심박출물 감소 심부전(HFrEF) 환자의 경우, 심혈관계 사망 및 심부전으로 인한 입원 위험을 줄이기 위해, SGLT2 억제제 치료가 권장된다.
- [1099] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 SGLT2 억제제를 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제는 글리플로진이다. 일부 구체예들에서, 환자에게 하나 또는 그 이상의 SGLT2 억제제는 카나글리플로진, 다파글리플로진 (예를 들자면, Farxiga), 및 엠파글리플로진으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 카나글리플로진이 투여된다. 일부 구체예들에서 환자에게 다파글리플로진 (예를 들자면, Farxiga)이 투여된다. 일부 구체예들에서, 환자에게 엠파글리플로진이 투여된다.
- [1100] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때 이 환자에게 SGLT2 억제제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 유형 2 당뇨병을 보유하지 않을 때, 이 환자에게 SGLT2 억제제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 유형 2 당뇨병을 보유하고 있을 때, 이 환자에게 SGLT2 억제제를 투여한다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제는 환자에게서 심부전의 개시를 방지시킨다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제의 투여는 환자의 입원을 방지한다. 일부 구체예들에서, SGLT2 억제제는 환자의 사망 위험을 줄인다.
- [1101] **이식형 제세동기 (ICD)**
- [1102] 다음중 적어도 하나를 보유한 환자에게 이식형 제세동기 (ICD)가 권장된다: a)급성 심근 경색 후 적어도 40일이 경과한, 허혈성 원점의 무증상 LV 수축기 기능장애 (예를 들자면, LVEF $\leq 30\%$)를 갖는 환자, 그리고 b)급사를 방지하고 수명을 연장하기 위해 정골요법 조작 치료 (OMT)를 제공받은, 무증상 비-허혈성 확장성 심근병증 (예를 들자면, LVEF $\leq 30\%$)을 가진 환자. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 이식형 제세동기 (ICD)를 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다.
- [1103] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때, 이 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, 급성 심근 경색 후 적어도 40일이 경과한, 허혈성 원점의 무증상 LV 수축기 기능장애 (예를 들자면, LVEF $\leq 30\%$)를 갖는 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, 허혈성 원점의 무증상 LV 수축기 기능장애 (예를 들자면, LVEF $\leq 30\%$)를 갖는 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, 급성 심근 경색 후 적어도 40일이 경과한 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, 최적의 의료 요법(MOT)을 제공받은, 무증상 비-허혈성 확장성 심근병증 (예를 들자면, LVEF $\leq 30\%$) 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, 무증상 비-허혈성 확장성 심근병증 (예를 들자면, LVEF $\leq 30\%$) 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, 최적의 의료 요법을 제공받은 환자에게 ICD를 투여한다. 일부 구체예들에서, ICD는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ICD는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ICD의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, ICD의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, ICD의 투여는

환자의 입원을 방지한다.

[1104] **안지오텐신 수용체 네프릴리신 억제제**

[1105] 레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템 (RAAS) 및 중성 엔도펩티다제 시스템에 작용하는, 안지오텐신 수용체 네프릴리신 억제제(ARNI)로 불리는 비교적 새로운 치료 계열의 약제가 개발되었다. 이 클래스의 첫 번째는 LCZ696이며, 발사르탄과 사쿠비트릴(네프릴리신 억제제)모이어티가 단일 물질에서 복합된 분자다. 네프릴리신을 억제함으로써, 나트륨이뇨성 펩티드(NP), 브래디키닌 및 기타 펩티드의 분해가 느려진다.

[1106] 순환율이 높은 A-유형 나트륨이뇨성펩티드(ANP)와 BNP는 NP수용체에 결합하여 생리작용을 발휘하고, cGMP의 생성을 증가시키고, 이로 인하여 이뇨, 나트륨이뇨, 심근이완, 항-리모델링이 강화된다. ANP와 BNP는 또한 레닌과 알도스테론 분비를 억제시킨다. 선택적 AT1-수용체 차단으로 혈관 수축, 나트륨 및 수분 보유 및 심근 비대가 감소된다.

[1107] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 안지오텐신-수용체 네프릴리신 억제제를 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄 (예를 들자면 LCZ696, Entresto)이 투여된다. 일부 구체예들에서, LVEF가 $\leq 35\%$ 인 보행성 증상이 있는 HFrEF 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 상승된 혈장 NP 수준을 갖는 환자 (BNP ≥ 150 pg/mL 및/또는 NT-proBNP ≥ 600 pg/mL (또는 지난 12개월 이내에 HF로 입원한 적이 있는 경우, BNP ≥ 100 pg/mL 및/또는 NT-proBNP ≥ 400 pg/mL)에게 사쿠비트릴/발사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, LVEF가 $\leq 35\%$ 인 보행성 증상이 있는 HFrEF 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 추정 GFR(eGFR) ≥ 30 mL/min/1.73 m²의 체표면적을 가진 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄이 투여된다.

[1108] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때, 이 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄이 투여된다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 ACE 억제제에 불내성인 경우, 이 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄을 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 베타 차단제에 불내성인 경우, 이 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄을 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 MRAs에 불내성인 경우, 이 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄을 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자는 HFrEF를 가지고 있으며, ACE 억제제, 베타-차단제 및 MRA중 하나 이상으로 치료함에도 불구하고 증상이 여전히 남아있을 경우 환자에게 사쿠비트릴/발사르탄을 투여한다. 일부 구체예들에서, 사쿠비트릴/발사르탄은 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 사쿠비트릴/발사르탄은 환자에게서 심부전의 개시를 방지한다. 일부 구체예들에서, 사쿠비트릴/발사르탄의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, 사쿠비트릴/발사르탄의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, 사쿠비트릴/발사르탄의 투여는 환자의 입원을 방지한다.

[1109] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때, 이 환자에게 ARNI를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 ACE 억제제에 불내성인 경우, 이 환자에게 ARNI를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 베타 차단제에 불내성인 경우, 이 환자에게 ARNI를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 MRAs에 불내성인 경우, 이 환자에게 ARNI를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자는 HFrEF를 가지고 있으며, ACE 억제제, 베타-차단제 및 MRA중 하나 이상으로 치료함에도 불구하고 증상이 여전히 남아있을 경우 환자에게 ARNI를 투여한다. 일부 구체예들에서, ARNI는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ARNI는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, ARNI의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, ARNI의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, ARNI의 투여는 환자의 입원을 방지한다.

[1110] **이뇨제**

[1111] HFrEF 환자의 울혈 징후 및 증상을 줄이기 위해 이뇨제가 권장된다. 만성 HF 환자에서 루프 및 티아지드 이뇨제는 사망 위험과 HF 악화 위험을 줄이고, 운동 능력을 향상시킬 수 있다. 일반적으로, 루프 이뇨제는 비록 공조적 상승 작용을 하지만, 티아지드보다 더 강력하고, 짧은 이뇨 효과를 나타내고, 이의 조합은 저항성 부종을 치료하는 데 사용할 수 있다.

[1112] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 상의 이뇨제들을 투여함으로써 심부전 환자를 치료하는 방법에 관계한다. 일부 구체예들에서, 환자에게 푸로세미드, 부메타니드, 토라세미드, 벤드로플루메티아지드, 히드로클로로티아지드, 메톨라존, 인다파미텍, 스피로나락톤/에플레레논, 아밀로리드 및 트리암테렌으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 이뇨제를 투여한다.

[1113] 일부 구체예들에서, 환자에게 푸로세미드, 부메타니드 및 토라세미드로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 상의 루프 이뇨제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 환자에게 푸로세미드를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에

게 부메타니드를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 토라세미드를 투여한다.

[1114] 일부 구체예들에서, 환자에게 벤드로플루메티아지드, 히드로클로로티아지드, 메톨라존, 및 인다파미텍을 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 벤드로플루메티아지드를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 히드로클로로티아지드를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 메톨라존을 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 인다파미텍을 투여한다.

[1115] 일부 구체예들에서, 환자에게 스피로나락톤/에플레레논, 아밀로리드 및 트리암테렌으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 칼륨-절약 이뇨제를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 스피로나락톤/에플레레논을 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 아밀로리드를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 트리암테렌을 투여한다.

[1116] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때 이 환자에게 이뇨제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 울혈징후를 보일 때, 이 환자에게 이뇨제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 해당 환자가 관상 동맥 질환 (CAD)의 고위험군일 때 이 환자에게 이뇨제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 환자가 관상 동맥 질환 (CAD)이 있을 때, 해당 환자에게 이뇨제를 투여한다. 일부 구체예들에서, 이뇨제는 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 이뇨제는 환자에게서 심부전의 개시를 방지한다. 일부 구체예들에서, 이뇨제의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, 이뇨제의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, 이뇨제의 투여로 환자의 입원을 방지한다. 일부 구체예들에서, 이뇨제의 투여로 환자의 6분 보행 테스트가 개선된다.

[1117] 기타

[1118] 일부 구체예들에서, 환자에게 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 치료제가 투여된다. 일부 구체예들에서 환자에게 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염을 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 디곡신을 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 디기탈리스를 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 N-3 고도불포화 지방산 (PUFA)을 투여한다. 일부 구체예들에서 환자에게 I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)을 투여한다.

[1119] 일부 구체예들에서, 해당 환자가 심부전 징후를 보일 때, 이 환자에게 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상을 투여한다. 일부 구체예들에서, 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상은 환자에게서 심부전의 개시를 지연시킨다. 일부 구체예들에서, 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상은 환자에게서 심부전의 개시를 방지한다. 일부 구체예들에서, 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상의 투여로 환자의 수명이 증가된다. 일부 구체예들에서, 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상의 투여로 환자의 입원 기간이 감소된다. 일부 구체예들에서, 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상의 투여로 환자의 입원을 방지한다. 일부 구체예들에서, 하이드랄라진 및 이소소르비드 이질산염, 디곡신, 디기탈리스, N-3 고도불포화 지방산 (PUFA), I-채널 억제제 (예를 들자면, 이바브라딘)중 하나 또는 그 이상의 투여로 6분 보행 테스트가 개선된다.

[1120] 9. 동반이환

[1121] 동반이환은 HF에서 중요하며, HF에 대한 치료 사용에 영향을 미칠 수 있다 (예를 들자면, 심각한 신장 기능장애가 있는 일부 환자들에서 레닌-안지오텐신 시스템 억제제를 사용하는 것이 불가능할 수 있다). 더욱이, 동반이환 치료에 사용되는 약물은 HF를 악화시킬 수 있다 (예를 들자면, 관절염, 일부 항암제 등에 사용되는 NSAIDs). 따라서, 동반이환 관리의 HF 환자의 전체적 치료의 핵심 구성 요소다. 일부 구체예들에서, HF에서 고려되는 하나 또는 그 이상의 동반이환은 동맥 고혈압, 심방세동, 인지 기능장애, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 철 결핍, 신장 기능장애, 대사 증후군, 비만, 신체적 상태저하, 칼륨 장애, 폐 질환 (예를 들자면, COPD), 및 수면 무호흡증으로 구성된 군에서 선택된다.

[1122] 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)을 치료하는 방법을 고려하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환 (예를 들자면, 동맥 고혈압, 심방세동, 인지 기능장애, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 철 결핍, 신장 기능장애, 대사 증후군, 비만, 신체적 상태저하, 칼륨 장애, 폐 질환 (예를 들자면, COPD), 및 수면 무호흡증)을 치료하는 방법을 고려하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)이 간접적으로 개선된다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 심부전의 동반이환 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)을 예방하는 방법을 고려하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전의 하나 또는 그 이상의 동반이환 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 진행을 감소시키는 방법을 고려하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전의 하나 또는 그 이상의 동반이환 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 중증도를 감소시키는 방법을 고려하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 심부전의 하나 또는 그 이상의 동반이환 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)의 중증도를 감소시키는 방법을 고려하며, 이 방법은 ActRII-ALK4 길항제(예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[1123] 10.스크리닝 분석

[1124] 특정 측면들에서, 본 명세서는 심부전 (예를 들자면, 확장성 심근병증 (DCM), 근육 소모성 질환과 연합된 심부전, 및 유전성 심근병증)을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데, 구체적으로 심부전-연합된 하나 또는 그 이상의 동반이환을 치료, 예방 또는 이의 진행을 및/또는 중증도를 감소시키는데 이용될 수 있는 화합물(작용제)를 확인하기 위한 용도로 ActRII-ALK4 길항제 (예를 들자면, ActRII-ALK4 리간드 트랩 길항제, ActRII-ALK4 항체 길항제, ActRII-ALK4 폴리뉴클레오티드 길항제, 및/또는 ActRII-ALK4 소분자 길항제)의 사용에 관계한다.

[1125] 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 리간드의 신호전달 (예를 들자면, Smad 신호전달)을 표적으로 함으로써, 심부전 치료용 치료제를 스크리닝하는 다수의 접근법이 있다. 특정 구체예들에 있어서, 선택된 세포 계통에서 ActRII-ALK4 리간드-매개된 효과를 교란시키는 물질을 동정하기 위해 화합물의 고효율 스크리닝이 수행될 수 있다. 특정 구체예들에서, 상기 분석은 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 AB, 액티빈 C, GDF3, BMP6, GDF8, GDF15, GDF11 or BMP10)가 이의 결합 파트너, 이를 테면, 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB)에 결합을 특이적으로 억제 또는 감소시키는 화합물을 스크리닝 및 동정하기 위하여 실행된다. 대안으로, 상기 분석은 ActRII-ALK4 리간드가 이의 결합 파트너, 이를 테면, 유형 II 수용체에 대한 결합을 향상시키는 화합물을 동정하는데 사용될 수 있다. 추가 구체예에서, 유형 II 수용체와 상호 작용하는 능력에 의해 이들 화합물이 동정될 수 있다.

[1126] 다양한 분석 형태가 충분할 것이며, 본 명세서의 내용에서, 본 명세서에서 명시적으로 설명되지 않았던 분석 또

한 당업자에 의해 인지될 수 있다. 본 명세서에서 기술된 바와 같이, 본 발명의 테스트 화합물 (물질)은 임의의 조합적 화학 방법에 의해 생성될 수 있다. 대안으로, 대상 화합물은 생체내 또는 시험관내에서 합성된 자연 발생 생체 분자일 수 있다. 조직 성장의 조절자로서 작용하는 능력에 대하여 테스트되는 화합물 (작용제)은 예를 들어, 박테리아, 효모, 식물 또는 다른 유기체 (예: 천연 생성물)에 의해 생성될 수 있고, 화학적으로 만들어질 수 있거나 (예: 펩티도모방체를 포함하는 소분자), 또는 제조합 적으로 생산될 수 있다. 본 발명에 의해 고려되는 테스트 화합물은 비-펩티딜 유기 분자, 펩티드, 폴리펩티드, 펩티드 모방체, 당, 호르몬 및 핵산 분자를 포함한다. 특정 구체예들에 있어서, 상기 테스트 물질은 분자량이 약 2,000 달톤 미만인 작은 유기 분자이다.

[1127] 본 명세서의 테스트 화합물은 단일의 별개 엔터티로 제공되거나, 또는 조합 화학에 의해 만들어진, 더 큰 복합체 라이브러리로 제공될 수 있다. 이들 라이브러리는 예를 들어, 알코올, 알킬 할로겐화물, 아민, 아마이드, 에스테르, 알데히드, 에테르 및 다른 부류의 유기 화합물을 포함할 수 있다. 테스트 화합물을 테스트 시스템에 특히 초기 스크리닝 단계에 제공하는 것은 단리된 형태 또는 화합물의 혼합물의 형태가 될 수 있다. 임의선택적으로, 화합물은 임의로 다른 화합물로 유도체화될 수 있고, 이 화합물의 단리를 용이하게 하는 유도체화기를 가질 수 있다. 유도체화기의 비-제한적인 예는 바이오틴, 플루오레세인, 디옥시게닌, 녹색 형광 단백질, 동위 원소, 폴리히스티딘, 자성 비드, 글루타티온 S-전이효소(GST), 광활성 가교제 또는 이들의 임의의 조합물을 포함한다.

[1128] 화합물 및 천연 추출물의 라이브러리를 테스트하는 많은 약물-스크리닝 프로그램에서, 주어진 시간 동안 조사되는 화합물의 수를 최대화하기 위해서는 고-처리량 분석이 바람직하다. 정제되거나 반-정제된 단백질로 유도될 수 있는 것과 같이, 세포가 없는 시스템에서 수행되는 분석은 신속한 개발을 가능하게 하고, 시험 화합물에 의해 중재되는 분자 표적의 상대적으로 용이한 탐지하기 위해 생성될 수 있다는 점에서 대개 "1 차"스크린으로 선호된다. 더욱이, 테스트 화합물의 세포 독성 또는 생물이용성의 효과는 시험관 시스템에서 일반적으로 무시될 수 있지만, 대신 이 분석은 ActRII-ALK4 리간드 (예를 들자면, 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 AB, 액티빈 C, GDF8, GDF15, GDF11, GDF3, BMP6, 또는 BMP10)와 이의 결합 파트너, 이를 테면, 유형 II 수용체 (예를 들자면, ActRIIA 및/또는 ActRIIB) 간의 결합 친화력의 변경으로 현시될 수 있는, 분자 표적 상에 약물의 효과에 주로 집중한다.

[1129] 단순히 설명을 하기 위해, 본 발명의 예시적인 스크리닝 분석에서, 목적 화합물은 분석 의도에 적합하다면, ActRIIB 리간드에 통상적으로 결합할 수 있는, 분리 및 정제된 ActRIIB 폴리펩티드에 접촉시킨다. 상기 화합물 및 ActRIIB 폴리펩티드의 혼합물에 ActRIIB 리간드 (가령, GDF11)가 함유된 조성물이 추가된다. ActRIIB/ActRIIB-리간드 복합체의 탐지 및 정량화는 ActRIIB 폴리펩티드와 이의 결합 단백질 사이에 복합체 형성을 억제(또는 강화)하는데 있어서 이 화합물의 효과를 측정하는 수단을 제공한다. 화합물의 효능은 다양한 농도의 테스트 화합물을 사용하여 얻은 데이터로부터 용량-반응 곡선을 생성함으로써 평가할 수 있다. 더욱이, 대조 분석을 수행하여 비교를 위한 기준을 제공할 수도 있다. 예를 들면, 대조군 분석에서, 단리 및 정제된 ActRIIB 리간드가 ActRIIB 폴리펩티드를 함유하는 조성물에 첨가되고, ActRIIB/ActRIIB 리간드 복합체의 형성은 테스트 화합물의 부재하에 정량화된다. 일반적으로, 반응물이 혼합되는 순서는 다양할 수 있고, 동시에 혼합될 수 있음을 이해할 것이다. 더욱이, 정제된 단백질 대신하여 세포 추출물 및 용해물을 사용하여 적절한 무-세포 검정 시스템을 만들 수 있다.

[1130] ActRII-ALK4 리간드와 이의 결합 단백질 사이에 복합체 형성은 다양한 기술에 의해 탐지될 수 있다. 예를 들면, 복합체 형성의 조절은 예를 들면, 탐지가가능하도록 라벨된 단백질을 이를 테면 방사능라벨된 (가령, ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C 또는 ^3H), 형광으로 라벨된 (가령, FITC), 또는 효소적으로 라벨된 ActRIIB 폴리펩티드 및/또는 이의 결합 단백질을 이용하거나, 면역분석에 의해, 또는 크로마토그래피 탐지에 의해 정량화될 수 있다.

[1131] 특정 구체예들에 있어서, 본 명세서는 GDF/BMP 리간드와 이의 결합 단백질 간에 상호작용을 직접적으로, 또는 간접적으로 측정함에 있어서, 형광 편광 분석 및 형광 공명 에너지 전달 (FRET) 분석의 이용을 고려한다. 더욱이, 다른 방식의 탐지, 이를 테면 광학 도파관(waveguides) (가령, PCT 공개 WO 96/26432 및 U.S. 특허 번호 5,677,196 참고), 표면 플라스몬 공명 (SPR), 표면 전하 센서, 및 표면력 센서들은 본 명세서의 많은 구체예에 양립가능하다.

[1132] 더욱이, 본 명세서는 ActRII-ALK4 리간드와 이의 결합 짝 사이의 상호작용을 파괴 또는 강화시키는 물질들을 동정하기 위한 "2-하이브리드 분석"으로 알려진 상호작용 트랩 분석의 사용을 고려한다. 예를 들자면, U.S. 특허 번호 5,283,317; Zervos *et al.* (1993) *Cell* 72:223-232; Madura *et al.* (1993) *J Biol Chem* 268:12046-

12054; Bartel *et al.* (1993) *Biotechniques* 14:920-924; 그리고 Iwabuchi *et al.* (1993) *Oncogene* 8:1693-1696) 참고. 특정 구체예에서, 본 명세서는 ActRII-ALK4 리간드와 이의 결합 단백질 간의 상호작용을 해리시키는 화합물 (가령, 소분자 또는 펩티드)를 동정하기 위한 역 2-하이브리드 시스템의 사용을 고려한다 [Vidal and Legrain, (1999) *Nucleic Acids Res* 27:919-29; Vidal and Legrain, (1999) *Trends Biotechnol* 17:374-81; 및 U.S. 특허 5,525,490; 5,955,280; 그리고 5,965,368 참고].

[1133] 특정 구체예들에 있어서, 상기 대상 화합물은 본 명세서의 ActRII-ALK4 리간드와 상호작용하는 능력에 의해 동정된다. 상기 화합물과 ActRII-ALK4 리간드 간의 상호작용은 공유 또는 비-공유적일 수 있다. 예를 들면, 광-가교, 방사능라벨된 리간드 결합, 및 친화력 크로마토그래피가 포함된 시험관내 생화학적 방법을 이용하여 단백질 수준에서 이러한 상호작용이 동정될 수 있다. [Jakoby WB *et al.* (1974) *Methods in Enzymology* 46:1 참고]. 특정 경우에서, 상기 화합물은 기전-기반의 분석, 이를 테면, ActRII-ALK4 리간드에 결합하는 화합물을 탐지하는 분석에서 스크리닝될 수 있다. 이 분석은 고정-상 또는 유체-상 결합 사건을 포함할 수 있다. 대안으로, ActRII-ALK4 리간드를 인코딩하는 유전자는 리포터 시스템 (가령, β -갈락토시다제, 루시페라제, 또는 녹색 형광 단백질)과 함께 세포 안으로 형질감염되고, 라이브러리, 바람직하게는 고처리량 스크리닝 또는 이 라이브러리의 개별 구성요소들에 대하여 스크리닝될 수 있다. 다른 기전-기반의 결합 분석이 이용될 수 있는데, 예를 들면, 자유 에너지의 변화를 탐지하는 결합 분석이 이용될 수 있다. 결합 분석은 웰, 비드 또는 칩에 고정된 표적으로 또는 고정된 항체에 의해 포집된 표적 또는 모세관 전기영동에 의해 해리되는 표적으로 실행될 수 있다. 상기 결합된 화합물은 발색 종점 또는 형광 또는 표면 플라스몬 공명을 이용하여 탐지될 수 있다.

[1134] 11. 약제학적 조성물

[1135] 본원에 기술된 치료제 (예를 들어, ActRII-ALK4 길항제)는 약제학적 조성물로 제제화될 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 약제학적 조성물은 하나 또는 그 이상의 생리학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 사용하여 통상적인 방식으로 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 일반적으로 대부분의 규제 요구 사항을 준수하여 실질적으로 발열성이 없다.

[1136] 특정 구체예들에서, 본 명세서의 치료 방법은 상기 조성물을 전신 투여하거나, 또는 임플란트 또는 장치로부터 국소적으로 투여하는 것을 포함한다. 투여될 때, 본원에서 사용하기 위한 치료용 조성물은 실질적으로 발열원이 없거나, 또는 발열원이 없고, 생리학적으로 허용가능한 형태이다. 전술한 바와 같이 조성물에 임의로 포함될 수 있는 ActRII-ALK4 길항제 이외의 치료학적으로 유용한 제제는 본원에 개시된 방법에서 대상 화합물과 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[1137] 일반적으로, 본원에 개시된 단백질 치료요법적 작용제는 비경구적으로, 특히 정맥내 또는 피하로 투여될 것이다. 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물들은 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 ActRII-ALK4 길항제와 하나 또는 그 이상의 약제학적으로 허용되는 멸균 등장성 수성 또는 비수용액, 분산액, 현탁액 또는 유화액, 또는 사용 직전에 멸균 주사 용액 또는 분산액으로 재구성 될 수 있는 멸균 분말을 포함할 수 있고, 여기에는 항산화제, 완충제, 정균제, 그리고 의도된 수령인의 혈액에 등장성인 제제를 제공하는 용지, 또는 현탁 또는 농후제가 포함될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 이와 유사한 것들), 그리고 이의 적절한 혼합물, 식물성 오일, 가령 올리브 오일, 그리고 주사가 가능한 유기 에스테르, 가령, 에틸 올레이트를 포함한다. 적절한 유효성은 예를 들어, 코팅 물질, 가령, 레시틴의 사용, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지 그리고 계면 활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

[1138] 조성물 및 제형은 원한다면, 활성 성분을 함유하는 하나 또는 그 이상의 단위 투여형을 함유할 수 있는 팩 또는 디스펜서 장치로 제공될 수 있다. 팩은 예를 들어, 블리스터 팩과 같은 금속 또는 플라스틱 호일을 포함할 수 있다. 팩 또는 디스펜서 장치에는 관리 지침이 수반될 수 있다.

[1139] 또한, 상기 조성물은 표적 조직 부위에 운반하기 위한 형태에 포집되거나 또는 주입될 수 있다. 특정 구체예들에서, 본 발명의 조성물은 표적 조직 부위에 하나 또는 그 이상의 치료 화합물 (예를 들어, ActRII-ALK4 길항제)을 전달할 수 있는 매트릭스를 포함할 수 있고, 발달중인 조직을 위한 구조를 제공하고, 신체 내로 최적으로 재흡수될 수 있다. 예를 들면, 상기 매트릭스는 상기 ActRII-ALK4 길항제의 지연 방출을 제공할 수 있다. 이러한 매트릭스는 다른 이식된 의학 용도에 현재 사용되는 재료로 형성될 수 있다.

[1140] 매트릭스 재료는 생체적합성, 생분해성, 기계적 성질, 미용적 외관 및 경계면 성질에 의해 기초한다. 해당 조성물의 특정 용도가 적절한 제형을 규정할 것이다. 상기 조성물에 대한 잠재적 매트릭스는 생분해가능하며, 화학

적으로 황산칼슘, 인산삼 칼슘, 히드록시아파타이트, 폴리락트산 및 폴리안하이드리드로 규정될 수 있다. 다른 잠재적 물질은 예를 들면, 뼈 또는 피부 콜라겐을 포함하는 생분해가능하며, 생물학적으로 잘 규정된 물질이다. 또한, 매트릭스는 순수 단백질 또는 세포외 매트릭스 성분들로 구성된다. 다른 잠재적 매트릭스는 비-생분해성이며, 화학적으로 예를 들면, 소결(sintered) 히드록시아파타이트, 바이오글라스, 알루미늄에이트 또는 기타 세라믹을 포함한 비-생분해성이며, 화학적으로 규정된다. 매트릭스는 예를 들면, 폴리락트산 및 히드록시아파타이트 또는 콜라겐 및 인산삼 칼슘을 포함하는 전술한 유형의 물질의 조합을 포함할 수도 있다. 바이오세라믹은 공극 크기, 입자 크기, 입자 형태 및 생분해성을 변경시키기 위하여 조성물, 이를 테면, 칼슘-알루미늄에이트-포스페이트 및 공정이 변경될 수 있다.

[1141] 특정 구체예들에 있어서, 본 명세서의 방법은 예를 들면, 캡슐, 카시에(cachets), 알약, 테블릿, 로젠지(풍미제 베이스, 보통, 슈크로스 및 아카시아 또는 트라가탄 이용), 분말, 과립, 또는 수성 또는 비-수성 액체에 용액 또는 현탁액, 수중유(oil-in-water) 또는 유중수(water-in-oil) 에멀션, 또는 엘릭시르(elixir) 또는 시럽, 또는 파스티렐스(pastilles) (비활성 베이스, 이를 테면 젤라틴 및 글리세린, 또는 슈크로스 및 아카시아 이용), 및/또는 구강 세척제 및 이와 유사한 것의 형태로 경구 투여될 수 있는데, 이들 각각은 활성 성분으로써, 사전 결정된 양의 화합물을 함유한다. 물질은 볼루스(bolus), 연질약(electuary), 또는 페이스트로 또한 투여될 수 있다.

[1142] 경구 투여용 고체 투여 제형 (캡슐, 테블릿, 알약, 당의정, 분말, 과립제 및 이와 유사한 것들)에서, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 치료 화합물은 하나 또는 그 이상의 약제학적으로 수용가능한 담체, 이를 테면 구연산 나트륨 또는 인산 이칼슘, 및/또는 다음중 임의의 것과 혼합될 수 있다: (1) 충전제 또는 연장제, 이를 테면 전분, 락토즈, 슈크로스, 포도당, 만니톨, 및/또는 규산; (2) 결합제, 이를 테면, 예를 들면, 카르복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 슈크로스, 및/또는 아카시아; (3) 습윤제, 이를 테면 글리세롤; (4) 분해제, 이를 테면 한천-한천, 탄산 칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염, 및 탄산 나트륨; (5) 용액 지체제, 이를 테면 과라판; (6) 흡수 가속화제, 이를 테면 4급 암모늄 화합물; (7) 습윤제, 이를 테면, 예를 들면, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트; (8) 흡수제, 이를 테면 카올린 및 벤토나이트 점토; (9) 윤활제, 이를 테면, 활석, 스테아레이트 칼슘, 스테아레이트 마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 라우릴 술페이트 나트륨, 및 이의 혼합물; 그리고 (10) 발색제. 캡슐, 테블릿 및 알약의 경우, 상기 약제학적 조성물은 완충 물질을 또한 포함할 수 있다. 유사한 형태의 고체 조성물은 가령, 락토스 또는 유당과 같은 부형제, 뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 및 이와 유사한 것을 이용하여 연질 및 경질 충전된 젤라틴 캡슐 안에 충전물로 이용될 수 있다.

[1143] 경구 투여를 위한 액체 투약형은 약제학적으로 수용가능한 에멀션, 마이크로에멀션, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함할 수 있다. 활성 성분에 추가하여, 액체 투약형은 당분야에서 통상적으로 이용하는 비활성 희석액, 예를 들면, 물 또는 기타 용매, 가용화 물질 및/또는 유화제, 가령, 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카르보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 오일 (가령, 목화씨, 땅콩, 옥수수, 감, 올리브, 피마자, 및 참깨유), 글리세롤, 테트라히드로퓨릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 및 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 불활성 희석제 외에도, 경구 조성물은 이를 테면, 습윤제, 유화제 및 현탁제, 감미제, 향료, 착색제, 향료 및 방부제와 같은 보조제를 포함할 수 있다.

[1144] 현탁액은 활성 화합물 이외에, 예를 들어 에톡시화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨, 및 소르비탄 에스테르, 미정질 셀룰로즈, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 한천-한천, 그리고 트라가탄 및 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[1145] 본 발명의 조성물은 또한 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제와 같은 보조제를 함유 할 수 있다. 미생물의 작용의 예방은 파라벤, 클로로부탄올 및 페놀 소르브산 및 이와 유사한 것들과 같은 다양한 항박테리아 및 항진균제를 포함시킴으로써 확보될 수 있다. 상기 조성물에 설탕, 염화나트륨 등의 등장화제가 내포되는 것이 바람직할 수도 있다. 추가적으로, 예를 들어, 모노스테아르산 알루미늄 및 젤라틴과 같은 흡수를 지연시키는 물질을 포함시킴으로써 주사가능한 약형의 연장된 흡수가 이루어질 수 있다.

[1146] 투여 섭생은 본 명세서의 (가령, ActRII-ALK4 길항제)의 작용을 변형시키는 다양한 인자를 고려하는 주치의에 의해 결정될 것이다. 다양한 요인에는 환자의 연령, 성별, 식이, 중증도, 투여 시간 및 기타 임상 인자가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 임의선택적으로, 투여량은 재구성에 사용된 매트릭스의 유형 및 조성물 중의 화합물의 유형에 따라 다를 수 있다. 최종 조성물에 기타 공지의 성장 인자들을 추가하면 이 약형에 또한 영향을

줄 수 있다. 진행은 골 성장 및/또는 수복 (예: X- 선 (DEXA 포함)), 조직 형태 측정 및 테트라사이클린 라벨링의 주기적 평가를 통해 모니터링 할 수 있다.

[1147] 특정 구체예들에서, 본 발명은 ActRII-ALK4 길항제의 생체내 생산을 위한 유전자 요법을 또한 제공한다. 그러한 치료는 상기 나열된 바와 같은 하나 이상의 장애를 갖는 세포 또는 조직 내로 ActRII-ALK4 길항제 폴리뉴클레오타이드 서열을 도입함으로써 그의 치료 효과를 얻을 수 있다. ActRII-ALK4 길항제 폴리뉴클레오타이드 서열의 전달은 예를 들어, 키메라 바이러스 또는 콜로이드성 분산 시스템과 같은 재조합 발현 벡터를 사용하여 달성 될 수 있다. ActRII-ALK4 길항제 폴리뉴클레오타이드서열의 바람직한 치료 전달은 표적화된 리포솜을 사용하는 것이다.

[1148] 본 명세서에서 교시된 바와 같이, 유전자 요법에 이용될 수 있는 다양한 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 헤르페스 바이러스, 유두종, 또는 RNA 바이러스, 가령, 레트로바이러스를 포함한다. 바람직하게는, 레트로바이러스 벡터는 무린 또는 조류 레트로바이러스의 유도체다. 단일 외부 유전자가 삽입될 수 있는 레트로바이러스 벡터의 예로는 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: 몰로니 무린 백혈병 바이러스 (MoMuLV), 하베이 무린 육종 바이러스 (HaMuSV), 무린 유방 종양 바이러스 (MuMTV), 및 라우스 육종 바이러스 (RSV). 다수의 추가 레트로바이러스 벡터가 다중 유전자를 혼입할 수 있다. 이들 모든 벡터는 선택가능한 표지의 유전자를 전달 또는 혼입하여, 형질유도된 세포를 동정 및 생성할 수 있다. 레트로바이러스 벡터는 예를 들면, 당, 당지질, 또는 당백질을 부착시킴으로써, 표적-특이적으로 만들어질 수 있다. 항체를 이용한 바람직한 표적화가 이루어진다. 당업자는 특이적 폴리뉴클레오타이드 서열을 레트로바이러스 게놈 안에 삽입시키거나 또는 바이러스 외피에 부착시켜, 상기 ActRII-ALK4 길항제를 함유하는 레트로바이러스 벡터의 표적 특이적 운반이 가능하다는 것을 인지할 것이다. 바람직한 실시 양태에서, 벡터는 뼈 또는 연골을 표적으로 한다.

[1149] 대안으로, 조직 배양 세포는 통상적인 인산칼슘 형질감염에 의해 레트로바이러스 구조 유전자 gag, pol, 및 env를 인코딩하는 플라스미드로 직접적으로 형질감염될 수 있다. 이들 세포는 관심 대상의 유전자를 함유하는 벡터 플라스미드로 형질감염된다. 생성 세포는 레트로바이러스 벡터를 배양 배지로 방출한다.

[1150] ActRII-ALK4 길항제 폴리뉴클레오타이드에 대한 또다른 표적화된 전달 시스템은 콜로이드성 분산 시스템이다. 콜로이드성 분산 시스템은 거대분자 복합체, 나노캡슐, 미소구, 비드, 그리고 수중유 에멀션, 미셀, 혼합 미셀 및 리포솜을 포함하는 지질-기반 시스템을 포함한다. 본 명세서의 바람직한 콜로이드 시스템은 리포솜이다. 리포솜은 인공 막 소포로, 시험관 및 생체내 운반 비이클로 유용하다. RNA, DNA, 및 고유 비리온은 수성 내부에 포집되고, 생물학적 활성 형태로 세포로 운반된다(Fraley, et al., (1981) Trends Biochem. Sci., 6:77 참고). 리포솜 비이클을 이용한 효과적인 유전자 전달 방법은 당분야에 공지되어 있다(가령, Mannino, et al., (1988) Biotechniques, 6:682, 1988 참고). 리포솜의 조성물은 통상 인지질의 조합으로, 스테로이드, 구체적으로, 콜레스테롤과 통상적으로 복합된다. 다른 인지질 또는 다른 지질도 사용될 수 있다. 리포솜의 물리적 성질은 pH, 이온 강도 그리고 이가양이온 존재에 따라 달라진다.

[1151] 리포솜 생산에 유용한 지질의 예는 포스파티딜 글리세롤, 포스파티딜콜린, 포스파티딜 세린, 포스파티딜 에탄올아민, 스펅고리피드, 세레브로시드 및 강글리오사이드와 같은 포스파티딜 화합물이 내포된다. 예시적인 인지질은 난 포스파티딜콜린, 디팔미토일 포스파티딜콜린 및 디스테아로일포스파티딜콜린이 내포된다. 리포솜의 표적화는 예를 들면, 장기(organ)-특이성, 세포-특이성, 및 소기관-특이성에 기반을 두고, 당분야에 공지되어 있다.

[1152] 본 명세서는 pH를 조정하기 위해 산 및 염기를 포함하도록 다양할 수 있는 제제를 제공하고; pH를 좁은 범위로 유지하는 완충제를 포함한다.

[1153] 구체예

[1154] 지금부터 본 발명이 일반적으로 기술되며, 단지 본 발명의 특정 구체예 및 실시 양태는 예시하기 위한 목적으로 포함되는 것으로, 이에 본 발명을 제한하려는 의도는 아니며, 하기 실시 예를 참조함으로써 보다 용이하게 이해될 것이다.

[1155] 실시예 1: ActRIIA-Fc 융합 단백질

[1156] 인간 ActRIIA의 세포외 도메인 fused to최소 링커에 의해 융합된 인간 또는 마우스 Fc 도메인과 인간 ActRIIA의 세포외 도메인을 갖는 가용성 ActRIIA 융합 폴리펩티드를 작제하였다. 이들 구조체는 차례로 ActRIIA-hFc 및 ActRIIA-mFc로 지칭된다.

[1157] ActRIIA-hFc는 하기에 나타난 바와 같이, CHO 세포주로부터 정제된다 (서열 식별 번호: 380):

- [1158] ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEV
TQPTSNPVTPKPPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPKEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [1159] C-말단 리신이 결여된 추가 ActRIIA-hFc는 하기에 나타난 바와 같이 CHO 세포주로부터 정제된다 (서열 식별 번호: 378):
- [1160] ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEV
TQPTSNPVTPKPPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPKEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [1161] ActRIIA-hFc 및 ActRIIA-mFc 단백질은 CHO 세포주에서 발현되었다. 상이한 3개 리더 서열이 고려되었다:
- [1162] (i) 벌꿀 멜리틴 (HBML): MKFLVNVALFMVVYISYIYA (서열 식별 번호: 7)
- [1163] (ii) 조직 플라스미노겐 활성화제 (TPA): MDAMKRGLCCVLLCGAVFVSP (서열 식별 번호: 8)
- [1164] (iii) 토종: MGAAKLAFVFLISCSGA (서열 식별 번호: 379).
- [1165] 선택된 형태는 TPA 리더를 이용하고, 다음의 가공안된 아미노산 서열을 갖는다:
- [1166] MDAMKRGLCCVLLCGAVFVSPGAAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDINCYDRTDCVEKKDS
PEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPKEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 식별 번호: 381)
- [1167] 이 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열에 의해 인코딩된다:
- [1168] ATGGATGCAATGAAGAGAGGGCTCTGCTGTGTGCTGCTGTGTGGAGCAGTCTTCGTTTCGCCGGCGCCGTATACTTGGTAGATCAGAACTCAGGAG
TGTCTTTTTTAATGCTAATTGGGAAAAAGACAGAACCAATCAAACTGGTGTGAACCGTGTATGGTGACAAAGATAAACGCGCGCATTGTTTTGCTACCT
GGAAGAATATTTCTGTTCCATTGAATAGTGAACAAGGTTGTGGCTGGATGATATCAACTGCTATGACAGGACTGATTGTGTAGAAAAAAGACAGCCC
TGAAGTATATTTCTGTTGCTGTGAGGCAATATGTGAATGAAAGTTTCTTATTTTCCGAGATGGAAGTCACACAGCCCACTCAAAATCCAGTTACACC
TAAGCCACCCACCGTGGTGAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGA
CACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA
GGTGCAATATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCTGCACACGAGGACTGGCTGAATGGCAA
GGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGTCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACCCCT
GCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGGTCAAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGGTGGAGTGGAGAGCAATGG
GCAGCCGAGAACAATAACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA
GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGACCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGAGAATTC (서열
식별 번호: 382)
- [1169] ActRIIA-hFc 및 ActRIIA-mFc는 모두 재조합 발현에 있어서 현저하게 순응적이었다. 도 14에 나타난 바와 같이, 이 단백질은 잘-특정된, 단일 단백질 피크로 정제되었다. N-말단 서열화에서 단일 서열 -ILGRSETQE (서열 식별 번호: 383)이 드러났다. 정제는 다음중 3개 또는 그 이상이 임의의 순서로 포함된 일련의 컬럼 크로마토그래피에 의해 실행될 수 있다: 단백질 A 크로마토그래피, Q 세파로즈 크로마토그래피, 페닐세파로즈 크로마토그래피, 크기 압출 크로마토그래피, 및 양이온 교환 크로마토그래피. 상기 정제는 바이러스 여과 및 완충액 교환으로 완성될 수 있다. ActRIIA-hFc 단백질은 크기 압출 크로마토그래피에 의해 측정하였을 때, 순도는 >98%이었고, SDS PAGE에 의해 측정하였을 때 순도는 >95%이었다.
- [1170] ActRIIA-hFc 및 ActRIIA-mFc는 리간드에 대해 높은 친화력을 보였다. GDF11 또는 액티빈 A는 표준 아민-커플링 절차를 사용하여 Biacore™CM5 칩에 고정화되었다. ActRIIA-hFc 단백질 및 ActRIIA-mFc 단백질을 시스템에 로딩하고, 결합을 측정했다. ActRIIA-hFc는 5×10^{-12} 의 해리 상수(K_D)로 액티빈에 결합하였고, 9.96×10^{-9} 의 K_D 로 GDF11에 결합하였다. 도 15A-B 참고. 유사한 결합 검정을 사용하여, ActRIIA-hFc는 예를 들어, 액티빈 B, GDF8, BMP6 및 BMP10을 포함하는 다른 TGF-베타 수퍼패밀리 리간드에 대해 높거나 또는 중간 정도의 친화도를 갖는 것으로 결정되었다. ActRIIA-mFc는 유사하게 거동하였다.

