



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107683287 B

(45) 授权公告日 2022. 05. 06

(21) 申请号 201680036599.1

(22) 申请日 2016.04.12

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107683287 A

(43) 申请公布日 2018.02.09

(30) 优先权数据
62/150,994 2015.04.22 US
62/262,356 2015.12.02 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.12.21

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/027046 2016.04.12

(87) PCT国际申请的公布数据
WO2016/171948 EN 2016.10.27

(73) 专利权人 奥健公司

地址 开曼群岛大开曼岛

(72) 发明人 韩汇泉 周小岚

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 李平 郑霞

(51) Int.Cl.
C07K 14/00 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/495 (2006.01)
C07K 14/51 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)

审查员 李颖

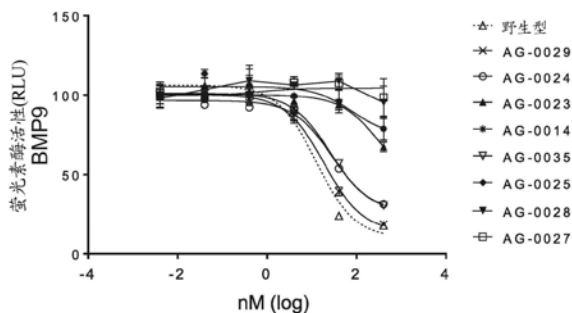
权利要求书3页 说明书60页
序列表68页 附图12页

(54) 发明名称

用于治疗肌肉萎缩疾病的新杂合ActRIIB配体陷阱蛋白

(57) 摘要

本公开内容描述了新型杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,其完全保留了对肌生成抑制蛋白(myostatin)和激活蛋白A的结合亲和力,但表现出与BMP、特别地BMP-9显著减少的结合。本文描述的新型组合物可用于制备新型杂合ActRIIB配体陷阱蛋白,该新型杂合ActRIIB配体陷阱蛋白可用于调节肌肉、骨、软骨、脂肪、成纤维细胞、血液和神经组织的生长,以在治疗上有意义的方式对抗肌肉萎缩、骨质丢失、贫血症、炎症和纤维化。因为这些新型下一代肌生成抑制蛋白/激活蛋白抑制剂是比当前可用的肌生成抑制蛋白抑制剂更安全且更有效的分子,所以它们在非常广泛的临床适应症中是有用的。



1. 一种分离的蛋白,所述分离的蛋白包含杂合可溶激活蛋白IIB受体-细胞外结构域(ActRIIB-ECD)多肽,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由选自由SEQ ID NO:5-10、13、16、25-27、29、30、31和37组成的组的氨基酸序列组成,并且其中所述杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。

2. 如权利要求1所述的分离的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:29。

3. 如权利要求1所述的分离的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由SEQ ID NO:29的氨基酸序列组成。

4. 如权利要求1所述的分离的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成的多肽。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽被融合至至少一种异源蛋白。

6. 如权利要求5所述的蛋白,其中所述异源蛋白包含免疫球蛋白的恒定结构域。

7. 如权利要求6所述的蛋白,其中所述异源蛋白包含免疫球蛋白的Fc结构域。

8. 如权利要求7所述的蛋白,其中所述Fc结构域选自人IgG1的Fc结构域、人IgG2的Fc结构域或人IgG4的Fc结构域。

9. 如权利要求5所述的蛋白,其中所述异源蛋白通过接头序列融合至所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽。

10. 如权利要求7所述的蛋白,其中由SEQ ID NO:44列出的氨基酸序列组成的接头与由SEQ ID NO:118列出的氨基酸序列组成的铰链接头一起使用以将Fc结构域连接至所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽。

11. 如权利要求7所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由选自由SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:29组成的组的氨基酸序列组成,并且Fc结构域由选自由SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:43组成的组的氨基酸序列组成。

12. 如权利要求11所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成,并且Fc结构域由SEQ ID NO:43的氨基酸序列组成。

13. 如权利要求11所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由SEQ ID NO:29的氨基酸序列组成,并且Fc结构域由SEQ ID NO:43的氨基酸序列组成。

14. 如权利要求7所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽经由SEQ ID NO:44列出的氨基酸序列组成的接头衔接至Fc结构域。

15. 如权利要求5所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽融合至由SEQ ID NO:44列出的氨基酸序列组成的肽接头,其中所述肽接头融合至由SEQ ID NO:118列出的氨基酸序列组成的铰链接头,并且其中所述铰链接头融合至由SEQ ID NO:43的氨基酸序列组成的人Fc结构域。

16. 如权利要求5所述的蛋白,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽由SEQ ID NO:29的氨基酸序列组成,其中所述杂合可溶ActRIIB-ECD多肽融合至由SEQ ID NO:44列出的氨基酸序列组成的肽接头,其中所述肽接头融合至由SEQ ID NO:118列出的氨基酸序列组成的