- [1171] ActRIIA-hFc는 약동학 연구에서 매우 안정적이었다. 랫에게 1mg/kg, 3mg/kg 또는 10mg/kg의 ActRIIA-hFc 단백질을 투여하였고, 24, 48, 72, 144 및 168시간 시점에 단백질의 혈장 수준을 측정했다. 별도의 연구에서, 랫에게 1mg/kg, 10mg/kg 또는 30mg/kg을 투여했다. 랫에서 ActRIIA-hFc의 혈청 반감기는 11-14일이었고 약물의 순환 수준은 2주 후에 상당히 높았다 (1 mg/kg, 10 mg/kg 또는 30 mg/kg의 초기 투여에 대해 각각 11 µg/ml, 110 µg/ml 또는 304 µg/ml). 시노몰구스 원숭이에서, 혈장 반감기는 실질적으로 14일 이상으로 더 높았고, 이 약물의 순환 수준은 1 mg/kg, 10 mg/kg, 또는 30 mg/kg의 초기 투여에 대해 각각 25 µg/ml, 304 µg/ml, 또는 1440 µg/ml이었다.
- [1172] 실시예 2: ActRIIA-hFc 단백질의 특징
- [1173] ActRIIA-hFc 융합 폴리펩티드는 안정적으로 형질감염된 CHO-DUKX B11 세포에서 서열 식별 번호: 8의 조직 플라즈미노겐 리더 서열을 이용하여, pAID4 벡터 (SV40 ori/인헨서, CMV 프로모터)로부터 발현되었다. 실시예 1에서 기술된 바와 같이 정제된 이 단백질은 서열 식별 번호: 380의 서열을 갖는다. Fc 부분은 인간 IgG1 Fc 서열이며, 서열 식별 번호: 380에 나타난다. 단백질 분석에서 ActRIIA-hFc 융합 단백질이 이황화 결합을 갖는 동종 이합체로서 형성된다는 것이 드러난다.
- [1174] CHO-세포-발현 물질은 인간 293 세포에서 발현된 ActRIIA-hFc 융합 단백질에 대해 보고된 것보다 액티빈 B 리간드에 대해 더 높은 친화성을 갖는다[de Re et al. (2004) J Biol Chem. 279(51):53126-53135 참고]. 추가적으로, TPA 리더 서열의 사용으로 다른 리더 서열보다 더 많은 생산량을 제공했고, 토종 리더로 발현된 ActRIIA-Fc와 달리, 매우 순수한 N-말단 서열을 제공하였다. 토종 리더 서열을 사용으로 ActRIIA-Fc의 2종의 주요 종이 만들어졌고, 각각은 상이한 N-말단 서열을 갖는다.
- [1175] 실시예 3: 대체 ActRIIA-Fc 단백질
- [1176] 본원에서 기술된 방법에 따라 사용될 수 있는 다양한 ActRIIA 변형이 국제 특허 출원 WO2006/012627 (예를 들자면, pp. 55-58 참고) (이의 전문이 본원에 편입됨)에 설명된다. 대체 구조체는 C-말단 꼬리(ActRIIA의 세포외 도메인의 마지막 15개 아미노산)의 결실을 가질 수 있다. 이러한 구조체의 서열은 하기에 제시된다 (밑줄친 Fc 부분) (서열 식별 번호: 384):
- [1177] ILGRSETQECLFFNANWEKDRNTQGTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCKEFSYFPEMTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPKIEKTKISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
- [1178] 실시예 4: ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드의 생성
- [1179] 출원인은 인간 G1Fc 도메인에 융합된 인간 ActRIIB의 세포외 도메인과 그 사이에 링커 (3개의 글리신 아미노산)를 갖는 가용성 ActRIIB 융합 폴리펩티드를 작제하였다. 이 구조체는 ActRIIB(20-134)-G1Fc로 지칭된다.
- [1180] ActRIIB(20-134)-G1Fc는 CHO 세포주에서 정제된, 서열 식별 번호: 5 (밑줄친 링커와 함께)로 하기에 나타난다:
- [1181] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLGERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
- [1182] C-말단 리신이 결여된, 추가 ActRIIB(20-134)-G1Fc는 CHO 세포주로 정제된 형태로 하기에 나타난다 (서열 식별 번호: 378):
- [1183] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLGERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
- [1184] ActRIIB(20-134)-G1Fc 폴리펩티드는 CHO 세포주에서 발현되었다. 상이한 3개 리더 서열이 고려되었다:
- [1185] (i) 벌꿀 멜리틴 (HBML): MKFLVNVALFMVVIYSIYA (서열 식별 번호: 7)
- [1186] (ii) 조직 플라즈미노겐 활성화제 (TPA): MDAMKRGLLCCVLLCGAVFVSP (서열 식별 번호: 8)

- [1187] (iii) 토종: mtapwvalallwgslcag (서열 식별 번호: 9).
- [1188] 선택된 형태는 TPA 리더를 이용하고, 다음의 가공안된 아미노산 서열을 갖는다:
- [1189] MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPGASGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN
PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVITYEPPPTAPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [1190] (서열 식별 번호: 6)
- [1191] 이 폴리펩티드는 다음 핵산 서열 (서열 식별 번호: 10)에 의해 인코딩된다:
- [1192] ATGGATGCAAT GAAGAGAGGG CTCTGCTGTG TGCTGCTGCT GTGTGGAGCA GTCTTCGTTT CGCCCGGCGC CTCTGGGCGT GGGGAGGCTG
AGACACGGGA GTGCATCTAC TACAACGCCA ACTGGGAGCT GGAGCGCACC AACCAGAGCG GCCTGGAGCG CTGCGAAGGC GAGCAGGACA
AGCGGCTGCA CTGCTACGCC TCCTGGCGCA ACAGCTCTGG CACCATCGAG CTCGTGAAGA AGGGCTGCTG GCTAGATGAC TTCAACTGCT
ACGATAGGCA GGAGTGTGTG GCCACTGAGG AGAACCCCCA GGTGTACTTC TGCTGCTGTG AAGGCAACTT CTGCAACGAG CGCTTCACTC
ATTTGCCAGA GGCTGGGGGC CCGGAAGTCA CGTACGAGCC ACCCCCGACA GCGCCACCG GTGGTGAAC TCACACATGC CCACCGTGCC
CAGCACTGA ACTCCTGGGG GGACCGTCAG TCTTCTCTT CCCCCAAAA CCAAGGACA CCCTCATGAT CTCCCGGACC CCTGAGGTCA
CATGCGTGGT GGTGGACGTG AGCCACGAAG ACCCTGAGGT CAAGTTCAAC TGGTACGTGG ACGGCGTGGA GGTGCATAAT GCCAAGACAA
AGCCGCGGGA GGAGCAGTAC AACAGCACGT ACCGTGTGGT CAGCGTCCTC ACCGTCCTGC ACCAGGACTG GCTGAATGGC AAGGAGTACA
AGTGCAAGGT CTCCAACAAA GCCCTCCCAG CCCCATCGA GAAACCATC TCCAAAGCCA AAGGGCAGCC CCGAGAACCA CAGGTGTACA
CCCTGCCCCC ATCCCGGGAG GAGATGACCA AGAACAGGT CAGCCTGACC TGCTGGTCA AAGGCTTCTA TCCCAGCGAC ATCGCCGTGG
AGTGGGAGAG CAATGGGCAG CCGGAGAACA ACTACAAGAC CACGCCTCCC GTGCTGGACT CCGACGGCTC CTCTTCTCTC TATAGCAAGC
TCACCGTGA CAAGAGCAGG TGGCAGCAGG GGAACGTCTT CTCATGCTCC GTGATGCATG AGGCTCTGCA CAACCACTAC ACGCAGAAGA
GCCTCTCCCT GTCTCCGGGT AAATGA (서열 식별 번호: 10)
- [1193] CHO-세포에서 만들어진 물질의 N-말단 서열화에서 주요 서열 -GRGEAE (서열 식별 번호: 11)이 드러났다. 특히, 문헌에 보고된 다른 구조물은 -SGR ... 서열로 시작한다.
- [1194] 정제는 다음중 3개 또는 그 이상이 임의의 순서로 포함된 일련의 컬럼 크로마토그래피에 의해 실행될 수 있다: 단백질 A 크로마토그래피, Q 세파로즈 크로마토그래피, 페닐세파로즈 크로마토그래피, 크기 압출 크로마토그래피, 및 양이온 교환 크로마토그래피. 상기 정제는 바이러스 여과 및 완충액 교환으로 완성될 수 있다.
- [1195] ActRIIB(20-134)-Fc 융합 폴리펩티드는 또한 HEK293 세포 및 COS 세포에서 발현되었다. 모든 세포주의 물질 및 적당한 배양 조건이 생체 내에서 근육 형성 활성을 갖는 폴리펩티드를 제공하였지만, 아마도 세포주 선별 및 / 또는 배양 조건과 관련하여 역가의 가변성이 관찰되었다.
- [1196] 실시예 5. 산출 방법
- [1197] 액티빈 IIB 수용체 (ActRIIB)는 Smad2/3 활성화를 촉진시키는 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, 및 GDF11, 뿐만 아니라 Smad1/5/8 활성화를 촉진시키는 뼈 형태발생적 단백질 (BMPs), 이를 테면, BMP9 및 BMP10을 비롯한, 다수의 TGFβ 슈퍼패밀리 리간드에 결합한다. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 가용성 리간드에 결합하고, 리간드가 세포 표면 수용체에 결합하는 것을 방지함으로써, Smad 활성화를 차단하는 리간드 트랩으로 기능할 수 있다. BMP9-매개된 Smad1/5/8 활성화의 ActRIIB-Fc 길항작용은 코의 출혈 및 모세혈관확장증을 비롯한, 원치 않는 부작용을 초래하는 것으로 알려져 있다 (Campbell, C. et al. Muscle Nerve 55: 458-464, 2017). Smad2/3 활성화를 자극하는 리간드에 대한 결합을 유지하면서, BMP9 결합을 감소시키는 ActRIIB의 돌연변이를 설계하기 위해 우리는 세 가지 ActRIIB 리간드 복합체의 결정 구조를 비교했다: (1) BMP9:ActRIIB:Alk1, PDB ID=4fao, (2) ActRIIB:액티빈 A, PDB ID:1s4y, 및 (3) GDF11:ActRIIB:Alk5, PDB ID: 6mac (Protein Data Bank (PDB) <https://www.rcsb.org/>에서 이용가능). 결정 구조를 기반으로 한 ActRIIB와 3개의 리간드 간의 접촉을 비교하면, 동일한 해당 ActRIIB 잔기에 의해 접촉된 리간드 잔기의 전하, 극성 및 소수성 차이를 기반으로 한 돌연변이 초점에 대한 잔기가 밝혀졌다. 돌연변이용 표적 잔기 확인 후, **Schrödinger Bioluminate** 생물체 모델링 소프트웨어 플랫폼(버전 2017-4: Bioluminate, **Schrödinger**, LLC, New York, NY)을 이용하여, 다른 리간드-결합 활성을 유지하면서, BMP9에 대한 결합을 감소시킬 ActRIIB의 돌연변이를 계산적으로 예측하였다.
- [1198] 결정 구조의 비교에서 확인된 모든 잔기는 돌연변이로 간주되었다. Residue Scanning Calculation은 구조적 복

합체에서 분자의 안정성과 친화도를 모두 고려하여 수행되었으며, 각 분자(리간드 및 수용체) 및 복합체 구조에 대한 잠재적 돌연변이 및 에너지의 지정된 목록을 생성하고, 뿐만 아니라, 야생형 및 돌연변이 형태에 대한 에너지 차이에 대한 목록을 생성한다. 친화성/안정성/프라임 에너지 등의 매개변수를 분석한 후, 단일 돌연변이의 상위 5%-10%가 확인되었다. 이 분석은 이러한 돌연변이의 잠재적인 조합으로 이어졌다. 선택된 단일 돌연변이 및 돌연변이 조합은 구조적 차이와 형성/손실 접촉을 이해하기 위해 구조적으로 분석되었다. 최종적으로, 각 복합체(ActRIIB:리간드)에 대해 817개의 단일 돌연변이를 스크리닝하였고, Δ 친화력을 기반으로 하고, Δ 안정성(용매화된) 및 Δ 프라임 에너지를 선택적으로 고려하여, 상위 히트(hits)를 선별했다. 영외(outliers)의 스트라이킹(striking)과 관련하여 다른 속성도 고려되었다.

[1199] 실시예 6. 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 생성

[1200] 실시예 4에서 기술된 사항들을 기반으로, 출원인은 세포외 도메인 of ActRIIB의 세포외 도메인에서 일련의 돌연변이 (서열 변이)를 만들었고, 임의선택적 링커에 의해 연결된 변이체 ActRIIB 세포외 도메인과 Fc 도메인을 포함하는 가용성 동형이량체 융합 폴리펩티드로 이들 변이체 폴리펩티드를 만들었다. 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 생성에 사용된 배경 ActRIIB-Fc 융합체는 ActRIIB-G1Fc였으며, 상기 실시예 4에서 서열 식별 번호: 5로 나타낸다.

[1201] 상기 배경 ActRIIB-G1Fc 폴리펩티드에 다양한 치환 돌연변이를 도입하였다. 실시예 4에서 제시된 데이터를 기반으로, TPA 리더와 함께 발현된 경우, 이들 구조체는 N-말단 세린이 결핍될 것으로 예상된다. 따라서, 대부분의 성숙한 서열은 글리신(N-말단 세린이 없음)으로 시작할 수 있지만, 일부 종의 경우에는 N-말단 세린과 함께 존재할 수 있다. 돌연변이는 PCR 돌연변이 유발에 의해 ActRIIB 세포외 도메인에서 생성되었다. PCR 후, 단편을 Qiagen 컬럼으로 정제하고, SfoI 및 AgeI로 분해하고 겔 정제하였다. 이러한 단편들을 발현 벡터 pAID4 (W02006/012627 참조)에 결합시켜, 결합될 때, 인간 IgG1과 융합 키메라를 생성되었다. 대장균(E. coli) DH5 알파로의 형질 전환시, 콜로니를 채취하고, DNA를 단리하였다. 무린 구조체 (mFc)의 경우, 무린 IgG2a가 인간 IgG1로 치환되었다. 모든 돌연변이체의 서열이 확인되었다.

[1202] 프로세싱안된 ActRIIB(F82I-N83R)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 276). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, F82I 치환 및 N83R 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 276의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1203] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS

[1204] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDIRC YDRQECVATE

[1205] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC

[1206] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV

[1207] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP

[1208] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV

[1209] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH

[1210] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 276)

[1211] ActRIIB(F82I-N83R)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 277)에 의해 인코딩된다:

[1212] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC

[1213] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG

[1214] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC

[1215] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC

[1216] 201 CTCCTGGGCG AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT

[1217] 251 GGCTAGATGA CATCCGTTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG

[1218] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA

[1219] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC

- [1220] 401 CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1221] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA
- [1222] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1223] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1224] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1225] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1226] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1227] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1228] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1229] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1230] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCTCC
- [1231] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1232] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1233] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1234] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 277)
- [1235] 성숙 ActRIIB(F82I-N83R)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 278)는 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1236] 1 GRGEAETREC IYNNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1237] 51 IELVKKG CWL DDIRCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1238] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1239] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1240] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKQPR EPQVYTLPPS
- [1241] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1242] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1243] (서열 식별 번호: 278)
- [1244] 프로세싱안된 ActRIIB(F82K-N83R)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 279). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, F82K 치환 및 N83R 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 279의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1245] 1 MDAMKRGLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYNA NWELERTNQS
- [1246] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDKRC YDRQECVATE
- [1247] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGHTTCPPC
- [1248] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1249] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1250] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1251] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [1252] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 279)

[1253] ActRIIB(F82K-N83R)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 331)에 의해 인코딩된다:

[1254] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [1255] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [1256] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [1257] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [1258] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [1259] 251 GGCTAGATGA CAAGCGTTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [1260] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [1261] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [1262] 401 CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1263] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA
 [1264] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1265] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [1266] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [1267] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
 [1268] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1269] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [1270] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
 [1271] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
 [1272] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
 [1273] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
 [1274] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 [1275] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 [1276] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 331)

[1277] 성숙 ActRIIB(F82K-N83R)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 332)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[1278] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
 [1279] 51 IELVKKGCWL DDKRCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
 [1280] 101 GGPEVTYEPP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 [1281] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 [1282] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 [1283] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 [1284] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK

[1285] (서열 식별 번호: 332)

[1286] 프로세싱안된 ActRIIB(F82T-N83R)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 333). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, F82T 치환 및 N83R 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로

C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 333의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1287] 1 MDAMKRGGLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
 [1288] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDTRC YDRQECVATE
 [1289] 101 ENPQVVFCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
 [1290] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
 [1291] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
 [1292] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
 [1293] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSMVH
 [1294] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 333)

ActRIIB(F82T-N83R)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 334)에 의해 인코딩된다:

[1296] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [1297] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [1298] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [1299] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [1300] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [1301] 251 GGCTAGATGA CACCCGTTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [1302] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [1303] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [1304] 401 CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1305] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAA
 [1306] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1307] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [1308] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [1309] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
 [1310] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1311] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [1312] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
 [1313] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
 [1314] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
 [1315] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
 [1316] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 [1317] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 [1318] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 334)

성숙 ActRIIB(F82T-N83R)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 335)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[1320] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT

[1321] 51 IELVKKGCWL DDTRCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
 [1322] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 [1323] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 [1324] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 [1325] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 [1326] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK

[1327] (서열 식별 번호: 335)

[1328] 프로세싱안된 ActRIIB(F82T)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 336). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, F82T 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 336의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1329] 1 MDAMKRLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
 [1330] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDTNC YDRQECVATE
 [1331] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
 [1332] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
 [1333] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
 [1334] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
 [1335] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
 [1336] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 336)

[1337] ActRIIB(F82T)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 337)에 의해 인코딩된다:

[1338] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [1339] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [1340] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [1341] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [1342] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [1343] 251 GGCTAGATGA CACCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [1344] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [1345] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [1346] 401 CACCCCGGAC AGCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1347] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAAA
 [1348] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1349] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTCAA CTGGTACGTG
 [1350] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [1351] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
 [1352] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1353] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [1354] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG

- [1355] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1356] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1357] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1358] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1359] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1360] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 337)
- [1361] 성숙 ActRIIB(F82T)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 338)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1362] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1363] 51 IELVKKGWL DDNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1364] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1365] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1366] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1367] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1368] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1369] (서열 식별 번호: 338)
- [1370] 프로세싱안된 ActRIIB(L79H-F82I)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 339). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, L79H 치환 및 F82I 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 339의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1371] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1372] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWHDDINC YDRQECVATE
- [1373] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1374] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1375] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1376] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1377] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSMH
- [1378] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 339)
- [1379] ActRIIB(L79H-F82I)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 340)에 의해 인코딩된다:
- [1380] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [1381] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
- [1382] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
- [1383] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
- [1384] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
- [1385] 251 GGCACGATGA CATCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [1386] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
- [1387] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC

- [1388] 401 CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1389] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAA
- [1390] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1391] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1392] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1393] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1394] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1395] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1396] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1397] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1398] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1399] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1400] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1401] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1402] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 340)
- [1403] 성숙 ActRIIB(L79H-F82I)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 341)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1404] 1 GRGEAETREC IYNNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1405] 51 IELVKKGCVH DDINCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1406] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1407] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1408] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKQPR EPQVYTLPPS
- [1409] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1410] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1411] (서열 식별 번호: 341)
- [1412] 프로세싱안된 ActRIIB(L79H)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 342). 상기 신호 서열 과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, L79H 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리 신이 제거된, 서열 식별 번호: 342의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1413] 1 MDAMKRGLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1414] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWHDDFNC YDRQECVATE
- [1415] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1416] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1417] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1418] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1419] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSMH
- [1420] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 342)

[1421] ActRIIB(L79H)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 343)에 의해 인코딩된다:

[1422] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [1423] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [1424] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [1425] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [1426] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [1427] 251 GGCACGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [1428] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [1429] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [1430] 401 CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1431] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA
 [1432] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1433] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [1434] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [1435] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
 [1436] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1437] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [1438] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
 [1439] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
 [1440] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
 [1441] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
 [1442] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 [1443] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 [1444] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 343)

[1445] 성숙 ActRIIB(L79H)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 344)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[1446] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
 [1447] 51 IELVKKGCWH DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
 [1448] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 [1449] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 [1450] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 [1451] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 [1452] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK

[1453] (서열 식별 번호: 344)

[1454] 프로세싱안된 ActRIIB(L79H-F82K)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타난다 (서열 식별 번호: 345). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, L79H 치환 및 F82K 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로

C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 345의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1455] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
 [1456] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWHDDKNC YDRQECVATE
 [1457] 101 ENPQVVFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
 [1458] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
 [1459] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
 [1460] 251 APIEKTISKA KGQPREPVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
 [1461] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSMH
 [1462] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 345)

ActRIIB(L79H-F82K)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 346)에 의해 인코딩된다:

[1464] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [1465] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [1466] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [1467] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [1468] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [1469] 251 GGCACGATGA CAAGAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [1470] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [1471] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [1472] 401 CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1473] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAA
 [1474] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1475] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [1476] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [1477] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
 [1478] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1479] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [1480] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
 [1481] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
 [1482] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
 [1483] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
 [1484] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 [1485] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 [1486] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 346)

성숙 ActRIIB(L79H-F82K)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 347)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[1488] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT

[1489] 51 IELVKKGCWH DDKNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
 [1490] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 [1491] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 [1492] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKQPR EPQVYTLPPS
 [1493] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 [1494] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK

[1495] (서열 식별 번호: 347)

[1496] 프로세싱안된 ActRIIB(E50L)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다(서열 식별 번호: 348). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, E50L 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 348의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1497] 1 MDAMKRLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYNA NWELERTNQS
 [1498] 51 GLERCLGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
 [1499] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
 [1500] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
 [1501] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
 [1502] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
 [1503] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
 [1504] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 348)

[1505] ActRIIB(E50L)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (코돈 최적화된) (서열 식별 번호: 349)에 의해 인코딩된다:

[1506] 1 ATGGATGCGA TGAAACGCGG CCTGTGCTGC GTGCTGCTGC TGTGCGGCGC
 [1507] 51 GGTGTTTGTG AGCCCGGGCG CCAGCGGCCG CGGCGAAGCG GAAACCCGCG
 [1508] 101 AATGCATTTA TTATAACGCG AACTGGGAAC TGGAACGCAC CAACCAGAGC
 [1509] 151 GGCCTGGAAC GCTGCCTGGG CGAACAGGAT AAACGCCTGC ATTGCTATGC
 [1510] 201 GAGCTGGCGC AACAGCAGCG GCACATTGA ACTGGTGAAA AAAGGCTGCT
 [1511] 251 GGCTGGATGA TTTTAACTGC TATGATCGCC AGGAATGCGT GCGGACCGAA
 [1512] 301 GAAAACCCGC AGGTGTATTT TTGCTGCTGC GAAGGCAACT TTTGCAACGA
 [1513] 351 ACGCTTTACC CATCTGCCGG AAGCGGGCGG CCCGGAAGTG ACCTATGAAC
 [1514] 401 CGCCGCCGAC CGCGCCGACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1515] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAA
 [1516] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1517] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [1518] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [1519] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCTG CACCAGGACT
 [1520] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1521] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC

- [1522] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1523] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1524] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1525] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1526] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1527] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1528] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 349)
- [1529] 성숙 ActRIIB(E50L)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 350)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1530] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC LGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1531] 51 IELVKKGKWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1532] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1533] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1534] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1535] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1536] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1537] (서열 식별 번호: 350)
- [1538] 프로세싱안된 ActRIIB(L38N-L79R)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 351). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, L38N 치환 및 L79R 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 351의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1539] 1 MDAMKRGCLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWENERTNQS
- [1540] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWRDDFNC YDRQECVATE
- [1541] 101 ENPQVVFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1542] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1543] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1544] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1545] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [1546] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 351)
- [1547] ActRIIB(L38N-L79R)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음 핵산 서열 (서열 식별 번호: 352)에 의해 인코딩된다:
- [1548] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [1549] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
- [1550] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGA ACGAGCGCAC CAACCAGAGC
- [1551] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
- [1552] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
- [1553] 251 GGCGCGATGA CTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [1554] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA

- [1555] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
- [1556] 401 CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1557] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAAA
- [1558] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1559] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1560] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1561] 651 CAACAGCAGC TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1562] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1563] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1564] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AGAACCAGG
- [1565] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1566] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAAGC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1567] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1568] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1569] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1570] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 352)
- [1571] 성숙 ActRIIB(L38N-L79R)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 353)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단 으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1572] 1 GRGEAETREC IYYNANWENE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1573] 51 IELVKKGKWR DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1574] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1575] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1576] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1577] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1578] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1579] (서열 식별 번호: 353)
- [1580] 프로세싱안된 ActRIIB(V99G)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다(서열 식별 번호: 354). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, V99G 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 354의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1581] 1 MDAMKRG LCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1582] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [1583] 101 ENPQGYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1584] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1585] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1586] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1587] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH

- [1588] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 354)
- [1589] ActRIIB(V99G)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (코돈 최적화된) (서열 식별 번호: 355)에 의해 인코딩된다:
- [1590] 1 ATGGATGCGA TGAACGCGG CCTGTGCTGC GTGCTGCTGC TGTGCGGCGC
- [1591] 51 GGTGTTTGTG AGCCCGGGCG CCAGCGGCCG CGGCGAAGCG GAAACCCGCG
- [1592] 101 AATGCATTTA TTATAACGCG AACTGGGAAC TGGAACGCAC CAACCAGAGC
- [1593] 151 GGCCTGGAAC GCTGCGAAGG CGAACAGGAT AAACGCCTGC ATTGCTATGC
- [1594] 201 GAGCTGGCGC AACAGCAGCG GCACCATGTA ACTGGTGAAA AAAGGCTGCT
- [1595] 251 GGCTGGATGA TTTTAACTGC TATGATCGCC AGGAATGCGT GCGACCGAA
- [1596] 301 GAAAACCCGC AGGGCTATTT TTGCTGCTGC GAAGGCAACT TTTGCAACGA
- [1597] 351 ACGCTTTACC CATCTGCCGG AAGCGGGCGG CCCGGAAGTG ACCTATGAAC
- [1598] 401 CGCCGCCGAC CGCGCCGACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1599] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA
- [1600] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1601] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1602] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1603] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1604] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1605] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1606] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1607] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1608] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1609] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1610] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1611] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1612] 1101 TAAATGA (서열 식별 번호: 355)
- [1613] 성숙 ActRIIB(V99G)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 356)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1614] 1 GRGEAETREC IYNNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1615] 51 IELVKKGCWL DDFNCYDRQE CVATEENPQG YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1616] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1617] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1618] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1619] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGGSF
- [1620] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK
- [1621] (서열 식별 번호: 356)

- [1622] 구조체들은 일시적 감염에 의해 COS 또는 CHO 세포에서 발현되었고, 여과 및 단백질 A 크로마토그래피에 의해 정제되었다. 일부의 경우, 정제된 폴리펩티드보다는 조건화된 배지를 사용하여 분석을 수행하였다. 리포터 유전자 분석을 위한 샘플의 순도는 SDS-PAGE 및 분석적 크기 배제 크로마토그래피에 의해 평가되었다.
- [1623] 돌연변이체는 아래에 설명된 결합 분석 및/또는 생물학적 분석에서 테스트되었다.
- [1624] 대안으로, ActRIIB 세포의 도메인으로 하기 나타낸 바와 같이, N-말단 5개 아미노산의 절단 및 C-말단 3개 아미노산의 절단을 보유하는 유사한 돌연변이가 도입될 수 있다(서열 식별 번호: 357). 이러한 절단된 ActRIIB 세포의 도메인은 서열 식별 번호: 2의 번호매김을 기반으로 ActRIIB(25-131)로 나타낸다.
- [1625] 25 ETRECIYYNA NWELERTNQS GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK
- [1626] 75 KGCWLDDFNC YDRQECVATE ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV
- [1627] 125 TYEPPT (서열 식별 번호: 357)
- [1628] 대응하는 배경 융합 폴리펩티드, ActRIIB(25-131)-G1Fc는 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 12).
- [1629] 1 ETRECIYYNA NWELERTNQS GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK
- [1630] 51 KGCWLDDFNC YDRQECVATE ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV
- [1631] 101 TYEPPTGGG THTCPAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV
- [1632] 151 VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD
- [1633] 201 WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSREEMTKNQ
- [1634] 251 VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPVLDSDG SFFLYSKLTV
- [1635] 301 DKSRWQGGNV FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 12)
- [1636] 실시예 7. 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 활성 및 리간드 결합 프로파일
- [1637] 변이체 ActRIIB-Fc 동형이량체의 리간드 결합 프로필을 결정하기 위해, Biacore™ 기반 결합 분석을 사용하여 특정 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 리간드 결합 동역학을 비교했다. 시험할 ActRIIB-Fc 폴리펩티드를 항-Fc 항체를 사용하여 시스템에 독립적으로 포집하였다. 그 다음, 리간드들을 주입하였고, 포집된 수용체 단백질 위로 흐르도록 하였다. 37° C에서 분석한 변이 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 결과는 도 16A 및 16B에 나와 있다. ActRIIB-G1Fc는 대조군 폴리펩티드로 이용되었다.
- [1638] 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 활성을 결정하기 위해, A204 세포-기반 분석을 사용하여 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP9 및 BMP10에 의한 신호전달에 있어서, ActRIIB-G1Fc와 비교하였을 때, 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드 간의 효과를 비교했다. 간략하게, 이 검정은 형질감염 효율을 제어하기 위해, 근육으로부터 파생된 인간 A204 횡문근육종 세포주 (ATCC®: HTB-82™) 및 리포터 벡터 pGL3(CAGA)12 (Dennler *et al.*, 1998, EMBO 17: 3091-3100) 뿐만 아니라 Renilla 리포터 플라스미드 (pRLCMV)를 이용한다. CAGA12 모티프는 TGF-β 반응성 유전자 (가령, PAI-1 유전자)에 존재하며, 따라서 이 벡터는 액티빈 A, GDF11, 및 BMP9를 비롯한 Smad2/3을 통한 신호전달할 수 있는 리간드용으로 일반적으로 사용된다.
- [1639] 1일차에, A204 세포를 하나 또는 그 이상의 48-웰 플레이트로 옮겼다. 2일차에, 이들 세포를 10 μg pGL3(CAGA)12 또는 pGL3(CAGA)12(10 μg) + pRLCMV(1 μg) 및 Fugene으로 형질감염시켰다. 3일차에, 0.1% BSA를 함유하는 배지에서 희석된 리간드를 세포에 첨가하기-전, 1시간 동안 ActRIIB-Fc 폴리펩티드와 함께 사전-향온 처리하였다. 대략적으로 6시간 후, 세포는 PBS로 행구고, 그리고 용해된다. 세포 용해물을 루시퍼라제 분석에서 분석하여, Smad 활성화 정도를 결정했다.
- [1640] 이 검정을 이용하여, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, GDF11, BMP9, 및 BMP10에 의한 세포 신호전달에 있어서 억제 효과에 대해 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드를 스크리닝하였다. 인간 ActRIIB 세포의 도메인에서 아미노산 치환들이 통합된 동형이량체 Fc 융합 폴리펩티드들의 잠재력은 변형안된 인간 ActRIIB 세포의 도메인, ActRIIB-G1Fc를 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드의 잠재력과 비교되었다. 테스트된 일부 변이체의 경우, 정확한 IC₅₀을 계산할 수 없었지만, 곡선 기울기의 억제 징후는 감지할 수 있었다. 이러한 변이체의 경우, 상대적 IC₅₀의 크기, 즉 명확한 숫자 대신 >10 nM 또는 > 100 nM에 대한 추정치가 네포되어있다. 이러한 데이터 포인트는 아래 표 10에서

(*)로 표시된다. 테스트된 일부 변이체의 경우, 테스트된 농도 범위에 걸쳐 곡선의 기울기에서 검출 가능한 억제제가 없었으며, 이는 표 10에서 "ND"로 표시된다.

표 10. 동형이량체 ActRIIB-Fc 구조체들의 억제 효능.

동형이량체 ActRIIB-Fc 구조체들의 억제 효능						
ActRIIB 폴리펩티드	IC ₅₀ (nM)					
	GDF8	GDF11	액티빈 A	액티빈 B	BMP9	BMP10
ActRIIB-G1Fc	0.95	0.12	0.05	0.067	1.82	0.036
F82I-N83R	ND	9.95	1.67	0.08	ND	13.25
F82K-N83R	ND	ND	1.32	0.09	ND	0.53
F82T-N83R	ND	17.94	1.52	0.11	ND	12.57
F82T	2.17	0.27	0.10	0.09	ND	0.07
L79H-F82I	>10*	0.36	>100*	0.15	ND	>100*
L79H	5.76	0.24	>10*	0.07	ND	>100*
L79H-F82K	ND	>100*	ND	0.10	ND	>100*
ND: 테스트된 농도 범위에서 값이 감지할 수 없음. *IC ₅₀ 크기의 추정치						

상기 표 10, 뿐만 아니라 도 16A 및 16B에 나타난 것과 같이, ActRIIB 세포의 도메인의 아미노산 치환은 다양한 시험관내 분석에서 ActRIIB:리간드 결합과 하류 신호전달 활성 사이의 균형을 변경할 수 있다. 일반적으로, 출원인은 변형안된 ActRIIB 세포의 도메인 (ActRIIB-G1Fc)을 함유하는 융합 폴리펩티드와 비교하였을 때, 다른 리간드 결합 속성은 유지하면서, BMP9에 대해 감소되거나 또는 검출 불가능한 결합을 나타내는 ActRIIB 세포의 도메인에서 변이체를 생성하는 목표를 달성했다.

추가적으로, 변이체 ActRIIB (L79H-F82I), ActRIIB (L79H), 및 ActRIIB (L79H-F82K)는 ActRIIB-G1Fc와 비교하였을 때, 액티빈 B에 대한 상대적으로 높은 친화도를 유지하면서, BMP9에 대한 결합의 감소를 나타내면서 액티빈 A 결합의 현저한 감소를 나타냈다. 표 10에서 억제 효능을 나타내는 IC₅₀ 값은 이러한 리간드 결합 경향과 일치한다. 유사하게, 변이체 ActRIIB (F82K-N83R), ActRIIB (F82I-N83R), 및 ActRIIB (F82T-N83R)도 유사한 경향을 나타낸다.

더욱이, 변이체 ActRIIB (F82K-N83R), ActRIIB (F82I-N83R), ActRIIB (F82T-N83R), 및 ActRIIB (L79H-F82K)는 ActRIIB-G1Fc와 비교하였을 때, BMP9에 대한 결합의 감소를 보여주고, 액티빈 B에 대한 상대적으로 높은 친화도를 유지하며, GDF8 및 GDF11 결합 또한 현저하게 감소했다. 표 10에서 억제 효능을 나타내는 IC₅₀ 값은 이러한 리간드 결합 경향과 일치한다.

변이체 ActRIIB (L79H-F82I), ActRIIB (L79H), 및 ActRIIB (L79H-F82K)는 ActRIIB-G1Fc와 비교하였을 때, BMP9에 대한 결합의 감소를 보여주고, 액티빈 B에 대한 상대적으로 높은 친화도를 유지하며, BMP10 결합 또한 감소를 보였다. 표 10에서 억제 효능을 나타내는 IC₅₀ 값은 이러한 리간드 결합 경향과 일치한다.

따라서, 본 출원인은 BMP9에 대한 비검출 결합으로 감소된 결합을 나타내는 ActRIIB 변이체를 생성하는 목표를 달성하는 것 외에도, 다양한 어레이의 신규 변이체 폴리펩티드를 생성했으며, 이들 중 다수는 부분적으로 고유한 리간드 결합/억제 프로파일을 특징으로 한다. 따라서, 이들 변이체들은 그러한 선택적 길항 작용이 유리한 특정 응용 분야에서 ActRIIB-G1Fc보다 더 유용할 수 있다. 실시예들에는 액티빈 B의 길항작용을 유지하면서, BMP9 그리고 임의선택적으로 액티빈 A, GDF8, GDF11 및 BMP10 중 하나 이상의 길항작용을 감소시키는 것이 바람직한 치료 적용이 내포된다.

실시예 8. 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 생성

출원인은 세포의 도메인 of ActRIIB의 세포의 도메인에서 일련의 돌연변이 (서열 변이)를 만들었고, 임의선택적 링커에 의해 연결된 변이체 ActRIIB 세포의 도메인과 Fc 도메인을 포함하는 가용성 동형이량체 융합 폴리펩티드로 이들 변이체 폴리펩티드를 만들었다. 배경 ActRIIB-Fc 융합체는 서열 식별 번호: 5에 나타난 것과 같은, ActRIIB-G1Fc이다.

- [1650] 상기 배경 ActRIIB-Fc 폴리펩티드에 다양한 치환 돌연변이를 도입하였다. 실시예 4에서 제시된 데이터를 기반으로, TPA 리더와 함께 발현된 경우, 이들 구조체는 N-말단 세린이 결핍될 것으로 예상된다. 돌연변이는 PCR 돌연변이 유발에 의해 ActRIIB 세포의 도메인에서 생성되었다. PCR 후, 단편을 Qiagen 컬럼으로 정제하고, SfoI 및 AgeI로 분해하고 겔 정제하였다. 이러한 단편들을 발현 벡터 pAID4 (WO2006/012627 참조)에 결합시켜, 결합될 때, 인간 IgG1과 융합 키메라를 생성되었다. 대장균(E. coli) DH5 알파로의 형질 전환시, 콜로니를 채취하고, DNA를 단리하였다. 뮤린 구조체 (mFc)의 경우, 뮤린 IgG2a가 인간 IgG1로 치환되었다. 모든 돌연변이체의 서열이 확인되었다.
- [1651] 프로세싱안된 ActRIIB(K55A)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 31). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, K55A 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 31의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1652] 1 MDAMKRLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1653] 51 GLERCEGEQD ARLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [1654] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1655] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1656] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1657] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1658] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [1659] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 31)
- [1660] ActRIIB(K55A)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 32)에 의해 인코딩된다:
- [1661] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [1662] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
- [1663] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
- [1664] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC GCCCGGCTGC ACTGCTACGC
- [1665] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
- [1666] 251 GGCTAGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [1667] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
- [1668] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
- [1669] 401 CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1670] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCTCTT TCCCCCAAA
- [1671] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1672] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTCAA CTGGTACGTG
- [1673] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1674] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1675] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1676] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1677] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AGAACCAGG
- [1678] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1679] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC

- [1680] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1681] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1682] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCCCCGGG
- [1683] 1101 TAAA (서열 식별 번호: 32)
- [1684] 상기 성숙 ActRIIB(K55A)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 33)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1685] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDARLHC YASWRNSSGT
- [1686] 51 IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1687] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1688] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1689] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1690] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1691] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1692] (서열 식별 번호: 33)
- [1693] 프로세싱안된 ActRIIB(K55E)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다(서열 식별 번호: 34). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, K55E 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 34의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1694] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1695] 51 GLERCEGEQD ERLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [1696] 101 ENPQVVFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1697] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1698] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1699] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1700] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [1701] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 34)
- [1702] ActRIIB(K55E)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 35)에 의해 인코딩된다:
- [1703] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [1704] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
- [1705] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
- [1706] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC GAGCGGCTGC ACTGCTACGC
- [1707] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
- [1708] 251 GGCTAGATGA CTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [1709] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
- [1710] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
- [1711] 401 CACCCCGAC AGCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1712] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAAA

- [1713] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1714] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1715] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1716] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1717] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1718] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1719] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1720] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1721] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1722] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1723] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1724] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCCCCGGG
- [1725] 1101 TAAA (서열 식별 번호: 35)
- [1726] 상기 성숙 ActRIIB(K55E)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 36)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1727] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDERLHC YASWRNSSGT
- [1728] 51 IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1729] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1730] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1731] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1732] 251 REEMTKNVQS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1733] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKLSLS PGK
- [1734] (서열 식별 번호: 36)
- [1735] 프로세싱안된 ActRIIB(F82I)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다(서열 식별 번호: 37). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, F82I 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 37의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1736] 1 MDAMKRGLCC VLLLCGA V FV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1737] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDINC YDRQECVATE
- [1738] 101 ENPQVVFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1739] 151 PAPELLGGPS VFLFPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1740] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1741] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1742] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSMH
- [1743] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 37)
- [1744] ActRIIB(F82I)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 38)에 의해 인코딩된다:
- [1745] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC

[1746] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG

[1747] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC

[1748] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC

[1749] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT

[1750] 251 GGCTAGATGA CATCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG

[1751] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA

[1752] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC

[1753] 401 CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC

[1754] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA

[1755] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG

[1756] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG

[1757] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA

[1758] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT

[1759] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA

[1760] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC

[1761] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG

[1762] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG

[1763] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC

[1764] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG

[1765] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT

[1766] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG

[1767] 1101 TAAA (서열 식별 번호: 38)

[1768] 상기 성숙 ActRIIB(F82I)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 39)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[1769] 1 GRGEAETREC IYNNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT

[1770] 51 IELVKKG CWL DDINCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA

[1771] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS

[1772] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS

[1773] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS

[1774] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF

[1775] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKLSLSL PGK

[1776] (서열 식별 번호: 39)

[1777] 프로세싱안된 ActRIIB(F82K)-G1Fc의 아미노산 서열은 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 40). 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, F82K 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 40의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1778] 1 MDAMKRLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYNA NWELERTNQS

[1779] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDKNC YDRQECVATE
 [1780] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPTAPT GGGTHTCPPC
 [1781] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
 [1782] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
 [1783] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
 [1784] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
 [1785] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 40)

[1786] ActRIIB(F82K)-G1Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 41)에 의해 인코딩된다:

[1787] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [1788] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [1789] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [1790] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [1791] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [1792] 251 GGCTAGATGA CAAGAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [1793] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [1794] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [1795] 401 CACCCCCGAC AGCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [1796] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAAA
 [1797] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [1798] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [1799] 601 GACGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGG AGGAGCAGTA
 [1800] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
 [1801] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [1802] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [1803] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
 [1804] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
 [1805] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
 [1806] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
 [1807] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 [1808] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 [1809] 1101 TAAA (서열 식별 번호: 41)

[1810] 상기 성숙 ActRIIB(F82K)-G1Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 42)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[1811] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
 [1812] 51 IELVKKGCWL DDKNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
 [1813] 101 GGPEVYIEPP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS

- [1814] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1815] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1816] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGSGF
- [1817] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HYTQKSLSLS PGK
- [1818] (서열 식별 번호: 42)
- [1819] 구조체들은 COS 또는 CHO 세포에서 발현되었고, 여과 및 단백질 A 크로마토그래피에 의해 정제되었다. 일부의 경우, 정제된 단백질보다는 조건화된 배지를 사용하여 분석을 수행하였다. 유전자 검정을 위한 샘플의 순도는 SDS-PAGE 및 웨스턴 블랏 분석에 의해 평가되었다.
- [1820] 돌연변이체는 아래에 설명된 결합 분석 및/또는 생물학적 분석에서 테스트되었다.
- [1821] 대안으로, ActRIIB 세포의 도메인으로 하기 나타낸 바와 같이, N-말단 5개 아미노산의 절단 및 C-말단 3개 아미노산의 절단을 보유하는 유사한 돌연변이가 도입될 수 있다(서열 식별 번호: 53). 이러한 절두된 ActRIIB 세포의 도메인은 서열 식별 번호: 2의 번호매김을 기반으로 ActRIIB(25-131)로 나타낸다.
- [1822] 25 ETRECIYYNA NWELERTNQS GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK
- [1823] 75 KGCWLDDFNC YDRQECVATE ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV
- [1824] 125 TYEPPPT (서열 식별 번호: 53)
- [1825] 대응하는 배경 융합 폴리펩티드, ActRIIB(25-131)-G1Fc는 하기에 나타낸다 (서열 식별 번호: 12).
- [1826] 1 ETRECIYYNA NWELERTNQS GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK
- [1827] 51 KGCWLDDFNC YDRQECVATE ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV
- [1828] 101 TYEPPPTGGG THTCPAPCAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV
- [1829] 151 VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD
- [1830] 201 WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPS REEMTKNQ
- [1831] 251 VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV
- [1832] 301 DKSRWQQGNV FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (서열 식별 번호: 12)
- [1833] 실시예 9. 세포-기반 검정에서 변이체 ActRIIB-Fc 동형이량체의 리간드 결합 프로파일 및 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 활성
- [1834] 변이체 ActRIIB-Fc 동형이량체의 리간드 결합 프로파일을 결정하기 위해, Biacore™ 기반 결합 분석을 사용하여 특정 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 리간드 결합 동역학을 비교했다. 시험할 ActRIIB-Fc 폴리펩티드를 항-Fc 항체를 사용하여 시스템에 독립적으로 포집하였다. 그 다음, 리간드들을 주입하였고, 포집된 수용체 단백질 위로 흐르도록 하였다. 37° C에서 분석한 변이 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 결과는 도 17에 나와 있다. 변형안된 ActRIIB 세포의 도메인을 포함하는 Fc-융합 폴리펩티드와 비교하였을 때, 상기 변이체 폴리펩티드 ActRIIB(K55A)-Fc, ActRIIB(K55E)-Fc, ActRIIB(F82I)-Fc, 및 ActRIIB(F82K)-Fc는 GDF11보다는 BMP9에 대해 이들의 친화력이 훨씬 더 감소되는 것을 보여주었다. 25° C에서 분석한 추가적인 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 결과는 도 18에 나와 있다.
- [1835] 이러한 결과들로부터 K55A, K55E, F82I 및 F82K 치환은 액티빈 A 또는 GDF11에 대한 ActRIIB 친화도를 감소시키는 것보다 BMP9에 대한 ActRIIB 결합 친화도를 감소시킨다는 것이 확인되었다. 따라서, 이들 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드는 그러한 선택적 길항 작용이 유리한 특정 응용 분야에서 변형안된 ActRIIB-Fc 폴리펩티드보다 더 유용할 수 있다. 실시예들에는 BMP9의 길항성을 감소시키면서, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8 및 GDF11중 하나 또는 그 이상의 길항성을 유지시키는 것이 바람직한 치료요법적 적용들이 내포된다.
- [1836] 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드의 활성을 결정하기 위해, A204 세포-기반 분석을 사용하여 액티빈 A, 액티빈 B, GDF11 및 BMP9에 의한 신호전달에 있어서, 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드 간의 효과를 비교했다. 간략하게, 이 검정은 형질감염 효율을 제어하기 위해, 근육으로부터 파생된 인간 A204 횡문근육종 세포주 (ATCC®: HTB-82™)

및 리포터 벡터 pGL3(CAGA)12 (Dennler *et al.*, 1998, EMBO 17: 3091-3100) 뿐만 아니라 Renilla 리포터 플라스미드 (pRLCMV)를 이용한다. CAGA12 모티프는 TGF- β 반응성 유전자 (가령, PAI-1 유전자)에 존재하며, 따라서 이 벡터는 액티빈 A, GDF11, 및 BMP9를 비롯한 Smad2/3을 통한 신호전달할 수 있는 리간드용으로 일반적으로 사용된다.

[1837] 1일차에, A-204 세포를 하나 또는 그 이상의 48-웰 플레이트로 옮겼다. 2일차에, 이들 세포를 10 μ g pGL3(CAGA)12 또는 pGL3(CAGA)12(10 μ g) + pRLCMV(1 μ g) 및 Fugene으로 형질감염시켰다. 3일차에, 0.1% BSA를 함유하는 배지에서 희석된 리간드를 세포에 첨가하기-전, 1시간 동안 ActRIIB-Fc 폴리펩티드와 함께 사전-향은 처리하였다. 대략적으로 6시간 후, 세포는 PBS로 행구고, 그리고 용해된다. 세포 용해물을 루시퍼라제 분석에서 분석하여, Smad 활성화 정도를 결정했다.

[1838] 이 검정을 이용하여, 액티빈 A, GDF11, 및 BMP9에 의한 세포 신호전달에 있어서 억제 효과에 대해 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드를 스크리닝하였다. 인간 ActRIIB 세포의 도메인에서 아미노산 치환들이 통합된 동형이량체 Fc 융합 폴리펩티드들의 잠재력은 변형안된 인간 ActRIIB 세포의 도메인의 Fc 융합 폴리펩티드의 잠재력과 비교되었다.

표 11: 동형이량체 ActRIIB-Fc 구조체들의 억제 효능			
ActRIIB 폴리펩티드	IC ₅₀ (ng/mL)		
	액티빈 A	GDF11	BMP9
야생형	8	9	31
A24N	128	99	409
R40A	---	591	1210
E50K	132	180	721
E50P	756	638	~3000
E52A	198	71	359
E52K	762	296	~10000
K55A	15	11	122
K55D	396	365	5500
K55E	19	14	290
K55R	206	318	777
Y60K	---	414	ND
Y60P	---	544	ND
K74R	---	45	165
K74Y	---	ND	ND
K74A / L79P	---	ND	ND
L79K	---	477	ND
L79P	---	ND	ND
L79R	---	234	ND
D80A	---	ND	ND
F82I	11	9	277
F82K	10	15	~5000
F82W	---	276	ND
F82W / N83A	---	389	~40000
V99E	---	ND	ND
V99K	---	ND	---
ND: 테스트된 농도 범위에서 값이 감지할 수 없음.			
--- 테스트되지 않음			

[1839]

[1840] 위의 표에서 볼 수 있듯이, ActRIIB 세포의 도메인의 단일 아미노산 치환은 세포 기반 리포터 유전자 분석에서 액티빈 A 또는 GDF11 억제와 BMP9 억제 사이의 균형을 변경할 수 있다. 변형안된 ActRIIB 세포의 도메인을 함유

하는 융합 폴리펩티드와 비교하였을 때, 상기 변이체 ActRIIB(K55A)-Fc, ActRIIB(K55E)-Fc, ActRIIB(F82I)-Fc, 및 ActRIIB(F82K)-Fc는 액티빈 A 및 GDF11의 억제에 기본적으로 감소되지 않은 상태를 유지하면서, BMP9 (증가된 IC₅₀ 값)의 잠재적 억제는 다소 적은 것으로 나타났다. 이들 결과에서, 변이체 ActRIIB-Fc 폴리펩티드, 이를테면, ActRIIB(K55A)-Fc, ActRIIB(K55E)-Fc, ActRIIB(F82I)-Fc, 및 ActRIIB(F82K)-Fc는 변형안된 ActRIIB 세포의 도메인을 포함하는 Fc 융합 폴리펩티드와 비교하였을 때, 액티빈 A 및 GDF11의 선택성이 더 큰 길항제임을 나타냈다. 따라서, 이들 변이체들은 그러한 선택적 길항 작용이 유리한 특정 응용 분야에서 ActRIIB-Fc보다 더 유용할 수 있다. 실시예들에는 BMP9 및 잠재적으로 BMP10의 길항성을 감소시키면서, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8 및 GDF11중 하나 또는 그 이상의 길항성을 유지시키는 것이 바람직한 치료요법적 적용들이 내포된다.

[1841] 실시예 10. ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체의 생성

[1842] 출원인은 변형안된 인간 ActRIIB의 세포의 도메인과 위치 79에서 류신-에서-글루탐산염 치환을 갖는 인간 ActRIIB을 포함하는 가용성 ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이종체 복합체 생성을 상상하였고, 이것은 각각 상기 세포의 도메인과 G1Fc 도메인 사이에 위치한 링커를 갖는 G1Fc 도메인에 각각 별도로 융합되어 있다. 개별 구조체는 차례로 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드로 지칭되며, 이들 각 서열은 하기에서 제시된다.

[1843] ActRIIB-Fc 또는 ActRIIB(L79E)-Fc 동형이량체 복합체와 반대로, ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이종 복합체의 형성을 촉진하는 방법은 비대칭 이형화학적 복합체 형성을 유도하기 위하여 Fc 도메인의 아미노산 서열에 변경을 도입시키는 것이다. Fc 도메인을 이용하여 비대칭 상호작용 짝을 만드는 많은 상이한 방법들이 본 명세서에서 설명된다.

[1844] 한 가지 방법에서, 차례로 서열 식별 번호: 43-45 및 46-48의 ActRIIB(L79E)-Fc 및 ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열에서 설명된 바와 같이, 하나의 Fc 도메인이 상호작용 면에 있는 양이온 아미노산을 도입시키도록 변경되고, 한편 또다른 Fc 도메인은 이 상호작용 면에 음이온 아미노산을 도입시키도록 변경된다. 상기 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드와 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 각각 TPA 리더 (서열 식별 번호: 8)을 이용한다.

[1845] 상기 ActRIIB(L79E)-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 43)은 하기에 나타낸다:

[1846] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS

[1847] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWEDDFNC YDRQECVATE

[1848] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPTAPT GGGTHTCPPC

[1849] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV

[1850] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP

[1851] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV

[1852] 301 EWESNGQPEN NYDTTPPVLD SDGSFFLYSD LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH

[1853] 351 EALHNHYTQK SLSLSPG (서열 식별 번호: 43)

[1854] 리더 (신호) 서열과 링커 서열을 밑줄로 표시되며, L79E 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환(리신을 산성 아미노산으로 대체함)이 ActRIIB 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단에 리신이 추가된, 서열 식별 번호: 43의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[1855] ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 44)에 의해 인코딩될 수 있다:

[1856] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC

[1857] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG

[1858] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC

[1859] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC

[1860] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT

- [1861] 251 GGGAAGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [1862] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
- [1863] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
- [1864] 401 CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1865] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA
- [1866] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1867] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1868] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1869] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1870] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1871] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1872] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1873] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1874] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACGACA CCACGCCTCC
- [1875] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT CTATAGCGAC CTCACCGTGG
- [1876] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1877] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1878] 1101 T (서열 식별 번호: 44)
- [1879] 상기 성숙 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 45)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로 부터 리신이 제거된 것으로 제공될 수 있다.
- [1880] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1881] 51 IELVKKGWE DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1882] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1883] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1884] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1885] 251 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYDTT PPVLDSDGSF
- [1886] 301 FLYSDLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PG
- [1887] (서열 식별 번호: 45)
- [1888] ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 46)의 상보성 형태는 다음과 같다:
- [1889] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1890] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [1891] 101 ENPQVVFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1892] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1893] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1894] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRKEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [1895] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLK SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH

- [1896] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 46)
- [1897] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 서열 식별 번호: 43 및 45의 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드와 함께 이형이량체 형성을 유도하기 위하여, 2개의 아미노산 치환 (글루탄산염과 아스파르트산염을 리신으로 대체)이 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 46의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1898] ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 (서열 식별 번호: 47)에 의해 인코딩될 수 있다:
- [1899] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [1900] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
- [1901] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
- [1902] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
- [1903] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
- [1904] 251 GGCTAGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [1905] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
- [1906] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
- [1907] 401 CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [1908] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAAA
- [1909] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [1910] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [1911] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [1912] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [1913] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [1914] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [1915] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGAA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [1916] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [1917] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [1918] 951 CGTGCTGAAG TCCGACGGCT CCTTCTTCTT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [1919] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [1920] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [1921] 1101 TAAA (서열 식별 번호: 47)
- [1922] 상기 성숙 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 48)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 것으로 제공될 수 있다:
- [1923] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1924] 51 IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1925] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1926] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1927] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [1928] 251 RKEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLKSDGSF

- [1929] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HTQKSLSL PGK
- [1930] (서열 식별 번호: 48)
- [1931] 차례로 서열 식별 번호: 45 및 서열 식별 번호: 48의 ActRIIB(L79E)-Fc 및 ActRIIB-Fc 폴리펩티드는 CHO 세포 계에서 공동-발현되고, 정제되어, ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc를 포함하는 이형화학적 폴리펩티드 복합체가 생성될 수 있다.
- [1932] 비대칭 Fc 융합 폴리펩티드를 이용한 이형다량체 복합체들의 형성을 촉진시키는 또다른 방법에서, 차례로 서열 식별 번호: 49-50 및 51-52의 ActRIIB(L79E)-Fc and ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열에서 설명된 바와 같이, 상보적 소수성 상호작용과 추가적인 분자간 이황화결합을 도입하도록 Fc 도메인이 변경될 수 있다. 상기 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드와 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 각각 TPA 리더 (서열 식별 번호: 8)을 이용한다. ActRIIB(L79E)-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 49)은 하기에 나타낸다:
- [1933] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1934] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWEDDFNC YDRQECVATE
- [1935] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1936] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1937] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1938] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV
- [1939] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSMH
- [1940] 351 EALHNHYTQK SLSLSPG (서열 식별 번호: 49)
- [1941] 상기 신호 서열과 링커 서열을 굵은 밑줄로 표시되며, L79E 치환은 이중 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (세린을 시스테인으로, 그리고 트레오닌을 트립토판으로 대체)이 상기 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단에 리신이 추가된, 서열 식별 번호: 49의 아미노산 서열이 제공될 수 있다. 성숙 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 50)은 다음과 같다:
- [1942] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1943] 51 IELVKKGWE DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1944] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1945] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1946] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPC
- [1947] 251 REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1948] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HTQKSLSL PG
- [1949] (서열 식별 번호: 50)
- [1950] 상보적 형태의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 51) 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [1951] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [1952] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [1953] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [1954] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [1955] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [1956] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVC TLPPSREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAV

- [1957] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLVSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [1958] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 51)
- [1959] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 서열 식별 번호: 49-50의 ActRIIB(L79E)-Fc 융합 폴리펩티드와 함께 이형이량체 형성을 유도하기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 4개의 아미노산 치환(티로신은 시스테인으로, 트레오닌은 세린으로, 류신은 알라닌으로, 그리고 티로신은 발린으로 대체됨)이 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 51의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [1960] 상기 성숙 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 서열은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 것으로 제공될 수 있다.
- [1961] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [1962] 51 IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [1963] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [1964] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [1965] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVCTLPPS
- [1966] 251 REEMTKNQVS LSCAVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [1967] 301 FLVSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [1968] (서열 식별 번호: 52)
- [1969] 차례로 서열 식별 번호: 50 및 서열 식별 번호: 52의 ActRIIB(L79E)-Fc 및 ActRIIB-Fc 폴리펩티드는 CHO 세포 계에서 공동-발현되고, 정제되어, ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc을 포함하는 이형화학적 폴리펩티드 복합체가 생성될 수 있다.
- [1970] 다양한 ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 복합체들의 정제는 다음중 3개 또는 그 이상이 임의의 순서로 포함된 일련의 컬럼 크로마토그래피에 의해 실행될 수 있다: 단백질 A 크로마토그래피, Q 세파로즈 크로마토그래피, 페닐세파로즈 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피, 다중 모드 크로마토그래피(예: 정전기 및 소수성 리간드를 모두 포함하는 수지 사용), 및 에피토프 기반 친화성 크로마토그래피(가령, ActRIIB의 에피토프에 대항하도록 지향된 항체 또는 기능적으로 동등한 리간드를 사용). 상기 정제는 바이러스 여과 및 완충액 교환으로 완성될 수 있다.
- [1971] 실시예 11. ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형체(Heteromer)의 리간드 결합 프로파일
- [1972] ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체의 리간드 결합 동역학과 변형안된 ActRIIB-Fc 동형이량체의 리간드 결합 동역학을 비교하기 위해, Biacore™ 기반 결합 분석을 사용하였다. 융합 단백질을 항-Fc 항체를 사용하여 시스템에 독립적으로 포집하였다. 그 다음, 37° C에서 포획된 수용체 단백질을 위로 리간드를 주입되어 흐르도록 하였다. 결과는 아래 표에 요약되어 있고, 효과적인 리간드 트랩의 리간드 해리속도(k_d)는 굵게 나타낸다.

표 12 37°C에서 ActRII-Fc 동형이량체와 비교하여, ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체의 리간드 결합						
리간드	ActRIIB-Fc 동형이량체			ActRIIB-Fc:ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
액티빈 A	7.4×10^6	1.9×10^{-4}	25	8.8×10^6	1.5×10^{-3}	170
액티빈 B	8.1×10^6	6.6×10^{-5}	8	8.3×10^6	2.1×10^{-4}	25
GDF3	1.4×10^6	2.2×10^{-3}	1500	5.8×10^5	5.9×10^{-3}	10000
GDF8	3.8×10^6	2.6×10^{-4}	70	3.4×10^6	5.0×10^{-4}	150
GDF11	4.1×10^7	1.7×10^{-4}	4	4.0×10^7	3.6×10^{-4}	9
BMP6	1.3×10^8	7.4×10^{-3}	56	3.3×10^8	1.8×10^{-2}	56
BMP9	5.0×10^6	1.3×10^{-3}	250	일과성*		>2800
BMP10	5.1×10^7	2.0×10^{-4}	4	4.8×10^7	2.0×10^{-3}	42
* 상호 작용의 일시적인 특성으로 인해 불확실함						

[1973]

[1974]

이 실시예에서, 2개의 ActRIIB 폴리펩티드 쇠 중 하나에서 단일 아미노산 치환은 비변형 ActRIIB-Fc 동형이량체에 비해 Fc-융합 폴리펩티드의 리간드 결합 선택성을 변경시켰다. ActRIIB-Fc 동형이량체와 비교하였을 때, 상기 ActRIIB(L79E)-Fc 이형이량체는 액티빈 B, GDF8, GDF11, 및 BMP6에 대해 높은-친화력 결합을 대개 유지하였지만, 그러나 액티빈 A 및 BMP10에 대해 약 10-배 더 빠른 해리율과 BMP9에 대한 결합 강도의 훨씬 더 큰 감소를 나타냈다. 따라서, 변이체 ActRIIB-Fc 이형체는 그러한 선택적 길항 작용이 유리한 특정 응용 분야에서 변형 안된 ActRIIB-Fc 동형이량체보다 더 유용할 수 있다. 실시예들에는 액티빈 A, BMP9, 또는 BMP10.9의 길항성을 감소시키면서, 액티빈 B, GDF8, GDF11, 및 BMP6중 하나 또는 그 이상의 길항성을 유지시키는 것이 바람직한 치료요법적 적용들이 내포된다. ActRIIB 돌연변이체의 생성:

[1975]

ActRIIB의 세포외 도메인에서 일련의 돌연변이가 생성되었고, 이러한 돌연변이 폴리펩티드는 세포외 ActRIIB와 Fc 도메인 사이의 가용성 융합 폴리펩티드로 생성되었다. 액티빈과 세포외 ActRIIB의 공-결정(co-crystal) 구조는 리간드 결합에서 세포외 도메인의 최종(C-말단) 15개 아미노산(본원에서 "꼬리"로 지칭됨)에 대한 어떠한 역할도 나타내지 않았다. 이 서열은 결정 구조에서 해결되지 않았으며, 이는 이러한 잔류물이 결정에 균일하게 패킹되지 않은 유연한 루프에 존재함을 암시한다. Thompson EMBO J. 2003 Apr 1;22(7):1555-66. 이 서열은 ActRIIB와 ActRIIA 사이에서도 잘 보존되지 않는다. 따라서, 이러한 잔기들은 기본 구조체 또는 배경 ActRIIB-Fc 융합 구조체에서 생략되었다. 추가적으로, 이 실시예에서 배경 형태의 위치(64)는 알라닌에 의해 점유된다. 따라서, 이 실시예에서 배경 ActRIIB-Fc 융합체는 하기 서열 (밑줄친 Fc 부분)(서열 식별 번호: 54)을 갖는다:

[1976]

SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLGERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAG
GGTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPVPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1977]

놀랍게도 아래에서 설명하는 것처럼, C-말단 꼬리는 액티빈과 GDF-11 결합을 강화시키는 것으로 밝혀졌고, 따라서 ActRIIB-Fc의 선호되는 형태는 서열 (밑줄친 Fc 부분)(서열 식별 번호: 55)을 보유한다:

[1978]

SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLGERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAG
GPEVTYEPPTAPTGGTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1979]

다양한 돌연변이들이 상기 배경 ActRIIB-Fc 폴리펩티드로 도입되었다. 돌연변이는 PCR 돌연변이 유발에 의해 ActRIIB 세포외 도메인에서 생성되었다. PCR 후, 단편을 Qiagen 컬럼으로 정제하였고, SfoI 및 AgeI로 분해하고, 겔 정제하였다. 이러한 단편은 발현 벡터 pAID4에 결합시켜, 결합될 때, 인간 IgG1과 융합 키메라를 생성되었다. DNA들이 단리되었다. 모든 돌연변이체는 일시적인 형질 감염에 의해 HEK293T 세포에서 생산되었다.

요약하면, 500ml 스피너에서 HEK293T 세포는 250ml 부피의 Freestyle (Invitrogen) 배지에서 6×10^5 세포/ml로 셋업하고, 하룻밤 동안 성장시켰다. 다음날, 이들 세포를 0.5ug/ml의 최종 DNA 농도에서 DNA : PEI (1 : 1) 복합체로 처리하였다. 4 시간 후, 250 ml 배지를 첨가하고, 세포를 7 일 동안 성장시켰다. 세포를 회전시켜 가라앉힘으로써, 농축된 배지를 수확하고 농축시켰다.

[1980] 모든 돌연변이체는 단백질 A에 걸쳐 정제되었고, 낮은 pH (3.0) 글리신 완충액으로 용리되었다. 중화시킨 후, PBS로 이들을 투석하였다.

[1981] 돌연변이체도 유사한 방법으로 CHO 세포에서 생산되었다.

[1982] 돌연변이체는 아래에 설명된 결합 분석 및 생물학적 분석에서 테스트되었다. CHO 세포 및 HEK293 세포에서 발현된 단백질은 결합 검정 및 생물학적 검정에서 구별할 수 없었다.

[1983] 실시예 12: ActRIIB-ALK4 이형이량체의 생성

[1984] 인간 ActRIIB 및 인간 ALK4의 세포외 도메인을 포함하는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체 복합체를 작제하였으며, 상기 세포외 도메인 각각은 이 세포외 도메인과 Fc 도메인 사이에 위치한 링커와 함께, 각각 별도로 Fc 도메인에 융합되어 있다. 개별 구조체는 차례로 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드로 지칭되며, 이들 각 서열은 하기에서 제시된다.

[1985] ActRIIB-Fc 또는 ALK4-Fc 동형이량체 복합체와 반대로, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체 복합체의 형성을 촉진하는 방법은 비대칭 이형화학적 복합체 형성을 유도하기 위하여 Fc 도메인의 아미노산 서열에 변경을 도입시키는 것이다. Fc 도메인을 이용하여 비대칭 상호작용 짝을 만드는 많은 상이한 방법들이 본 명세서에서 설명된다.

[1986] 한 가지 방법에서, 차례로 서열 식별 번호: 396 및 398, 그리고 서열 식별 번호: 88 및 89의 ActRIIB-Fc 및 ALK4-Fc 폴리펩티드 서열에서 설명된 바와 같이, 하나의 Fc 도메인이 상호작용 면에 있는 양이온 아미노산을 도입시키도록 변경되고, 한편 또다른 Fc 도메인은 이 상호작용 면에 음이온 아미노산을 도입시키도록 변경된다. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 및 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 각각 조직 플라즈미노겐 활성화자 (TPA) 리더를 이용한다:

[1987] ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 396)은 하기에 나타낸다:

[1988] 1 MDAMKRLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS

[1989] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE

[1990] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC

[1991] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV

[1992] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP

[1993] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRKEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV

[1994] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLK SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH

[1995] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 396)

[1996] 리더 (신호) 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (산성 아미노산이 리신으로 대체됨)이 ActRIIB 융합 단백질의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신 (K)이 제거된, 서열 식별 번호: 396의 아미노산 서열이 제공된다.

[1997] 이 ActRIIB-Fc 융합 단백질은 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 397)에 의해 인코딩된다:

[1998] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC

[1999] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG

[2000] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC

[2001] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC

[2002]	201	CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
[2003]	251	GGCTAGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
[2004]	301	GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
[2005]	351	GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
[2006]	401	CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
[2007]	451	CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA
[2008]	501	ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
[2009]	551	TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
[2010]	601	GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
[2011]	651	CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
[2012]	701	GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
[2013]	751	GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
[2014]	801	ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGAA GGAGATGACC AAGAACCAGG
[2015]	851	TCAGCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
[2016]	901	GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
[2017]	951	CGTGCTGAAG TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
[2018]	1001	ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
[2019]	1051	GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
[2020]	1101	TAAA (서열 식별 번호: 397)
[2021]	상속 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 398)은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신(K)이 제거된다.	
[2022]	1	GRGEAETREC IYNNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
[2023]	51	IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
[2024]	101	GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
[2025]	151	RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
[2026]	201	VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
[2027]	251	RKEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLKSDGSF
[2028]	301	FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
[2029]	(서열 식별 번호: 398)	
[2030]	상보적 형태의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 88)은 다음과 같다:	
[2031]	1	<u>MDAMKRLCC VLLLCGAVFV</u> SPGASGPRGV QALLCACTSC LQANYTCETD
[2032]	51	GACMVSIFNL DGMEHHVRTC IPKVELVPAG KPFYCLSSD LRNTHCCYTD
[2033]	101	YCNRIDLRVP SGHLKEPEHP SMWGPVETGG <u>GTHTCPPCPA</u> PELLGGPSVF
[2034]	151	LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
[2035]	201	REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKALPAP IEKTISKAKG
[2036]	251	QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY

- [2037] 301 DTTTPVLDSG GSFFLYSDLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL
- [2038] 351 SLSPG (서열 식별 번호: 88)
- [2039] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 상기 서열 식별 번호: 396 및 398의 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 함께 이형이량체 형성을 유도하기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (리신이 아스파르트산으로 대체됨)이 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단에 리신(K)이 추가된, 서열 식별 번호: 88의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [2040] ALK4-Fc 융합 단백질은 다음 핵산 (서열 식별 번호: 243)에 의해 인코딩된다:
- [2041] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [2042] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCCGGGCC CCGGGGGGTC CAGGCTCTGC
- [2043] 101 TGTGTGCGTG CACCAGCTGC CTCCAGGCCA ACTACACGTG TGAGACAGAT
- [2044] 151 GGGGCCTGCA TGGTTTCCAT TTCAATCTG GATGGGATGG AGCACCATGT
- [2045] 201 GCGCACCTGC ATCCCCAAAG TGGAGCTGGT CCCTGCCGGG AAGCCCTTCT
- [2046] 251 ACTGCCTGAG CTCGGAGGAC CTGCGCAACA CCCACTGCTG CTACACTGAC
- [2047] 301 TACTGCAACA GGATCGACTT GAGGGTGCCC AGTGGTCACC TCAAGGAGCC
- [2048] 351 TGAGCACCCG TCCATGTGGG GCGCGGTGGA GACCGGTGGT GGAACCTACA
- [2049] 401 CATGCCCCACC GTGCCAGCA CCTGAACTCC TGGGGGGACC GTCAGTCTTC
- [2050] 451 CTCTTCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCTGA
- [2051] 501 GGTACATGC GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA CGAAGACCCT GAGGTCAAGT
- [2052] 551 TCAACTGGTA CGTGGACGGC GTGGAGGTGC ATAATGCCAA GACAAAGCCG
- [2053] 601 CGGGAGGAGC AGTACAACAG CACGTACCGT GTGGTCAGCG TCCTCACCGT
- [2054] 651 CCTGCACCAG GACTGGCTGA ATGGCAAGGA GTACAAGTGC AAGGTCTCCA
- [2055] 701 ACAAAGCCCT CCCAGCCCC ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AGCCAAAGGG
- [2056] 751 CAGCCCCGAG AACCACAGGT GTACACCCTG CCCCATCCC GGGAGGAGAT
- [2057] 801 GACCAAGAAC CAGGTCAGCC TGACCTGCCT GGTCAAAGGC TTCTATCCCA
- [2058] 851 GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCAATG GGCAGCCGGA GAACAACAC
- [2059] 901 GACACCACGC CTCCCGTGCT GGAATCCGAC GGCTCCTTCT TCCTCTATAG
- [2060] 951 CGACCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT
- [2061] 1001 GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC
- [2062] 1051 TCCCTGTCTC CGGT (서열 식별 번호: 243)
- [2063] 성숙 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 89)는 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단에 리신(K)이 추가된 것이 제공될 수 있다.
- [2064] 1 SGPRGVQALL CACTSCLQAN YTCETDGACM VSIFNLDGME HHVRTCIPKV
- [2065] 51 ELVPAGKPFY CLSSEDLRNT HCCYTDYCNR IDLRVPSGHL KEPEHPSMWG
- [2066] 101 PVETGGGTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
- [2067] 151 VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN
- [2068] 201 GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL
- [2069] 251 TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYDTTP PVLDSGDSFF LYSDLTVDKS

- [2070] 301 RWQQGNVFS SVMHEALHNH YTKSLSLSP G (서열 식별 번호: 89)
- [2071] 차례로 서열 식별 번호: 398 및 서열 식별 번호:89의 ActRIIB-Fc 및 ALK4-Fc 단백질은 CHO 세포계에서 공동-발현되고, 정제되어, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc을 포함하는 이형화결합 복합체가 생성될 수 있다.
- [2072] 비대칭 Fc 융합 단백질을 이용한 이형다량체 복합체들의 형성을 촉진시키는 또다른 방법에서, 차례로 서열 식별 번호: 402 및 403, 그리고 서열 식별 번호: 92 및 93의 ActRIIB-Fc 및 ALK4-Fc 폴리펩티드 서열에서 설명된 바와 같이, 상보적 소수성 상호작용과 추가적인 분자간 이황화결합을 도입하도록 Fc 도메인이 변경된다. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 및 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 각각 조직 플라즈미노겐 활성화자 (TPA) 리더를 이용한다: MDAMKRG LCCVLLLCGAVFVSP (서열 식별 번호: 8).
- [2073] ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 402)은 하기에 나타낸다:
- [2074] 1 MDAMKRG LCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [2075] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [2076] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [2077] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [2078] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [2079] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV
- [2080] 301 EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [2081] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 402)
- [2082] 리더 (신호) 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (세린을 시스테인으로, 그리고 트레오닌을 트립토판으로 대체)이 상기 융합 단백질의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의 선택적으로 C-말단으로부터 리신 (K)이 제거된, 서열 식별 번호: 402의 아미노산 서열이 제공된다.
- [2083] 성숙 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 다음과 같다:
- [2084] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [2085] 51 IELVKKGCWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [2086] 101 GGPEVTYEPP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [2087] 151 RTEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTPREE QYNSTYRVVS
- [2088] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPC
- [2089] 251 REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GPENNYKTT PPVLDSGDSF
- [2090] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [2091] (서열 식별 번호: 403)
- [2092] 상보적 형태의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 92) 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신(K)이 제거될 수 있다.
- [2093] 1 MDAMKRG LCC VLLLCGAVFV SPGASGPRGV QALLCACTSC LQANYTCETD
- [2094] 51 GACMVSIFNL DGMEHHVRTC IPKVELVPAG KPFYCLSSD LRNTHCCYTD
- [2095] 101 YCNRIDLRVP SGHLKEPEHP SMWGPVETGG GTHTCPPCPA PELLGGPSVF
- [2096] 151 LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
- [2097] 201 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSINKALPAP IEKTISKAKG
- [2098] 251 QPREPQVCTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNQGPENNY

- [2099] 301 KTTTPVLDSG GSFFLVSKLT VDKSRWQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL
- [2100] 351 SLSPGK (서열 식별 번호: 92)
- [2101] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 상기 서열 식별 번호: 402 및 40의 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 함께 이형이량체 형성을 유도하기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 4개의 아미노산 치환이 ALK4 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신 (K)이 제거된, 서열 식별 번호: 92의 아미노산 서열이 제공된다.
- [2102] 성숙 ALK4-Fc 융합 단백질 서열은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신(K)이 제거된 것이 제공될 수 있다.
- [2103] 1 SGPRGVQALL CACTSCLQAN YTCETDGACM VSIFNLDGME HHVRTCIPKV
- [2104] 51 ELVPAGKPFY CLSSEDLRNT HCCYTDYCNR IDLRVPSGHL KEPEHPSMWG
- [2105] 101 PVETGGGTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
- [2106] 151 VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN
- [2107] 201 GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVCTLPPSR EEMTKNQVSL
- [2108] 251 SCAVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSGDSFF LVSKLTVDKS
- [2109] 301 RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK (서열 식별 번호: 93)
- [2110] 차례로 서열 식별 번호: 403 및 서열 식별 번호: 93의 ActRIIB-Fc 및 ALK4-Fc 단백질은 CHO 세포계에서 공동-발현되고, 정제되어, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc을 포함하는 이형화학적 복합체가 생성될 수 있다.
- [2111] 다양한 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 복합체들의 정제는 다음중 3개 또는 그 이상이 임의의 순서로 포함된 일련의 컬럼 크로마토그래피에 의해 실행될 수 있다: 단백질 A 크로마토그래피, Q 세파로즈 크로마토그래피, 페닐세파로즈 크로마토그래피, 크기 압출 크로마토그래피, 및 양이온 교환 크로마토그래피. 상기 정제는 바이러스 여과 및 완충액 교환으로 완성될 수 있다.
- [2112] 비대칭 Fc 융합 단백질을 이용한 이형다량체 복합체들의 형성을 촉진시키는 또다른 방법에서, 상보적 소수성 상호작용과 추가적인 분자간 이황화결합을 도입하고, 그리고 분자 순(net) 전하에 기반한 정제를 용이하게 하기 위한 두 개 Fc 도메인 간의 정전기적 차이를 도입하기 위해, 차례로, 서열 식별 번호: 118-121 및 122-125의 ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열과 ALK4-Fc 폴리펩티드 서열에서 도시된 바와 같이, 상기 Fc 도메인이 변경된다. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 및 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 각각 조직 플라스미노겐 활성화자 (TPA) 리더를 이용한다:
- [2113] ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 406)은 하기에 나타낸다:
- [2114] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYNA NWELERTNQS
- [2115] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [2116] 101 ENPQVVFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [2117] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [2118] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [2119] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCREEMT ENQVSLWCLV KGFYPSDIAV
- [2120] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [2121] 351 EALHNHYTQD SLSLSPG (서열 식별 번호: 406)
- [2122] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (세린을 시스테인으로, 그리고 트레오닌을 트립토판으로 대체)이 상기 융합 단백질의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 정제를 촉진시키기 위해, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 두 개 아미노산 치환 (리신을 산성 아미노산으로 대체함)이 해당 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 또한 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단에

리신이 추가된, 서열 식별 번호: 118의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[2123] 이 ActRIIB-Fc 융합 단백질은 다음의 핵산 (서열 식별 번호: 407)에 의해 인코딩된다:

[2124] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [2125] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
 [2126] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
 [2127] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
 [2128] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
 [2129] 251 GGCTAGATGA CTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
 [2130] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
 [2131] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
 [2132] 401 CACCCCGAC AGCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 [2133] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAAA
 [2134] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 [2135] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 [2136] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 [2137] 651 CAACAGCAGC TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCTG CACCAGGACT
 [2138] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
 [2139] 751 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 [2140] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATGCCGGGA GGAGATGACC GAGAACCAGG
 [2141] 851 TCAGCCTGTG GTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
 [2142] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAAG AACTACAAGA CCACGCCTCC
 [2143] 951 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
 [2144] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 [2145] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGGAC AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 [2146] 1101 T (서열 식별 번호: 407)

[2147] 상기 성숙 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 다음과 같고 (서열 식별 번호: 408), 그리고 임의선택적으로 C-말단으
 로부터 리신이 제거된 것으로 제공될 수 있다.

[2148] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
 [2149] 51 IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
 [2150] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 [2151] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 [2152] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPC
 [2153] 251 REEMTENQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 [2154] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HYTQDSL SLS PG

(서열 식별 번호: 408)

[2156] 이 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 (서열 식별 번호: 409)에 의해 인코딩된다:

- [2157] 1 GGGCGTGGGG AGGCTGAGAC ACGGGAGTGC ATCTACTACA ACGCCAAC TG
- [2158] 51 GGAGCTGGAG CGCACCAACC AGAGCGGCCT GGAGCGCTGC GAAGGCGAGC
- [2159] 101 AGGACAAGCG GCTGCACTGC TACGCCTCCT GGC GCAACAG CTCTGGCACC
- [2160] 151 ATCGAGCTCG TGAAGAAGGG CTGTGGCTA GATGACTTCA ACTGCTACGA
- [2161] 201 TAGGCAGGAG TGTGTGGCCA CTGAGGAGAA CCCCCAGGTG TACTTCTGCT
- [2162] 251 GCTGTGAAGG CAACTTCTGC AACGAGCGCT TCACTCATTT GCCAGAGGCT
- [2163] 301 GGGGGCCCGG AAGTCACGTA CGAGCCACCC CCGACAGCCC CCACCGGTGG
- [2164] 351 TGGAAC TAC ACATGCCAC CGTGCC CAGC ACCTGAACTC CTGGGGGGAC
- [2165] 401 CGTCAGTCTT CCTCTTCCCC CAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC
- [2166] 451 CGGACCCCTG AGGTCACATG CGTGGTGGTG GACGTGAGCC ACGAAGACCC
- [2167] 501 TGAGGTCAAG TTCAACTGGT ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA
- [2168] 551 AGACAAAGCC GCGGGAGGAG CAGTACAACA GCACGTACCG TGTGGTCAGC
- [2169] 601 GTCCTCACCG TCCTGCACCA GGA CTGGCTG AATGGCAAGG AGTACAAGTG
- [2170] 651 CAAGGTCTCC AACAAAGCCC TCCCAGCCCC CATCGAGAAA ACCATCTCCA
- [2171] 701 AAGCCAAAGG GCAGCCCCGA GAACCACAGG TGTACACCCT GCCCCATGC
- [2172] 751 CGGGAGGAGA TGACCGAGAA CCAGGTCAGC CTGTGGTGCC TGGTCAAAGG
- [2173] 801 CTTCTATCCC AGCGACATCG CCGTGGAGTG GGAGAGCAAT GGGCAGCCGG
- [2174] 851 AGAACAACTA CAAGACCACG CCTCCCGTGC TGGACTCCGA CGGCTCCTTC
- [2175] 901 TTCCTCTATA GCAAGCTCAC CGTGGACAAG AGCAGGTGGC AGCAGGGGAA
- [2176] 951 CGTCTTCTCA TGCTCCGTGA TGCATGAGGC TCTGCACAAC CACTACACGC
- [2177] 1001 AGGACAGCCT CTCCCTGTCT CCGGGT (서열 식별 번호: 409)
- [2178] 상보적 형태의 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 247) 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [2179] 1 MDAMKRG LCC VLLLCGAVFV SPGASGPRGV QALLCACTSC LQANYTCETD
- [2180] 51 GACMVSIFNL DGMEHHVRTC IPKVELVPAG KPFYCLSSD LRNTHCCYTD
- [2181] 101 YCNRIDLRVP SGHLKEPEHP SMWGPVETGG GTHTCPPCPA PELLGGPSVF
- [2182] 151 LFPPKPKD TL MISRTPEVTC VVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
- [2183] 201 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKALPAP IEKTISKAKG
- [2184] 251 QPREPQVCTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESRQPENNY
- [2185] 301 KTTTPVLDSR GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL
- [2186] 351 SLSPGK (서열 식별 번호: 247)
- [2187] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 상기 서열 식별 번호: 406 및 408의 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 함께 이형이량체 형성을 유도하기 위하여, 4개 아미노산 치환 (티로신을 시스테인으로 대체, 트레오닌을 세린으로 대체, 류신을 알라닌으로 대체, 및 티로신을 발린으로 대체)이 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, ALK4 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 정제를 용이하게 하기 위해, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 2개 아미노산 치환 (아스파라긴을 아르기닌으로 대체하고, 아스파르트산염을 아르기닌으로 대체)이 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 247의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[2188] ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 다음 핵산 (서열 식별 번호: 248)에 의해 인코딩된다:

[2189] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [2190] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCCGGGCC CCGGGGGGTC CAGGCTCTGC
 [2191] 101 TGTGTGCGTG CACCAGCTGC CTCCAGGCCA ACTACACGTG TGAGACAGAT
 [2192] 151 GGGGCCTGCA TGGTTTCCAT TTCAATCTG GATGGGATGG AGCACCATGT
 [2193] 201 GCGCACCTGC ATCCCCAAAG TGGAGCTGGT CCCTGCCGGG AAGCCCTTCT
 [2194] 251 ACTGCCTGAG CTCGGAGGAC CTGCGCAACA CCCACTGCTG CTACACTGAC
 [2195] 301 TACTGCAACA GGATCGACTT GAGGGTGCCC AGTGGTCACC TCAAGGAGCC
 [2196] 351 TGAGACCCG TCCATGTGGG GCCCGGTGGA GACCGGTGGT GGAACACACA
 [2197] 401 CATGCCACCC GTGCCAGCA CCTGAACTCC TGGGGGGACC GTCAGTCTTC
 [2198] 451 CTCTTCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCTGA
 [2199] 501 GGTCACATGC GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA CGAAGACCCT GAGGTCAAGT
 [2200] 551 TCAACTGGTA CGTGGACGGC GTGGAGGTGC ATAATGCCAA GACAAAGCCG
 [2201] 601 CGGGAGGAGC AGTACAACAG CACGTACCGT GTGGTCAGCG TCCTCACCGT
 [2202] 651 CCTGCACCAG GACTGGCTGA ATGGCAAGGA GTACAAGTGC AAGGTCTCCA
 [2203] 701 ACAAAGCCCT CCCAGCCCC ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AGCCAAAGGG
 [2204] 751 CAGCCCCGAG AACCACAGGT GTGCACCCTG CCCCCATCCC GGGAGGAGAT
 [2205] 801 GACCAAGAAC CAGGTACGCC TGTCTGCGC CGTCAAAGGC TTCTATCCCA
 [2206] 851 GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCCGCG GGCAGCCGGA GAACAACACTAC
 [2207] 901 AAGACCACGC CTCCCGTGCT GGAATCCCGC GGCTCCTTCT TCCTCGTGAG
 [2208] 951 CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT
 [2209] 1001 GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC
 [2210] 1051 TCCCTGTCTC CGGGTAAA (서열 식별 번호: 248)

[2211] 성숙 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 서열은 다음과 같고(서열 식별 번호: 249), 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[2212] 1 SGPRGVQALL CACTSCLQAN YTCETDGACM VSIFNLDGME HHVRTCIPKV
 [2213] 51 ELVPAGKPFY CLSEDLRNT HCCYTDYCNR IDLRVPSGHL KEPEHPMSMWG
 [2214] 101 PVETGGGTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
 [2215] 151 VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN
 [2216] 201 GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVCTLPPSR EEMTKNQVSL
 [2217] 251 SCAVKGFYPS DIAVEWESRG QPENNYKTP PVLDSRGSFF LVSKLTVDKS
 [2218] 301 RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTKSLSLSP GK (서열 식별 번호: 249)

[2219] ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 다음 핵산 (서열 식별 번호: 250)에 의해 인코딩된다:

[2220] 1 TCCGGGCCCC GGGGGGTCCA GGCTCTGCTG TGTGCGTGCA CCAGCTGCCT
 [2221] 51 CCAGGCCAAC TACACGTGTG AGACAGATGG GGCCTGCATG GTTCCATTT
 [2222] 101 TCAATCTGGA TGGGATGGAG CACCATGTGC GCACCTGCAT CCCCAGGTG

[2223] 151 GAGCTGGTCC CTGCCGGGAA GCCCTTCTAC TGCCTGAGCT CGGAGGACCT
 [2224] 201 GCGCAACACC CACTGCTGCT AACTGACTA CTGCAACAGG ATCGACTTGA
 [2225] 251 GGGTGCCAG TGGTCACCTC AAGGAGCCTG AGCACCCGTC CATGTGGGGC
 [2226] 301 CCGGTGGAGA CCGGTGGTGG AACTCACACA TGCCACCGT GCCCAGCACC
 [2227] 351 TGAACCTCTG GGGGGACCGT CAGTCTTCCT CTCCCCCA AAACCAAGG
 [2228] 401 ACACCCTCAT GATCTCCCG ACCCCTGAGG TCACATGCGT GGTGGTGGAC
 [2229] 451 GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAAGTTC AACTGGTACG TGGACGGCGT
 [2230] 501 GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG TACAACAGCA
 [2231] 551 CGTACCGTGT GGTACGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA CTGGCTGAAT
 [2232] 601 GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC CAGCCCCCAT
 [2233] 651 CGAGAAAACC ATCTCCAAAG CCAAAGGGCA GCCCCGAGAA CCACAGGTGT
 [2234] 701 GCACCCTGCC CCCATCCCG GAGGAGATGA CCAAGAACCA GGTACGCTG
 [2235] 751 TCCTGCGCCG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG TGGAGTGGGA
 [2236] 801 GAGCCGCGGG CAGCCGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT CCCGTGCTGG
 [2237] 851 ACTCCGCGG CTCCTTCTTC CTCGTGAGCA AGCTACCGT GGACAAGAGC
 [2238] 901 AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC ATGAGGCTCT
 [2239] 951 GCACAACCAC TACACGAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG GGTAAA

[2240] (서열 식별 번호: 250)

[2241] 차례로 서열 식별 번호: 120 및 서열 식별 번호:249의 ActRIIB-Fc 및 ALK4-Fc 단백질은 CHO 세포계에서 공동-발현되고, 정제되어, ALK4-Fc:ActRIIB-Fc을 포함하는 이형화학적 복합체가 생성될 수 있다.