较链接头,并且其中所述较接头融合至由SEQ ID NO:43的氨基酸序列组成的人Fc结构域。

17.一种分离的核酸分子,所述分离的核酸分子包含编码如权利要求1-16中任一项所述的多肽的多核苷酸。

18.如权利要求17所述的分离的核酸分子,其中所述多核苷酸还包含编码至少一种异源蛋白的多核苷酸。

19.一种重组载体,所述重组载体包含如权利要求18所述的核酸分子。

20.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含如权利要求19所述的重组载体。

21.如权利要求20所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞为哺乳动物细胞。

22.一种产生杂合ActRIIB蛋白的方法,所述方法包括在促进所述蛋白的表达的条件下培养如权利要求21所述的宿主细胞,以及回收所述蛋白。

23.一种药物组合物,所述药物组合物包含与药学上可接受的运载体混合的治疗有效量的如权利要求1-16中任一项所述的蛋白。

24.如权利要求23所述的药物组合物,其中所述组合物适于通过选自由以下组成的组的途径施用:皮下、肌内、静脉内和鞘内。

25.权利要求23所述的组合物在制备用于治疗受试者的肌生成抑制蛋白相关紊乱或激活蛋白A相关紊乱的药物中的用途,其中所述肌生成抑制蛋白相关紊乱或激活蛋白A相关紊乱是肌肉萎缩疾病。

26.如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病选自由以下组成的组:肌肉萎缩症、肌萎缩性侧索硬化症、肌炎、重症监护室(ICU)肌病、药物诱导性肌病、雄激素剥夺、充血性阻塞性肺病、肺气肿、囊性纤维化、慢性心力衰竭、心脏萎缩、癌症恶病质、肾衰竭、尿毒症、蛋白能量耗损、厌食症、营养不良、肌少症、获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、脓毒症、烧伤、糖尿病、亨廷顿氏病、帕金森病、阿尔茨海默病、腕管综合征,以及由于长期卧床休息、脊髓损伤、卒中、骨折、老化和暴露至微重力任一项所引起的肌肉萎缩。

27.如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病是皮质类固醇肌病或他汀肌病。

28.如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病是与心血管疾病相关的肌肉萎缩,并且

所述心血管疾病选自由以下组成的组:心力衰竭、心脏萎缩、高血压、心肌炎、冠状动脉病、心肌梗塞、心律失常、心脏瓣膜病、心肌病、心包疾病、主动脉疾病、心脏移植和马凡综合征。

29.如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病是与新陈代谢紊乱相关的肌肉萎缩,并且所述新陈代谢紊乱选自由以下组成的组:胰岛素耐受、糖尿病、肥胖症、肌少型肥胖症、血脂异常和脂肪肝病。

30.如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病是与癌症相关的肌肉萎缩,并且

所述癌症选自由以下组成的组:肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、食管癌、结肠癌、乳腺癌、头颈癌、卵巢癌、睾丸癌、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、白血病、骨髓增生异常综合征或横纹肌肉瘤和其他癌症。

31.如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病是与肾病相关的肌肉萎缩,并且所述肾病选自由以下组成的组:慢性肾病、终末期肾病、尿毒症、蛋白能量耗损和肾移植。

32. 如权利要求25所述的用途,其中所述所述肌肉萎缩疾病是与炎性或自身免疫疾病相关的肌肉萎缩,并且所述炎性或自身免疫疾病选自由以下组成的组:类风湿性关节炎、炎性肠病、狼疮和多发性硬化。

33. 如权利要求25所述的用途,其中所述所述肌肉萎缩疾病是与纤维化疾病相关的肌肉萎缩,并且所述纤维化疾病选自由以下组成的组:肺纤维化、肝硬化、心脏纤维化、肾纤维化、骨髓纤维化、特发性腹膜后纤维化、肾源性纤维化皮病、克罗恩病、瘢痕瘤、硬皮病、系统性硬化症和关节纤维化。

34. 权利要求23所述的组合物在制备用于治疗受试者的贫血症的药物中的用途,其中所述贫血症选自由以下组成的组:缺铁性贫血、地中海贫血、溶血性贫血、镰状细胞性贫血、恶性贫血、范科尼贫血,再生障碍性贫血。

35. 如权利要求34所述的用途,其中所述再生障碍性贫血是癌症相关性贫血和化学疗法引起的贫血。

36. 如权利要求25所述的用途,其中所述肌肉萎缩疾病是与老化状况相关的肌肉萎缩,并且所述老化状况选自由以下组成的组:老年人的虚弱、年龄相关肌少症和骨关节炎。

37. 权利要求23所述的组合物在制备用于治疗受试者的骨紊乱的药物中的用途。

38. 如权利要求37所述的用途,其中所述骨紊乱选自由以下组成的组:骨软化症、骨质疏松症、成骨不全症、进行性骨化性纤维发育不良、皮质类固醇引起的骨质丢失、骨折和骨转移。