[2242] 특정 구체예들에서, 상기 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 서열 식별 번호: 92 (상기에 나타냄)이며, 이 서열은 본원에서 기술된 특정 Fc 융합 폴리펩티드의 이형이량체 형성을 유도하기 위해 4개 아미노산 치환을 함유하며, 및 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.

[2243] 이런 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 (서열 식별 번호: 251)에 의해 인코딩된다:

[2244] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [2245] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCCGGGCC CCGGGGGGTC CAGGCTCTGC
 [2246] 101 TGTGTGCGTG CACCAGCTGC CTCCAGGCCA ACTACACGTG TGAGACAGAT
 [2247] 151 GGGGCCTGCA TGGTTTCCAT TTCAATCTG GATGGGATGG AGCACCATGT
 [2248] 201 GCGCACCTGC ATCCCCAAAG TGGAGCTGGT CCCTGCCGGG AAGCCCTTCT
 [2249] 251 ACTGCCTGAG CTCGGAGGAC CTGCGCAACA CCCACTGCTG CTACACTGAC
 [2250] 301 TACTGCAACA GGATCGACTT GAGGGTGCCC AGTGGTCACC TCAAGGAGCC
 [2251] 351 TGAGCACCCG TCCATGTGGG GCCCGGTGGA GACCGGTGGT GGAACACACA
 [2252] 401 CATGCCACCC GTGCCAGCA CCTGAACTCC TGGGGGGACC GTCAGTCTTC
 [2253] 451 CTCTTCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCTGA
 [2254] 501 GGTACATGCG GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA CGAAGACCCT GAGGTCAAGT
 [2255] 551 TCAACTGGTA CGTGGACGGC GTGGAGGTGC ATAATGCCAA GACAAAGCCG

- [2256] 601 CGGGAGGAGC AGTACAACAG CACGTACCGT GTGGTCAGCG TCCTCACCGT
- [2257] 651 CCTGCACCAG GACTGGCTGA ATGGCAAGGA GTACAAGTGC AAGGTCTCCA
- [2258] 701 ACAAAGCCCT CCCAGCCCC ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AGCCAAAGGG
- [2259] 751 CAGCCCCGAG AACACACAGT GTGCACCCTG CCCCCATCCC GGGAGGAGAT
- [2260] 801 GACCAAGAAC CAGGTCAGCC TGTCCTGCGC CGTCAAAGGC TTCTATCCCA
- [2261] 851 GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCAATG GGCAGCCGGA GAACAACTAC
- [2262] 901 AAGACCACGC CTCCCGTGCT GGACTCCGAC GGCTCCTTCT TCCTCGTGAG
- [2263] 951 CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT
- [2264] 1001 GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC
- [2265] 1051 TCCCTGTCTC CGGGTAAA (서열 식별 번호: 251)
- [2266] 상기 성숙 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드 서열은 서열 식별 번호: 93 (상기에 나타냄)이며, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거될 수 있다.
- [2267] 이런 ALK4-Fc 융합 폴리펩티드는 다음의 핵산 (서열 식별 번호: 252)에 의해 인코딩된다:
- [2268] 1 TCCGGGCCCC GGGGGTCCA GGCTCTGCTG TGTGCGTGCA CCAGCTGCCT
- [2269] 51 CCAGGCCAAC TACACGTGTG AGACAGATGG GGCCTGCATG GTTTCATTT
- [2270] 101 TCAATCTGGA TGGGATGGAG CACCATGTGC GCACCTGCAT CCCCAAAGTG
- [2271] 151 GAGCTGGTCC CTGCCGGGAA GCCCTTCTAC TGCCTGAGCT CGGAGGACCT
- [2272] 201 GCGCAACACC CACTGCTGCT AACTGACTA CTGCAACAGG ATCGACTTGA
- [2273] 251 GGGTGCCAG TGGTCACCTC AAGGAGCCTG AGCACCCGTC CATGTGGGGC
- [2274] 301 CCGGTGGAGA CCGGTGGTGG AACTCACACA TGCCACCGT GCCCAGCACC
- [2275] 351 TGAATCCTG GGGGACCGT CAGTCTTCCT CTTCCCCCA AAACCAAGG
- [2276] 401 ACACCCTCAT GATCTCCCG ACCCCTGAGG TCACATGCGT GGTGGTGGAC
- [2277] 451 GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAAGTTC AACTGGTACG TGGACGGCGT
- [2278] 501 GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG TACAACAGCA
- [2279] 551 CGTACCGTGT GGTACGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA CTGGCTGAAT
- [2280] 601 GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC CAGCCCCAT
- [2281] 651 CGAGAAAACC ATCTCCAAAG CCAAAGGGCA GCCCGAGAA CCACAGGTGT
- [2282] 701 GCACCCTGCC CCCATCCCG GAGGAGATGA CCAAGAACCA GGTACGCTG
- [2283] 751 TCCTGCGCCG TCAAAGGCTT CTATCCAGC GACATCGCCG TGGAGTGGGA
- [2284] 801 GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT CCCGTGCTGG
- [2285] 851 ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCGTGAGCA AGCTCACCGT GGACAAGAGC
- [2286] 901 AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC ATGAGGCTCT
- [2287] 951 GCACAACCAC TACACGAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG GGTAAA
- [2288] (서열 식별 번호: 252)
- [2289] 다양한 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 복합체 들의 정제는 다음중 3개 또는 그 이상이 임의의 순서로 포함된 일련의 컬럼 크로마토그래피에 의해 실행될 수 있다: 단백질 A 크로마토그래피, Q 세파로즈 크로마토그래피, 페닐세파로즈 크로마토그래피, 크기 압출 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피 및 에피토프 기반 친화성 크로마토그

래피 (가령, ALK4 또는 ActRIIB의 에피토프에 대항하도록 지향된 항체 또는 기능적으로 동등한 리간드를 사용), 그리고 다중 모드 크로마토그래피(가령, 정전기 및 소수성 리간드를 모두 포함하는 수지 사용)에 의해 실행될 수 있다. 상기 정제는 바이러스 여과 및 완충액 교환으로 완성될 수 있다.

[2290] 실시예 13. ActRIIB-Fc 동형이량체 및 ALK4-Fc 동형이량체와 비교하여 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 리간드 결합 프로파일

[2291] 상기에서 설명된 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체 복합체의 리간드 결합 선택성을 ActRIIB-Fc 및 ALK4-Fc 동형이량체 복합체의 것과 비교하기 위하여 Biacore™-기반의 결합 분석이 이용되었다. 복합체, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체, ActRIIB-Fc 동형이량체, 및 ALK4-Fc 동형이량체는 항-Fc 항체를 이용하여 상기 시스템에 독립적으로 포집되어 있다. 리간드들을 주사하였고, 포집된 수용체 단백질 위로 흐르도록 하였다. 결과는 아래 표에 요약되어 있고, 효과적인 리간드 트랩의 리간드 해리속도(k_d)는 회색 음영으로 나타낸다.

ActRIIB-Fc 동형이량체 및 ALK4-Fc 동형이량체와 비교하여 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 리간드 결합 프로파일									
리간드	ActRIIB-Fc 동형이량체			ALK4-Fc 동형이량체			ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
액티빈 A	1.2×10^7	2.3×10^{-4}	19	5.8×10^5	1.2×10^{-2}	20000	1.3×10^7	1.5×10^{-4}	12
액티빈 B	5.1×10^6	1.0×10^{-4}	20	결합 없음			7.1×10^6	4.0×10^{-5}	6
BMP6	3.2×10^7	6.8×10^{-3}	190	---			2.0×10^6	5.5×10^{-3}	2700
BMP9	1.4×10^7	1.1×10^{-3}	77	---			일과성*		3400
BMP10	2.3×10^7	2.6×10^{-4}	11	---			5.6×10^7	4.1×10^{-3}	74
GDF3	1.4×10^6	2.2×10^{-3}	1500	---			3.4×10^6	1.7×10^{-2}	4900
GDF8	8.3×10^5	2.3×10^{-4}	280	1.3×10^5	1.9×10^{-3}	15000	3.9×10^5	2.1×10^{-4}	550
GDF11	5.0×10^7	1.1×10^{-4}	2	5.0×10^6	4.8×10^{-3}	270†	3.8×10^7	1.1×10^{-4}	3
* 상호 작용의 일시적인 특성으로 인해 불확실함									
† 매우 낮은 신호									
--- 테스트되지 않음									

[2292]

[2293] 이들 비교 결합 데이터는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체가 ActRIIB-Fc 또는 ALK4-Fc 동형이량체에 대하여 변경된 결합 프로파일/선택성을 갖는다는 것이 실증한다. ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체는 동형이량체와 비교하여 액티빈 B에 대하여 강화된 결합을 보이며, ActRIIB-Fc 동형이량체에서 관찰된 바와 같이, 액티빈 A, GDF8, 및 GDF11에 대하여 강력한 결합을 유지하고, 그리고 BMP9, BMP10, 및 GDF3에 대하여 실질적으로 감소된 결합을 나타낸다. 구체적으로, BMP9는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체에 대하여 낮은 친화력 또는 탐지불가능한 친화력을 나타내고, 한편 이 리간드는 ActRIIB-Fc 이형이량체에 강력하게 결합한다. ActRIIB-Fc 동형이량체와 마찬가지로, 상기 이형이량체는 BMP6에 대하여 중간-수준의 결합을 유지한다. 도 19 참고. 또한, A-204 리포터 (Reporter) 유전자분석을 이용하여 액티빈 A, 액티빈 B, GDF11, GDF8, BMP10, 및 BMP9에 의한 신호전달에 있어서 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체와 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체의 효과를 평가하였다. 세포 계통: 인간 횡문근육종 (근육에서 유도). 리포터 벡터: pGL3(CAGA)12 (Dennler et al, 1998, EMBO 17: 3091-3100에서 설명됨). CAGA12 모티프는 TGFβ-반응성 유전자 (예를 들면, PAI-1 유전자)에 존재하며, 이 벡터는 SMAD2 및 SMAD3을 통한 신호생성 인자에 일반적으로 사용된다. 예시적인 A-204 리포터 유전자분석은 하기에 개요가 설명된다.

[2294] 1일차: 48-웰 플레이트에 A-204 세포를 분열시킨다.

[2295] 2일차: A-204 세포는 10 ug pGL3(CAGA)12 또는 pGL3(CAGA)12(10 ug)+pRLCMV (1 ug) 및 Eugene로 형질감염시킨다.

[2296] 3일차: 인자들을 추가한다 (배지+0.1% BSA로 희석됨). 억제제는 세포에 추가하기 전, 약 한 시간 동안 인자들로

사전 배양될 필요가 있다. 약 6시간 후, 세포는 PBS로 행구고, 그 다음 용해된다.

[2297] 상기 단계 후, 루시페라제 분석을 시행하였다.

[2298] ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체 및 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체는 모두 이 분석에서 액티빈 A, 액티빈 B, GDF11, 및 GDF8의 강력한 억제제로 결정되었다. 구체적으로, 도 20에서 설명된 비교 동형이량체/이형이량체 IC₅₀ 데이터에서 볼 수 있는 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체는 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체와 유사하게 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, 및 GDF11 신호전달 경로를 억제한다. 그러나, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체의 BMP9 및 BMP10 신호전달 경로 억제는 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체와 비교하여 상당히 감소된 것이다. 이 데이터는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체와 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체 모두가 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, 및 GDF11에 강력한 결합을 나타내지만, BMP10 및 BMP9는 ActRIIB-Fc:ActRIIB-Fc 동형이량체와 비교하여, ALK4-Fc:ActRIIB-Fc 이형이량체에 대하여 상당히 감소된 친화력을 갖는 것으로 관찰된 상기-논의된 결합 데이터와 일치한다.

[2299] 따라서, 이와 함께, 이들 데이터에서 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체는 ActRIIB-Fc 동형이량체와 비교하였을 때, 액티빈 A, 액티빈 B, GDF8, 및 GDF11의 더 강한 선택적 길항제임을 실증한다. 따라서, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 이형이량체는 특정 용도에서 ActRIIB-Fc 동형이량체보다 더 유용할 것이며, 이때 이러한 선택적 길항작용이 유익하다. 실시예는 하나 또는 그 이상의 액티빈 A, 액티빈 B, 액티빈 AC, GDF8, 및 GDF11의 길항작용을 유지하지만, 하나 또는 그 이상의 BMP9, BMP10, GDF3, 및 BMP6의 길항작용은 최소화시키는 것이 바람직한 치료 용도를 포함한다.

[2300] 실시예 14. ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체의 생성

[2301] 출원인은 인간 ActRIIB 및 인간 ALK7의 세포외 도메인을 포함하는 가용성 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체 복합체를 작제하였으며, 상기 세포외 도메인 각각은 이 세포외 도메인과 Fc 도메인 사이에 위치한 링커와 함께, 각각 Fc 도메인에 융합되어 있다. 개별 구조체는 각각 ActRIIB-Fc 및 ALK7-Fc라고 지칭된다.

[2302] ActRIIB-Fc 또는 ALK7-Fc 동형이량체 복합체와 반대로, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체 복합체의 형성을 촉진하는 방법은 비대칭 이형화학적 복합체 형성을 유도하기 위하여 Fc 도메인의 아미노산 서열에 변경을 도입시키는 것이다. Fc 도메인을 이용하여 비대칭 상호작용 짝을 만드는 많은 상이한 방법들이 본 명세서에서 설명된다.

[2303] 한 가지 방법에서, 하기에서 기술된 ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 및 ALK7-Fc 폴리펩티드 서열에서 설명된 바와 같이, 하나의 Fc 도메인이 상호작용 면에 있는 양이온 아미노산을 도입시키도록 변경되고, 한편 또다른 Fc 도메인은 이 상호작용 면에 음이온 아미노산을 도입시키도록 변경된다. ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 및 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드는 각각 조직 플라스미노겐 활성화자 (TPA) 리더를 이용한다: MDAMKRGGLCCVLLLCGAVFVSP (서열 식별 번호: 8).

[2304] ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 396)은 하기에 나타낸다:

[2305] 1 MDAMKRGGLCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS

[2306] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE

[2307] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC

[2308] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV

[2309] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP

[2310] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRKEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV

[2311] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPVLK SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH

[2312] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 396)

[2313] 리더 (신호) 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (산성 아미노산이 리신으로 대체됨)이 ActRIIB 융합 단백질의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신 (K)이 제거된, 서열 식별 번호: 396의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[2314] 이 ActRIIB-Fc 융합 단백질은 다음의 핵산 서열 (서열 식별 번호: 397)에 의해 인코딩된다:

- [2315] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
- [2316] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCTCTGGGCG TGGGGAGGCT GAGACACGGG
- [2317] 101 AGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGAGC
- [2318] 151 GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC
- [2319] 201 CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT
- [2320] 251 GGCTAGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG
- [2321] 301 GAGAACCCCC AGGTGTACTT CTGCTGCTGT GAAGGCAACT TCTGCAACGA
- [2322] 351 GCGCTTCACT CATTTGCCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC
- [2323] 401 CACCCCGGAC AGCCCCCACC GGTGGTGGAA CTCACACATG CCCACCGTGC
- [2324] 451 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCAA
- [2325] 501 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
- [2326] 551 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
- [2327] 601 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
- [2328] 651 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
- [2329] 701 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
- [2330] 751 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
- [2331] 801 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGAA GGAGATGACC AAGAACCAGG
- [2332] 851 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
- [2333] 901 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
- [2334] 951 CGTGCTGAAG TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG CTCACCGTGG
- [2335] 1001 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
- [2336] 1051 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
- [2337] 1101 TAAA (서열 식별 번호: 397)
- [2338] 성숙 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 398)은 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 것이 제공될 수 있다.
- [2339] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [2340] 51 IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [2341] 101 GGPEVTYEP PTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [2342] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [2343] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
- [2344] 251 RKEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLKSDGSF
- [2345] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK
- [2346] (서열 식별 번호: 398)
- [2347] ALK7-Fc 융합 단백질 (서열 식별 번호: 129)의 상보적 형태는 다음과 같다:
- [2348] 1 MDAMKRGLCC VLLLCGAVFV SPGAGLKVC LLCDSNFTC QTEGACWASV
- [2349] 51 MLTNGKEQVI KSCVSLPELN AQVFCHSSNN VTKTECCFTD FCNNITLHLP

[2350] 101 TASPNAKLG PMETGGGTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR
 [2351] 151 TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV
 [2352] 201 LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR
 [2353] 251 EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYDTP PVLDSGDSFF
 [2354] 301 LYSDLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP G

[2355] (서열 식별 번호: 129)

[2356] 상기 신호 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환(리신을 아스파르트산으로 대체함)이 이 융합 단백질의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단에 리신이 추가된, 서열 식별 번호: 129의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.

[2357] 이 ALK7-Fc 융합 단백질은 다음의 핵산 (서열 식별 번호: 255)에 의해 인코딩된다:

[2358] 1 ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
 [2359] 51 AGTCTTCGTT TCGCCCGCG CCGACTGAA GTGTGTATGT CTTTGTGTG
 [2360] 101 ATTCTTCAAA CTTTACCTGC CAAACAGAAG GAGCATGTTG GGCATCAGTC
 [2361] 151 ATGCTAACCA ATGGAAGA GCAGGTGATC AAATCCTGTG TCTCCCTTCC
 [2362] 201 AGAACTGAAT GCTCAAGTCT TCTGTCATAG TTCCAACAAT GTTACCAAAA
 [2363] 251 CCGAATGCTG CTTCACAGAT TTTTGAACA ACATAACACT GCACCTTCCA
 [2364] 301 ACAGCATCAC CAAATGCCCC AAAACTTGGA CCCATGGAGA CCGGTGGTGG
 [2365] 351 AACTCACACA TGCCACCGT GCCCAGCACC TGAACCTCTG GGGGGACCGT
 [2366] 401 CAGTCTTCTT CTTCCTCCCA AAACCAAGG ACACCTCAT GATCTCCCGG
 [2367] 451 ACCCTGAGG TCACATGCGT GGTGGTGGAC GTGAGCCACG AAGACCCTGA
 [2368] 501 GGTCAAGTTC AACTGGTACG TGGACGGCGT GGAGGTGCAT AATGCCAAGA
 [2369] 551 CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG TACAACAGCA CGTACCGTGT GGTGAGCGTC
 [2370] 601 CTCACCGTCC TGACACAGGA CTGGCTGAAT GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA
 [2371] 651 GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC CAGCCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCCAAAG
 [2372] 701 CCAAAGGGCA GCGCCGAGAA CCACAGGTGT ACACCTGCC CCCATCCCGG
 [2373] 751 GAGGAGATGA CCAAGAACCA GGTGAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT
 [2374] 801 CTATCCAGC GACATCGCCG TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA
 [2375] 851 ACAACTACGA CACCACGCCT CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC
 [2376] 901 CTCTATAGCG ACCTACCGT GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGAACGT
 [2377] 951 CTTCTCATGC TCCGTGATGC ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA
 [2378] 1001 AGAGCCTCTC CTTGTCTCCG GGT (서열 식별 번호: 255)

[2379] 상기 성숙 ALK7-Fc 융합 단백질 서열 (서열 식별 번호: 130)는 다음과 같을 것으로 예측되고, 임의선택적으로 C-말단에 리신이 제공될 수 있다.

[2380] 1 GLKCVLLCD SSNFTCQTEG ACWASVMLTN GKEQVIKSCV SLPELNAQVF
 [2381] 51 CHSSNNVTKT ECCFTDFCNN ITLHLPTASP NAPKLGP MET GGGTHTCPPC
 [2382] 101 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV

- [2383] 151 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [2384] 201 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
- [2385] 251 EWESNGQPEN NYDTTPPVLD SDGSFFLYSD LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [2386] 301 EALHNHYTQK SLSLSPG (서열 식별 번호: 130)
- [2387] 차례로, 서열 식별 번호: 396 및 서열 식별 번호: 129의 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 및 ALK7-Fc 융합 폴리펩티드가 세포계에서 공동-발현되고, 정제되어, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc를 포함하는 이형이량체 복합체가 생성될 수 있다.
- [2388] 비대칭 Fc 융합 단백질을 이용한 이형다량체 복합체들의 형성을 촉진시키는 또다른 방법에서, 하기 개시된 ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 및 ALK7-Fc 폴리펩티드 서열에서 설명된 바와 같이, 상보적 소수성 상호작용과 추가적인 분자간 이황화결합을 도입하도록 Fc 도메인이 변경된다.
- [2389] ActRIIB-Fc 폴리펩티드 서열 (서열 식별 번호: 402)은 하기에 나타난다:
- [2390] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGASGRGEA ETRECIYYNA NWELERTNQS
- [2391] 51 GLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE
- [2392] 101 ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGTHTCPPC
- [2393] 151 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [2394] 201 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [2395] 251 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV
- [2396] 301 EWESNGQPEN NYKTTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [2397] 351 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 402)
- [2398] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 가능한 동형이량체 복합체보다는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체의 형성을 촉진시키기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 2개의 아미노산 치환 (세린을 시스테인으로, 그리고 트레오닌을 트립토판으로 대체)이 상기 융합 단백질의 Fc 도메인에 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 402의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [2399] 상기 성숙 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 403)은 다음과 같고, 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된 것으로 제공될 수 있다.
- [2400] 1 GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSGLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
- [2401] 51 IELVKKGCWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
- [2402] 101 GGPEVTYEPPTAPTGGGTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
- [2403] 151 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
- [2404] 201 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPC
- [2405] 251 REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF
- [2406] 301 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HYTKSLSLS PGK
- [2407] (서열 식별 번호: 403)
- [2408] ALK7-Fc 융합 폴리펩티드 (서열 식별 번호: 133)의 상보적 형태는 다음과 같다:
- [2409] 1 MDAMKRLGCC VLLLCGAVFV SPGAGLKVC LLCSSNFTC QTEGACWASV
- [2410] 51 MLTNGKEQVI KSCVSLPELN AQVFCHSSNN VTKTECCFTD FCNNITLHLP
- [2411] 101 TASPNAKPLG PMETGGGTHT CPPCPAPEL LGGPSVFLFPP KPKDTLMISR
- [2412] 151 TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV

- [2413] 201 LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAIEKT ISKAKGQPRE PQVCTLPPSR
- [2414] 251 EEMTKNQVSL SCAVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSDGSFF
- [2415] 301 LVSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
- [2416] (서열 식별 번호: 133)
- [2417] 리더 서열 및 링커는 밑줄로 표시된다. 상기 서열 식별 번호: 130 및 403의 ActRIIB-Fc 융합 폴리펩티드와 함께 이형이량체 형성을 유도하기 위하여, 상기 이중 밑줄로 표시된 바와 같이, 4개의 아미노산 치환이 ALK7 융합 폴리펩티드의 Fc 도메인으로 도입될 수 있다. 임의선택적으로 C-말단으로부터 리신이 제거된, 서열 식별 번호: 133의 아미노산 서열이 제공될 수 있다.
- [2418] 상기 성숙 ALK7-Fc 융합 단백질 서열 (서열 식별 번호: 134)은 다음과 같을 것으로 예측되고, 임의선택적으로 C-말단에 리신이 제공될 수 있다.
- [2419] 1 GLKCVLLCD SSNFTCQTEG ACWASVMLTN GKEQVIKSCV SLPELNAQVF
- [2420] 51 CHSSNNVTKT ECCFTDFCNN ITLHLPTASP NAPKLGPMET GGGTHTCPPC
- [2421] 101 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
- [2422] 151 DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
- [2423] 201 APIEKTISKA KGQPREPQVC TLPPSREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAV
- [2424] 251 EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLVSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
- [2425] 301 EALHNHYTQK SLSLSPGK (서열 식별 번호: 134)
- [2426] 차례로, 서열 식별 번호: 402 및 서열 식별 번호: 133의 ActRIIB-Fc 단백질 및 ALK7-Fc 단백질이 세포계에서 공동-발현되고, 정제되어, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc를 포함하는 이형이량체 복합체가 생성될 수 있다.
- [2427] 다양한 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 복합체들의 정제는 다음중 3개 또는 그 이상이 임의의 순서로 포함된 일련의 컬럼 크로마토그래피에 의해 실행될 수 있다: 단백질 A 크로마토그래피, Q 세파로즈 크로마토그래피, 페닐세파로즈 크로마토그래피, 크기 압출 크로마토그래피, 및 양이온 교환 크로마토그래피. 상기 정제는 바이러스 여과 및 완충액 교환으로 완성될 수 있다.
- [2428] 실시예 15. ActRIIB-Fc 동형이량체 및 ALK7-Fc 동형이량체와 비교하여 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체의 리간드 결합 프로파일
- [2429] 상기에서 설명된 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체 복합체의 리간드 결합 선택성을 ActRIIB-Fc 및 ALK7-Fc 동형이량체 복합체의 것과 비교하기 위하여 BiacoreTM-기반의 결합 분석이 이용되었다. 복합체, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체, ActRIIB-Fc 동형이량체, 및 ALK7-Fc 동형이량체는 항-Fc 항체를 이용하여 상기 시스템에 독립적으로 포집되어 있다. 리간드들을 주사하였고, 포집된 수용체 단백질 위로 흐르도록 하였다. 결과는 아래 표에 요약되어 있고, 효과적인 리간드 트랩의 리간드 해리속도(k_d)는 회색 음영으로 나타낸다.

ActRIIB-Fc 동형이량체 및 ALK7-Fc 동형이량체와 비교하여 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체의 리간드 결합 프로파일									
리간드	ActRIIB-Fc 동형이량체			ALK7-Fc 동형이량체			ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체		
	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)
액티빈 A	1.3 x10 ⁷	1.4 x10 ⁻⁴	11	결합 없음			4.4 x10 ⁷	1.9 x10 ⁻³	43
액티빈 B	1.5 x10 ⁷	1.6 x10 ⁻⁴	8	결합 없음			1.2 x10 ⁷	2.0 x10 ⁻⁴	17
액티빈 C	결합 없음			결합 없음			3.5 x10 ⁵	2.4 x10 ⁻³	6900
액티빈 AC	2.0 x10 ⁷	3.1 x10 ⁻³	160	결합 없음			2.6 x10 ⁶	5.7 x10 ⁻⁴	220
BMP5	2.6 x10 ⁷	7.5 x10 ⁻²	2900	결합 없음			1.5 x10 ⁵	8.5 x10 ⁻³	57000
BMP6	2.4 x10 ⁷	3.9 x10 ⁻³	160	결합 없음			1.2 x10 ⁶	6.3 x10 ⁻³	5300
BMP9	1.2 x10 ⁸	1.2 x10 ⁻³	10	결합 없음			일과성*		>1400
BMP10	5.9 x10 ⁶	1.5 x10 ⁻⁴	25	결합 없음			1.5 x10 ⁷	2.8 x10 ⁻³	190
GDF3	1.4 x10 ⁶	2.2 x10 ⁻³	1500	결합 없음			2.3 x10 ⁶	1.0 x10 ⁻²	4500
GDF8	3.5 x10 ⁶	2.4 x10 ⁻⁴	69	결합 없음			3.7 x10 ⁶	1.0 x10 ⁻³	270
GDF11	9.6 x10 ⁷	1.5 x10 ⁻⁴	2	결합 없음			9.5 x10 ⁷	7.5 x10 ⁻⁴	8
* 상호 작용의 일시적인 특성으로 인해 불확실함 --- 테스트되지 않음									

[2430]

[2431]

이들 비교 결합 데이터는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체가 ActRIIB-Fc 동형이량체 또는 ALK7-Fc 동형이량체에 대하여 변경된 결합 프로파일/선택성을 갖는다는 것이 실증한다. 흥미로운 것은, ActRIIB-Fc 동형이량체에 최대 로 강한 결합을 갖는 5개의 리간드 중 4개(액티빈 A, BMP10, GDF8 및 GDF11)는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체에 대해 감소된 결합을 나타내고, 상기 예외는 이형이량체에 대한 단단한 결합을 유지하는 액티빈 B이다. 유사하게, ActRIIB-Fc 동형이량체(GDF3, BMP6, 특히 BMP9)에 대한 중간 결합을 갖는 이들 4개의 리간드 중 3개는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체에 대해 감소된 결합을 나타내지만, 반면 액티빈 AC에 대한 결합은 전체적으로 이형이량체와 두 번째로 강한 리간드 상호작용이 되도록 증가된다. 끝으로, 액티빈 C 및 BMP5는 중간 수준 강도로 ActRIIB-Fc:ALK7 이형이량체에 예상외로 결합하고, ActRIIB-Fc 동형이량체에 대해 액티빈 C는 결합하지 않거나, 또는 BMP5는 약하게 결합한다. 최종 결과는 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체가 ActRIIB-Fc 동형이량체 또는 ALK7-Fc 동형이량체와 명백히 다른 리간드-결합 프로필을 보유하고 있으며, 이는 전술한 리간드 중 어느 것도 결합하지 않는다는 것이다. 도 21 참고. 따라서, 이들 결과에서 ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체는 ActRIIB-Fc 동형이량체와 비교하였을 때, 액티빈 B 및 액티빈 AC의 더욱 선택적인 길항제임을 실증한다. 더욱이, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체는 액티빈 C에 대한 강력한 결합이라는 특별한 속성을 나타낸다. 따라서, ActRIIB-Fc:ALK7-Fc 이형이량체는 특정 용도에서 ActRIIB-Fc 동형이량체보다 더 유용할 것이며, 이때 이러한 선택적 길항작용이 유익하다. 실시예들에는 액티빈 A, GDF3, GDF8, GDF11, BMP9, 또는 BMP10중 하나 또는 그 이상의 길항성은 감소시키면서, 액티빈 B 또는 액티빈 AC의 길항성은 유지시키는 것이 바람직한 치료요법적 적용들이 내포된다. 또한 액티빈 C 또는 액티빈 C와 액티빈 E 간의 유사성에 기초하여, 액티빈 E를 길항하는 것이 바람직한 치료, 진단 또는 분석 적용이 내포된다.

[2432]

실시예 16: 박출률이 감소된 심부전 (HFrEF)에서 심장-보호에 대한 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc의 역할

[2433]

심장-보호에 대한 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc의 효과를 HFrEF의 뮌 모델: Mdx로 불리는 트랜스제닉, 디스트로핀-결핍 마우스 모델에서 조사했다. 나이드 Mdx 마우스는 확장된 좌심실(LV) 챔버 및 상대적인 벽이 얇아지는 LV의 편심성 비대를 포함하는 확장성 심근병증(예를 들어, HFrEF의 표현형)의 전형적인 표현형을 나타내며(도 23A), 뚜렷한 LV 수축기 기능 장애를 동반한다 (Arbustini, *et al.*, Journal of the American College of Cardiology 2018, 72(20):2485-2506; Kamdar, *et al.*, Journal of the American College of Cardiology 2016, 67(21):2533-2546; Houser, *et al.*, Circulation Research 2012, 111(1):131-150; 및 Wasala, *et al.*,

American Society of Gene & Cell Therapy 2019, 28(3):845-854 참고). Mdx 마우스를 사용한 연구를 수행하여 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc가 리모델링 하에 심장 형태학적 및 기능적 변화를 복원할 수 있는지 평가했다.

- [2434] 10개월령("중간-연령 Mdx") 및 20개월령("노령 Mdx")의 21마리 Mdx 수컷 마우스를 연구했다. 12마리의 연령-일치 야생형(WT) 마우스가 대조군("중간-연령 WT" 및 "노령 WT")이 내포되어 있었다. 더욱이, 3.5개월령의 WT 수컷 마우스 3마리를 노령 대조군인 "어린 WT"로 사용하였다. "중간-연령 Mdx" 마우스들은 (i) 6개월 동안 주당 2회 피하로 비히클 (인산염-완충된 염수, PBS), 또는 (ii) 6개월 동안 주당 2회 피하로 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc (10 mg/kg)를 제공받았다. 투여된 비히클 또는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc의 용적은 동일하였다. "노령 Mdx" 마우스들은 (i) 2개월 동안 주당 2회 피하로 비히클 (PBS), 또는 (ii) 2개월 동안 주당 2회 피하로 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc (10 mg/kg)를 제공받았다. 투여된 비히클 또는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc의 용적은 동일하였다. "어린 WT"를 제외한 모든 WT 마우스는이의 대응하는 연령-일치되는 Mdx 그룹과 같이 동일한 투여분량의 비히클을 제공받았다.
- [2435] 연구가 끝날 때, 동물을 안락사시키기 전, 마우스를 마취 상태에서 생체 내 심장 구조와 기능을 경흉부 심초음파(VisualSonics Vevo3100, 30MHz 변환기, Fujifilm)로 평가하였다. 특히, LV 구조 및 수축기 기능은 유두근 수준에서 흉골주위 단축 뷰에서 M-모드에 의해 측정되었다. LV 벽 두께 (LVWT) 및 LV 질량 (LVM)이 획득되었다. LV 확장기말 직경 (LVEDD) 및 LV 수축기말 직경 (LVESD)을 측정하였고, 공식 $FS = 100\% \times [(EDD - ESD)/EDD]$ 을 이용하여 분획성 단축 (FS)을 측정하였다. LV 이완 말기 용적 (LVEDV) 및 LV 수축 말기 용적 (LVESV)을 측정하였고, 공식 $EF = 100\% \times [(EDV - ESV)/EDV]$ 을 이용하여 박출율을 측정하였다. 비대 지수는 LVM 대비 LVESV의 비율로 계산되었다. 상대적 벽 두께는 LVWT 대비 LVESD의 비율로 계산되었다. 심초음파 직후, 모든 쥐를 안락사시켰고, 심장의 무게를 측정했다. 각 마우스의 혈액을 수집하였고, 혈청 심장 트로포닌 I 발현을 고감도 ELISA를 통해 측정했다.
- [2436] 데이터는 평균의 평균 $\pm$ 표준 오차로 표시된다. $p < 0.05$ 로 설정된 유의 수준으로 통계 테스트(다중 비교를 위한 Tukey의 테스트 또는 사람의 상관관계를 사용한 post-hoc 분석을 통한 일원 분산 분석)를 수행했다. 특히, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$.
- [2437] 연구가 끝날 무렵, 중간-연령 Mdx 마우스와 노령 Mdx 마우스는 LV 챔버 확장 및 수축기 기능장애와 같은 확장성 심근병증의 특징적인 특징을 나타냈다. 이들 심장 형태학적 결함 (도 23) 및 기능적 결함 (도 24)은 단기간 (예를 들자면, 노령 Mdx 마우스에게 2개월간 투여) 또는 장기간 (예를 들자면, 중간-연령 Mdx 마우스의 6개월간 투여) 투여법으로 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 완전하게 복원되었다.
- [2438] 특히, 중간-연령 Mdx-비히클 마우스 및 노령 Mdx-비히클 마우스는 어린 WT 마우스와 비교하여 수축기 말기에 좌심실 용적의 증가를 나타냈고(도 23B), 이것은 LV에서 대동맥으로 또는 신체 나머지 부위로 더 적은 혈액이 분출되었음을 의미한다. 놀라운 것은, LVESV in both 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 및 노령Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 모두에서 LVES는 차례로 중간-연령 Mdx-비히클 그룹 및 노령 Mdx-비히클 그룹과 비교하여 상당히 감소되었고, 이는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에 의해 LV 수축성이 개선되었음을 나타낸다.
- [2439] 중간-연령 Mdx-비히클 마우스 및 노령 Mdx-비히클 마우스의 LV 리모델링으로 어린 WT 마우스와 비교하였을 때, 질량 대비 부피 (즉, 비대 지수, 도 23C)의 비율이 감소되었고, 편심 비대를 겪었음을 관찰하였다. 상기 비대 지수는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 정상화되었다.
- [2440] LV 확장 및 편심 비대에 수반되어, 중간-연령 Mdx-비히클 마우스 및 노령 Mdx-비히클 마우스의 LV 벽 두께는 어린 WT 마우스와 비교하여 감소되었고(도 23D에 나타냄), 한편으로 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 및 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 모두에서 상대적 LV 벽 두께는 증가되었다.
- [2441] 상대적으로 얇아진 심장 벽과 함께, 편심 비대 LV는 도 23E에 도시된 바와 같이, 비대 심장을 또한 유도했다. 노령 Mdx-비히클 마우스의 정상화된 전체 심장 중량은 어린 WT 마우스와 비교하였을 때, 유의적으로 증가했다. 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스에서 증명된 바와 같이, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 심장 중량이 감소되었다.
- [2442] 심장 리모델링에서 이러한 구조적 수정은 심장 기능 변화를 보장한다. 중간-연령 Mdx-비히클 마우스 및 노령 Mdx-비히클 마우스는 어린 WT 마우스와 비교하였을 때, 감소된 박출율 (도 24A) 및 분획성 단축 (도 24B)으로 증빙된 것과 같이 손상된 수축성을 나타냈다. 놀라운 것은, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 및 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 모두에서 수축기 기능은 완전하게 회복되었다. 또한, 상승된 혈청 심장 트로포닌 I (즉, cTnI, 심장 손상의 혈청 바이오마커) 수준은 어린 WT 마우스와

비교하였을 때, 중간-연령 Mdx-비히클 마우스에서 수준이 더 높았다. ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 치료에 의해 혈청 cTnI 발현 (중간-연령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 마우스 및 노령 Mdx-ActRIIB-Fc:ALK4-Fc, 도 24C 참고)이 실질적으로 감소했다. 더욱이, 박출율과 cTnI 사이에 역 상관관계가 발견되었고 (도 24D 참고), 이는 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc에 의해 LV 수축성의 개선은 심근 손상을 구출한 것 때문일 수도 있음을 나타낸다.

[2443] 이와 함께, 이들 데이터에서 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc는 HFrEF의 마우스 모델(Mdx 모델)에서 좌심장 리모델링 동안 다양한 형태학적 및 기능적 결손 개선에 효과적임이 실증된다. 특히, ActRIIB-Fc:ALK4-Fc 처리된 마우스에서 처리되지 않은 그룹에 비해 LV 수축기말 직경이 유의하게 감소했고, 이것으로 ActRIIB-Fc:ALK4-Fc가 LV 수축성을 개선시킴을 나타낸다. 이 데이터는 ActRIIB:ALK4 이중다량체 외에 다른 ActRII-ALK4 길항제들이 심부전 치료에 유용할 수 있음을 추가로 시사한다.

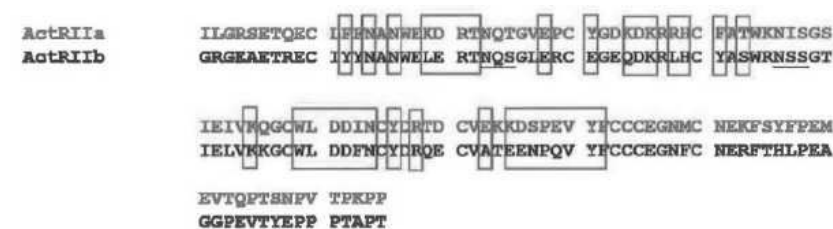
[2444] 참고자료로의 편입

[2445] 여기에 언급된 모든 간행물 및 특허는 각각의 개별 간행물 또는 특허가 구체적으로 개별적으로 참조로 포함되도록 지시된 것처럼 본원에 참고로 인용된다.

[2446] 주제의 특정 실시 예들이 논의되었지만, 상기 명세서에는 예시적이고, 이에 한정되지 않는다. 본 명세서 및 청구 범위를 검토하면 많은 변형이 당업자에게 명백해질 것이다. 본 발명의 전체 범위는 그 균등 물의 전체 범위 및 명세서와 함께 청구항을 참조하여 그러한 변형과 함께 결정되어야 한다.

도면

도면1



도면2

```

1  MTAPWVALAL LWGSLCAGSG RGEAETRECI YNNANWELER TNQSLGERCE
51  GEQDKRLHCY ASWRNSSGTI ELVKKGCWLD DFNCYDRQEC VATEENPQVY
101 FCCCEGNFCN ERFTHLPEAG GPEVTYEPPP TAPTLLTVLA YSLLPIGGLS
151 LIVLLAFWMY RHRKPPYGHV DIHEDPGPPP PSPLVGLKPL QLLEIKARGR
201 FGCVWKAQLM NDFVAVKIFP LQDKQSWQSE REIFSTPGMK HENLLQFIAA
251 EKRGSNLEVE LWLITAFHDK GSLTDYLGKN IITWNELCHV AETMSRGLSY
301 LHEDVPWCRG EGHKPSIAHR DFKSKNVLLK SDLTAVLADF GLAVRFEPGK
351 PPGDTHGQVG TRRYMAPEVL EGAINFORDA FLRIDMYAMG LVLWELVSRC
401 KAADGPVDEY MLPFEEEIGQ HPSLEELQEV VVHKMRPTI KDWLKHPL
451 AQLCVTIEEC WDHDAAEARLS AGCVEERVSL IRRSVNGTTS DCLVSLVTSV
501 TNVDLPPKES SI

```


도면3

GRGEAETREC IYYNANWELE RTNQSLERC EGEQDKRLHC YASWRNSSGT
IELVKKG CWL DDFNCYDRQE CVATEENPQV YFCCCEGNFC NERFTHLPEA
GGPEVTYEPP PTAPT

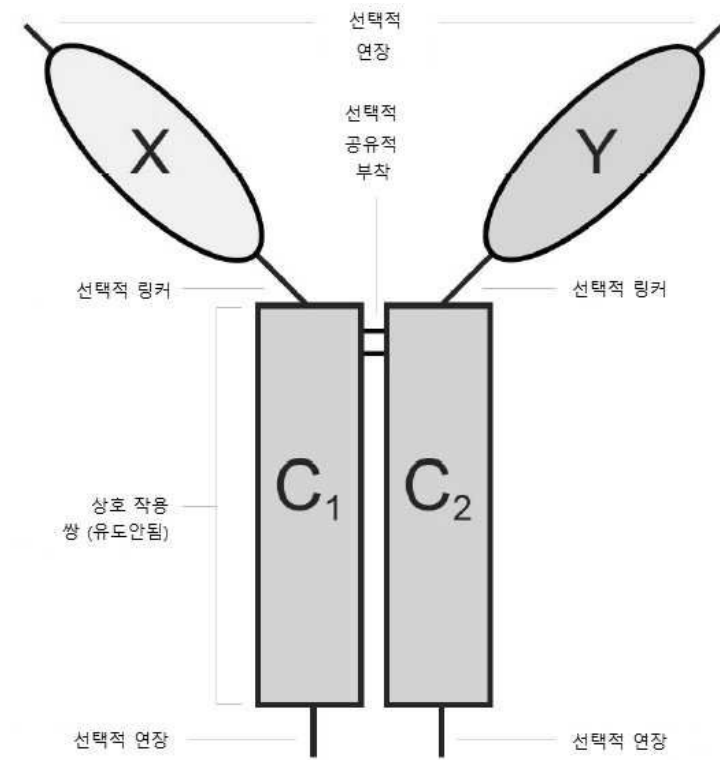
도면4

ATGACGGCGCCCTGGGTGGCCCTCGCCCTCCTCTGGGGATCGCTGTGCGCCGGCTCTGGG
CGTGGGGAGGCTGAGACACGGGAGTGCATCTACTACAACGCCAACTGGGAGCTGGAGCGC
ACCAACCAGAGCGGCTGGAGCGCTGCCAAGGCGAGCAGGACAAGCGGCTGCACTGCTAC
GCCTCCTGGCGCAACAGCTCTGGCACCATCGAGCTCGTGAAGAAGGGCTGCTGGCTAGAT
GACTTCAACTGCTACGATAGGCAGGAGTGTGTGGCCACTGAGGAGAACCCCCAGGTGTAC
TTCTGCTGCTGTGAAGGCAACTTCTGCAACGAACGCTTCACTCATTTGCCAGAGGCTGGG
GGCCCGGAAGTCACGTACGAGCCACCCCGACAGCCCCACCCCTGCTCACGGTGCTGGCC
TACTCACTGCTGCCCATCGGGGGCCTTTCCCTCATCGTCCTGCTGGCCTTTTGATGTAC
CGGCATCGCAAGCCCCCTACGGTCATGTGGACATCCATGAGGACCCTGGGCCTCCACCA
CCATCCCCCTCTGGTGGGCCTGAAGCCACTGCAGCTGCTGGAGATCAAGGCTCGGGGGCGC
TTTGGCTGTGTCTGGAAGGCCAGCTCATGAATGACTTTGTAGCTGTCAAGATCTTCCCA
CTCCAGGACAAGCAGTCGTGGCAGAGTGAACGGGAGATCTTCAGCACACCTGGCATGAAG
CACGAGAACCTGCTACAGTTTATTGCTGCCGAGAAGCGAGGCTCCAACCTCGAAGTAGAG
CTGTGGCTCATCACGGCCTTCCATGACAAGGGCTCCCTCACGGATTACCTCAAGGGGAAC
ATCATCACATGGAACGAACTGTGTCTATGTAGCAGAGACGATGTACGAGGCCTCTCATAC
CTGCATGAGGATGTGCCCTGGTGGCGTGGCGAGGGCCACAAGCCGTCTATTGCCACAGG
GACTTTAAAAGTAAGAATGTATTGCTGAAGAGCGACCTCACAGCCGTGCTGGCTGACTTT
GGCTTGGCTGTTTCGATTTGAGCCAGGGAACCTCCAGGGGACACCCACGGACAGGTAGGC
ACGAGACGGTACATGGCTCCTGAGGTGCTCGAGGGAGCCATCAACTTCCAGAGAGATGCC
TTCCTGCGCATTGACATGTATGCCATGGGGTTGGTGTGTGGGAGCTTGTGTCTCGCTGC
AAGGCTGCAGACGGACCCGTGGATGAGTACATGCTGCCCTTTGAGGAAGAGATTGGCCAG
CACCCTTCGTTGGAGGAGCTGCAGGAGGTGGTGGTGCACAAGAAGATGAGGCCACCATT
AAAGATCACTGGTTGAAACACCCGGGCCTGGCCAGCTTTGTGTGACCATCGAGGAGTGC
TGGGACCATGATGCAGAGGCTCGCTTGTCCGCGGGCTGTGTGGAGGAGCGGGTGTCCCTG
ATTCGGAGGTGGTCAACGGCACTACCTCGGACTGTCTCGTTTCCCTGGTGACCTCTGTC
ACCAATGTGGACCTGCCCCCTAAAGAGTCAAGCATCTAA

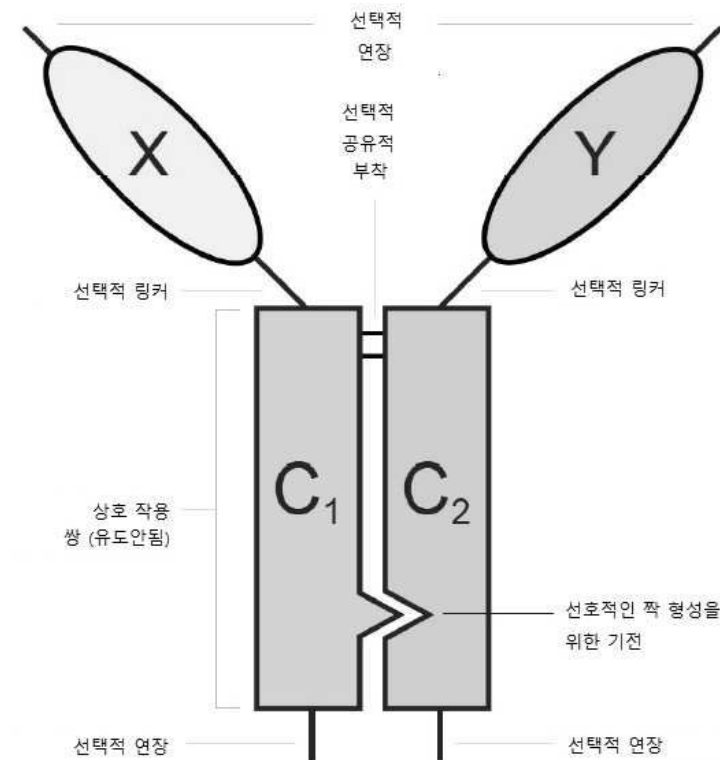
도면5

GGGCGTGGGGAGGCTGAGACACGGGAGTGCATCTACTACAACGCCAACTGGGAGCTGGAGCGCACCAACC
AGAGCGGCCTGGAGCGCTGCCAAGGCGAGCAGGACAAGCGGCTGCACTGCTACGCCTCCTGGCGCAACAG
CTCTGGCACCATCGAGCTCGTGAAGAAGGGCTGCTGGCTAGATGACTTCAACTGCTACGATAGGCAGGAG
TGTGTGGCCACTGAGGAGAACCCAGGTGTACTTCTGCTGCTGTGAAGGCAACTTCTGCAACGAGCGCT
TCACTCATTTGCCAGAGGCTGGGGGCCCGGAAGTCACGTACGAGCCACCCCGACAGCCCCACC

도면8a



도면8b



도면9

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				</

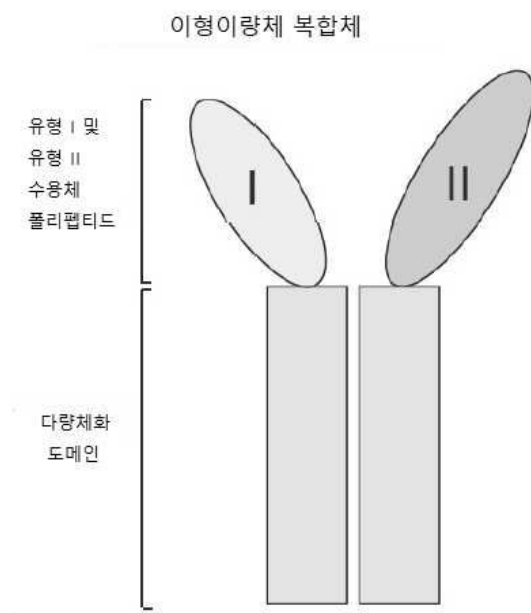
도면10

		10	20	30	40	50																																										
인간	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
양	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
두더지	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
쥐	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
닭	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
소	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
부엉이	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S
박쥐	I	L	G	R	S	E	T	Q	E	C	L	F	F	N	A	N	N	E	E	D	R	T	N	Q	T	G	V	E	F	C	I	G	D	D	E	R	R	N	C	F	A	T	W	N	I	S	G	S

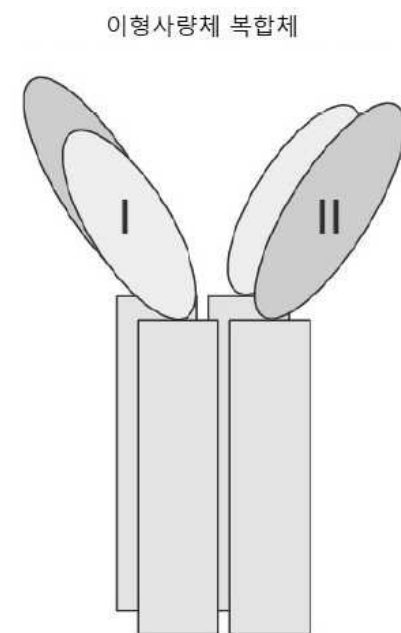
		60	70	80	90	100																																									
인간	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
양	I	D	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
두더지	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
쥐	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
닭	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
소	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
부엉이	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N
박쥐	I	E	I	V	Q	G	C	N	L	D	D	I	N	C	I	D	A	T	D	C	I	E	E	D	S	P	E	V	Y	F	C	C	C	E	N	N	C	N	E	A	F	S	Y	F	F	E	N

		110											
인간	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
양	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
두더지	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
쥐	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
닭	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
소	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
부엉이	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P
박쥐	E	V	T	Q	T	S	N	P	V	T	P	K	P

도면11a

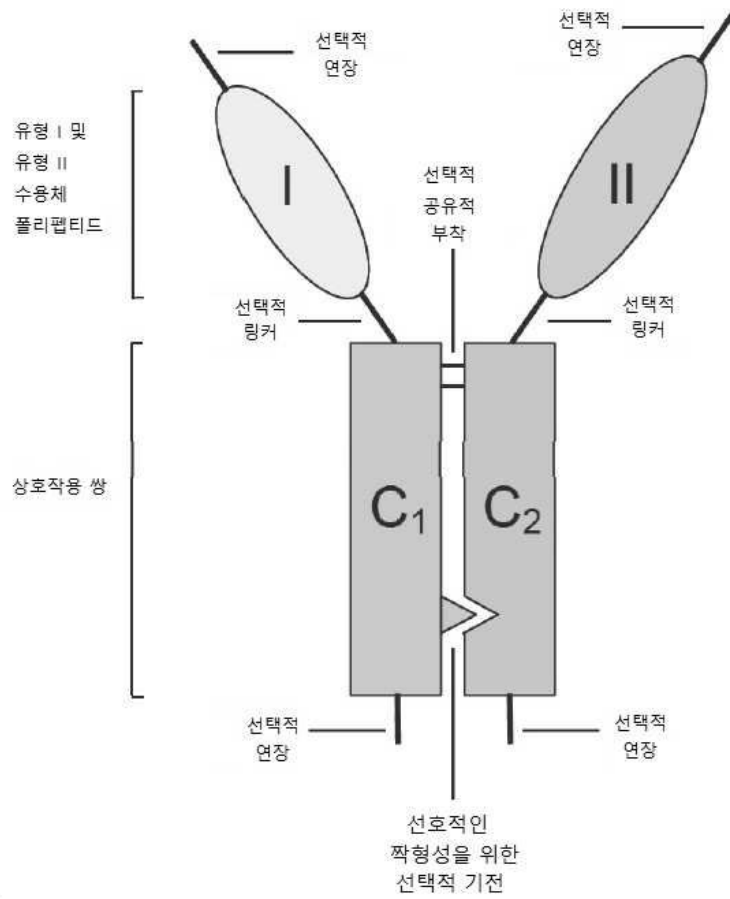


도면11b

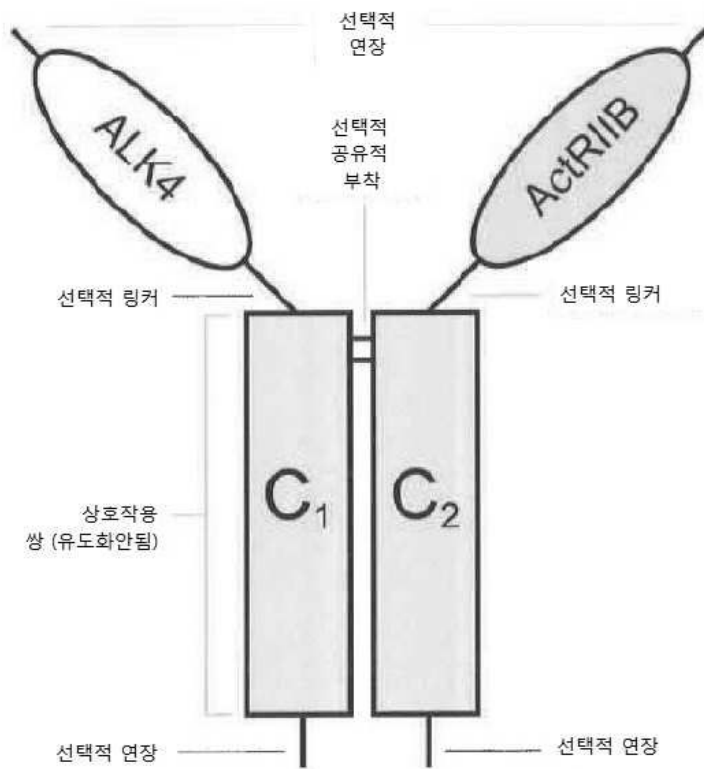


도면12

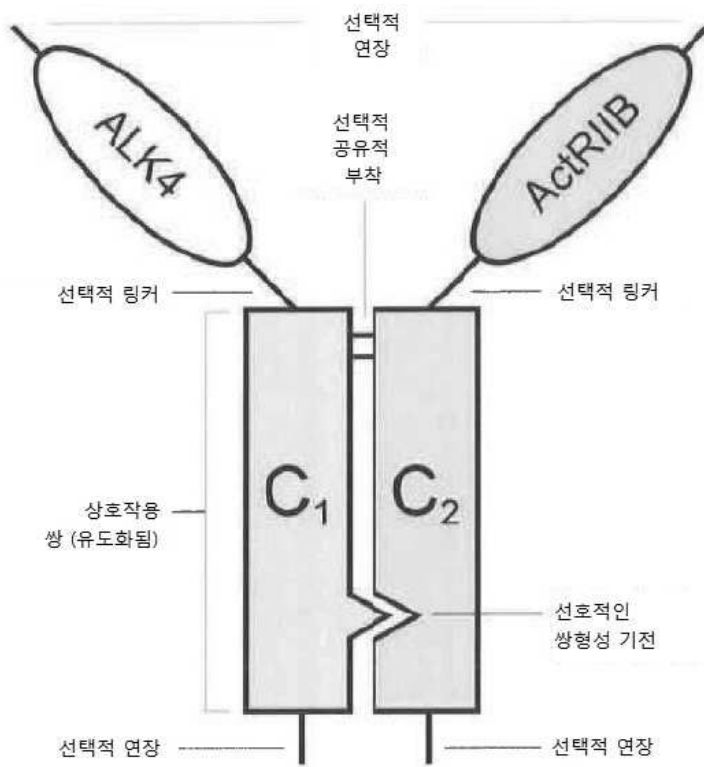
도식적인 이형체형 단백질 복합체



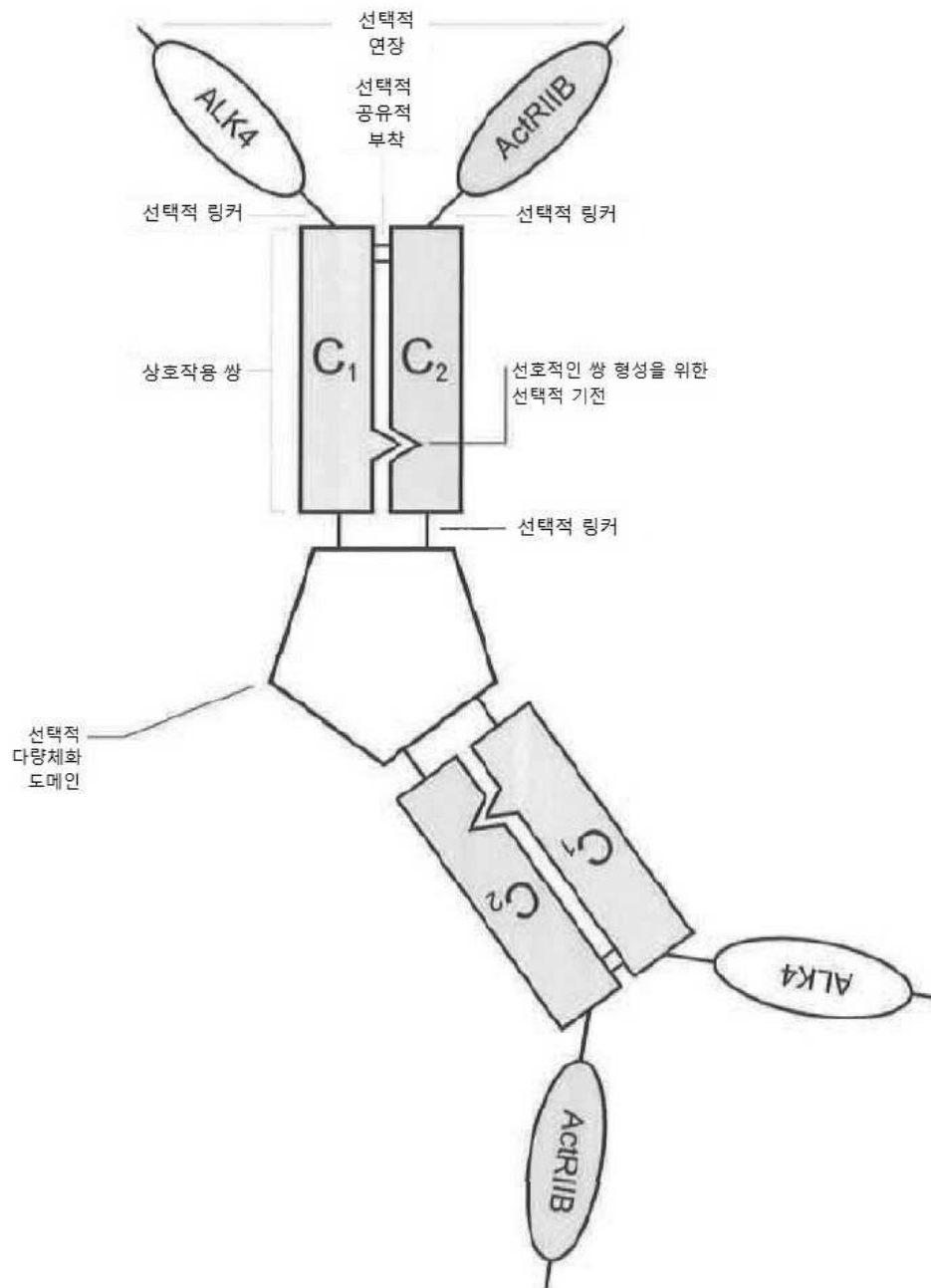
도면13a



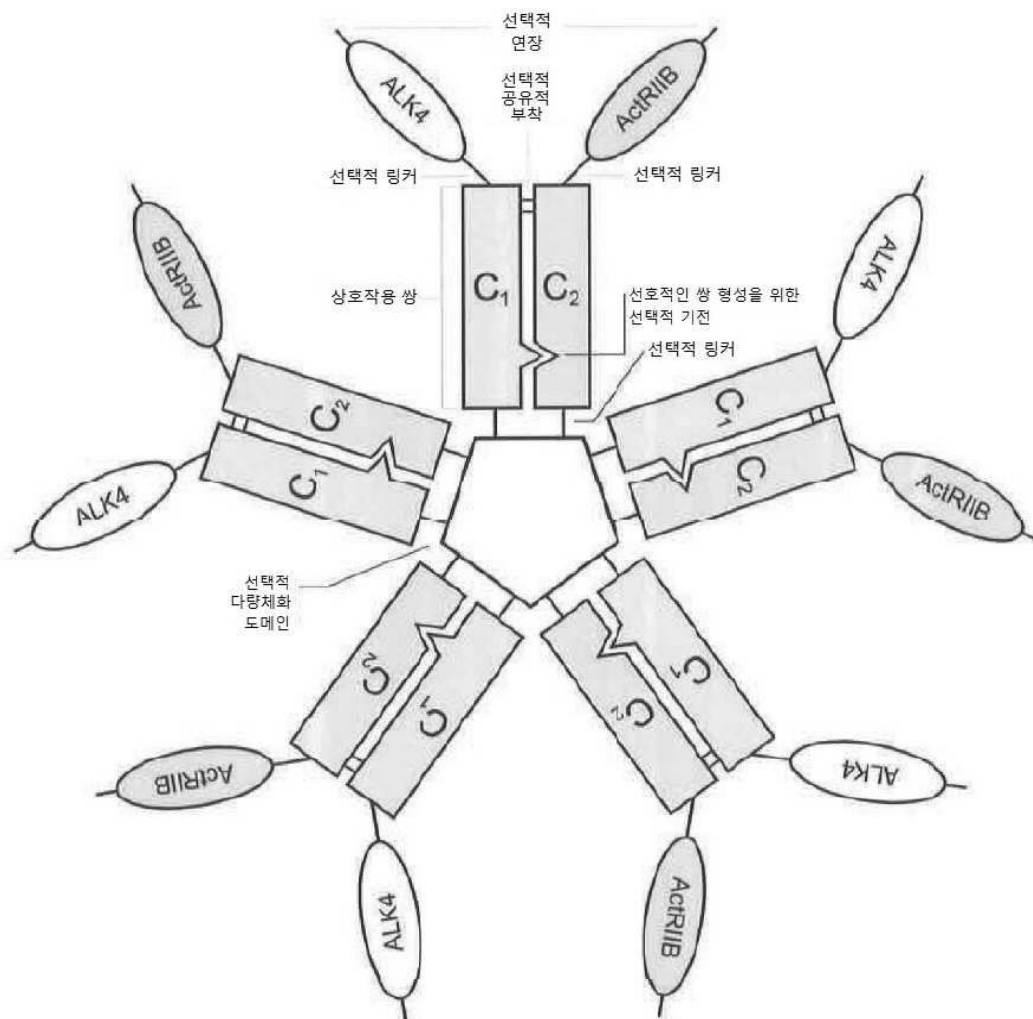
도면13b



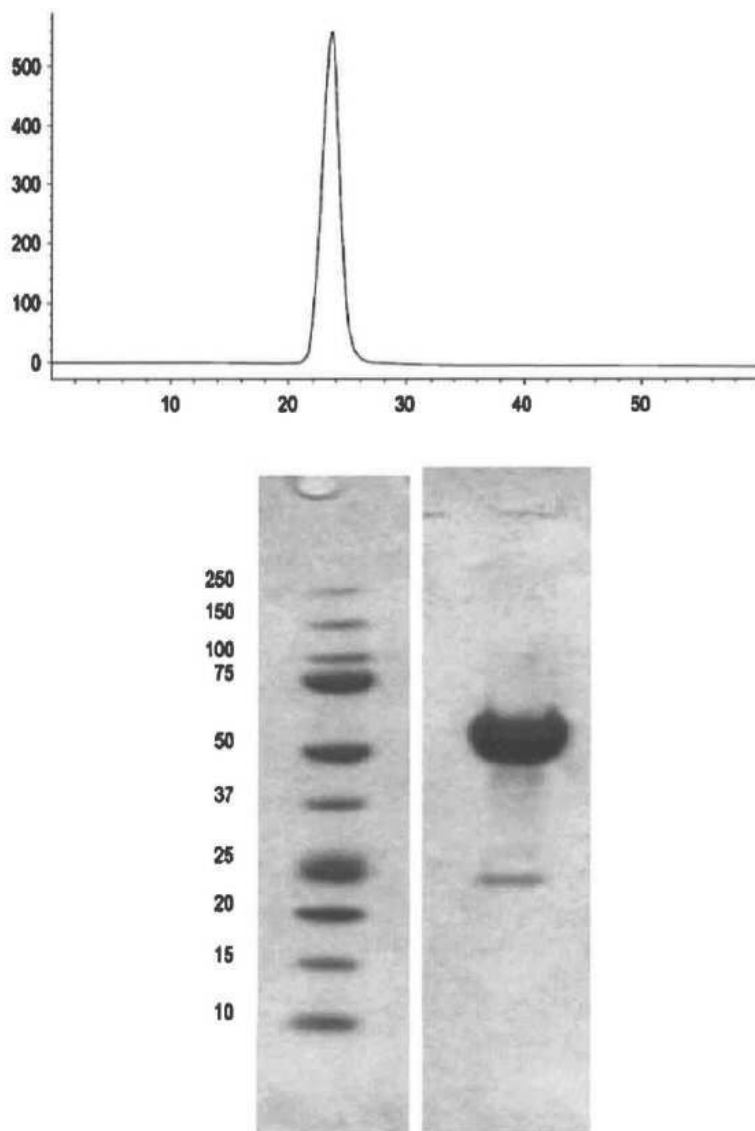
도면13c



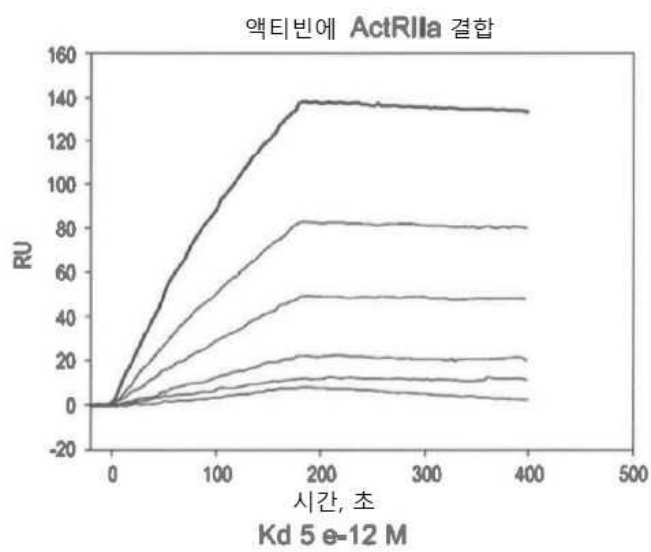
도면 13d



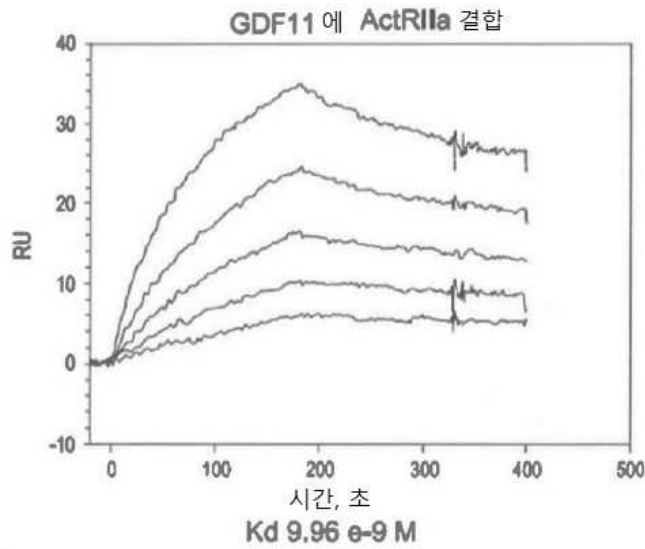
도면14



도면15a



도면15b



도면16a

단백질	엑티빈 A			엑티빈 B		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
ActRIIB E50L	1.88×10^7	8.58×10^{-4}	45.6	1.64×10^6	2.62×10^{-4}	159
ActRIIB L38N/L79R	1.31×10^7	4.44×10^{-3}	339	7.53×10^6	2.78×10^{-4}	36.9
ActRIIB V99G	ND#			2.58×10^6	2.18×10^{-3}	847
ActRIIB F82I-N83R	1.79×10^7	5.83×10^{-3}	327	2.22×10^7	1.61×10^{-4}	7.3
ActRIIB F82K-N83R	1.58×10^7	8.12×10^{-3}	513	2.39×10^7	2.03×10^{-4}	8.5
ActRIIB F82T-N83R	2.41×10^7	4.82×10^{-3}	200	2.25×10^7	2.46×10^{-4}	10.9
ActRIIB F82T	1.87×10^7	2.04×10^{-4}	10.9	1.85×10^7	2.23×10^{-4}	12
ActRIIB L79H-F82I	일과적*			1.42×10^7	2.24×10^{-4}	15.8
ActRIIB L79H	일과적*			1.58×10^7	2.67×10^{-4}	16.9
ActRIIB L79H-F82K	일과적*			1.61×10^7	3.16×10^{-4}	19.6
ActRIIB-G1Fc	7.82×10^6	1.14×10^{-4}	14.6	7.22×10^6	6.17×10^{-5}	8.5

도면16b

단백질	GDF8			GDF11			BMP9			BMP10		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
ActRIIB E50L	2.29×10^6	5.30×10^{-4}	232	3.84×10^6	7.17×10^{-4}	187	8.63×10^6	8.91×10^{-4}	103	4.44×10^6	7.23×10^{-4}	163
ActRIIB L38N/L79R	3.96×10^6	1.24×10^{-3}	313	7.97×10^6	7.07×10^{-4}	88.6	5.27×10^5	1.12×10^{-3}	2128	1.34×10^7	3.92×10^{-3}	293
ActRIIB V99G	5.75×10^6	6.38×10^{-3}	1108	7.37×10^7	1.35×10^{-2}	184	ND#			1.02×10^6	9.69×10^{-4}	951
ActRIIB F82I-N83R	3.17×10^6	3.75×10^{-3}	1184	6.70×10^6	9.43×10^{-3}	1407	ND#			6.61×10^7	2.15×10^{-3}	32.5
ActRIIB F82K-N83R	ND#			ND#			ND#			7.35×10^7	8.74×10^{-4}	11.9
ActRIIB F82T-N83R	1.61×10^6	2.35×10^{-3}	1462	2.30×10^7	1.99×10^{-2}	864	ND#			5.24×10^7	1.62×10^{-3}	30.9
ActRIIB F82T	4.11×10^6	3.91×10^{-4}	95	1.40×10^7	3.73×10^{-4}	26.7	일과적*		6171	4.35×10^7	4.00×10^{-4}	9.2
ActRIIB L79H-F82I	3.29×10^6	1.08×10^{-3}	328	1.15×10^7	9.92×10^{-4}	86.1	ND#			3.01×10^7	3.51×10^{-3}	117
ActRIIB L79H	3.57×10^6	5.41×10^{-4}	151	1.50×10^7	4.28×10^{-4}	28.5	일과적*		10300	3.03×10^7	3.75×10^{-3}	124
ActRIIB L79H-F82K	3.83×10^5	1.54×10^{-3}	4022	1.23×10^8	2.03×10^{-1}	1658	ND#			2.45×10^7	2.10×10^{-3}	85.8
ActRIIB-G1Fc	3.86×10^6	1.73×10^{-4}	44.7	9.14×10^6	9.12×10^{-5}	10	1.02×10^7	9.24×10^{-4}	91.1	4.35×10^6	1.78×10^{-4}	40.9

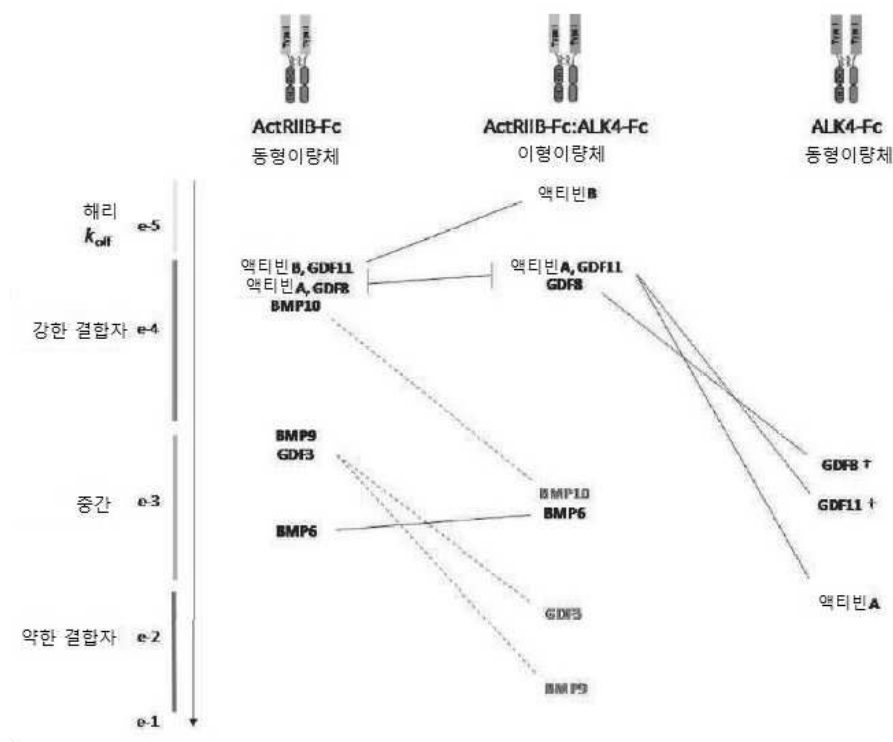
도면17

37°C 에서 동형이량체 ActRIIB-Fc 단백질에 의한 리간드 결합												
	액티빈 A			GDF11			BMP9			BMP10		
ActRIIB 단백질	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (pM)
ActRIIB-G1Fc	2.3 x 10 ⁶	1.1 x 10 ⁻⁴	47	1.0 x 10 ⁷	1.2 x 10 ⁻⁴	12	3.0 x 10 ⁷	1.1 x 10 ⁻³	37	3.6 x 10 ⁷	1.6 x 10 ⁻⁴	4
K55A	3.0 x 10 ⁶	1.4 x 10 ⁻⁴	46	1.6 x 10 ⁷	4.0 x 10 ⁻⁴	26	4.9 x 10 ⁷	7.0 x 10 ⁻³	142	3.2 x 10 ⁷	7.4 x 10 ⁻⁴	23
K55A / F82I	5.7 x 10 ⁶	2.7 x 10 ⁻⁴	47	2.2 x 10 ⁷	2.0 x 10 ⁻³	90	1.6 x 10 ⁷	2.1 x 10 ⁻³	134	1.3 x 10 ⁸	8.6 x 10 ⁻⁴	7
K55E	2.5 x 10 ⁶	1.6 x 10 ⁻⁴	64	1.2 x 10 ⁷	6.3 x 10 ⁻⁴	52	1.1 x 10 ⁸	3.0 x 10 ⁻²	270	3.4 x 10 ⁷	4.7 x 10 ⁻⁴	14
K74A	3.2 x 10 ⁷	1.1 x 10 ⁻³	34	1.9 x 10 ⁶	8.1 x 10 ⁻⁴	430	1.7 x 10 ⁸	6.2 x 10 ⁻²	360	7.5 x 10 ⁷	2.5 x 10 ⁻³	33
L79H	1.9 x 10 ⁶	5.6 x 10 ⁻⁴	300	2.0 x 10 ⁷	7.5 x 10 ⁻⁴	37	2.4 x 10 ⁶	1.8 x 10 ⁻³	760	1.9 x 10 ⁷	2.1 x 10 ⁻³	120
L79H / F82I	1.2 x 10 ⁶	6.7 x 10 ⁻⁴	580	2.6 x 10 ⁷	1.7 x 10 ⁻³	64	1.3 x 10 ⁷	2.8 x 10 ⁻³	220	2.7 x 10 ⁷	3.0 x 10 ⁻³	110
L79K	4.0 x 10 ⁶	5.1 x 10 ⁻⁴	130	1.2 x 10 ⁷	1.7 x 10 ⁻³	140	1.6 x 10 ⁷	1.7 x 10 ⁻²	1100	4.7 x 10 ⁶	6.2 x 10 ⁻³	1400
L79K / F82K	1.4 x 10 ⁶	8.6 x 10 ⁻⁴	640	4.5 x 10 ⁷	6.7 x 10 ⁻²	1600	ND#			2.2 x 10 ⁷	1.5 x 10 ⁻⁴	68
F82I	1.9 x 10 ⁶	1.5 x 10 ⁻⁴	78	8.2 x 10 ⁶	8.4 x 10 ⁻⁵	10	9.2 x 10 ⁷	2.5 x 10 ⁻²	275	2.4 x 10 ⁷	1.5 x 10 ⁻⁴	8
F82K	1.8 x 10 ⁶	1.7 x 10 ⁻⁴	93	1.6 x 10 ⁷	9.1 x 10 ⁻⁴	57	일과적*			3.1 x 10 ⁷	2.6 x 10 ⁻⁴	8
* 상호작용의 일과적 속성으로 인한 중간												
ND#는 테스트된 농도 범위에서 값을 검출할수 없음을 나타낸다												

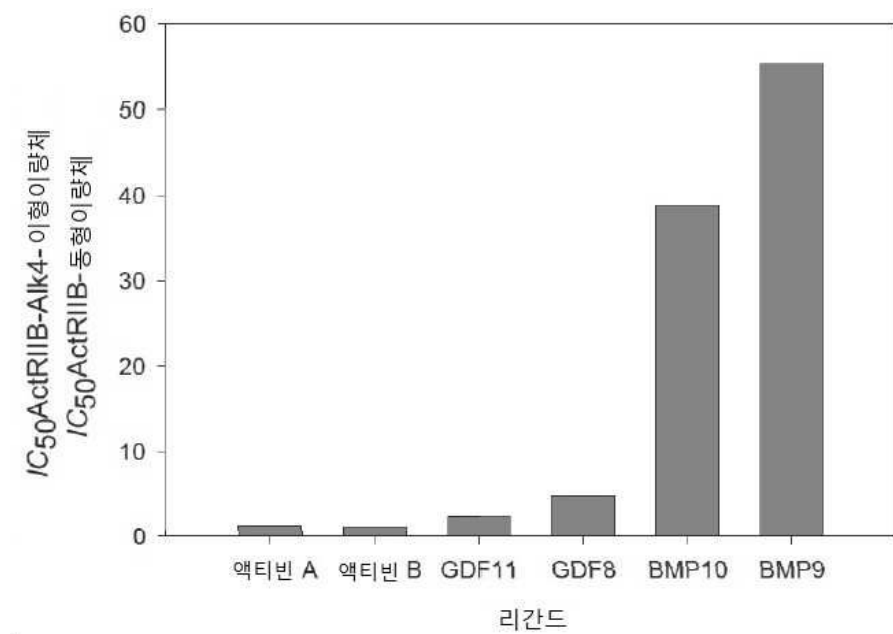
도면18

25°C 에서 동형이량체 ActRIIB-Fc 단백질에 의한 리간드 결합												
	액티빈 A			GDF11			BMP9			BMP10		
ActRIIB 단백질	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
ActRIIB-G1Fc	2.3×10^6	5.2×10^{-4}	250	9.1×10^6	9.8×10^{-5}	11	7.4×10^6	4.4×10^{-4}	59	3.3×10^6	5.0×10^{-4}	169
N35E	1.3×10^6	1.0×10^{-3}	800	6.7×10^6	1.9×10^{-4}	28	ND#			4.3×10^6	1.2×10^{-3}	280
N35F	1.6×10^6	4.7×10^{-4}	290	8.2×10^6	1.4×10^{-4}	17	ND#			2.6×10^6	5.8×10^{-4}	220
N35Q	2.0×10^6	6.5×10^{-4}	320	7.7×10^6	1.6×10^{-4}	20	ND#			2.7×10^6	7.1×10^{-4}	270
L38D	1.7×10^6	4.0×10^{-4}	230	5.8×10^6	1.8×10^{-4}	30	6.6×10^6	4.2×10^{-4}	63	3.3×10^6	4.9×10^{-4}	150
L38Q	1.8×10^6	3.5×10^{-4}	200	7.0×10^6	1.5×10^{-4}	21	7.4×10^6	2.5×10^{-4}	33	3.9×10^6	3.5×10^{-4}	89
L38R	1.9×10^6	4.5×10^{-4}	230	6.4×10^6	4.6×10^{-5}	7	1.4×10^7	5.5×10^{-4}	50	1.6×10^6	1.7×10^{-4}	110
K74M	ND#			ND#			ND#			ND#		
K74T	ND#			ND#			ND#			ND#		
L79W	1.3×10^6	3.2×10^{-4}	260	1.2×10^7	5.2×10^{-4}	44	9.2×10^6	1.1×10^{-3}	110	2.9×10^6	4.7×10^{-4}	160
F82Y	2.3×10^6	3.9×10^{-4}	170	7.1×10^6	1.3×10^{-4}	18	8.4×10^6	6.9×10^{-4}	82	3.7×10^6	5.2×10^{-4}	140
Q98A	3.4×10^6	5.3×10^{-4}	155	4.7×10^6	1.8×10^{-4}	37	1.2×10^7	5.3×10^{-4}	43	2.6×10^6	5.4×10^{-4}	210
Q98I	4.1×10^6	6.4×10^{-4}	157	3.9×10^6	1.9×10^{-4}	49	1.6×10^7	9.4×10^{-4}	59	2.6×10^6	5.6×10^{-4}	210
Q98K	3.3×10^6	4.8×10^{-4}	145	4.6×10^6	1.7×10^{-4}	37	1.1×10^7	7.4×10^{-4}	69	7.4×10^6	5.0×10^{-4}	68
Q98L	3.8×10^6	8.2×10^{-4}	220	4.0×10^6	1.7×10^{-4}	43	1.6×10^7	1.2×10^{-3}	71	1.1×10^7	7.2×10^{-4}	65
Q98R	3.4×10^6	1.0×10^{-3}	300	5.5×10^6	1.1×10^{-4}	20	9.7×10^7	7.2×10^{-3}	74	2.5×10^6	8.1×10^{-4}	320
Q98V	3.6×10^6	6.0×10^{-4}	160	5.0×10^6	1.6×10^{-4}	33	1.1×10^7	5.0×10^{-4}	47	1.0×10^7	5.0×10^{-4}	48
ND#는 테스트된 농도 범위에서 값을 검출할수 없음을 나타낸다												