39. 权利要求19所述的载体在制备用于治疗受试者的肌肉萎缩或新陈代谢或纤维化或炎性或激活蛋白相关的紊乱的药物中的用途,其中所述载体能够指导杂合ActRIIB蛋白在所述受试者中的表达。

用于治疗肌肉萎缩疾病的新杂合ACTRIIB配体陷阱蛋白

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年4月22日提交的美国临时申请第62/150,994号和2015年12月2日提交的美国临时申请第62/262,356号的权益,所述临时申请的每一项通过引用以其整体并入本文。

背景技术

[0003] 肌肉萎缩 (Muscle wasting) 指肌肉质量的逐渐丢失和/或肌肉的逐渐弱化和降解,包括骨骼肌或随意肌、控制心脏的心肌(心肌病)、和平滑肌。慢性肌肉萎缩是特征为肌肉质量逐渐丢失以及肌肉弱化和降解的状况(即在长期的期间内持续)。当肌肉蛋白降解的速率超过肌肉蛋白合成的速率时,发生肌肉质量的丢失。

[0004] 肌肉萎缩是使人虚弱且威胁生命的疾病状态,其与很多慢性、神经学、遗传、炎性、纤维化或感染性病理学的发展有关,包括例如肌肉萎缩症、肌萎缩性侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis)、肌炎、失神经性肌肉萎缩 (denervation muscle atrophy)、厌食症-恶病质综合征 (anorexia-cachexia syndrome)、癌症、类风湿性关节炎、骨关节炎、糖尿病、肌少型肥胖症 (sarcopenic obesity)、年龄相关肌少症 (age-related sarcopenia)、雄激素剥夺、皮质类固醇肌病、炎性肠病、肝硬化、慢性阻塞性肺病、肺纤维化、慢性肾病、创伤、心肌病、慢性心力衰竭和HIV感染。据称导致肌肉萎缩的其他状况包括慢性下背痛、高龄、对中央神经系统的损害、外周神经损伤、化学损伤、长期的灼痛 (extended burns)、髋/膝置换、废用性萎缩、暴露至微重力和长期住院。

[0005] 激活蛋白 (activin) IIA受体 (ActRIIA) 和激活蛋白 IIB受体 (ActRIIB) 是TGF- β 家族成员的亚组的II型受体,包括例如激活蛋白A、肌生成抑制蛋白 (myostatin) (也被称为GDF-8)、生长分化因子-11 (GDF-11)、和很多其他的骨形态发生蛋白 (BMP) 诸如BMP-3、BMP-6、BMP-9 (也被称为GDF-2) 和BMP-10。这些TGF- β 家族配体与ActRIIA和/或ActRIIB的结合可调节细胞分化、凋亡、蛋白合成和降解、矿化、血细胞生成、血管发生、类固醇合成、粘附、迁移、细胞外基质产生和纤维发生。具体的响应取决于TGF- β 配体和受体的类型和水平以及细胞状态和环境。已知这些配体的改变的表达与多种疾病和紊乱有关。例如,升高的血清激动蛋白A水平已经在肌萎缩、癌症、慢性心力衰竭、慢性肾病、炎症、纤维化、贫血、骨质丢失和老化的疾病状态中显示,并且被认为对疾病的发病机理和进展作出贡献。

[0006] ActRIIA和ActRIIB已经被鉴定为激动蛋白,包括激动蛋白A、激动蛋白B和激动蛋白AB的II型受体。ActRIIB是肌生成抑制蛋白 (肌肉生长的关键负调控因子) 的高亲和力受体,并因此在控制肌肉质量中发挥核心作用。

[0007] 多种ActRIIA-Fc和ActRIIB-Fc融合蛋白已经或目前正在被临床评价。在患有多发性骨髓瘤和骨质疏松症的溶骨性病变的患者中,已经临床评价 (Ph1、Ph2a) 了ActRIIA-Fc融合蛋白 (Acceleron Pharma的ACE-011)。不幸地,尽管似乎有效,ACE-011用于治疗骨质疏松症的临床潜能被安全性考虑妨碍 (高RBC生长)。目前正针对患有转移性非小细胞肺癌 (NSCLC) 的患者中的化学疗法引起的贫血症 (CIA) 评价ACE-011 (Ph2/3)

(ClinicalTrials.gov)。已经临床评价(Ph1、Ph2)了ActRIIB-Fc融合蛋白(Acceleron Pharma的ACE-031)对迪谢内肌营养不良(Duchenne muscle dystrophy,DMD)的治疗效果。ACE-031表现出显著的肌肉获得,其比由肌生成抑制蛋白选择性抑制剂诸如肌生成抑制蛋白、肽体(peptibody)或前肽引起的肌肉获得更明显。不幸的是,尽管对肌肉生长的有前景的效果,ACE-031的临床潜能已经被在DMD患者中观察到的鼻和齿龈出血的不良事件妨碍,因此对ACE-031存在临床限制(Smith R.C.和Lin B.K.,Curr Opin Support Palliat Care.7(4):352-360,2013)。目前正在Ph1中经由肌内注射利用局部递送在健康受试者中临床评价ActRIIB-Fc融合蛋白(Acceleron Pharma的ACE-083)(ClinicalTrials.gov),并且在患有卵巢癌或其他晚期实体瘤的患者中评价Atara Biotherapeutic的ActRIIB-Fc融合蛋白(STM434)(Ph1招募正在进行)(ClinicalTrials.gov)。