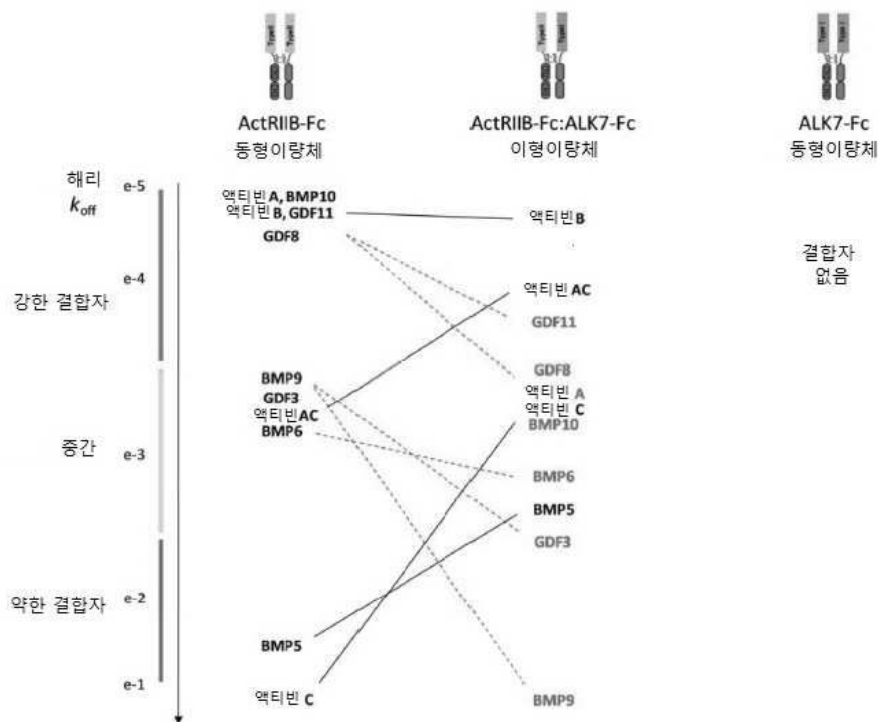
도면19



도면20



도면21

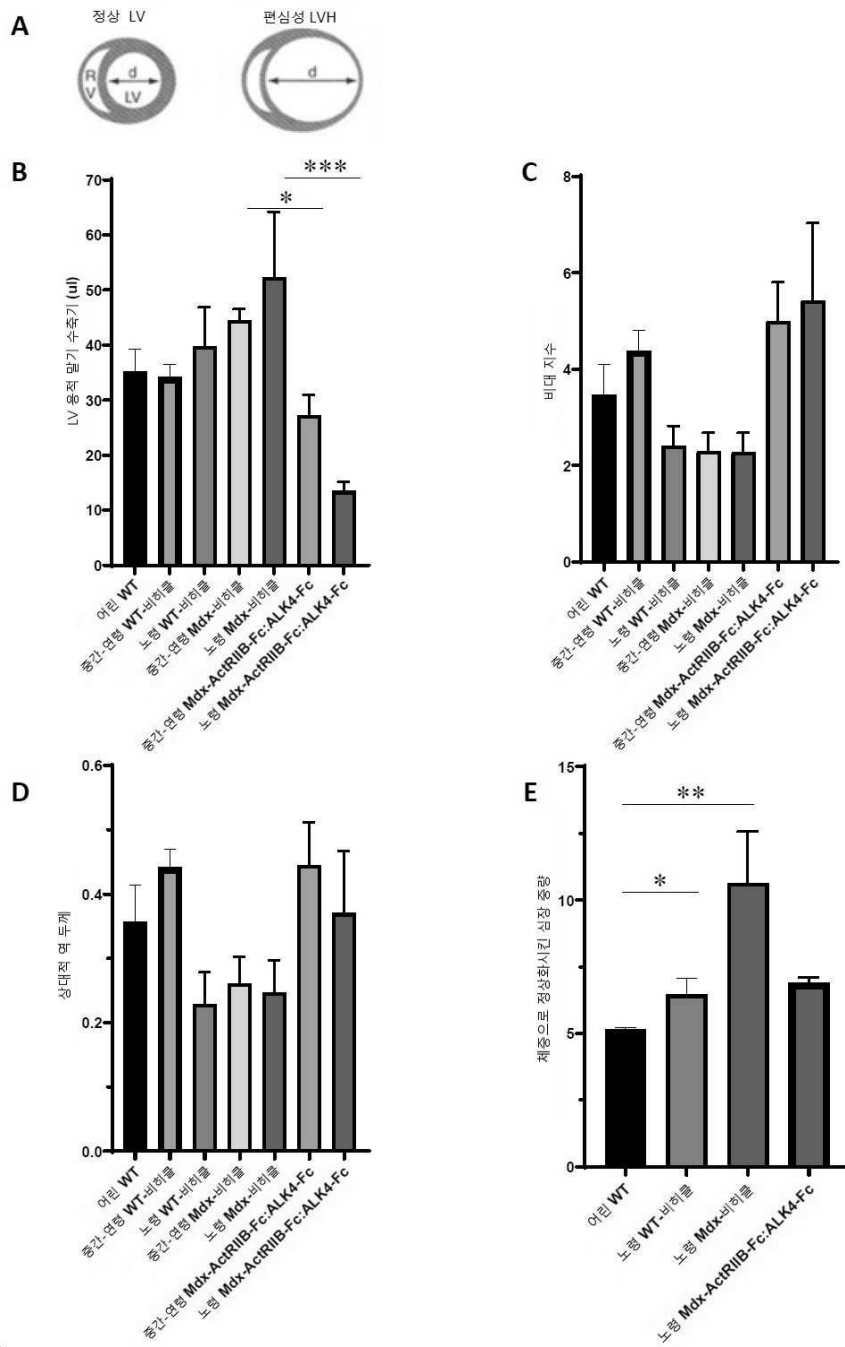


도면22

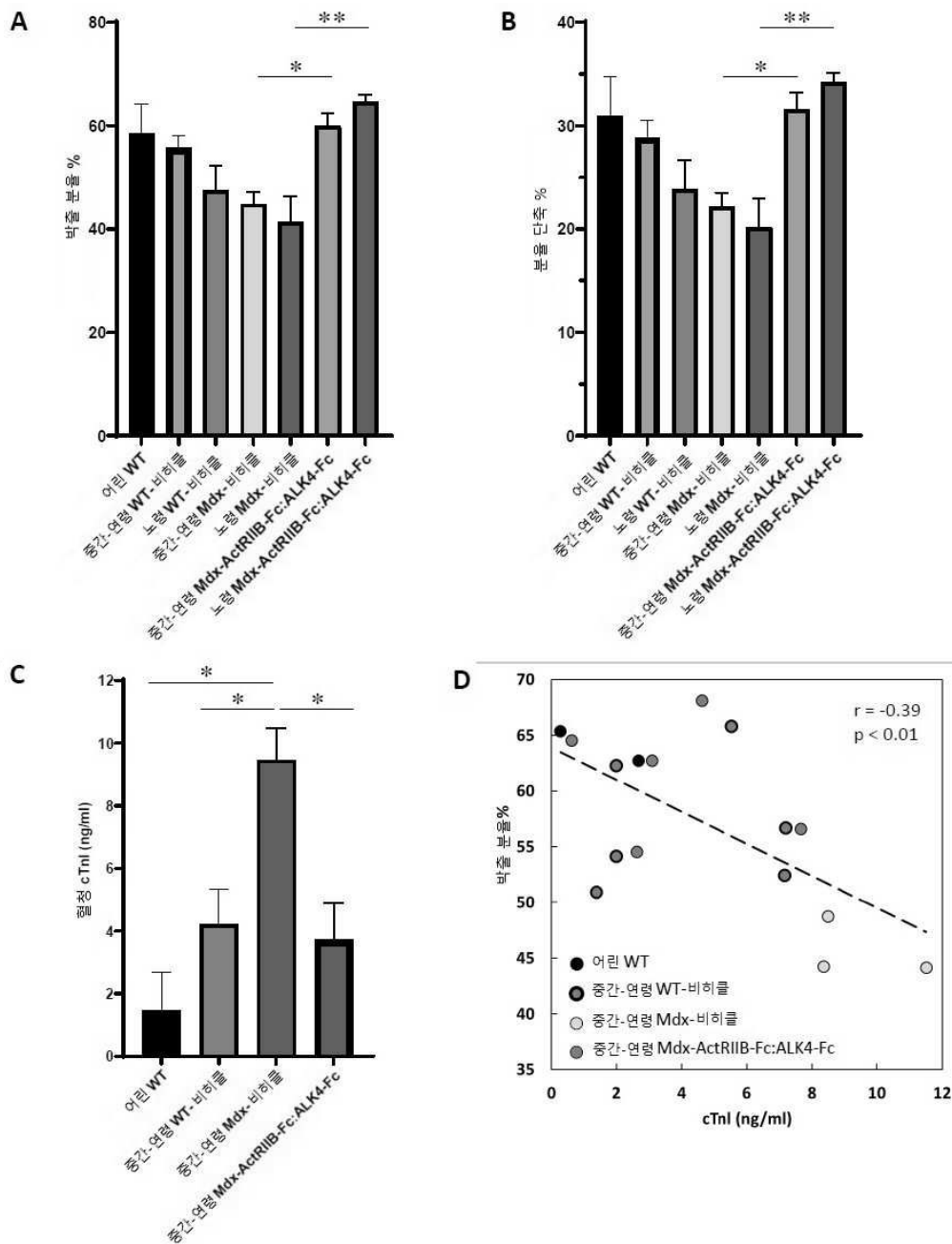
	10	20	30	40	50
인간	ELSPGLKVC	LLCDSSNFTC	QTEGACWASV	MLTNGKEQVI	KSCVSLPELN
침팬지	ELSAGLKVC	LLCDSSNFTC	QTEGACWASV	MLTNGKEQVI	KSCVSLPELN
안경원숭이	ELSAGLKVC	LLCDSSNFTC	QTEGACWASV	MRTNGKEQVI	KSCVSLPELN
마모셋	ELSAGLKVC	LLCDSSNFTC	QTEGACWASV	MLTNGREQVI	KSCVSLPELN
햄스터	ELTAGLKVC	LLCDSSNFTC	QTEGACWASV	MLTNGKEQVI	KSCVSLPELN
다람쥐	ELSAGLKVC	LLCDSSNFTC	QTEGACWASV	MLTNGKEQVI	KSCVSLPELN

	60	70	80	90
인간	AQVFCCHSSNN	VTKTECCFTD	FCNNITLHLP	TASPNAPKLG PME
침팬지	AQVFCCHSSNN	VTKTECCFTD	FCNNITLHLP	TASPNAPKLG PME
안경원숭이	AQVFCCHSSNN	VTKTECCFTD	FCNNITLHLP	TASPNAPKLG PME
마모셋	AQVFCCHSSNN	ITKTECCFTD	FCNNITLHLP	TASPNAPKLG PME
햄스터	AQVFCCHSSNN	VTKTECCFTD	FCNNITLHLP	TVSPSAPRLG PTE
다람쥐	AQVFCCHSSNN	VTKTECCFTD	FCNNITLHLP	TVSPNAPRLG PME

도면23



도면24



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ACCELERON PHARMA INC.

<120> ACTRII-ALK4 ANTAGONISTS AND METHODS OF TREATING HEART FAILURE

<130> 1848179-150-W01

<140> PCT/US2021/037557

<141> 2021-06-16

<150> 63/159,003

<151> 2021-03-10

<150> 63/040,400

<151> 2020-06-17

<160> 436

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr

115

<210> 2

<211> 512

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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
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
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
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> 3

<211> 345

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gggcgtgggg aggctgagac acgggagtgc atctactaca acgccaactg ggagctggag	60
cgcaccaacc agagcggcct ggagcgtgc gaaggcgagc aggacaagcg gctgcactgc	120
tacgcctcct ggcgcaacag ctctggcacc atcgagctcg tgaagaaggg ctgctggcta	180

gatgacttca actgctacga taggcaggag tgtgtggcca ctgaggagaa cccccaggtg	240
tacttctgct gctgtgaagg caacttctgc aacgaacgt tcactcattt gccagaggct	300
gggggcccgg aagtcacgta cgagccaccc ccgacagccc ccacc	345

<210> 4

<211> 1536

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

atgacggcgc cctgggtggc cctcgcctc ctctggggat cgctgtgcgc cggctctggg	60
cgtggggagg ctgagacacg ggagtgcatt tactacaacg ccaactggga gctggagcgc	120
accaaccaga gcggcctgga gcgctgcgaa ggcgagcagg acaagcggct gcactgctac	180

gcctcctggc gcaacagctc tggcaccatc gagctcgtga agaagggtg ctggctagat	240
gacttcaact gctacgatag gcaggagtgt gtggccactg aggagaaccc ccagggttac	300
ttctgtgct gtgaaggcaa cttctgcaac gaacgttca ctcatttgcc agaggctggg	360
ggcccgaag tcacgtacga gccacccccg acagccccca cctgctcac ggtgctggcc	420
tactactgc tgcccatcgg gggcctttcc ctcatcgctc tgctggcctt ttggatgtac	480
cggcatcgca agcccccta cggatcatgtg gacatccatg aggacctgg gcctccacca	540
ccatccctc tgggtggcct gaagccactg cagctgctgg agatcaaggc tcgggggcgc	600

tttggctgtg tctggaaggc ccagctcatg aatgactttg tagctgtcaa gatcttccca	660
ctccaggaca agcagtcgtg gcagagtga cgggagatct tcagcacacc tggcatgaag	720
cacgagaacc tgctacagtt cattgtgcc gagaagcgag gctccaacct cgaagtagag	780
ctgtggctca tcacggcctt ccatgacaag ggctccctca cggattacct caaggggaac	840
atcatcacat ggaacgaact gtgtcatgta gcagagacga tgtcacagg ccttcatac	900
ctgcatgagg atgtgcctg gtgccgtggc gagggccaca agccgtctat tgccacagg	960

gacttttaaaa gtaagaatgt attgctgaag agcgacctca cagccgtgct ggctgacttt 1020

ggcttggctg ttcgatttga gccagggaaa cctccagggg acaccacagg acaggtaggc 1080

acgagacggg acatggctcc tgaggtgctc gagggagcca tcaacttcca gagagatgcc 1140

ttcctgcgca ttgacatgta tgccatgggg ttggtgctgt gggagcttgt gtctcgtgc 1200

aaggctgcag acggaccctg ggatgagtac atgctgcctt ttgaggaaga gattggccag 1260

cacccttctg tggaggagct gcaggagggt gtggtgcaca agaagatgag gcccaccatt 1320

aaagatcact ggttgaaaca cccgggcttg gccagcttt gtgtgaccat cgaggagtgc 1380

tgggaccatg atgcagagcg tcgcttgtcc gcgggctgtg tggaggagcg ggtgtccctg 1440

attcggagggt cggtaacgg cactacctcg gactgtctcg tttccctggg gacctctgtc 1500

accaatgtgg acctgcccc taaagagtca agcatc 1536

<210> 5

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
115 120 125

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
130 135 140

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
145 150 155 160

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
165 170 175

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
180 185 190

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
195 200 205

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
210 215 220

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
225 230 235 240

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
245 250 255

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
260 265 270

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
275 280 285

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
290 295 300

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 6

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 6

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
210 215 220

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
260 265 270

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
275 280 285

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 7

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 7

Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Tyr Ile Tyr Ala
20

<210> 8

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 8

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro

20

<210> 9

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 9

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

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 10

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 10

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60

tcgccggcg cctctgggagc tggggaggct gagacacggg agtgcaccta ctacaacgcc 120

aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac 180

aagcggctgc actgctacgc ctcttgccgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240

aagggtgct ggctagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300

gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact 360
catttgccag aggtggtggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc 420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480

gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc 540
acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720
aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 900

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960
tccgacggct ccttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag 1080
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 11

Gly Arg Gly Glu Ala Glu

1 5

<210>

12

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<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 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 Gly Gly Gly Thr His
100 105 110

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
130 135 140

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
145 150 155 160

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
165 170 175

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
180 185 190

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
195 200 205

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
210 215 220

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
225 230 235 240

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
245 250 255

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

260 265 270
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 275 280 285
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 290 295 300

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 305 310 315 320
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330 335

<210> 13

<211> 225

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

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

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

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys

225

<210> 14

<211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

1 5 10 15

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

20 25 30

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

35 40 45

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

50 55 60

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

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

<210> 15

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala

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

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

100 105 110
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 115 120 125
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

 130 135 140
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 165 170 175
 Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 180 185 190
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe

 195 200 205
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230
 <210> 16
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 16
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
 1 5 10 15
 Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

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

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

275

<210> 17

<211> 229

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

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

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

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

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

<210> 18

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

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

Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
65				70						75				80	
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
			85					90					95		
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
			100					105					110		
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
			115					120					125		

Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
			130					135					140		
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
145				150						155				160	
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
			165					170					175		
Lys	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
			180					185					190		

Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu
			195					200					205		

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

210

215

220

Lys

225

<210> 19

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 19

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1

5

10

15

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

20

25

30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

35

40

45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

50

55

60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

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

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 210 215 220

Lys

225

<210> 20

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 65 70 75 80

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 85 90 95

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 100 105 110

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 115 120 125

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

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

Lys

225

<210> 21

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 21

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

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

85 90 95
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
100 105 110

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
115 120 125

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
145 150 155 160

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
165 170 175

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
180 185 190

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
195 200 205

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

Lys

225

<210> 22

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 22

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
1 5 10 15

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
65 70 75 80
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
85 90 95
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
100 105 110
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
115 120 125

Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
130 135 140
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
145 150 155 160
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
165 170 175
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
180 185 190

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
195 200 205
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

Lys

225

<210> 23

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 23

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5 10 15

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

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

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

 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 210 215 220
 Lys
 225
 <210> 24
 <211> 228

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 24

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Phe Arg Pro Glu Val His Leu

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ser Arg Gln

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Pro Gly Lys

225

<210> 25

<211> 228

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 25

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Ser Asn Gly Gln Glu Leu Pro Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala

165 170 175
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Ile Leu Arg
 180 185 190
 Val Ala Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Asp Arg
 210 215 220
 Ser Pro Gly Lys
 225
 <210> 26

 <211> 261
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 26
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 20 25 30
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 35 40 45

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

 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 115 120 125

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

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

 Glu Asn Ala Gln Leu Glu Trp Glu Leu Gln Ala Leu Glu Lys Glu Leu
 245 250 255
 Ala Gln Gly Ala Thr
 260
 <210> 27
 <211> 261
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 27
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 20 25 30
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 35 40 45
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

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

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

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

210 215 220
Lys Gly Gly Ser Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Leu Lys Lys
225 230 235 240
Lys Asn Ala Gln Leu Lys Trp Lys Leu Gln Ala Leu Lys Lys Lys Leu
245 250 255
Ala Gln Gly Ala Thr
260

<210> 28

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 28

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Glu Asn Gln Val Ser Leu Trp

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys

225

<210> 29

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 29

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
195 200 205

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

Lys

225

<210> 30

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 30

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
1 5 10 15

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
65 70 75 80

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
85 90 95

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
100 105 110

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
115 120 125

Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
130 135 140

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

[illegible]

Lys

225

<210> 31

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 31

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Ala Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100	105	110	
Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro			
115	120	125	
Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr			
130	135	140	
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
145	150	155	160
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
165	170	175	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
180	185	190	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
195	200	205	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
210	215	220	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
225	230	235	240
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
245	250	255	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
260	265	270	
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
275	280	285	
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
290	295	300	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
305	310	315	320
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
325	330	335	
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
340	345	350	

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

355

360

365

<210> 32

<211> 1104

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 32

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgtgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgccggcgc cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattca ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
gccccgctgc actgctacgc ctctggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggtgctt ggctagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgttcact	360
catttgccag aggttggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420
ggtgtgggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc	540
acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720
aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc	780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgccc catcccggga ggagatgacc	840
aagaaccagg tcagcctgac ctgctgtgtc aaaggcttct atccagcga catcgccgtg	900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960
tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1020
gggaacgtct tctcatgtc cgtgatgcat gaggtctgtc acaaccacta cagcagaag	1080
agcctctccc tgtccccggg taaa	1104

<210> 33

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

Gly	Arg	Gly	Glu	Ala	Glu	Thr	Arg	Glu	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn
1				5						10					15
Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	Thr	Asn	Gln	Ser	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly
				20						25					30
Glu	Gln	Asp	Ala	Arg	Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser
				35						40					45
Gly	Thr	Ile	Glu	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Phe	Asn
				50						55					60
Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln	Glu	Cys	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val
65					70					75					80
Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His
					85					90					95
Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr
					100					105					110
Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
					115					120					125
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
					130					135					140
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
145					150					155					160
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
					165					170					175
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
					180					185					190
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
					195					200					205
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
					210					215					220

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
225 230 235 240

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
245 250 255

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
260 265 270

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
275 280 285

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
290 295 300

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 34

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 34

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15
Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

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

35 40 45
Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Glu Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

<210> 35

<211> 1104

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 35

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60

tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattta ctacaacgcc 120

aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac 180

gagcggctgc actgctacgc ctcctggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240

aagggctgct ggctagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300

gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttctact 360

catttgccag aggctggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc 420

ggtgggtggaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480

gttttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgga cctgaggtc 540

acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600

gacggcggtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720

aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 780

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggettct atcccagcga catcgccgtg 900

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacgget ctttttcct ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag 1080

agcctctccc tgtccccggg taaa 1104

<210> 36

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

195 200 205
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

210 215 220
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

225 230 235 240
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

245 250 255
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

260 265 270
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

275 280 285
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

290 295 300
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

305 310 315 320
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

325 330 335
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340

<210> 37

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 37

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20					25					30						
Arg	Glu	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	Thr	Asn	
35					40					45						
Gln	Ser	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Asp	Lys	Arg	Leu	His	
50					55					60						
Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser	Gly	Thr	Ile	Glu	Leu	Val	Lys	
65					70					75					80	
Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Ile	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln	Glu	Cys	
85					90					95						
Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	
100					105					110						
Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His	Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Gly	Pro	
115					120					125						
Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	
130					135					140						
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
145					150					155					160	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
165					170					175						
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
180					185					190						
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
195					200					205						
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
210					215					220						
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
225					230					235					240	
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
245					250					255						
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
260					265					270						

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
275 280 285

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
290 295 300

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
305 310 315 320

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 38

<211> 1104

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 38

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60
tcgcccgcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattcta ctacaacgcc 120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac 180

aagcggctgc actgctacgc ctcttgccgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240
aagggtgct ggctagatga catcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact 360
catttgccag aggttggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc 420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480
gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc 540
acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgctgg aggagcagta caacagcacg 660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720

aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catgccctg 900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960
tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag 1080
agcctctccc tgtctccggg taaa 1104

<210> 39

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
145 150 155 160

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
165 170 175

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
180 185 190

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
195 200 205

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
210 215 220

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
225 230 235 240

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
245 250 255

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
260 265 270

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
275 280 285

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
290 295 300

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 40

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 40

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Lys Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

<210> 41

<211> 1104

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 41

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcaccta ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggtgc actgctacgc ctctgggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggctgct ggctagatga caagaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgttcact	360
catttgccag aggtggggg cccggaagtc acgtacgagc caccgccgac agccccacc	420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480

gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 540
 acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660
 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720
 aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gcccctatcg agaaaacat ctccaaagcc 780

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 900
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960
 tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020
 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cagcagaag 1080
 agcctctccc tgtctccggg taaa 1104

<210> 42

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

130 135 140
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

145 150 155 160
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

165 170 175
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

180 185 190
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

195 200 205
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

210 215 220
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

225 230 235 240
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

245 250 255
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

260 265 270
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

275 280 285
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

290 295 300
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

305 310 315 320
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

325 330 335
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340

<210> 43

<211> 367

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 43

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr
20 25 30

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

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His
50 55 60

Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys
65 70 75 80

Lys Gly Cys Trp Glu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys
85 90 95

Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly
100 105 110

Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro
115 120 125

Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr
130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195											200											205	
Lys Thr	Lys Pro	Arg Glu	Glu Gln	Tyr Asn	Ser Thr	Tyr Arg	Val Val																
210											215											220	
Ser Val	Leu Thr	Val Leu	His Gln	Asp Trp	Leu Asn	Gly Lys	Glu Tyr																
225											230											235	240
Lys Cys	Lys Val	Ser Asn	Lys Ala	Leu Pro	Ala Pro	Ile Glu	Lys Thr																
										245											250	255	
Ile Ser	Lys Ala	Lys Gly	Gln Pro	Arg Glu	Pro Gln	Val Tyr	Thr Leu																
										260											265	270	
Pro Pro	Ser Arg	Glu Glu	Met Thr	Lys Asn	Gln Val	Ser Leu	Thr Cys																
										275											280	285	
Leu Val	Lys Gly	Phe Tyr	Pro Ser	Asp Ile	Ala Val	Glu Trp	Glu Ser																
										290											295	300	
Asn Gly	Gln Pro	Glu Asn	Asn Tyr	Asp Thr	Thr Pro	Pro Val	Leu Asp																
										305											310	315	320
Ser Asp	Gly Ser	Phe Phe	Leu Tyr	Ser Asp	Leu Thr	Val Asp	Lys Ser																
										325			330			335							
Arg Trp	Gln Gln	Gly Asn	Val Phe	Ser Cys	Ser Val	Met His	Glu Ala																
										340			345			350							
Leu His	Asn His	Tyr Thr	Gln Lys	Ser Leu	Ser Leu	Ser Pro	Gly																
										355			360			365							
<210> 44																							
<211> 1101																							
<212> DNA																							
<213> Artificial Sequence																							
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic																							
polynucleotide																							
<400> 44																							
atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60																							
tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcaccta ctacaacgcc 120																							
aactggggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttggagc gctgcgaagg cgagcaggac 180																							

aagcggctgc actgctacgc ctccctggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240
aagggctgct gggaagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact 360
catttgccag aggtctggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc 420
ggtgggtgaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480
gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac acctcatga tctcccggac cctgaggtc 540

acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720
aagtgaagg tctccaacaa agcctccca gccccatcg agaaaacat ctccaagcc 780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac acctgcccc catcccgga ggagatgacc 840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacgaca ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacggct ctttcttct ctatagcgac ctaccctgg acaagagcag gtggcagcag 1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cagcagaag 1080
agcctctccc tgtctccggg t 1101

<210> 45

<211> 342

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65				70				75				80			
Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His
85				90				95							
Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr
100				105				110							
Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
115				120				125							
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
130				135				140							
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
145				150				155				160			
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
165				170				175							
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
180				185				190							
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
195				200				205							
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
210				215				220							
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
225				230				235				240			
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
245				250				255							
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
260				265				270							
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Asp
275				280				285							
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
290				295				300							
Asp	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
305				310				315				320			

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

325

330

335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

340

<210> 46

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 46

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

<210> 47

<211> 1104

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 47

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tgcgccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattcta ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggctgc actgctacgc ctccctggcg aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggtgctt ggctagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact	360
catttgccag aggctggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420
ggtgttgtaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac cctgaggtc	540
acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720
aagtgcgaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaagcc	780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgaa ggagatgacc	840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg	900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctgaag	960
tccgacggct ctttttctct ctatagcaag ctacacgtgg acaagagcag gtggcagcag	1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cagcagaag	1080
agcctctccc tgctccggg taaa	1104

<210> 48

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285
Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

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

340

<210> 49

<211> 367

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 49

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

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

115 120 125
 Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr
 130 135 140
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 145 150 155 160
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 165 170 175
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 180 185 190

 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 195 200 205
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 210 215 220
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 225 230 235 240
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 245 250 255

 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 260 265 270
 Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
 275 280 285
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 290 295 300
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 305 310 315 320

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

<210> 50

<211> 342

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 195 200 205
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 210 215 220
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 225 230 235 240
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys
 245 250 255

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 260 265 270
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 275 280 285
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 340

<210> 51

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 51

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr
 20 25 30

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

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

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

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

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

 275 280 285

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
290 295 300

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
305 310 315 320

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 52

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 52

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

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

Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
35 40 45

Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn
50 55 60

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

Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
85 90 95

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

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 130 135 140
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

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

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

 275 280 285
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340

<210> 53

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 53

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

100 105

<210> 54

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 54

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 Ala 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 Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 100 105 110

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

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

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 55

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 55

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 Ala 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 Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

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

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

 275 280 285
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 290 295 300
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 305 310 315 320
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 325 330 335
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340

<210> 56

<400> 56

000

<210> 57

<400> 57

000

<210> 58

<400> 58
000
<210> 59
<400> 59
000
<210> 60
<400> 60
000
<210> 61
<400> 61
000
<210> 62
<400> 62
000
<210> 63
<400> 63
000
<210> 64
<400> 64
000
<210> 65
<400> 65
000
<210> 66
<400> 66
000
<210> 67
<400> 67
000
<210> 68
<400> 68
000
<210> 69
<400> 69
000
<210> 70

<400> 70

000

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<400> 78

000

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<400> 80

000

<210> 81

<400> 81

000

<210> 82

<400> 82

000

<210> 83

<400> 83

000

<210> 84

<211> 505

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys Leu Gln Ala Asn Tyr Thr Cys Glu Thr

35 40 45

Asp Gly Ala Cys Met Val Ser Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His

50 55 60

His Val Arg Thr Cys Ile Pro Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys

65 70 75 80

Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys

85 90 95

Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His

100 105 110

Leu Lys Glu Pro Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Leu Val

115 120 125

Gly Ile Ile Ala Gly Pro Val Phe Leu Leu Phe Leu Ile Ile Ile Ile

130 135 140

Val Phe Leu Val Ile Asn Tyr His Gln Arg Val Tyr His Asn Arg Gln

145 150 155 160

Arg Leu Asp Met Glu Asp Pro Ser Cys Glu Met Cys Leu Ser Lys Asp
 165 170 175
 Lys Thr Leu Gln Asp Leu Val Tyr Asp Leu Ser Thr Ser Gly Ser Gly
 180 185 190
 Ser Gly Leu Pro Leu Phe Val Gln Arg Thr Val Ala Arg Thr Ile Val
 195 200 205
 Leu Gln Glu Ile Ile Gly Lys Gly Arg Phe Gly Glu Val Trp Arg Gly
 210 215 220
 Arg Trp Arg Gly Gly Asp Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser Arg Glu
 225 230 235 240
 Glu Arg Ser Trp Phe Arg Glu Ala Glu Ile Tyr Gln Thr Val Met Leu
 245 250 255
 Arg His Glu Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Asn Lys Asp Asn
 260 265 270
 Gly Thr Trp Thr Gln Leu Trp Leu Val Ser Asp Tyr His Glu His Gly
 275 280 285
 Ser Leu Phe Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr Thr Val Thr Ile Glu Gly Met
 290 295 300
 Ile Lys Leu Ala Leu Ser Ala Ala Ser Gly Leu Ala His Leu His Met
 305 310 315 320
 Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro Gly Ile Ala His Arg Asp Leu
 325 330 335
 Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Met Cys Ala Ile Ala
 340 345 350
 Asp Leu Gly Leu Ala Val Arg His Asp Ala Val Thr Asp Thr Ile Asp
 355 360 365
 Ile Ala Pro Asn Gln Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala Pro Glu
 370 375 380
 Val Leu Asp Glu Thr Ile Asn Met Lys His Phe Asp Ser Phe Lys Cys
 385 390 395 400
 Ala Asp Ile Tyr Ala Leu Gly Leu Val Tyr Trp Glu Ile Ala Arg Arg

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

465 470 475 480
 Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ser Gln
 485 490 495
 Leu Ser Val Gln Glu Asp Val Lys Ile
 500 505

<210> 85

<211> 546

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Met Ala Glu Ser Ala Gly Ala Ser Ser Phe Phe Pro Leu Val Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gly Ser Gly Gly Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu

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

85 90 95
 Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His
 100 105 110

Leu Lys Glu Pro Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Leu Val
 115 120 125
 Gly Ile Ile Ala Gly Pro Val Phe Leu Leu Phe Leu Ile Ile Ile Ile
 130 135 140
 Val Phe Leu Val Ile Asn Tyr His Gln Arg Val Tyr His Asn Arg Gln

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

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

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

 340 345 350
 Ala Ser Gly Leu Ala His Leu His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly

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

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

 465 470 475 480
 Ile Glu Glu Met Arg Lys Val Val Cys Asp Gln Lys Leu Arg Pro Asn
 485 490 495
 Ile Pro Asn Trp Trp Gln Ser Tyr Glu Ala Leu Arg Val Met Gly Lys
 500 505 510
 Met Met Arg Glu Cys Trp Tyr Ala Asn Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala
 515 520 525
 Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ser Gln Leu Ser Val Gln Glu Asp Val

 530 535 540
 Lys Ile
 545
 <210> 86
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 86
 Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys
 1 5 10 15

Leu Gln Ala Asn Tyr Thr Cys Glu Thr Asp Gly Ala Cys Met Val Ser
20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro
35 40 45

Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser
50 55 60

Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg
65 70 75 80

Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro
85 90 95

Ser Met Trp Gly Pro Val Glu
100

<210> 87

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys
1 5 10 15

Leu Gln Ala Asn Tyr Thr Cys Glu Thr Asp Gly Ala Cys Met Val Ser
20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro
35 40 45

Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser
50 55 60

Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg
65 70 75 80

Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro
85 90 95

Ser Met Trp Gly Pro Val Glu
100

<210> 88

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 88

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

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

65	70	75	80
Lys Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys			
85	90	95	
Cys Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly			
100	105	110	
His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Thr			
115	120	125	
Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu			

130	135	140
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
145	150	155
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
165	170	175
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
180	185	190
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		

195 200 205
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
210 215 220
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
225 230 235 240
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
245 250 255
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

260 265 270
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
275 280 285
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro
290 295 300
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr
305 310 315 320
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

325 330 335
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
340 345 350

Ser Pro Gly

355

<210> 89

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 89

Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro
35 40 45

Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser
50 55 60

Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg
65 70 75 80

Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro
85 90 95

Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
115 120 125

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
130 135 140

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
145 150 155 160

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
165 170 175

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
180 185 190

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
195 200 205

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
210 215 220

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
225 230 235 240

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
245 250 255

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
260 265 270

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

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

<210> 90

<400> 90

000

<210> 91

<400> 91

000

<210> 92

<211> 356

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 92

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

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

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

100 105 110

His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Thr

115 120 125

Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Pro Gly Lys

355

<210> 93

<211> 332

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 93

Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg

65 70 75 80

Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro

85 90 95

Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg

225 230 235 240

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

290 295 300

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

305 310 315 320

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 94

<400> 94

000

<210> 95

<400> 95

000

<210> 96

<400> 96

000

<210> 97

<400> 97

000

<210> 98

<400> 98

000

<210> 99

<400> 99

000

<210> 100

<400> 100

000

<210> 101

<400> 101

000

<210> 102

<400> 102

000

<210> 103

<400> 103

000

<210> 104

<400> 104

000

<210> 105

<400> 105

000

<210> 106

<400> 106

000

<210> 107

<400> 107

000

<210> 108

<400> 108

000

<210> 109

<400> 109

000

<210> 110

<400> 110

000

<210> 111

<400> 111

000

<210> 112

<400> 112

000

<210> 113

<400> 113

000

<210> 114

<400> 114

000

<210> 115

<400> 115

000

<210> 116

<400> 116

000

<210> 117

<400> 117

000

<210> 118

<400> 118

000

<210> 119

<400> 119

000

<210> 120

<211> 493

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Met Thr Arg Ala Leu Cys Ser Ala Leu Arg Gln Ala Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala

35 40 45

Ser Val Met Leu Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val

50 55 60

Ser Leu Pro Glu Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn

65 70 75 80

Val Thr Lys Thr Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr

85 90 95

Leu His Leu Pro Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met

100 105 110

Glu Leu Ala Ile Ile Ile Thr Val Pro Val Cys Leu Leu Ser Ile Ala

115 120 125

Ala Met Leu Thr Val Trp Ala Cys Gln Gly Arg Gln Cys Ser Tyr Arg

130 135 140

Lys Lys Lys Arg Pro Asn Val Glu Glu Pro Leu Ser Glu Cys Asn Leu

145 150 155 160

Val Asn Ala Gly Lys Thr Leu Lys Asp Leu Ile Tyr Asp Val Thr Ala

165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala

180 185 190

Arg Thr Ile Val Leu Gln Glu Ile Val Gly Lys Gly Arg Phe Gly Glu

195 200 205

Val Trp His Gly Arg Trp Cys Gly Glu Asp Val Ala Val Lys Ile Phe

210 215 220

Ser Ser Arg Asp Glu Arg Ser Trp Phe Arg Glu Ala Glu Ile Tyr Gln
225 230 235 240

Thr Val Met Leu Arg His Glu Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp
245 250 255

Asn Lys Asp Asn Gly Thr Trp Thr Gln Leu Trp Leu Val Ser Glu Tyr
260 265 270

His Glu Gln Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Asn Arg Asn Ile Val Thr
275 280 285

Val Ala Gly Met Ile Lys Leu Ala Leu Ser Ile Ala Ser Gly Leu Ala
290 295 300

His Leu His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala
305 310 315 320

His Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Cys Glu Thr
325 330 335

Cys Ala Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Lys His Asp Ser Ile Leu
340 345 350

Asn Thr Ile Asp Ile Pro Gln Asn Pro Lys Val Gly Thr Lys Arg Tyr
355 360 365

Met Ala Pro Glu Met Leu Asp Asp Thr Met Asn Val Asn Ile Phe Glu
370 375 380

Ser Phe Lys Arg Ala Asp Ile Tyr Ser Val Gly Leu Val Tyr Trp Glu
385 390 395 400

Ile Ala Arg Arg Cys Ser Val Gly Gly Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu
405 410 415

Pro Tyr Tyr Asp Met Val Pro Ser Asp Pro Ser Ile Glu Glu Met Arg
420 425 430

Lys Val Val Cys Asp Gln Lys Phe Arg Pro Ser Ile Pro Asn Gln Trp
435 440 445

Gln Ser Cys Glu Ala Leu Arg Val Met Gly Arg Ile Met Arg Glu Cys
450 455 460

Trp Tyr Ala Asn Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys

465 470 475 480
 Thr Ile Ser Gln Leu Cys Val Lys Glu Asp Cys Lys Ala
 485 490
 <210> 121
 <211> 413
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 121
 Met Thr Arg Ala Leu Cys Ser Ala Leu Arg Gln Ala Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15

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

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

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

His Glu Gln Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Asn Arg Asn Ile Val Thr
195 200 205

Val Ala Gly Met Ile Lys Leu Ala Leu Ser Ile Ala Ser Gly Leu Ala
210 215 220

His Leu His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala
225 230 235 240

His Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Cys Glu Thr
245 250 255

Cys Ala Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Lys His Asp Ser Ile Leu
260 265 270

Asn Thr Ile Asp Ile Pro Gln Asn Pro Lys Val Gly Thr Lys Arg Tyr
275 280 285

Met Ala Pro Glu Met Leu Asp Asp Thr Met Asn Val Asn Ile Phe Glu
290 295 300

Ser Phe Lys Arg Ala Asp Ile Tyr Ser Val Gly Leu Val Tyr Trp Glu
305 310 315 320

Ile Ala Arg Arg Cys Ser Val Gly Gly Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu
325 330 335

Pro Tyr Tyr Asp Met Val Pro Ser Asp Pro Ser Ile Glu Glu Met Arg
340 345 350

Lys Val Val Cys Asp Gln Lys Phe Arg Pro Ser Ile Pro Asn Gln Trp
355 360 365

Gln Ser Cys Glu Ala Leu Arg Val Met Gly Arg Ile Met Arg Glu Cys
370 375 380

Trp Tyr Ala Asn Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys
385 390 395 400

Thr Ile Ser Gln Leu Cys Val Lys Glu Asp Cys Lys Ala
405 410

<210> 122

<211> 336

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Met Thr Arg Ala Leu Cys Ser Ala Leu Arg Gln Ala Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala

35 40 45

Ser Val Met Leu Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val

50 55 60

Ser Leu Pro Glu Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn

65 70 75 80

Val Thr Lys Thr Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr

85 90 95

Leu His Leu Pro Thr Asp Asn Gly Thr Trp Thr Gln Leu Trp Leu Val

100 105 110

Ser Glu Tyr His Glu Gln Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Asn Arg Asn

115 120 125

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

130 135 140

Gly Leu Ala His Leu His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Cys Glu Thr Cys Ala Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Lys His Asp

180 185 190

Ser Ile Leu Asn Thr Ile Asp Ile Pro Gln Asn Pro Lys Val Gly Thr

195 200 205

Lys Arg Tyr Met Ala Pro Glu Met Leu Asp Asp Thr Met Asn Val Asn

210 215 220

Ile Phe Glu Ser Phe Lys Arg Ala Asp Ile Tyr Ser Val Gly Leu Val

225 230 235 240

Tyr Trp Glu Ile Ala Arg Arg Cys Ser Val Gly Gly Ile Val Glu Glu

245 250 255

Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asp Met Val Pro Ser Asp Pro Ser Ile Glu

260 265 270

Glu Met Arg Lys Val Val Cys Asp Gln Lys Phe Arg Pro Ser Ile Pro

275 280 285

Asn Gln Trp Gln Ser Cys Glu Ala Leu Arg Val Met Gly Arg Ile Met

290 295 300

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

305 310 315 320

Ile Lys Lys Thr Ile Ser Gln Leu Cys Val Lys Glu Asp Cys Lys Ala

325 330 335

<210> 123

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Glu Leu Ser Pro Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser

1 5 10 15

Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu

20 25 30

Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu

35 40 45

Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr

50 55 60

Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro

65 70 75 80

Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu

85 90

<210> 124

<211> 443

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Met Leu Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu

1 5 10 15

Pro Glu Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr

20 25 30

Lys Thr Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His

35 40 45

Leu Pro Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu Leu

50 55 60

Ala Ile Ile Ile Thr Val Pro Val Cys Leu Leu Ser Ile Ala Ala Met

65 70 75 80

Leu Thr Val Trp Ala Cys Gln Gly Arg Gln Cys Ser Tyr Arg Lys Lys

85 90 95

Lys Arg Pro Asn Val Glu Glu Pro Leu Ser Glu Cys Asn Leu Val Asn

100 105 110

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

115 120 125

Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Arg Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

His Gly Arg Trp Cys Gly Glu Asp Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser

165 170 175

Arg Asp Glu Arg Ser Trp Phe Arg Glu Ala Glu Ile Tyr Gln Thr Val

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Asn Arg Asn Ile Val Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Met Ile Lys Leu Ala Leu Ser Ile Ala Ser Gly Leu Ala His Leu
245 250 255

His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg
260 265 270

Asp Ile Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Cys Glu Thr Cys Ala
275 280 285

Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Lys His Asp Ser Ile Leu Asn Thr
290 295 300

Ile Asp Ile Pro Gln Asn Pro Lys Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala
305 310 315 320

Pro Glu Met Leu Asp Asp Thr Met Asn Val Asn Ile Phe Glu Ser Phe
325 330 335

Lys Arg Ala Asp Ile Tyr Ser Val Gly Leu Val Tyr Trp Glu Ile Ala
340 345 350

Arg Arg Cys Ser Val Gly Gly Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
355 360 365

Tyr Asp Met Val Pro Ser Asp Pro Ser Ile Glu Glu Met Arg Lys Val
370 375 380

Val Cys Asp Gln Lys Phe Arg Pro Ser Ile Pro Asn Gln Trp Gln Ser
385 390 395 400

Cys Glu Ala Leu Arg Val Met Gly Arg Ile Met Arg Glu Cys Trp Tyr
405 410 415

Ala Asn Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Ile
420 425 430

Ser Gln Leu Cys Val Lys Glu Asp Cys Lys Ala
435 440

<210> 125

<211> 63

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Met Leu Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu

1 5 10 15

Pro Glu Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr

20 25 30

Lys Thr Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His

35 40 45

Leu Pro Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu

50 55 60

<210> 126

<211> 393

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Glu Leu Ser Pro Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser

1 5 10 15

Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu

20 25 30

Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu

35 40 45

Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr

50 55 60

Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro

65 70 75 80

Thr Gly Leu Pro Leu Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Arg Thr Ile Val

85 90 95

Leu Gln Glu Ile Val Gly Lys Gly Arg Phe Gly Glu Val Trp His Gly

100 105 110

Arg Trp Cys Gly Glu Asp Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser Arg Asp

115 120 125

Glu Arg Ser Trp Phe Arg Glu Ala Glu Ile Tyr Gln Thr Val Met Leu

130 135 140
 Arg His Glu Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Asn Lys Asp Asn
 145 150 155 160
 Gly Thr Trp Thr Gln Leu Trp Leu Val Ser Glu Tyr His Glu Gln Gly

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

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

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

 355 360 365
 Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Ile Ser Gln
 370 375 380

Leu Cys Val Lys Glu Asp Cys Lys Ala

385 390

<210> 127

<211> 316

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Glu Leu Ser Pro Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser

1 5 10 15

Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu

20 25 30

Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu

35 40 45

Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr

50 55 60

Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Gly Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Asn Arg Asn Ile Val Thr Val

100 105 110

Ala Gly Met Ile Lys Leu Ala Leu Ser Ile Ala Ser Gly Leu Ala His

115 120 125

Leu His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His

130 135 140

Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Cys Glu Thr Cys

145 150 155 160

Ala Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Lys His Asp Ser Ile Leu Asn

165 170 175

Thr Ile Asp Ile Pro Gln Asn Pro Lys Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met

180 185 190

Ala Pro Glu Met Leu Asp Asp Thr Met Asn Val Asn Ile Phe Glu Ser

195 200 205
Phe Lys Arg Ala Asp Ile Tyr Ser Val Gly Leu Val Tyr Trp Glu Ile

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

275 280 285
Tyr Ala Asn Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr
290 295 300
Ile Ser Gln Leu Cys Val Lys Glu Asp Cys Lys Ala

305 310 315

<210> 128

<211> 88

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys Gln
1 5 10 15
Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu Thr Asn Gly Lys Glu

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

85

<210> 129

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 129

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala

35 40 45

Ser Val Met Leu Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val

50 55 60

Ser Leu Pro Glu Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn

65 70 75 80

Val Thr Lys Thr Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr

85 90 95

Leu His Leu Pro Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met

100 105 110

Glu Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

115 120 125

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 305 310 315 320
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 325 330 335
 Ser Leu Ser Pro Gly
 340

<210> 130

<211> 317

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 130

Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys

1 5 10 15
 Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu Thr Asn Gly Lys
 20 25 30

Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu Leu Asn Ala Gln
 35 40 45
 Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr Glu Cys Cys Phe
 50 55 60
 Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro Thr Ala Ser Pro
 65 70 75 80
 Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu Thr Gly Gly Gly Thr His Thr
 85 90 95
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 100 105 110
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 115 120 125
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 130 135 140
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 145 150 155 160
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 165 170 175
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 180 185 190
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 195 200 205
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 210 215 220
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 225 230 235 240
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 245 250 255
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 260 265 270
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

275 280 285
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 290 295 300
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 305 310 315
 <210> 131
 <400> 131
 000
 <210> 132
 <400> 132
 000
 <210> 133

 <211> 342
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 133
 Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu
 20 25 30
 Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala
 35 40 45

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

Glu Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
115 120 125

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
130 135 140

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
145 150 155 160

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
165 170 175

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
180 185 190

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
195 200 205

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
210 215 220

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
225 230 235 240

Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
245 250 255

Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
260 265 270

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
275 280 285

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys
290 295 300

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
305 310 315 320

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
325 330 335

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 134

<211> 318

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 134

Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser Asn Phe Thr Cys

1 5 10 15
Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu Thr Asn Gly Lys

20 25 30
Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu Leu Asn Ala Gln

35 40 45
Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr Glu Cys Cys Phe

50 55 60
Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro Thr Ala Ser Pro

65 70 75 80
Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu Thr Gly Gly Gly Thr His Thr

85 90 95
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

100 105 110
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

115 120 125
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

130 135 140
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

145 150 155 160
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

165 170 175
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

180 185 190
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

195 200 205

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 210 215 220
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 225 230 235 240
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 245 250 255
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 260 265 270
 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 275 280 285
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 290 295 300
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 305 310 315
 <210> 135
 <400> 135
 000
 <210> 136
 <400> 136
 000
 <210>
 > 137
 <400> 137
 000
 <210> 138
 <400> 138
 000
 <210> 139
 <400> 139
 000
 <210> 140
 <400> 140
 000
 <210> 141

<400> 141
000
<210> 142
<400> 142
000
<210> 143
<400> 143
000
<210> 144
<400> 144
000
<210> 145
<400> 145
000
<210> 146
<400> 146
000
<210> 147
<400> 147
000
<210> 148
<400> 148
000
<210> 149
<400> 149
000
<210> 150
<400> 150
000
<210> 151
<400> 151
000
<210> 152
<400> 152
000
<210> 153

<400> 153

000

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<400> 155

000

<210> 156

<400> 156

000

<210> 157

<400> 157

000

<210> 158

<400> 158

000

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<400> 160

000

<210> 161

<400> 161

000

<210> 162

<400> 162

000

<210> 163

<400> 163

000

<210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<400> 166

000

<210> 167

<400> 167

000

<210> 168

<400> 168

000

<210> 169

<400> 169

000

<210> 170

<400> 170

000

<210> 171

<400

> 171

000

<210> 172

<400> 172

000

<210> 173

<400> 173

000

<210> 174

<400> 174

000

<210> 175

<400> 175

000

<210> 176
<400> 176
000
<210> 177
<400> 177
000
<210> 178
<400> 178
000
<210> 179
<400> 179
000
<210> 180
<400> 180
000
<210> 181
<400> 181
000
<210> 182
<400> 182
000
<210> 183
<400> 183
000
<210> 184
<400> 184
000
<210> 185
<400> 185
000
<210> 186
<400> 186
000
<210> 187
<400> 187
000

<210> 188

<400> 188

000

<210> 189

<400> 189

000

<210> 190

<400> 190

000

<210> 191

<400> 191

000

<210> 192

<400> 192

000

<210> 193

<400> 193

000

<210> 194

<400> 194

000

<210> 195

<400> 195

000

<210> 196

<400> 196

000

<210> 197

<400> 197

000

<210> 198

<400> 198

000

<210> 199

<400> 199
000
<210> 200
<400> 200
000
<210> 201
<400> 201
000
<210> 202
<400> 202
000
<210> 203
<400> 203
000
<210> 204
<400> 204
000
<210> 205
<400> 205
000

<210> 206
<400> 206
000
<210> 207
<400> 207
000
<210> 208
<400> 208
000
<210> 209
<400> 209
000
<210> 210
<400> 210

000

<210> 211

<400> 211

000

<210> 212

<400> 212

000

<210> 213

<400> 213

000

<210> 214

<400> 214

000

<210> 215

<400> 215

000

<210> 216

<400> 216

000

<210> 217

<400> 217

000

<210> 218

<400> 218

000

<210> 219

<400> 219

000

<210> 220

<400> 220

000

<210> 221

<211> 1515

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400>

221

atggcggagt cgcccgagc ctctccttc tcccccttg ttgtcctct gctcgccggc	60
agcggcgggt ccgggccccg ggggtccag gctctgctgt gtgcgtgcac cagctgcctc	120
caggccaact acacgtgtga gacagatggg gcctgcatgg tttccatttt caatctggat	180
gggatggagc accatgtgcg cacctgcac cccaaagtgg agctggctcc tgccgggaag	240
cccttctact gcctgagctc ggaggacctg cgcaacaccc actgtctgta cactgactac	300
tgcaacagga tcgacttgag ggtgcccagt ggtcacctca aggagcctga gcaccgtcc	360
atgtggggcc cgggtggagct ggtaggcac atcgccggcc cgggtttcct cctgttcctc	420
atcatcatca ttgttttct tgtcattaac tatcatcagc gtgtctatca caaccgccag	480
agactggaca tggaagatcc ctcatgtgag atgtgtctct ccaaagacaa gacgtccag	540
gatcttgtct acgatctctc cacctcaggg tctggctcag ggttaccct ctttgtccag	600
cgcacagtgg cccgaacat cgttttaca gagattattg gcaagggtcg gtttggggaa	660
glatggcggg gccgctggag ggggtggtgat gtggctgtga aaatattctc ttctcgtgaa	720
gaacgtctt ggttcaggga agcagagata taccagacgg tcattgctgc ccatgaaaac	780
atccttggat ttattgctgc tgacaataaa gataatggca cctggacaca gctgtggctt	840
gtttctgact atcatgagca cgggtccctg ttgtattatc tgaaccggtc cacagtgaca	900
attgagggga tgattaagct ggccttgtct gctgctagt ggctggcaca cctgcacatg	960
gagatcgtgg gcacccaagg gaagcctgga attgctcatc gagacttaa gtcaaagaac	1020
attctggtga agaaaaatgg catgtgtgcc atagcagacc tgggcctggc tgtccgtcat	1080
gatgcagtca ctgacacat tgacattgcc ccgaatcaga ggggtgggac caaacgatac	1140
atggccctg aagtacttga tgaaaccatt aatatgaaac actttgactc ctttaaatgt	1200
gctgatattt atgccctcg gcttgtatat tgggagattg ctgaagatg caattctgga	1260
ggagtccatg aagaatatca gctgccatat tacgacttag tgccctctga cccttcatt	1320
gaggaaatgc gaaaggttgt atgtgatcag aagctgcgtc ccaacatccc caactggtgg	1380
cagagttatg aggcactgcg ggtgatgggg aagatgatgc gagagtgttg gtagccaac	1440
ggcgcagccc gcctgacggc cctgcgcac aagaagaccc tctcccagct cagcgtgcag	1500
gaagacgtga agatc	1515

<210> 222

<211> 309

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 222

tccggggcccc ggggggtcca ggctctgctg tgtgcgtgca ccagctgcct ccaggccaac 60

tacacgtgtg agacagatgg ggctgcatg gtttccattt tcaatctgga tgggatggag 120

cacatgtgc gcacctgcat ccccaaagtg gagctgggtcc ctgccgggaa gcccttctac 180

tgctgagct cggaggacct gcgcaacacc cactgctgct acactgacta ctgcaacagg 240

atcgacttga ggggtgccag tggtcacctc aaggagcctg agcacccgtc catgtggggc 300

ccggtggag 309

<210> 223

<211> 1638

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 223

atggcggagt cggccggagc ctctctcttc tcccccttg ttgtcctcct gctcgccggc 60

agcggcgggt ccgggccccg ggggggtccag gctctgctgt gtgcgtgcac cagctgcctc 120

caggccaact acacgttga gacagatggg gcctgcatgg tttccatttt caatctggat 180

gggatggagc accatgtgcg cacctgcac cccaaagtgg agctgggtccc tgccgggaag 240

cccttctact gectgagctc ggaggacctg cgcaacaccc actgtgcta cactgactac 300

tgcaacagga tgcactttag ggtgcccagt ggtcacctca aggagcctga gcacccgtcc 360

atgtggggcc cgggtggagct ggtaggcac atcgccggcc cgggtgttct cctgttcttc 420

atcatcatca ttgttttct tgtcattaac tatcatcagc gtgtctatca caaccgccag 480

agactggaca tggaagatcc ctcatgtgag atgtgtctct ccaaagacaa gacgtccag 540

gatcttgtct acgatctctc cacctcaggg tctggctcag gggtaccct ctttgtccag 600

cgcacagtgg ccgaaccat cgttttacia gagattattg gcaagggtcg gtttggggaa 660

gtatggcggg gccgctggag ggggtggtgat gtggctgtga aaatattctc ttctctgaa 720

gaacggtctt gggtcaggga agcagagata taccagacgg tcatgctgcg ccatgaaaac 780

atccttggat ttattgtctc tgacaataaa gcagactgct cattcctcac attgccatgg 840

gaagtgttaa tgggtctctc tgcccccaag ctgaggagcc ttagactcca atacaaggga 900

ggaaggggaa gagcaagatt tttattccca ctgaataatg gcacctggac acagctgtgg 960

cttgtttctg actatcatga gcacgggtcc ctgtttgatt atctgaaccg gtacacagtg 1020

acaattgagg ggatgattaa gctggccttg tctgtgcta gtgggctggc acacctgcac 1080

atggagatcg tgggcaccca aggggaagcct ggaattgtc atcgagactt aaagtcaaag 1140

aacattcttg tgaagaaaaa tggcatgtgt gccatagcag acctgggcct ggctgtccgt 1200
catgatgcag tcaactgacac cattgacatt gccccgaatc agagggtggg gaccaaacga 1260
tacatggccc ctgaagtact tgatgaaacc attaatatga aacactttga ctcttttaaa 1320

tgtgctgata tttatgcctt cgggcttgta tattgggaga ttgctcgaag atgcaattct 1380
ggaggagtcc atgaagaata tcagctgccca tattacgact tagtgccctc tgacccttcc 1440
attgaggaaa tgcgaaaggt tgtatgtgat cagaagctgc gteccaacat ccccaactgg 1500
tggcagagtt atgaggcact gcgggtgatg gggaagatga tgcgagagtg ttggtatgcc 1560
aacggcgcag cccgcctgac ggccctgcgc atcaagaaga ccctctccca gctcagcgtg 1620
caggaagacg tgaagatc 1638

<210> 224

<211> 309

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 224

tccgggcccc ggggggtcca ggctctgctg tgtgcgtgca ccagctgcct ccaggccaac 60
tacacgtgtg agacagatgg ggccctgcatg gtttccattt tcaatctgga tgggatggag 120
caccatgtgc gcacctgcat ccccaaagtg gagctggtcc ctgccgggaa gcccttctac 180
tgcctgagct cggaggacct gcgcaacacc cactgctgct aactgacta ctgcaacagg 240
atcgacttga ggggtgccag tggtcacctc aaggagcctg agcacccgtc catgtggggc 300
ccggtggag 309

<210> 225

<400> 225

000

<210> 226

<400> 226

000

<210> 227

<400> 227

000

<210> 228

<400> 228

000

<210> 229

<400> 229

000

<210> 230

<400> 230

000

<210> 231

<400> 231

000

<210> 232

<400> 232

000

<210> 233

<211> 1479

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 233

atgacccggg cgtctctctc agcgtctccg caggctctcc tgctgctcgc agcggccgcc	60
gagctctcgc caggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaa ctttacctgc	120
caaacagaag gagcatgttg ggcatcagtc atgctaacca atggaaaaga gcaggtgatc	180
aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat	240

gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat ttttgcaaca acataaact gcaccttcca	300
acagcatcac caaatgcccc aaaacttggg cccatggagc tggccatcat tattactgtg	360
cctgtttgcc tctgttccat agctgcatg ctgacagtat gggcatgcca gggctgacag	420
tgctcctaca ggaagaaaa gagaccaa atgtggaggaa cactctctga gtgcaatctg	480
gtaaagtctg gaaaaactct gaaagatctg atttatgatg tgaccgcctc tggatctggc	540
tctgggtctac ctctgttggg tcaaaggaca attgcaagga cgattgtgct tcaggaaata	600
gtaggaaaag gtagatttgg tgaggtgtgg catggaagat ggtgtgggga agatgtggct	660

gtgaaaatat tctctccag agatgaaaga tcttggttgc gtgaggcaga aatttaccag	720
acggtcatgc tgcgacatga aaacatcctt ggtttcattg ctgctgacaa caaagataat	780
ggaacttggg ctcaacttgg gctgttatct gaatatcatg aacagggctc cttatatgac	840
tatttgaata gaaatatagt gaccgtggct ggaatgatca agctggcgct ctcaattgct	900
agtgggtctgg cacaccttca tatggagatt gttggtacac aaggtaaacc tgctattgct	960

catcgagaca taaaatcaaa gaatatctta gtgaaaaagt gtgaaacttg tgccatagcg	1020
gacttagggg tggtgtgaa gcatgattca atactgaaca ctatcgacat acctcagaat	1080
cctaaagtgg gaaccaagag gtatatggct cctgaaatgc ttgatgatac aatgaatgtg	1140
aatatctttg agtccttcaa acgagctgac atctattctg ttggtctggt ttactgggaa	1200
atagcccgga ggtgttcagt cggaggaatt gttgaggagt accaattgcc ttattatgac	1260
atggtgcctt cagatccctc gatagaggaa atgagaaagg ttgtttgtga ccagaagttt	1320
cgaccaagta tcccaaacca gtggcaaagt tgtgaagcac tccgagtcac ggggagaata	1380
atgctgtagt gttggtatgc caacggagcg gcccgctaa ctgctcttcg tattaagaag	1440
actatatctc aacttttgtt caaagaagac tgcaaagcc	1479

<210> 234

<211> 279

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 234

gagctctcgc caggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaaa ctttacctgc	60
caaacagaag gagcatgttg ggcatcagtc atgctaacca atggaaaaga gcaggtgac	120
aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat	180
gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat ttttgcaaca acataaact gcaccttcca	240
acagcatcac caaatgcccc aaaacttgga cccatggag	279

<210> 235

<211> 1329

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<

400> 235

atgctaacca atggaaaaga gcaggtgac aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat	60
gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat	120
ttttgcaaca acataaact gcaccttcca acagcatcac caaatgcccc aaaacttgga	180
cccatggagc tggccatcat tattactgtg cctgtttgcc tcctgtccat agctgcgatg	240
ctgacagtat gggcatgccg gggctgacag tgctcctaca ggaagaaaa gagaccaat	300
gtggaggaac cactctctga gtgcaatctg gtaaatgctg gaaaaactct gaaagatctg	360
atttatgatg tgaccgcctc tggatctggc tctggtctac ctctgttggg tcaaaggaca	420

attgcaagga cgatttgtct tcaggaaata gtaggaaaag gtagatttgg tgagggtgtg 480
 catggaagat ggtgtgggga agatgtggct gtgaaaatat tctcctccag agatgaaaga 540
 tcttggtttc gtgaggcaga aatttaccag acggtcatgc tgcgacatga aaacatcctt 600
 ggtttcattg ctgctgacaa caaagataat ggaacttga ctcaactttg gctggatctt 660
 gaatatcatg aacagggctc cttatatgac tatttgaata gaaatatagt gaccgtggct 720
 ggaatgatca agctggcgct ctcaattgct agtggctcgg cacaccttca tatggagatt 780
 gttggtacac aaggtaaacc tgctattgct catcgagaca taaaatcaaa gaatatctta 840

gtgaaaaagt gtgaaacttg tgccatagcg gacttagggt tggctgtgaa gcatgattca 900
 atactgaaca ctatcgacat acctcagaat cctaaagtgg gaaccaagag gtatatggct 960
 cctgaaatgc ttgatgatac aatgaatgtg aatatctttg agtccttcaa acgagctgac 1020
 atctattctg ttggtctggt ttactgggaa atagcccgga ggtgttcagt cggaggaatt 1080
 gttgaggagt accaattgcc ttattatgac atgggtgcctt cagatccctc gatagaggaa 1140
 atgagaaagg ttgtttgtga ccagaagttt cgaccaagta tcccaaacca gtggcaaagt 1200
 tgtgaagcac tccgagtcac ggggagaata atgcgtgagt gttggtatgc caacggagcg 1260

gccccctaa ctgctcttcg tattaagaag actatatctc aactttgtgt caaagaagac 1320
 tgcaaagcc 1329

<210> 236

<211> 189

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 236

atgctaacca atggaaaaga gcaggtgatc aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat 60
 gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat gttacaaaaa ccgaatgctg cttcacagat 120
 ttttgcaaca acataaact gcaccttcca acagcatcac caaatgcccc aaaacttga 180
 cccatggag 189

<210> 237

<211> 1239

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 237

atgacccggg cgctctgctc agcgctccgc caggctctcc tgctgctcgc agcgccgcc 60
 gagctctcgc caggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaa ctttacctgc 120

caaacagaag gagcatgttg ggcatcagtc atgctaacca atggaaaaga gcaggatgatc 180
 aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat 240
 gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat ttttgcaaca acataaact gcaccttcca 300
 acaggcttac ctctgttggg tcaaaggaca attgcaagga cgattgtgct tcaggaaata 360

gtaggaaaag gtagatttgg tgaggtgtgg catggaagat ggtgtgggga agatgtggct 420
 gtgaaaatat tctcctccag agatgaaaga tcttggttcc gtgaggcaga aatttaccag 480
 acggtcatgc tgcgacatga aaacatcctt ggtttcattg ctgctgacaa caaagataat 540
 ggaacttggg ctcaacttgg gctggtatct gaatatcatg aacagggtc cttatatgac 600
 tatttgaata gaaatatagt gaccgtggct ggaatgatca agctggcgct ctcaattgct 660
 agtggctctg cacaccttca tatggagatt gttggtacac aaggtaaacc tgctattgct 720
 catcgagaca taaaatcaaa gaatatctta gtgaaaaagt gtgaaacttg tgccatagcg 780

gacttagggg tggctgtgaa gcatgattca atactgaaca ctatcgacat acctcagaat 840
 cctaaagtgg gaaccaagag gtatatggct cctgaaatgc ttgatgatac aatgaatgtg 900
 aatatctttg agtcttcaa acgagctgac atctattctg ttggtctggt ttactgggaa 960
 atagcccgga ggtgttcagt cggaggaatt gttgaggagt accaattgcc ttattatgac 1020
 atggtgcctt cagatccctc gatagaggaa atgagaaagg ttgtttgtga ccagaagttt 1080
 cgaccaagta tcccaaacca gtggcaaagt tgtgaagcac tccgagtcac ggggagaata 1140
 atgcgtgagt gttggtatgc caacggagcg gccgcctaa ctgctcttcg tattaagaag 1200

actatatctc aactttgtgt caaagaagac tgcaaagcc 1239

<210> 238

<211> 1179

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 238

gagctctcgc caggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaaa ctttacctgc 60
 caaacagaag gagcatgttg ggcatcagtc atgctaacca atggaaaaga gcaggatgatc 120
 aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat 180
 gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat ttttgcaaca acataaact gcaccttcca 240
 acaggcttac ctctgttggg tcaaaggaca attgcaagga cgattgtgct tcaggaaata 300

gtaggaaaag gtagatttgg tgaggtgtgg catggaagat ggtgtgggga agatgtggct 360
 gtgaaaatat tctcctccag agatgaaaga tcttggttcc gtgaggcaga aatttaccag 420

acggtcatgc tgcgacatga aaacatccctt ggtttcattg ctgctgacaa caaagataat 480

ggaacttgga ctcaactttg gctggtatct gaatatcatg aacagggctc cttatatgac 540

tatttgaata gaaatatagt gaccgtggct ggaatgatca agctggcgct ctcaattgct 600

agtggctctgg cacaccttca tatggagatt gttggtacac aaggtaaacc tgctattgct 660

catcgagaca taaaatcaaa gaatatctta gtgaaaaagt gtgaaacttg tgccatagcg 720

gacttagggg tggtctgtaa gcatgattca atactgaaca ctatcgacat acctcagaat 780

cctaaagtgg gaaccaagag gtatatggct cctgaaatgc ttgatgatac aatgaatgtg 840

aatatctttg agtccttcaa acgagctgac atctattctg ttggtctggt ttactgggaa 900

atagcccgga gggtttcagt cggaggaatt gttgaggagt accaattgcc ttattatgac 960

atgggtgcctt cagatccctc gatagaggaa atgagaaagg ttgtttgtga ccagaagttt 1020

cgaccaagta tcccaaacca gtggcaaagt tgtgaagcac tccgagtcac ggggagaata 1080

atgcgtgagt gttggtatgc caacggagcg gccgcctaa ctgctcttcg tattaagaag 1140

actatatctc aacttttgtt caaagaagac tgcaaagcc 1179

<210> 239

<211> 1011

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 239

atgacccggg cgctctgctc agcgctccgc caggtctccc tgctgctcgc agcggccgcc 60

gagctctcgc caggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaaa ctttacctgc 120

caaacagaag gagcatgttg ggcacagtc atgctaacca atggaaaaga gcaggatgac 180

aaatcctgtg tctcccttcc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat 240

gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat ttttgcaaca acataaacct gcaccttcca 300

acagataatg gaacttggac tcaactttgg ctggtatctg aatatcatga acagggctcc 360

ttatatgact atttgaatag aaatatagtg accgtggctg gaatgatcaa gctggcgctc 420

tcaattgcta gtggtctggc acaccttcat atggagattg ttggtacaca aggtaaacct 480

gctattgctc atcgagacat aaaatcaaag aatatcttag tgaaaaagtg tgaaacttgt 540

gccatagcgg acctaggggt ggctgtgaag catgattcaa tactgaacac tatcgacata 600

cctcagaatc ctaaagtggg aaccaagagg tatatggctc ctgaaatgct tgatgatata 660

atgaatgtga atatctttga gtccttcaaa cgagctgaca tctattctgt tggctctggtt 720

tactgggaaa tagccccggag gtgttcagtc ggaggaattg ttgaggagta ccaattgcct 780

tattatgaca tggcgccttc agatccctcg atagaggaaa tgagaaaggt tgtttgtgac 840
cagaagtttc gaccaaglat cccaaccag tggcaaagtt gtgaagcact ccgagtcacg 900
gggagaataa tgcgtgagtg ttggtatgcc aacggagcgg cccgcctaac tgctcttcgt 960
attaagaaga ctatatctca actttgtgtc aaagaagact gcaaagccta a 1011
<210> 240
<211> 951
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 240
gagctctcgc caggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaaa ctttacctgc 60

caaacagaag gagcatgttg ggcatcagtc atgctaacca atggaaaaga gcaggtgac 120
aatcctgtg tctcccttcc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat 180
gttacaaaa ccgaatgctg cttcacagat ttttgcaaca acataacact gcaccttcca 240
acagataatg gaacttggac tcaactttgg ctggtatctg aatatcatga acagggtccc 300
ttatatgact atttgaatag aaatatagtg accgtggctg gaatgatcaa gctggcgctc 360
tcaattgcta gtggtctggc acaccttcat atggagattg ttggtacaca aggtaaacct 420
gctattgctc atcgagacat aaaatcaaag aatatcttag tgaaaaagtg tgaaacttgt 480

gccatagcgg acttagggtt ggctgtgaag catgattcaa tactgaacac tatcgacata 540
cctcagaatc ctaaagtggg aaccaagagg tatatggctc ctgaaatgct tgatgatata 600
atgaatgtga atatctttga gtccttcaaa cgagctgaca tctattctgt tggctctggtt 660
tactgggaaa tagcccgagg gtgttcagtc ggaggaattg ttgaggagta ccaattgcct 720
tattatgaca tggcgccttc agatccctcg atagaggaaa tgagaaaggt tgtttgtgac 780
cagaagtttc gaccaaglat cccaaccag tggcaaagtt gtgaagcact ccgagtcacg 840
gggagaataa tgcgtgagtg ttggtatgcc aacggagcgg cccgcctaac tgctcttcgt 900

attaagaaga ctatatctca actttgtgtc aaagaagact gcaaagccta a 951
<210> 241
<400> 241
000
<210> 242
<400> 242
000
<210> 243

<211> 1065

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 243

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccggcg cctccgggcc cgggggggtc caggctctgc tgtgtgcgtg caccagctgc	120
ctccaggcca actacacgtg tgagacagat ggggcctgca tggtttccat ttccaatctg	180
gatgggatgg agcaccatgt gcgcacctgc atccccaag tggagctggt ccctgccggg	240
aagcccttct actgctgag ctccgaggac ctgcgcaaca cccactgtg ctacactgac	300
tactgcaaca ggatcgactt gaggtgccc agtggtcacc tcaaggagcc tgagcacccg	360
tccatgtggg gcccgggtga gaccggtggt ggaactcaca catgcccacc gtgccagca	420
cctgaactec tggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc	480
atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct	540
gaggtcaagt tcaactggtg cgtggacggc gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg	600
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag	660
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccagcccc	720
atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg	780
cccccatccc gggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc	840
ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggagccgga gaacaactac	900
gacaccacgc ctcccgctgt ggactccgac ggtcctctt tcctctatag cgacctcacc	960
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct	1020
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tcctgtctc cgggt	1065

<210> 244

<400> 244

000

<210> 245

<400> 245

000

<210> 246

<400> 246

000

<210> 247

<211> 356

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 247

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys Leu Gln Ala Asn Tyr Thr Cys Glu

35 40 45

Thr Asp Gly Ala Cys Met Val Ser Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu

50 55 60

His His Val Arg Thr Cys Ile Pro Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly

65 70 75 80

Lys Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys

85 90 95

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

100 105 110

His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Thr

115 120 125

Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Glu Trp Glu Ser Arg Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Pro Gly Lys

355

<210> 248

<211> 1068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 248

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60

tcgcccggcg cctccgggcc ccgggggggc caggctctgc tgtgtgcgtg caccagctgc 120

ctccaggcca actacacgtg tgagacagat ggggcctgca tggtttccat tttcaatctg 180

gatgggatgg agcaccatgt gcgcacctgc atccccaag tggagctggt ccctgccggg 240

aagcccttct actgcctgag ctcgaggagac ctgcgcaaca cccactgctg ctacactgac 300

tactgcaaca ggatcgactt gaggtgccc agtggtcacc tcaaggagcc tgagcacccg 360

tccatgtggg gcccggtgga gaccggtggt ggaactcaca catgccacc gtgccagca 420

cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc 480

atgatctccc ggacccctga ggtcactatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct 540

gaggtcaagt tcaactggtg cgtggacggc gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg 600

cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag 660

gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccagcccc 720

atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg 780

cccccatccc gggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgtcctgcgc cgtcaaaggc 840

ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagccgcg ggagccgga gaacaactac 900

aagaccagc ctccctgct ggactccgc ggctccttct tctcgtgag caagctcacc 960

gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggt 1020

ctgcacaacc actacacga gaagagcctc tcctgtctc cgggtaaa 1068

<210> 249

<211> 332

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 249

Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr Cys Asn Arg

65					70				75				80			
Ile	Asp	Leu	Arg	Val	Pro	Ser	Gly	His	Leu	Lys	Glu	Pro	Glu	His	Pro	
				85				90				95				
Ser	Met	Trp	Gly	Pro	Val	Glu	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	His	Thr	Cys	Pro	
				100				105				110				
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
				115				120				125				
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
130				135				140								
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	
145				150				155				160				
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
				165				170				175				
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
				180				185				190				
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
195				200				205								
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	
210				215				220								
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	
225				230				235				240				
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	
				245				250				255				
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Arg	Gly	Gln	Pro	
260				265				270								
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Arg	Gly	Ser	
275				280				285								
Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	
290				295				300								
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
305				310				315				320				

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

<210> 250

<211> 996

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 250

tccgggcccc ggggggtcca ggctctgctg tgtgcgtgca ccagctgcct ccaggccaac	60
tacacgtgtg agacagatgg ggcctgcatg gtttccattt tcaatctgga tgggatggag	120
caccatgtgc gcacctgcat ccccaaagtg gagctggtcc ctgccgggaa gcccttctac	180
tgcctgagct cggaggacct gcgcaacacc cactgctgct acactgacta ctgcaacagg	240
atcgacttga ggggtgcccg ttgtcacctc aaggagcctg agcacccgtc catgtggggc	300
ccggtggaga ccggtgggtg aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg	360
gggggaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg	420
acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	480
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	540
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	600
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	660
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt gcaccctgcc cccatcccgg	720
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg tcctgcgccg tcaaaggctt ctatccagc	780
gacatcgccg tggagtggga gagccgcggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	840
cccgtgctgg actccccgcg ctccttcttc ctctgtagca agctcaccgt ggacaagagc	900
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	960
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa	996

<210> 251

<211> 1068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 251

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccgccg cctccgggcc ccgggggggtc caggctctgc tgtgtgctg caccagctgc	120
ctccaggcca actacacgtg tgagacagat ggggcctgca tggtttccat ttccaatctg	180
gatgggatgg agcaccaatgt gcgcacctgc atccccaag tggagctggt ccctgccggg	240
aagcccttct actgcctgag ctccgaggac ctgcgcaaca cccactgctg ctacactgac	300
tactgcaaca ggatcgactt gaggtgccc agtggtcacc tcaaggagcc tgagcacccg	360
tccatgtggg gcccgtgga gaccggtggt ggaactcaca catgccacc gtgccagca	420
cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc	480
atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct	540
gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg	600
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag	660
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccagcccc	720
atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg	780
ccccatccc gggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgtcctgcgc cgtcaaaggc	840
ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac	900
aagaccagc ctcccgctg ggactccgac ggctccttct tcctcgtgag caagtcacc	960
gtggacaaga gcaggtgga gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct	1020
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtaaa	1068

<210> 252

<211> 996

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 252

tccgggcccc ggggggtcca ggctctgctg tgtgcgtgca ccagctgcct ccaggccaac	60
tacacgtgtg agacagatgg ggcctgcatg gtttccattt tcaatctgga tgggatggag	120
caccatgtgc gcacctgcat ccccaaagtg gagctggtcc ctgccgggaa gcccttctac	180
tgctgagct cggaggacct gcgcaacacc cactgctgct aactgacta ctgcaacagg	240
atcgacttga ggggtgcccag tggtcacctc aaggagcctg agcacccgtc catgtggggc	300

ccggtggaga ccggtgggtg aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 360
 gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg 420
 acccctgagg tcacatgctg ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagtgc 480
 aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 540
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 600
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 660
 atctccaaag ccaaagggca gcccgcagaa ccacaggtgt gcaccctgcc cccatcccgg 720

gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg tcctgcgcgg tcaaaggctt ctatcccagc 780
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 840
 cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctgtgagc agctcaccgt ggacaagagc 900
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 960
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 996

<210> 253

<400> 253

000

<210> 254

<400> 254

000

<210> 255

<211> 1023

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 255

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60
 tcgcccggcg ccggactgaa gtgtgtatgt cttttgtgtg attcttcaa ctttacctgc 120
 caaacagaag gagcatgttg ggcatcagtc atgctaacca atggaaga gcaggtgatc 180
 aaatcctgtg tctcccttc agaactgaat gctcaagtct tctgtcatag ttccaacaat 240
 gttacaaaa ccgaatgtg cttcacagat ttttgcaaca acataaact gcacattcca 300
 acagcatcac caaatgcccc aaaacttga cccatggaga ccggtgggtg aactcacaca 360

tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca 420

aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 480
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagtgc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 540
 aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 600
 ctacacgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 660
 aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 720
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 780

acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 840
 cagccggaga acaactacga caccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc 900
 ctctatagcg acctcacgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc 960
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1020
 ggt 1023

<210> 256

<400> 256

000

<210> 257

<400> 257

000

<210> 258

<400> 258

000

<210> 259

<400> 259

000

<210> 260

<400> 260

000

<210> 261

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 261

Gly Gly Gly

1

<210> 262

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 262

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 263

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 263

Thr Gly Gly Gly Gly

1

5

<210> 264

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 264

Ser Gly Gly Gly Gly

1

5

<210> 265

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 265

Thr Gly Gly Gly

1

<210> 266

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 266

Ser Gly Gly Gly

1

<210> 267

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220>

<223> See specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<400> 267

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 268

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 268

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 269

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 269

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 270

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 270

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 271

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 271

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

<210> 272

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 272

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 273

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 273

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25 30

<210> 274

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 274

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Ser

35

<210> 275

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 275

Thr Gly Gly Gly Pro Lys Ser Cys Asp Lys

1 5 10

<210> 276

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 276

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Arg Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 145 150 155 160
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 165 170 175
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 180 185 190
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 195 200 205

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

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

 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 340 345 350
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365
 <210> 277
 <211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 277

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattcta ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggctgc actgctacgc ctccctggcg aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggctgct ggctagatga catccgttgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact	360
catttgccag aggtctggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc	420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc	540
acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagcccgagg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720
aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaagcc	780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc	840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg	900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960
tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctaccctgg acaagagcag gtggcagcag	1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag	1080
agcctctccc tgtctccggg taaatga	1107

<210> 278

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 278

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

1 5 10 15

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

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

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
260 265 270

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
275 280 285

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
290 295 300

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 279

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 279

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr
20 25 30

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

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His
50 55 60

Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys
65 70 75 80

Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Lys Arg Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys
85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355 360 365
 <210> 280
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 280
 Gly Gly Gly Ala
 1
 <210> 281
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 281
 Gly Gly Gly Ser
 1
 <210> 282
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 282
 Gly Gly Gly Gly Ala
 1 5
 <210> 283
 <211> 5
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 283

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 284

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 284

Gly Gly Ala Gly

1

<210> 285

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 285

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 286

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 286

Ala Gly Gly Gly

1

<210> 287

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 287

Gly Ala Gly Ala

1

<210> 288

<211>

4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 288

Gly Ser Gly Ser

1

<210> 289

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 289

Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5

<210> 290

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400>

290

Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 291

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 291

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 292

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 293

<211>

10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 293

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5 10

<210> 294

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 294

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 295

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 295

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5 10

<210> 296

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 296

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 297

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 297

Gly Gly Ala Gly Gly Ala

1 5

<210> 298

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 298

Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 299

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 299

Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala

1 5

<210>

> 300

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 300

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 301

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 301

Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala

1 5 10

<210> 302

<211> 12

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

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

<400> 302

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 303

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 303

Gly Gly Ala Gly

1

<210> 304

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 304

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 305

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 305

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly

1 5

<210> 306

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 306

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 307

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 307

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly

1 5 10

<210> 308

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 308

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 309

<211> 5

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 309

Gly Gly Gly Gly Ala

1 5

<210> 310

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 310

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala

1 5 10 15

<210> 311

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 311

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 312

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 312

Gly Gly Gly Ala Gly

1 5

<210> 313

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 313

Gly Gly Gly Ala Gly Gly

1 5

<210> 314

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 314

Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly

1 5

<210> 315

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 315

Ala Ala Ala Leu

1

<210> 316

<211> 4

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 316

Ala Ala Ala Lys

1

<210> 317

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 317

Ala Ala Ala Arg

1

<210> 318

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 318

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr

1

5

10

<210> 319

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 319

Gly Ser Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe

1

5

10

<210> 320

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 320

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1 5 10

<210> 321

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 321

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1 5 10 15

Leu Asp

<210> 322

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 322

Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly

1 5 10

<210> 323

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 323

Ser Ala Cys Tyr Cys Glu Leu Ser

1 5

<210> 324

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 324

Arg Ser Ile Ala Thr

1 5

<210> 325

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 325

Arg Pro Ala Cys Lys Ile Pro Asn Asp Leu Lys Gln Lys Val Met Asn

1 5 10 15

His

<210> 326

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 326

Gly Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser

1 5 10 15

Gly Ala Ser Gly Thr Gly Thr Ala Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Thr Gly Ser Gly

35

<210> 327

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 327

Ala Ala Ala Asn Ser Ser Ile Asp Leu Ile Ser Val Pro Val Asp Ser

1 5 10 15

Arg

<210> 328

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 328

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser

20 25 30

Gly Gly Gly Ser

35

<210> 329

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 329

Glu Ala Ala Ala Lys

1 5

<210> 330

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 330

Pro Ala Pro Ala Pro

1 5

<210> 331

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 331

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60

tcgcccggcg ccctctggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattcta ctacaacgcc 120

aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac 180

aagcggctgc actgctacgc ctcttggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240

aagggctgct ggctagatga caagcgttgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300

gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttact 360

catttgccag aggttggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc 420

ggtgttgga ctacacatg cccaccgtgc ccagcactg aactcctggg gggaccgtca 480

gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 540

acatgcgtgg tgggtggact gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720

aagtgaagg tctccaaca agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaagcc 780

aaagggcagc ccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga ggagatgacc 840

aagaaccagg tcagcctgac ctgctgtgtc aaaggcttct atccagcga catcgccgtg 900

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacggct ccttcttctt ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtcttgc acaaccacta caccgagaag 1080

agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 332

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 332

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Lys Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

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

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

340

<210> 333

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 333

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr
20 25 30
Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn
35 40 45
Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His
50 55 60
Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys
65 70 75 80
Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Thr Arg Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys
85 90 95
Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly
100 105 110
Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro
115 120 125
Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr
130 135 140
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
145 150 155 160
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
165 170 175
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
180 185 190
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
195 200 205
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
210 215 220
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
225 230 235 240
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
245 250 255
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

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

305 310 315 320
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 334

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 334

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattca ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggctgc actgctacgc ctctgggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggtgctt ggctagatga caccgttgc tacgatagc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact	360
catttgccag aggttggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420
ggtggtggaa ctcacacatg cccacgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggctc	540
acatgcgtgg tggtagcgtg gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgctgg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtag	720

aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 780

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atccagcga catgccgtg 900

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacggct cttcttctct ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag 1080

agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 335

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 335

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Thr Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

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

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

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

 305 310 315 320
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340
 <210> 336
 <211> 368
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 336

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

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

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

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 340 345 350
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365

<210> 337

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 337

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60
 tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcaccta ctacaacgcc 120

aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac 180
 aagcggctgc actgctacgc ctcttgccgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240
 aagggctgct ggctagatga caccaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300
 gagaaccccc agtgtacttt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgtttcact 360
 catttgccag aggtctggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc 420
 ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480

gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 540

acatgcgtgg tggiggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720

aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 780

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga ggagatgacc 840

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggc aaaggcttct atccagcga catcgccgtg 900

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacggct ccttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cagcagaag 1080

agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 338

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 338

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100	105	110
Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
115	120	125
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
130	135	140
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
145	150	155
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
165	170	175
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr		
180	185	190
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
195	200	205
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu		
210	215	220
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
225	230	235
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys		
245	250	255
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
260	265	270
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
275	280	285
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
290	295	300
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
305	310	315
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
325	330	335
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
340		

<210> 339

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 339

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Gly Cys Trp His Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
210 215 220

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

225 230 235 240
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
245 250 255

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
260 265 270

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
275 280 285

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

290 295 300
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
305 310 315 320