[0008] 尽管有这些进步,对于提供高度有效且安全的用于治疗肌肉萎缩疾病的新型治疗仍清楚地存在迫切需要。

[0009] 本公开内容的公开内容

[0010] 在一方面,本公开内容提供了分离的新型杂合ActRIIB配体陷阱蛋白,该蛋白包含新型杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,所述多肽保留了中和肌生成抑制蛋白和激活蛋白A的活性,但表现出显著降低的BMP9中和。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中,氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少1个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少2个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少3个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少4

个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少5个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少6个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少7个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少8个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少9个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少10个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够

结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少15个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少20个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少25个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,在该SEQ ID NO:1的氨基酸序列中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108或T110中的至少30个被另一个氨基酸置换,并且其中杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。

[0011] 在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有以下列出的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽:SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:37,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB多肽是具有与选自SEQ ID NO:3-37的氨基酸序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出

对BMP9的降低的结合亲和力。

[0012] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116或SEQ ID NO:117,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB多肽是具有与选自SEQ ID NO:51-117的氨基酸序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。

[0013] 在另一方面,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含杂合可溶ActRIIB-ECD多肽和至少一种异源蛋白,其中该杂合ActRIIB配体陷阱能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,异源蛋白是Fc结构域。在多种实施方案中,Fc结构域是人IgG Fc结构域。在多种实施方案中,Fc结构域源自SEQ ID NO:38列出的人IgG1重链恒定结构域序列。在多种实施方案中,Fc结构域为具有SEQ ID NO:39列出的氨基酸序列的Fc结构域。在多种实施方案中,Fc结构域源自SEQ ID NO:40列出的人IgG2重链恒定结构域序列。在多种实施方案中,Fc结构域为具有SEQ ID NO:41列出的氨基酸序列的Fc结构域。在多种实施方案中,Fc结构域源自SEQ ID NO:42列出的人IgG4重链恒定结构域序列。在多种实施方案中,Fc结构域为具有SEQ ID NO:43列出的氨基酸序列的Fc结构域。

[0014] 在多种实施方案中,异源蛋白通过接头和/或铰链接头肽附连至杂合可溶ActRIIB-ECD多肽。接头或铰链接头可以是相对不含二级结构的在5、10、15、20、30、40个或更多个氨基酸之间的人工序列。在多种实施方案中,接头G/S含量丰富(例如接头中至少约60%、70%、80%、90%或更多的氨基酸是G或S)。在多种实施方案中,接头具有(GGGGS(SEQ ID NO:44))_n基序,其中n=1-6。在多种实施方案中,具有SEQ ID NO:44列出的氨基酸序列的接头与具有SEQ ID NO:118列出的氨基酸序列的铰链接头一起使用,以将人IgG4Fc(SEQ ID NO:43)连接至本公开内容的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽(例如SEQ ID NO:3-37或51-117中的任一个)。

[0015] 在另一方面,本公开内容提供了分离的核酸分子,该分离的核酸分子包含编码本公开内容的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的多核苷酸。在多种实施方案中,该多核苷酸编码SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列之一,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌

生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,该多核苷酸编码具有与SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一个至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列的多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,该多核苷酸编码与SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一个具有至少90%同一性的多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,该多核苷酸编码具有与SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一个至少95%同一性的氨基酸序列的多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。

[0016] 在多种实施方案中,该分离的核酸分子包含本文描述的多核苷酸,并且还包含编码本文描述的至少一种异源蛋白的多核苷酸。在多种实施方案中,核酸分子还包含编码本文描述的接头或铰链接头的多核苷酸。

[0017] 在另一方面,本公开内容提供了包含本文描述的核酸的载体。在多种实施方案中,载体是表达载体。在另一方面,本公开内容提供了包含本公开内容的核酸的分离的细胞。在多种实施方案中,细胞是包含本公开内容的表达载体的宿主细胞。在另一方面,制备杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的方法通过在促进蛋白或多肽的表达的条件下培养宿主细胞来提供。

[0018] 在另一方面,本公开内容提供了一种药物组合物,所述药物组合物包含分离的杂合可溶ActRIIB多肽或与药学上可接受的运载体混合的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白。