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350

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

355 360 365

<210> 340

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 340

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt 60

tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcaccta ctacaacgcc 120

aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac 180

aagcggctgc actgctacgc ctccctggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag 240

aagggctgct ggcacgatga catcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag 300

gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact 360

catttgccag aggcctggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc 420

ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480

gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 540

acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 660

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720

aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 780

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840

aagaaccagg tcagccctgac ctgcctgggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 900

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacggct ccttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag 1080

agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 341

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 341

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

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

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

 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

305						310						315						320	
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser				
					325					330					335				
Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys													
					340														
<210>					342														
<211>					368														
<212>					PRT														
<213>					Artificial Sequence														
<220><223>					Description of Artificial Sequence: Synthetic														
					polypeptide														
<400>					342														
Met	Asp	Ala	Met	Lys	Arg	Gly	Leu	Cys	Cys	Val	Leu	Leu	Leu	Cys	Gly				
1					5					10					15				
Ala	Val	Phe	Val	Ser	Pro	Gly	Ala	Ser	Gly	Arg	Gly	Glu	Ala	Glu	Thr				
					20					25					30				
Arg	Glu	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	Thr	Asn				
					35					40					45				
Gln	Ser	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Asp	Lys	Arg	Leu	His				
					50					55					60				
Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser	Gly	Thr	Ile	Glu	Leu	Val	Lys				
65					70					75					80				
Lys	Gly	Cys	Trp	His	Asp	Asp	Phe	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln	Glu	Cys				
					85					90					95				
Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly				
					100					105					110				
Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His	Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Gly	Pro				
					115					120					125				
Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr				
					130					135					140				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser				
145					150					155					160				

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
210 215 220

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
225 230 235 240

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
245 250 255

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
260 265 270

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
275 280 285

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
290 295 300

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
305 310 315 320

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 343

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 343

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tgcgccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattca ctacaacgcc	120
aactggggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggctgc actgctacgc ctcttggcgc aacagctctg gcacattcga gctcgtgaag	240
aagggctgct ggacagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtggtg ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttact	360
catttgccag aggctggggg cccggaagtc acgtacgagc caccctcgac agccccacc	420

ggtaggtggaa	ctcacacatg	cccaccgtgc	ccagcacctg	aactcctggg	gggaccgtca	480
gtcttctctt	tcccccaaa	acccaaggac	accctcatga	tctcccgga	ccctgaggtc	540
acatgcgtgg	tggtggacgt	gagccacgaa	gacctgagg	tcaagttcaa	ctggtacgtg	600
gacggcgtgg	aggtgcataa	tgccaagaca	aagccgcggg	aggagcagta	caacagcacg	660
taccgtgtgg	tcagcgtcct	caccgtcctg	caccaggact	ggctgaatgg	caaggagtac	720
aagtgcaagg	tctccaacaa	agccctccca	gcccccatcg	agaaaaccat	ctccaaagcc	780
aaagggcagc	cccgagaacc	acaggtgtac	accctgcccc	catcccgga	ggagatgacc	840

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg	900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960
tccgacggct ctttttctct ctatagcaag ctcacctggg acaagagcag gtggcagcag	1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cagcgagaag	1080
agcctctccc tgtctccggg taaatga	1107

<210> 344

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 344

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp His Asp Asp Phe Asn
 50 55 60

 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105 110
 Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 115 120 125

 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 130 135 140
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 145 150 155 160
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 165 170 175
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 180 185 190

 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 195 200 205
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 210 215 220
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 225 230 235 240
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 245 250 255

 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 260 265 270
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

275 280 285
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320

 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340
 <210> 345
 <211> 368
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 345
 Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

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

 85 90 95
 Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly
 100 105 110
 Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro
 115 120 125

Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr
 130 135 140
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

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

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

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

 340 345 350
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365
 <210> 346

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 346

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattcta ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggctgc actgctacgc ctctgggcg aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggtgctt ggcacgatga caagaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgcttcact	360
catttgccag aggctggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc	540
acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720
aagtgcgaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc	780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc	840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg	900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960
tccgacggct ccttcttct ctatagcaag ctacacgtgg acaagagcag gtggcagcag	1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag	1080
agcctctccc tgtctccggg taaatga	1107

<210> 347

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 347

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

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

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

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

 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 210 215 220
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 225 230 235 240
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

245 250 255
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
260 265 270

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

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 348

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 348

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

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340	345	350
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	365
<210> 349		
<211> 1107		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		
polynucleotide		
<400> 349		
atggatgcga tgaaacgcgg cctgtgctgc gtgctgctgc tgtgcggcgc ggtgtttgtg	60	
agccccggcg ccagcggccg cggcgaagcg gaaaccgcg aatgcattta ttataacgcg	120	
aactgggaac tggaacgcac caaccagagc ggcttgaac gctgcctggg cgaacaggat	180	
aaacgcctgc attgctatgc gagctggcgc aacagcagcg gcaccattga actggtgaaa	240	
aaaggctgct ggctggatga ttttaactgc tatgatcgcc aggaatgcgt ggcgaccgaa	300	
gaaaaccgcg aggtgtatgt ttgctgctgc gaaggcaact ttgcaacga acgctttacc	360	
catctgccgg aagcgggcgg cccggaagtg acctatgaac cgccgccgac cgcgccgacc	420	
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480	
gttttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc	540	
acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600	
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	660	
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720	
aagtgcgaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaagcc	780	
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc	840	
aagaaccagg tcagcctgac ctgctgtgtc aaaggcttct atccagcga catcgccgtg	900	
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960	
tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1020	
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag	1080	
agcctctccc tgtctccggg taaatga	1107	
<210> 350		
<211> 343		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 350

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

225 230 235 240
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

245 250 255
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

260 265 270
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

275 280 285
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

290 295 300
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

305 310 315 320
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

325 330 335
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340

<210> 351

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 351

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60
 Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys
 65 70 75 80
 Lys Gly Cys Trp Arg Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys
 85 90 95
 Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly
 100 105 110
 Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro
 115 120 125

 Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr
 130 135 140
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 145 150 155 160
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 165 170 175
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 180 185 190

 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 195 200 205
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 210 215 220
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 225 230 235 240
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 245 250 255

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

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
305 310 315 320

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
325 330 335

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
340 345 350

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 352

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 352

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccgcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattca ctacaacgcc	120
aactgggaga acgagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggtgc actgctacgc ctctggcgc aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggctgct ggcgcatga cttaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgttcact	360
catttgccag aggtggtggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc	540
acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgagg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagctcct caccgtctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720
aagtgcagg tctccaaca agcctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc	780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga ggagatgacc	840
aagaaccagg tcagctgac ctgctggtc aaaggcttct atccagcga catgcctgtg	900
gagtgaggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960

tccgacggct ccttcttctt ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtcttgc acaaccacta cagcagaag 1080
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 353

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 353

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Arg Asp Asp Phe Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

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

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340

<210> 354

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 354

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1

5

10

15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

275 280 285
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

290 295 300
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

305 310 315 320
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

325 330 335
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

340 345 350
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355 360 365

<210> 355

<211> 1107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 355

atggatgcga tgaacgcgg cctgtgctgc gtgctgctgc tgtgcggcgc ggtgtttgtg 60

agcccgggcg ccagcggccg cggcgaagcg gaaaccgcg aatgcattta ttataacgcg 120

aactgggaac tggaacgcac caaccagagc ggcttgaac gctgcgaagg cgaacaggat 180

aaacgcctgc attgctatgc gagctggcgc aacagcagcg gcaccattga actggtgaaa 240

aaaggctgct ggctggatga ttttaactgc tatgatcgcc aggaatgcgt ggcgaccgaa 300

gaaaaccgc agggctatgt ttgctgctgc gaaggcaact tttgcaacga acgctttacc 360

catctgccgg aagcgggccc cccggaagt acctatgaac cgccgccgac cgcgccgacc 420

ggtggtggaa ctcacacatg cccacgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 480

gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc 540

acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 600

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgagg aggagcagta caacgcacg 660

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 720
aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gcccctatcg agaaaaccat ctccaaagcc 780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 840
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 960

tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag 1080
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1107

<210> 356

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 356

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 145 150 155 160
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 165 170 175
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 180 185 190
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 195 200 205

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

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

 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340
 <210> 357
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 357

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

100 105

<210> 358

<211> 150

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 358

Met Thr Ala Pro Trp Ala 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 Pro

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 Pro 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
145 150
<210> 359
<211> 150
<212> PRT
<213> Sus scrofa
<400> 359
Met Thr Ala Pro Trp Ala Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys
1 5 10 15
Val 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
145 150

<210> 360

<211> 150

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 360

Met Thr Ala Pro Trp Ala 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 Pro 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
145 150

<210> 361

<211> 150

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 361

```

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
145           150

```

<210> 362

<211> 150

<212> PRT

<213> Bos Taurus

<400> 362

```

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

145

150

<210> 363

<211> 150

<212> PRT

<213> Xenopus sp.

<400> 363

Met Gly Ala Ser Val Ala Leu Thr Phe Leu Leu Leu Leu Ala Thr Phe

1

5

10

15

Arg Ala Gly Ser Gly His Asp Glu Val Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr

20

25

30

Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Lys Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu

35

40

45

Arg Leu Val Glu Gly Lys Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser

50

55

60

Trp Arg Asn Asn Ser Gly Phe Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp

65

70

75

80

Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Ile Ala Lys Glu

85

90

95

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

<210> 364

<211> 150

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 364

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

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

Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn
115 120 125
Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Tyr Tyr Asn Ile Leu Leu Tyr Ser Leu
130 135 140
Val Pro Leu Met Leu Ile

145 150

<210> 365

<211> 154

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> T, A, or absent

<220><221> MOD_RES

<222> (121)..(121)

<223> P, A, V, or M

<400> 365

Met Thr Ala Pro Trp Ala Ala Xaa Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu

35 40 45

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

50 55 60

Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Xaa Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr

115 120 125

Glu Pro Lys Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr

130 135 140

Ser Leu Leu Pro Ile Gly Gly Leu Ser Met

145 150

<210> 366

<211> 513

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 366

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
 Ala Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Ile Gln
 210 215 220

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

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

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

 Glu Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Asp Met Gln Glu Val Val
 420 425 430
 Val His Lys Lys Lys Arg Pro Val Leu Arg Asp Tyr Trp Gln Lys His
 435 440 445

Ala Gly Met Ala Met Leu Cys Glu Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His
 450 455 460
 Asp Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Gly Glu Arg Ile Thr
 465 470 475 480

Gln Met Gln Arg Leu Thr Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Ile Val Thr
 485 490 495
 Val Val Thr Met Val Thr Asn Val Asp Phe Pro Pro Lys Glu Ser Ser
 500 505 510

Leu

<210> 367

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 367

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

20 25 30
 Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser
 35 40 45

Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn
 50 55 60

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

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

85 90 95
 Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro
 100 105 110

Lys Pro Pro

115

<210> 368

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 368

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

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

Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser
35 40 45

Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn
50 55 60

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

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

Phe Pro Glu Met
100

<210> 369

<211> 1539

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 369

atgggagctg ctgcaaagtt ggcgtttgcc gtctttctta tctcctgttc ttcaggtgct 60
atacttggtg gatcagaaac tcaggagtgt cttttcttta atgctaattg ggaaaaagac 120
agaaccaatc aaactggtgt tgaaccgtgt tatggtgaca aagataaacg gcggcattgt 180
tttgctacct ggaagaatat ttctggttcc attgaaatag tgaacaagg ttgttggtg 240

gatgatatca actgctatga caggactgat tgtgtagaaa aaaaagacag ccctgaagta 300
tatttttggt gctgtgaggg caatatgtgt aatgaaaagt tttcttattt tccggagatg 360
gaagtcacac agcccacttc aaatccagtt acacctaagc caccctatta caacatcctg 420

ctctattcct tggtagccact tatgttaatt gcggggattg tcatttgtgc attttgggtg 480
 tacaggcatc acaagatggc ctacctcct gtacttgttc caactcaaga cccaggacca 540
 cccccacctt ctccattact aggtttgaaa cactgcagt tattagaagt gaaagcaagg 600
 ggaagatttg gtigtgtctg gaaagcccag ttgcttaacg aatatgtggc tgtcaaaata 660

tttccaatac aggacaaaca gtcattggcaa aatgaatagc aagtctacag ttgccttga 720
 atgaagcatg agaacatatt acagttcatt ggtgcagaaa aacgaggcac cagtgttgat 780
 gtggatcttt ggctgatcac agcatttcat gaaaagggtt cactatcaga ctttcttaag 840
 gctaattgtg tctcttggaa tgaactgtgt catattgcag aaaccatggc tagaggattg 900
 gcatatttac atgaggatat acctggccta aaagatggcc acaaacctgc catatctcac 960
 agggacatca aaagtaaaaa tgtgctgttg aaaaacaacc tgacagcttg cattgctgac 1020
 ttgggttgg ccttaaaatt tgaggctggc aagtctgcag gcgatacca tggacaggtt 1080

ggtacccgga ggtacatggc tccagaggta ttagagggtg ctataaactt ccaaagggat 1140
 gcatttttga ggatagatat gtatgccatg ggattagtcc tatgggaact ggcttctcgc 1200
 tgtactgctg cagatggacc tgtagatgaa tacatgttgc catttgagga ggaaattggc 1260
 cagcatccat ctcttgaaga catgcaggaa gttgttgtgc ataaaaaaaa gaggcctgtt 1320
 ttaagagatt attggcagaa acatgctgga atggcaatgc tctgtgaaac cattgaagaa 1380
 tgttgggatc acgacgcaga agccagggtta tcagctggat gtgtaggatga aagaattacc 1440
 cagatgcaga gactaacaaa tattattacc acagaggaca ttgtaacagt ggtcacaatg 1500

gtgacaaatg ttgactttcc tcccaaagaa tctagtcta 1539

<210> 370
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 370

atacttggtg gatcagaaac tcaggagtgt cttttcttta atgctaattg ggaaaaagac 60
 agaaccaatc aaactgggtg tgaaccgtgt tatggtgaca aagataaacg gcggcattgt 120
 tttgctacct ggaagaatat ttctggttcc attgaaatag tgaacaagg ttgttggtg 180
 gatgatatca actgctatga caggactgat tgtgtagaaa aaaaagacag ccctgaagta 240
 tatttttgtt gctgtgaggg caatatgtgt aatgaaaagt tttcttattt tccggagatg 300

gaagtcacac agcccacttc aaatccagtt acacctaagc cacc 345

<210> 371

<211> 115

<212> PRT

<213> *Ovis aries*

<400> 371

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

1 5 10 15

Trp Glu Arg Asp Arg Thr Asn Arg Thr Gly Val Glu Ser Cys Tyr Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Ser Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Lys Pro Pro

115

<210> 372

<211> 115

<212> PRT

<213> *Condylura cristata*

<400> 372

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

115

<210> 373

<211> 115

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 373

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

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

115

<210> 374

<211> 115

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<400> 374

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

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

65	70	75	80												
Phe	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Phe	Tyr
	85	90	95												
Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser	Asn	Pro	Val	Thr	Pro
	100	105	110												
Lys	Pro	Pro													
	115														

<210> 375

<211> 115

<212> PRT

<213> Bos Taurus

<400> 375

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

65					70				75				80			
Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Ser	Tyr	
				85				90				95				
Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser	Asn	Pro	Val	Thr	Pro	
				100				105				110				
Lys	Pro	Pro														
				115												
<210> 376																
<211> 115																
<212> PRT																
<213> Tyto alba																
<400> 376																
Ile	Leu	Gly	Arg	Ser	Glu	Thr	Gln	Glu	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn	
1				5				10				15				
Trp	Glu	Lys	Asp	Lys	Thr	Asn	Arg	Ser	Gly	Ile	Glu	Pro	Cys	Tyr	Gly	
				20				25				30				
Asp	Lys	Asp	Lys	Arg	Arg	His	Cys	Phe	Ala	Thr	Trp	Lys	Asn	Ile	Ser	
				35				40				45				
Gly	Ser	Ile	Glu	Ile	Val	Lys	Gln	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Ile	Asn	
50				55				60								
Cys	Tyr	Asp	Arg	Asn	Asp	Cys	Ile	Glu	Lys	Lys	Asp	Ser	Pro	Glu	Val	
65				70				75				80				
Phe	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Phe	Tyr	
				85				90				95				
Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser	Asn	Pro	Val	Thr	Pro	
				100				105				110				
Lys	Pro	Pro														
				115												
<210> 377																
<211> 115																
<212> PRT																
<213> Myotis davidii																

<400> 377

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Ser Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Lys Pro Pro

115

<210> 378

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 378

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr

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

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

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

 275 280 285
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 290 295 300
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

305 310 315 320
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 325 330 335
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 340

<210> 379

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 379

Met Gly Ala Ala Ala Lys Leu Ala Phe Ala Val Phe Leu Ile Ser Cys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Ala
 20

<210> 380

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 380

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

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

65	70							75							80		
Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Lys	Phe	Ser	Tyr		
85					90					95							
Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser	Asn	Pro	Val	Thr	Pro		
100					105					110							
Lys	Pro	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala		
115					120					125							
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro		
130					135					140							
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val		
145					150					155					160		
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val		
165					170					175							
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln		
180					185					190							
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln		
195					200					205							
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala		
210					215					220							
Leu	Pro	Val	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro		
225					230					235					240		
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr		
245					250					255							
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser		
260					265					270							
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr		
275					280					285							
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr		
290					295					300							
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe		
305					310					315					320		

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

325 330 335

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340

<210> 381

<211> 369

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 381

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr

115 120 125

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

130 135 140

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

145 150 155 160

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

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

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

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360 365

Lys

<210> 382

<211> 1114

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 382

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccggcg ccgtatact tggtagatca gaaactcagg agtgtctttt tttaatgcta	120
attgggaaaa agacagaacc aatcaaaactg gtgttgaacc gtgttatggt gacaaagata	180
aacggcggca ttgttttgct acctggaaga atatttctgg ttccattgaa tagtgaaaca	240
aggttgttgg ctggatgata tcaactgcta tgacaggact gattgtgtag aaaaaaaga	300
cagccctgaa gtatatcttct gttgctgtga gggcaatatg tgtaatgaaa agttttctta	360
ttttccggag atggaagtca cacagcccac ttcaaatacca gttacaccta agccaccac	420
cgggtggtgga actcacacat gccacccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc	480
agtcttcttc tccccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt	540
catatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt	600
ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg gaggagcagt acaacagcac	660
gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta	720
caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agtccccatc gagaaaacca tctccaaagc	780
caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac	840
caagaaccag gtcagcctga cctgctgtgt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt	900
ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga	960
ctccgacggc tccttcttcc tctatagcaa gtcacccgtg gacaagagca ggtggcagca	1020
ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa	1080
gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatagaga attc	1114

<210> 383

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 383

Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu

1 5

<210> 384

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 384

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Pro Glu Met Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 385

<211> 342

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 385

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

35 40 45
Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn
50 55 60

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

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

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

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

 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

305 310 315 320
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
Leu Ser Leu Ser Pro Gly

340

<210> 386

 $\langle 211 \rangle$ 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 386

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

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

<210> 387

<211> 512

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 387

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 Ala

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> 388

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 388

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Ala Pro Thr

115

<210> 389

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 389

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

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

<210> 390

<211> 344

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 390

Met Val Arg Ala Arg His Gln Pro Gly Gly Leu Cys Leu Leu Leu Leu

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

 65 70 75 80
 Phe Asn Gly Gly Ala Pro Asn Cys Ile Pro Cys Lys Glu Thr Cys Glu
 85 90 95
 Asn Val Asp Cys Gly Pro Gly Lys Lys Cys Arg Met Asn Lys Lys Asn

100 105 110
 Lys Pro Arg Cys Val Cys Ala Pro Asp Cys Ser Asn Ile Thr Trp Lys
 115 120 125
 Gly Pro Val Cys Gly Leu Asp Gly Lys Thr Tyr Arg Asn Glu Cys Ala

 130 135 140
 Leu Leu Lys Ala Arg Cys Lys Glu Gln Pro Glu Leu Glu Val Gln Tyr
 145 150 155 160
 Gln Gly Arg Cys Lys Lys Thr Cys Arg Asp Val Phe Cys Pro Gly Ser
 165 170 175
 Ser Thr Cys Val Val Asp Gln Thr Asn Asn Ala Tyr Cys Val Thr Cys
 180 185 190
 Asn Arg Ile Cys Pro Glu Pro Ala Ser Ser Glu Gln Tyr Leu Cys Gly

 195 200 205
 Asn Asp Gly Val Thr Tyr Ser Ser Ala Cys His Leu Arg Lys Ala Thr
 210 215 220
 Cys Leu Leu Gly Arg Ser Ile Gly Leu Ala Tyr Glu Gly Lys Cys Ile
 225 230 235 240
 Lys Ala Lys Ser Cys Glu Asp Ile Gln Cys Thr Gly Gly Lys Lys Cys
 245 250 255
 Leu Trp Asp Phe Lys Val Gly Arg Gly Arg Cys Ser Leu Cys Asp Glu

 260 265 270
 Leu Cys Pro Asp Ser Lys Ser Asp Glu Pro Val Cys Ala Ser Asp Asn
 275 280 285
 Ala Thr Tyr Ala Ser Glu Cys Ala Met Lys Glu Ala Ala Cys Ser Ser
 290 295 300
 Gly Val Leu Leu Glu Val Lys His Ser Gly Ser Cys Asn Ser Ile Ser
 305 310 315 320
 Glu Asp Thr Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Gln Asp Tyr Ser Phe

 325 330 335
 Pro Ile Ser Ser Ile Leu Glu Trp
 340

<210> 391

<211> 317

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 391

Met Val Arg Ala Arg His Gln Pro Gly Gly Leu Cys Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Cys Gln Phe Met Glu Asp Arg Ser Ala Gln Ala Gly Asn Cys

20 25 30

Trp Leu Arg Gln Ala Lys Asn Gly Arg Cys Gln Val Leu Tyr Lys Thr

35 40 45

Glu Leu Ser Lys Glu Glu Cys Cys Ser Thr Gly Arg Leu Ser Thr Ser

50 55 60

Trp Thr Glu Glu Asp Val Asn Asp Asn Thr Leu Phe Lys Trp Met Ile

65 70 75 80

Phe Asn Gly Gly Ala Pro Asn Cys Ile Pro Cys Lys Glu Thr Cys Glu

85 90 95

Asn Val Asp Cys Gly Pro Gly Lys Lys Cys Arg Met Asn Lys Lys Asn

100 105 110

Lys Pro Arg Cys Val Cys Ala Pro Asp Cys Ser Asn Ile Thr Trp Lys

115 120 125

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

130 135 140

Leu Leu Lys Ala Arg Cys Lys Glu Gln Pro Glu Leu Glu Val Gln Tyr

145 150 155 160

Gln Gly Arg Cys Lys Lys Thr Cys Arg Asp Val Phe Cys Pro Gly Ser

165 170 175

Ser Thr Cys Val Val Asp Gln Thr Asn Asn Ala Tyr Cys Val Thr Cys

180 185 190

Asn Arg Ile Cys Pro Glu Pro Ala Ser Ser Glu Gln Tyr Leu Cys Gly

195 200 205

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

210 215 220
Cys Leu Leu Gly Arg Ser Ile Gly Leu Ala Tyr Glu Gly Lys Cys Ile

225 230 235 240
Lys Ala Lys Ser Cys Glu Asp Ile Gln Cys Thr Gly Gly Lys Lys Cys

245 250 255
Leu Trp Asp Phe Lys Val Gly Arg Gly Arg Cys Ser Leu Cys Asp Glu

260 265 270
Leu Cys Pro Asp Ser Lys Ser Asp Glu Pro Val Cys Ala Ser Asp Asn

275 280 285
Ala Thr Tyr Ala Ser Glu Cys Ala Met Lys Glu Ala Ala Cys Ser Ser

290 295 300
Gly Val Leu Leu Glu Val Lys His Ser Gly Ser Cys Asn

305 310 315

<210> 392

<211> 63

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 392

Gly Asn Cys Trp Leu Arg Gln Ala Lys Asn Gly Arg Cys Gln Val Leu

1 5 10 15

Tyr Lys Thr Glu Leu Ser Lys Glu Glu Cys Cys Ser Thr Gly Arg Leu

20 25 30

Ser Thr Ser Trp Thr Glu Glu Asp Val Asn Asp Asn Thr Leu Phe Lys

35 40 45

Trp Met Ile Phe Asn Gly Gly Ala Pro Asn Cys Ile Pro Cys Lys

50 55 60

<210> 393

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 393

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

1 5 10 15

Asn Lys Lys Asn Lys Pro Arg Cys Val

20 25

<210> 394

<211> 26

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 394

Lys Thr Cys Arg Asp Val Phe Cys Pro Gly Ser Ser Thr Cys Val Val

1 5 10 15

Asp Gln Thr Asn Asn Ala Tyr Cys Val Thr

20 25

<210> 395

<400> 395

000

<210> 396

<211> 368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 396

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

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

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

325	330	335
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
340	345	350
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	365
<210> 397		
<211> 1104		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		
polynucleotide		
<400> 397		
atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60	
tcgcccggcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattcta ctacaacgcc	120	
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcttgagc gctgcgaagg cgagcaggac	180	
aagcggctgc actgctacgc ctctggcg aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240	
aagggtgct ggctagatga cttcaactgc tacgatagc aggagtgtgt ggccactgag	300	
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgttcact	360	
catttgccag aggttggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420	
ggtgttgaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480	
gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc	540	
acatgcgtgg tgggtggact gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600	
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagcccgagg aggagcagta caacagcacg	660	
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720	
aagtcaagg tctccaacaa agcctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc	780	
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgccc catcccgaa ggagatgacc	840	
aagaaccagg tcagcgtgac ctgctgtgtc aaaggcttct atccagcga catgccgtg	900	
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctgaag	960	
tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1020	
gggaacgtct tctcatgtc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cacgcagaag	1080	
agcctctccc tgtctccggg taaa	1104	

<210> 398

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 398

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 210 215 220
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 225 230 235 240
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys
 245 250 255
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 260 265 270
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 275 280 285
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340
 <210> 399
 <400> 399
 000
 <210> 400
 <400> 400
 000
 <210> 401
 <400> 401
 000
 <210> 402
 <211> 368
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 402

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

145 150 155 160

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

165 170 175

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

180 185 190

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

195 200 205

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

210 215 220

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

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

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365

<210> 403

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 403

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

Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn

50					55					60									
Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln	Glu	Cys	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val				
65					70					75					80				
Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His				
85					90					95									
Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr				
100					105					110									
Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro				
115					120					125									
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys				
130					135					140									
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val				
145					150					155					160				
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp				
165					170					175									
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr				
180					185					190									
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp				
195					200					205									
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu				
210					215					220									
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg				
225					230					235					240				
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys				
245					250					255									
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp				
260					265					270									
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys				
275					280					285									
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser				
290					295					300									

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340
 <210> 404
 <400> 404
 000
 <210> 405
 <400> 405

 000
 <210> 406
 <211> 367
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 406
 Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr
 20 25 30
 Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn
 35 40 45

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

100	105	110	
Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro			
115	120	125	
Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr			
130	135	140	
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
145	150	155	160
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
165	170	175	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
180	185	190	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
195	200	205	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
210	215	220	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
225	230	235	240
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
245	250	255	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
260	265	270	
Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Glu Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys			
275	280	285	
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
290	295	300	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
305	310	315	320
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
325	330	335	
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
340	345	350	

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Asp Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355

360

365

<210> 407

<211> 1101

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 407

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcgtt	60
tcgcccgcg cctctgggcg tggggaggct gagacacggg agtgcattca ctacaacgcc	120
aactgggagc tggagcgcac caaccagagc ggcctggagc gctgcgaagg cgagcaggac	180
aagcggctgc actgctacgc ctctggcg aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag	240
aagggtgct ggctagatga cttcaactgc tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag	300
gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt gaaggcaact tctgcaacga gcgttcact	360
catttgccag aggtggggg cccggaagtc acgtacgagc ccccccgac agccccacc	420
ggtggtggaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	480
gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc	540
acatgcgtgg tgggtgacgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	600
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgaggg aggagcagta caacagcacg	660
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	720
aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc	780
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgccc catgccggga ggagatgacc	840
gagaaccagg tcagcctgtg gtgcctggc aaaggcttct atccagcga catgccgtg	900
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	960
tccgacggct ctttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1020
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cacgcaggac	1080
agcctctccc tgtctccggg t	1101

<210> 408

<211> 342

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 408

Gly	Arg	Gly	Glu	Ala	Glu	Thr	Arg	Glu	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn
1				5						10					15
Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	Thr	Asn	Gln	Ser	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly
				20						25					30
Glu	Gln	Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser
				35						40					45
Gly	Thr	Ile	Glu	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Phe	Asn
				50						55					60
Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln	Glu	Cys	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val
65					70					75					80
Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His
					85					90					95
Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr
					100					105					110
Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
					115					120					125
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
					130					135					140
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
145					150					155					160
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
					165					170					175
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
					180					185					190
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
					195					200					205
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
					210					215					220

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
225 230 235 240

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Glu
245 250 255

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
260 265 270

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
275 280 285

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
290 295 300

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Asp Ser
325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
340

<210> 409

<211> 1026

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 409

gggcgtgggg agcctgagac acgggagtg atctactaca acgccaactg ggagctggag 60

cgcaccaacc agagcggcct ggagcgctgc gaaggcgagc aggacaagcg gctgcactgc 120

tacgcctcct ggcgcaacag ctctggcacc atcgagctcg tgaagaaggg ctgctggcta 180

gatgacttca actgctacga taggcaggag tgtgtggcca ctgaggagaa cccccaggtg 240

tacttctgct gctgtgaagg caacttctgc aacgagcgct tcaactcattt gccagaggct 300

gggggcccgg aagtcacgta cgagccaccc ccgacagccc ccaccggtgg tggaactcac 360

acatgccac cgtgccagc acctgaactc ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 420

ccaaaaccca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtgggtgtg 480

gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 540
cataatgcc agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 600
gtcctcaccg tctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc 660
aacaagccc tccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 720
gaaccacagg tgtacacct gcccctatgc cgggaggaga tgaccgagaa ccaggtcagc 780
ctgtggtgcc tggicaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagt ggagagcaat 840
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 900

ttcctctata gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 960
tgctccgtga tgcatgagc tctgcacaac cactacacgc aggacagcct ctccctgtct 1020
ccgggt 1026

<210> 410

<400> 410

000

<210> 411

<400> 411

000

<210> 412

<400> 412

000

<210> 413

<400> 413

000

<210> 414

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 414

Ser Gly Pro Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro

35 40 45

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

Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro Glu His Pro
85 90 95
Ser Met Trp Gly Pro Val Glu
100

<210> 415

<211> 103

<212> PRT

<213> Condylura cristata

<400> 415

Ser Gly Pro Arg Gly Ile Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys
1 5 10 15
Leu Gln Ala Asn Leu Thr Cys Glu Thr Asp Gly Ala Cys Met Val Ser
20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Leu Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro
35 40 45
Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys Pro Phe Tyr Cys Leu Ser Ser
50 55 60

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

Ser Val Trp Gly Pro Val Glu
100

<210> 416

<211> 103

<212> PRT

<213> Erinaceus europaeus

<400> 416

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

<210> 417

<211> 102

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<400> 417

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

100

<210> 418

<211> 103

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 418

Ser Gly Pro Arg Gly Ile Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Ile Asp Phe Cys Asn Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Met Trp Gly Pro Val Glu

100

<210> 419

<211> 103

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<400> 419

Ser Gly Pro Arg Gly Ile Gln Ala Leu Leu Cys Ala Cys Thr Ser Cys

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr Cys Ile Pro

35 40 45

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

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

Ser Met Trp Gly Pro Val Glu
 100

<210> 420

<211> 103

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

Vertebrate ALK4 protein sp.

<400> 420

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

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

<210> 421

<211> 453

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 421

Met Val Ser Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr
1 5 10 15

Cys Ile Pro Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys Pro Phe Tyr Cys
20 25 30

Leu Ser Ser Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr
35 40 45

Cys Asn Arg Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro

50 55 60

Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu Leu Val Gly Ile Ile Ala
65 70 75 80

Gly Pro Val Phe Leu Leu Phe Leu Ile Ile Ile Ile Val Phe Leu Val
85 90 95

Ile Asn Tyr His Gln Arg Val Tyr His Asn Arg Gln Arg Leu Asp Met
100 105 110

Glu Asp Pro Ser Cys Glu Met Cys Leu Ser Lys Asp Lys Thr Leu Gln

115 120 125

Asp Leu Val Tyr Asp Leu Ser Thr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro
130 135 140

Leu Phe Val Gln Arg Thr Val Ala Arg Thr Ile Val Leu Gln Glu Ile
145 150 155 160

Ile Gly Lys Gly Arg Phe Gly Glu Val Trp Arg Gly Arg Trp Arg Gly
165 170 175

Gly Asp Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser Arg Glu Glu Arg Ser Trp

180 185 190

Phe Arg Glu Ala Glu Ile Tyr Gln Thr Val Met Leu Arg His Glu Asn
195 200 205

Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Asn Lys Asp Asn Gly Thr Trp Thr
210 215 220

Gln Leu Trp Leu Val Ser Asp Tyr His Glu His Gly Ser Leu Phe Asp
225 230 235 240

Tyr Leu Asn Arg Tyr Thr Val Thr Ile Glu Gly Met Ile Lys Leu Ala

245 250 255

Leu Ser Ala Ala Ser Gly Leu Ala His Leu His Met Glu Ile Val Gly

260 265 270

Thr Gln Gly Lys Pro Gly Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn

275 280 285

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

290 295 300

Ala Val Arg His Asp Ala Val Thr Asp Thr Ile Asp Ile Ala Pro Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

Thr Ile Asn Met Lys His Phe Asp Ser Phe Lys Cys Ala Asp Ile Tyr

340 345 350

Ala Leu Gly Leu Val Tyr Trp Glu Ile Ala Arg Arg Cys Asn Ser Gly

355 360 365

Gly Val His Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Val Pro Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

Arg Pro Asn Ile Pro Asn Trp Trp Gln Ser Tyr Glu Ala Leu Arg Val

405 410 415

Met Gly Lys Met Met Arg Glu Cys Trp Tyr Ala Asn Gly Ala Ala Arg

420 425 430

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

435 440 445

Glu Asp Val Lys Ile

450

<210> 422

<211> 74

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 422

Met Val Ser Ile Phe Asn Leu Asp Gly Met Glu His His Val Arg Thr

1 5 10 15

Cys Ile Pro Lys Val Glu Leu Val Pro Ala Gly Lys Pro Phe Tyr Cys

20 25 30

Leu Ser Ser Glu Asp Leu Arg Asn Thr His Cys Cys Tyr Thr Asp Tyr

35 40 45

Cys Asn Arg Ile Asp Leu Arg Val Pro Ser Gly His Leu Lys Glu Pro

50 55 60

Glu His Pro Ser Met Trp Gly Pro Val Glu

65 70

<210> 423

<211> 1362

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 423

atggtttcca ttttcaatct ggatgggatg gagcaccatg tgcgcacctg catccccaaa 60

gtggagctgg tccctgccgg gaagcccttc tactgcctga gctcggagga cctgcgcaac 120

accactgct gctacaactga ctactgcaac aggatcgact tgagggtgcc cagtggtcac 180

ctcaaggagc ctgagcaccg gtccatgtgg ggcccgtgg agctggtagg catcatcgcc 240

ggcccgtgt tctcctgtt cctcatcacc atcattgttt tcttgtcat taactatcat 300

cagcgtgtct atcacaaccg ccagagactg gacatggaag atccctcatg tgagatgtgt 360

ctctccaaag acaagacgct ccaggatctt gtctacgac tctccacctc agggctctggc 420

tcagggttac cctcttttgt ccagcgcaca gtggcccgaa ccatcgtttt acaagagatt 480

attggcaagg gtcggtttgg ggaagtatgg cggggccgct ggagggtgg tgatgtggct 540

gtgaaaaat tctcttctcg tgaagaacgg tcttggttca gggaagcaga gatataccag 600

acggtcatgc tgcgcatga aaacatcctt ggatttattg ctgctgacaa taaagataat 660

ggcacctgga cacagctgtg gcttgtttct gactatcatg agcacgggtc cctgtttgat 720

tatctgaacc ggtacacagt gacaattgag gggatgatta agctggcctt gtctgctgct 780

agtgggctgg cacacctgca catggagatc gtgggcaccc aagggaagcc tggaattgct 840

catcgagact taaagtcaaa gaacattctg gtgaagaaaa atggcatgtg tgccatagca 900

gacctgggcc tggctgtccg tcatgatgca gtcactgaca ccattgacat tgccccgaat 960
cagagggtgg ggaccaaacg atacatggcc cctgaagtac ttgatgaaac cattaatatg 1020

aaacactttg actcctttaa atgtgctgat atttatgccc tcgggcttgt atattgggag 1080
attgctcgaa gatgcaattc tggaggagtc catgaagaat atcagctgcc atattacgac 1140
ttagtgccct ctgacccttc cattgaggaa atgcgaaagg ttgtatgtga tcagaagctg 1200
cgtcccaaca tccccaactg gtggcagagt tatgaggcac tgcgggtgat ggggaagatg 1260
atgcgagagt gttagtatgc caacggcgca gccgcctga cggccctgcg catcaagaag 1320
acctctccc agctcagcgt gcaggaagac gtgaagatct aa 1362

<210> 424

<211> 230

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 424

atggtttcca ttttcaatct ggatgggatg gacaccatg tgcgcacctg catccccaaa 60
gtggagctgg tccttgccgg gaagcccttc tactgcctga gctcggagga cctgcgcaac 120
accactgct gctacactga ctactgcaac aggatcgact tgagggtgcc cagtggtcac 180
ctcaaggagc ctgagcaccc gtccatgtgg ggcccgtgg agctggtagg 230

<210> 425

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 425

Glu Leu Ser Pro Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser

1 5 10 15

Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu

20 25 30

Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu

35 40 45

Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr

50 55 60

Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro

65 70 75 80

Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu

85 90

<210> 426

<211> 93

<212> PRT

<213> Pan troglodytes

<400> 426

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

1 5 10 15

Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu

20 25 30

Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu

35 40 45

Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr

50 55 60

Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro

65 70 75 80

Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu

85 90

<210> 427

<211> 93

<212> PRT

<213> Carlito sp.

<400> 427

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

1 5 10 15

Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Arg

20 25 30

Thr Asn Gly Lys Glu Gln Val Ile Lys Ser Cys Val Ser Leu Pro Glu

35 40 45

Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr

50 55 60
 Glu Cys Cys Phe Thr Asp Phe Cys Asn Asn Ile Thr Leu His Leu Pro
 65 70 75 80

Thr Ala Ser Pro Asn Ala Pro Lys Leu Gly Pro Met Glu
 85 90

<210> 428

<211> 93

<212> PRT

<213> *Callithrix jacchus*

<400> 428

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

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

<210> 429

<211> 93

<212> PRT

<213> *Tarsius syrichta*

<400> 429

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

35 40 45
Leu Asn Ala Gln Val Phe Cys His Ser Ser Asn Asn Val Thr Lys Thr
50 55 60

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

<210> 430

<211> 93

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

Squirrel sequence

<400> 430

Glu Leu Ser Ala Gly Leu Lys Cys Val Cys Leu Leu Cys Asp Ser Ser
1 5 10 15
Asn Phe Thr Cys Gln Thr Glu Gly Ala Cys Trp Ala Ser Val Met Leu

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

<210> 431

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

6xHis tag

<400> 431

His His His His His His

1 5

<210> 432

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220>

<223> See specification as filed for detailed description of
substitutions and preferred embodiments

<400> 432

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 433

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Any amino acid

<220><221> SITE

<222> (1)..(10)

<223> This sequence may encompass 1-5 "Xaa Pro"
repeating units

<400> 433

Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro

1 5 10

<210> 434

<211> 48

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

CAGA12 motif sequence

<400> 434

cagacagaca gacagacaga cagacagaca gacagacaga cagacaga 48

<210> 435

<211> 345

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 435

gggcgtgggg aggtgagac acgggagtg atctactaca acgccaactg ggagctggag 60

cgcaccaacc agagcggcct ggagcgctgc gaaggcgagc aggacaagcg gctgcactgc 120

tacgcctcct ggcgcaacag ctctggcacc atcgagctcg tgaagaaggg ctgctggcta 180

gatgacttca actgctacga taggcaggag tgtgtggcca ctgaggagaa ccccagggtg 240

tacttctgct gctgtgaagg caacttctgc aacgagcgct tcactcattt gccagaggct 300

ggggggcccg aagtcacgta cgagccaccc ccgacagccc ccacc 345

<210> 436

<211> 1539

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 436

atgacggcgc cctgggtggc cctcgccctc ctctggggat cgctgtgcgc cggctctggg	60
cgtagggagg ctgagacacg ggagtgcac tactacaacg ccaactggga gctggagcgc	120
accaaccaga gcggcctgga gcgctgcgaa ggcgagcagg acaagcggt gcactgctac	180
gcctcctggc gcaacagctc tggcaccatc gagctcgtga agaagggtg ctggctagat	240
gatttcaact gctacatag gcaggagtgt gtggccactg aggagaaccc ccagggttac	300
ttctgtgct gtgaaggcaa ctctgcgaac gaacgcttca ctcatgtgcc agaggctggg	360
ggccccgaag tcacgtacga gccacccccg acagcccca ccctgctcac ggtgctggcc	420
tactcactgc tgcccatcgg gggcctttcc ctcatcgtcc tgctggcctt ttggatgtac	480
cggtcatgca agcccccta cggatcatgt gacatccatg aggaccctgg gcctccacca	540
ccatccctc tggtagggcct gaagccactg cagctgctgg agatcaaggc tcgggggcgc	600
tttggtgtg tctggaaggc ccagctcatg aatgactttg tagctgtcaa gatcttccca	660
ctccaggaca agcagtcgtg gcagagtga cgggagatct tcagcacacc tggcatgaag	720
cacgagaacc tgctacagtt cattgctgcc gagaagcgag gctccaacct cgaagtagag	780
ctgtggctca tcacggcctt ccatgacaag ggtccctca cggattacct caagggaac	840
atcatcacat ggaacgaact gtgtcatgta gcagagacga tgtcacagg cctctcatac	900
ctgcatgagg atgtgccctg gtgccgtggc gagggccaca agccgtctat tgcccacagg	960
gactttaaaa gtaagaatgt attgtgaag agcgacctca cagccgtgct ggctgacttt	1020
ggcttggtg ttcgatttga gccagggaac cctccagggg acaccacgg acaggtaggc	1080
acgagacggt acatggctcc tgaggtgctc gagggagcca tcaacttcca gagagatgcc	1140
ttcctgcga ttgacatgta tgccatgggg ttggtgctgt gggagcttgt gtctcgtgc	1200
aaggctgcag acggaccgt ggatgagtac atgctgccct ttgaggaaga gattggccag	1260
caccttcgt tggaggagct gcaggaggtg gtggtgcaca agaagatgag gcccaccatt	1320
aaagatcact ggttgaacaa cccgggcctg gccagcttt gtgtgacct cgaggagtgc	1380
tgggacctg atgcagagcg tcgctgtcc gcgggctgtg tggaggagcg ggtgtccctg	1440
attcggaggt cggtaacgg cactacctcg gactgtctcg tttccctggt gacctctgtc	1500
accaatgtgg acctgcccc taaagagtca agcatctaa	1539