[0019] 在另一方面,本公开内容提供了通过向受试者施用有效量的包含本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱的药物组合物治疗或预防罹患肌肉萎缩疾病的受试者中的此类紊乱的方法。肌肉萎缩疾病或状况包括但不限于以下:肌肉营养不良(诸如DMD、Becker型MD、肢带型MD、肌强直性MD和FSHD)、肌炎(诸如皮肌炎、包涵体肌炎、幼年型肌炎、多肌炎)、肌病(包括遗传性肌病和获得性肌病,诸如糖尿病性肌病或药物诱导性肌病)、运动神经元疾病(诸如葛雷克氏症(Lou Gehrig's disease)或肌萎缩性侧索硬化症)、重症肌无力、神经退行性疾病(诸如帕金森病、亨廷顿氏病(Huntington's disease)和阿尔茨海默病)、与癌症有关的肌肉萎缩(诸如胰腺癌、肺癌、胃癌、卵巢癌、结肠直肠癌、黑素瘤、白血病、肺癌、前列腺癌、脑癌、膀胱癌、和头颈癌)、与慢性心力衰竭(CHF)有关的肌肉萎缩、慢性肾病(CKD)、肝衰竭、糖尿病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺气肿、囊性纤维化、类风湿性关节炎、骨关节炎、肝纤维化、肝硬化、创伤(诸如烧伤或机动车事故)、骨折、器官移植(诸如心脏、肺、肝或肾移植)、ICU重症护理、去神经化(诸如卒中或脊髓损伤)、雄激素剥夺疗法、皮质类固醇疗法、感染(诸如AIDS或结核病)、长期卧床休息、肌少型肥胖症和年龄相关肌少症。

[0020] 本文还提供了用于治疗受试者中的心血管疾病的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,心血管疾病选自心力衰竭、心脏萎缩、心脏纤维化、肺高血压、心肌炎、冠状动脉病、心肌梗塞、心律失常、心脏瓣膜病、心肌病、心包疾病、主动脉疾病和马凡综合征。

[0021] 本文还提供了用于治疗受试者中的新陈代谢紊乱的方法,包括向有相应需要的受

试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,新陈代谢疾病选自肥胖症、血脂异常、肌少型肥胖症、非酒精性脂肪肝病诸如非酒精性脂肪性肝炎、酒精性脂肪肝病、胰岛素耐受、糖尿病和新陈代谢综合征,以及糖尿病性肌病、糖尿病性肾病、糖尿病性神经病、糖尿病性视网膜病和血色素沉着病。

[0022] 本文还提供了用于治疗受试者中的癌症或癌症转移的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,癌症选自胰腺癌、胃癌、卵巢癌、结肠直肠癌、黑色素瘤、白血病、骨髓增生异常综合征、肺癌、前列腺癌、脑癌、膀胱癌、头颈癌或横纹肌肉瘤。

[0023] 本文还提供了用于治疗受试者中的自身免疫病的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,疾病选自自身免疫紊乱,包括多发性硬化、系统性硬化症、糖尿病(1型)、肾小球肾炎、重症肌无力、银屑病、系统性红斑狼疮、多肌炎、克罗恩氏病(Crohn's disease)、溃疡性结肠炎和原发性胆汁性肝硬化。

[0024] 本文还提供了用于治疗受试者中的关节炎的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,关节炎选自类风湿性关节炎或骨关节炎。

[0025] 本文还提供了用于治疗受试者中的厌食症的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,厌食症选自神经性厌食症和厌食症-恶病质综合征。

[0026] 本文还提供了用于治疗受试者中的肝病的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,肝病选自脂肪肝,包括非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化、肝衰竭、自身免疫性肝炎和肝细胞癌。

[0027] 本文还提供了用于受试者中的器官或组织移植的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,移植选自心脏、肾、肝、肺、胰腺、肠和胸腺的器官移植,或选自骨、肌腱、角膜、皮肤、心脏瓣膜、神经和血管的组织移植。

[0028] 本文还提供了用于治疗受试者中的贫血症的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,贫血症选自多种贫血性紊乱,包括缺铁性贫血、铁过载、地中海贫血、溶血性贫血、镰状细胞性贫血、恶性贫血、范科尼贫血(fanconi anemia)和再生障碍性贫血(诸如癌相关性贫血和化学疗法引起的贫血)。

[0029] 本文还提供了用于治疗受试者中的纤维化的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,纤维化选自间质性肺病、独特型肺纤维化、囊性纤维化、肝纤维化、肝硬化、心脏纤维化、肾纤维化、骨髓纤维化、特发性腹膜后纤维化、肾源性纤维化皮病、炎性肠病、瘢痕瘤(keloid)、硬皮病或关节纤维化。

[0030] 本文还提供了治疗受试者中的疼痛的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案

中,疼痛选自神经性疼痛、躯体痛、内脏痛、炎性疼痛、癌痛、背痛或关节痛。

[0031] 本文还提供了治疗受试者中的骨病的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,骨病选自骨质疏松症、骨软化症、成骨不全症、进行性骨化性纤维发育不良、皮质类固醇引起的骨质丢失、骨折或骨转移。

[0032] 本文还提供了治疗受试者中的老化状况的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,老化状况选自老年人的虚弱、年龄相关肌少症或骨关节炎。

[0033] 本文还提供了诱导受试者中的干细胞生长用于组织修复或器官再生的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,干细胞选自肌肉干(卫星)细胞、心脏干细胞、骨髓来源间充质干细胞和多能干细胞。

[0034] 在另一方面,本公开内容提供了杂合ActRIIB配体陷阱蛋白用于制备用于治疗如本文描述的任何紊乱或状况的药物的用途。

[0035] 附图简述

[0036] 图1示出了本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的两种示例性分子构造。

[0037] 图2显示了示出基于细胞的测定的结果的线图,所述基于细胞的测定用于评价与作为基准的野生型ActRIIB-Fc蛋白(WT)的肌生成抑制蛋白中和、激活蛋白A中和、和BMP9中和能力相比,具有AG-0003(SEQ ID NO:5)的氨基酸序列的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白和具有AG-0005(SEQ ID NO:7)的氨基酸序列的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的肌生成抑制蛋白中和(左图)、激活蛋白A中和(中图)和BMP9中和(右图)能力。

[0038] 图3显示了示出与作为基准的野生型ActRIIB-Fc蛋白(WT)的基于细胞的对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A、激活蛋白B和BMP9的中和活性相比,具有AG-0014(SEQ ID NO:16)的氨基酸序列的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白和具有AG-0027(SEQ ID NO:29)的氨基酸序列的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的那些基于细胞的对肌生成抑制蛋白(左上)、激活蛋白A(右上)、激活蛋白B(左下)和BMP9(右下)的中和活性的结果的线图。如实施例中描述的,通过利用C2C12-CAGA-luc报道子测定检查肌生成抑制蛋白中和活性、激活蛋白A中和活性和激活蛋白B中和活性,并通过利用C2C12-BRE-luc报道子测定分析BMP9中和活性。

[0039] 图4显示了示出在分别用10mg/kg的剂量的PBS(媒介物)、野生型ActRIIB-Fc(WT)、AG-0014(SEQ ID NO:16)和AG-0027(SEQ ID NO:29)每周一次皮下注射的9周龄雄性C57B1/6小鼠中,对体重的影响的线图。在第0天、第5天、第12天和第18天记录体重。 $n=$ 每组6/8。进行Excel学生T检验,用于统计分析。***: $P<0.001$,与媒介物组相比。

[0040] 图5是示出在分别用10mg/kg的剂量的PBS(媒介物)、野生型ActRIIB-Fc(WT)、AG-0014(SEQ ID NO:16)和AG-0027(SEQ ID NO:29)每周一次皮下注射的9周龄雄性C57B1/6小鼠($n=$ 每组6/8)中,对肌肉质量的影响的柱状图。在最终的尸体剖检期间,将来自每只动物的单独的腓肠肌解剖并称量。通过Excel学生T检验进行统计分析。***: $P<0.001$,与媒介物组相比。

[0041] 图6显示了小鼠腹腔的伊文思蓝(Evans blue)血管渗透性测试图像。如图中标记的,显示了每组的外科手术暴露的腹腔的代表性图像。8周龄雄性BalbC小鼠分别用10mg/kg

的剂量的PBS (媒介物)、野生型ActRIIB-Fc (WT)、AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 每周一次地处理。在处理两周后,将200 μ l伊文思蓝染料 (在PBS中0.5%, pH7.2) 经由尾静脉注射入每组动物 (n=4)。在伊文思蓝染料注射后90min进行尸体剖检。

[0042] 图7显示了小鼠睾丸的伊文思蓝血管渗透性测试图像。如图中标记的,显示了来自每组的解剖的睾丸器官的代表性图像。8周龄雄性BalbC小鼠分别用10mg/kg的剂量的PBS (媒介物)、野生型ActRIIB-Fc (WT)、AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 每周一次地处理。在处理两周后,将200 μ l伊文思蓝染料 (在PBS中0.5%, pH7.2) 经由尾静脉注射入每组动物 (n=4)。在伊文思蓝染料注射后90min进行尸体剖检。

[0043] 图8显示了小鼠肺的伊文思蓝血管渗透性测试图像。如图中标记的,显示了来自每组的解剖的肺组织的代表性图像。8周龄雄性BalbC小鼠分别用10mg/kg的剂量的PBS (媒介物)、野生型ActRIIB-Fc (WT)、AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 每周一次地处理。在处理两周后,将200 μ l伊文思蓝染料 (在PBS中0.5%, pH7.2) 经由尾静脉注射入每组动物 (n=4)。在伊文思蓝染料注射后90min进行尸体剖检。

[0044] 图9显示了示出在如图中标记的不同处理组中,每mg湿肺组织 (左图) 和睾丸组织 (右图) 的渗出的伊文思蓝染料的量的柱状图。8周龄雄性BalbC小鼠分别用10mg/kg的剂量的PBS (媒介物)、野生型ActRIIB-Fc蛋白 (WT)、AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 每周一次地处理。在处理两周后,将200 μ l伊文思蓝染料 (在PBS中0.5%, pH7.2) 经由尾静脉注射入每组动物 (n=4)。在伊文思蓝染料注射后90min进行尸体剖检,以收集睾丸和肺组织。将组织称重,并且然后单独地置于含有甲酰胺的小瓶中,以提取伊文思蓝染料。在55 $^{\circ}$ C孵育持续24小时后,离心样品,并使用分光光度计在610nm的波长处测量每个样品的水相的吸光度。通过Excel学生T检验进行统计分析。*:P<0.05。

[0045] 图10显示了示出与作为基准的野生型ActRIIB-Fc蛋白 (野生型) 的基于细胞的对BMP9的中和活性相比,很多种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白,包括AG-0014 (SEQ ID NO:16)、AG-0023 (SEQ ID NO:25)、AG-0024 (SEQ ID NO:26)、AG-0025 (SEQ ID NO:27)、AG0027 (SEQ ID NO:29)、AG-0028 (SEQ ID NO:30)、AG-0029 (SEQ ID NO:31) 和AG-0035 (SEQ ID NO:37) 的那些基于细胞的中和活性的结果的线图。通过利用C2C12-BRE-luc报道子测定分析BMP9中和活性。

[0046] 图11示出了相对于WT ActRIIB-Fc蛋白的肌生成抑制蛋白中和IC₅₀值,若干示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白之间的肌生成抑制蛋白中和IC₅₀值的差异。使用C2C12-CAGA-luc报道子培养物检查单个蛋白的肌生成抑制蛋白中和活性,并利用Prism软件计算IC₅₀值。该图显示了示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白,包括AG-0014 (SEQ ID NO:16)、AG-0023 (SEQ ID NO:25)、AG-0024 (SEQ ID NO:26)、AG0027 (SEQ ID NO:29)、AG-0028 (SEQ ID NO:30) 和AG-0029 (SEQ ID NO:31) 的每一种的肌生成抑制蛋白中和IC₅₀值与野生型ActRIIB-Fc的肌生成抑制蛋白中和IC₅₀值相比的差异百分比。

[0047] 图12分别显示了与递增浓度的野生型ActRIIB-Fc以及与递增浓度的野生型ActRIIA-Fc相比,两种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 的BMP9结合的ELISA分析的结果。使用KinEXA仪器 (Sapidyne Instruments) 进行自动ELISA。使用Sapidyne Instruments推荐的实验程序将20 μ g/ml的BMP9偶联至NHS活化琼脂糖凝胶4快流珠 (GE Healthcare)。如图中显示的,对100pM、1nM和

10nM浓度的WT ActRIIB-Fc、WT ActRIIA-Fc和每种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白测试BMP9结合。野生型和杂合蛋白被捕获到BMP9包被的珠上,并通过Alexa Fluor 647标记的山羊抗人Fc抗体(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.)检测。用KinExA Pro软件(Sapidyne Instruments)记录BMP9结合信号。

[0048] 进行本公开内容的模式

[0049] 本公开内容提供了通常被工程化为融合蛋白的新型分离的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白,其作为多细胞因子拮抗剂(multi-cytokine antagonist)发挥作用,该多细胞因子拮抗剂被设计为选择性地阻断多种恶病质(引起萎缩的)细胞因子的作用而不影响非肌肉相关细胞因子的信号传导。在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含分离的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,该多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力(即,保留了中和肌生成抑制蛋白和激活蛋白A的活性,但表现出显著降低的BMP9中和作用)。本公开内容部分基于发明人的如下独特见解,被工程化为表现出与BMP9显著降低的结合(因此具有降低的BMP9中和作用),同时保留其对肌生成抑制蛋白和激活蛋白的强中和活性的杂合ActRIIB配体陷阱,将提供为比目前可用的肌生成抑制蛋白抑制剂更安全且更有效的分子的肌生成抑制蛋白抑制剂。特别地,发明人假设,被工程化为用相应的来自ActRIIA细胞外结构域(ECD)的氨基酸选择性地置换ActRIIB ECD内的氨基酸残基的杂合可溶ActRIIB多肽,可提供相对于BMP9优先中和肌生成抑制蛋白和激活蛋白A(肌肉生长的关键负调控因子)的新型杂合可溶ActRIIB多肽。BMP9在很多生理过程中发挥重要作用(参见,例如Tillet E,等,Front Genet.8;5:456,2015)并且已经显示BMP9信号传导在保持正常血液维管结构/渗透性中是重要的(参见例如David L.,等,Circ Res.25;102(8):914-22,2008)。因此假设用本文描述的新型杂合ActRIIB配体陷阱蛋白治疗的受试者可避免在用强烈结合并中和BMP9的现有ActRIIB-Fc分子治疗的受试者中观察到的鼻和牙龈出血的副作用。这些新型杂合ActRIIB配体陷阱蛋白提供的治疗优势提供了对于严重肌肉丢失和恶病质的逆转以及对于包括肌肉萎缩、骨质丢失、炎症和纤维化的广泛的慢性分解代谢疾病的治疗是安全且有效的下一代治疗。

[0050] 定义

[0051] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白”在本文中可互换使用,指氨基酸残基的聚合物。在多种实施方案中,“肽”、“多肽”和“蛋白”为其 α 碳通过肽键连接的氨基酸链。因此链的一个末尾(氨基末端)的末端氨基酸具有游离氨基,而链的另一个末尾(羧基末端)的末端氨基酸具有游离羧基。如本文使用的,术语“氨基末端”(缩写为N-末端)指肽的氨基末端的氨基酸上的游离 α -氨基,或该肽中任何其他位置的氨基酸的 α -氨基(当参与肽键时为亚氨基)。类似地,术语“羧基末端”指肽的羧基末端上的游离羧基,或该肽中任何其他位置的氨基酸的羧基。肽还包括基本上任何多氨基酸,包括但不限于肽模拟物(peptide mimetic)诸如通过醚键而非酰胺键连接的氨基酸。

[0052] 本公开内容的多肽包括已经以任何方式和出于任何原因被修饰为例如以下的多肽:(1)降低对蛋白水解的敏感性,(2)降低对氧化的敏感性,(3)改变形成蛋白复合体的结合亲和力,(4)改变结合亲和力,和(5)赋予或改变其他物理化学特性或功能特性。例如,单氨基酸置换或多氨基酸置换(例如,保守氨基酸置换)可以在天然存在的序列中进行(例如,在形成分子间接触的结构域以外的多肽部分中)。“保守氨基酸置换”指多肽中氨基酸被功

能上相似的氨基酸置换。以下六组各自包含互相为保守置换的氨基酸：

[0053] 1) 丙氨酸(A)、丝氨酸(S)和苏氨酸(T)

[0054] 2) 天冬氨酸(D)和谷氨酸(E)

[0055] 3) 天冬酰胺(N)和谷氨酰胺(Q)

[0056] 4) 精氨酸(R)和赖氨酸(K)

[0057] 5) 异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)和缬氨酸(V)

[0058] 6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)和色氨酸(W)

[0059] “非保守氨基酸置换”指这些类别中的一个的成员置换为来自另一个类别的成员。

在进行此类改变时,根据多种实施方案,可以考虑氨基酸的亲水指数(hydrophobic index)。基于氨基酸的疏水性和荷电性质,每个氨基酸被指定亲水指数。它们是:异亮氨酸(+4.5);缬氨酸(+4.2);亮氨酸(+3.8);苯丙氨酸(+2.8);半胱氨酸/胱氨酸(+2.5);甲硫氨酸(+1.9);丙氨酸(+1.8);甘氨酸(-0.4);苏氨酸(-0.7);丝氨酸(-0.8);色氨酸(-0.9);酪氨酸(-1.3);脯氨酸(-1.6);组氨酸(-3.2);谷氨酸(-3.5);谷氨酰胺(-3.5);天冬氨酸(-3.5);天冬酰胺(-3.5);赖氨酸(-3.9)和精氨酸(-4.5)。

[0060] 本领域了解亲水氨基酸指数在赋予蛋白相互作用的生物功能中的重要性(参见例如,Kyte等人,1982,J.Mol.Biol.157:105-131)。已知,某些氨基酸可以被具有相似亲水指数或分数的其他氨基酸置换,并且仍保持相似的生物活性。在基于亲水指数进行改变时,在多种实施方案中,包括亲水指数在 ± 2 内的氨基酸的置换。在多种实施方案中,包括在 ± 1 内的那些,且在多种实施方案中,包括在 ± 0.5 内的那些。

[0061] 本领域还理解,可以基于亲水性有效地进行相似氨基酸的置换,特别是当从而产生的生物功能蛋白或肽被意图用于在如本文公开的免疫学实施方案中使用。在多种实施方案中,蛋白的最大局部平均亲水性(如由其相邻氨基酸的亲水性决定的)与其免疫原性和抗原性,即,与蛋白的生物学特性相关。

[0062] 以下亲水性值被指定至这些氨基酸残基:精氨酸(+3.0);赖氨酸(+3.0);天冬氨酸(+3.0,+-.1);谷氨酸(+3.0,+-.1);丝氨酸(+0.3);天冬酰胺(+0.2);谷氨酰胺(+0.2);甘氨酸(0);苏氨酸(-0.4);脯氨酸(-0.5,+-.1);丙氨酸(-0.5);组氨酸(-0.5);半胱氨酸(-1.0);甲硫氨酸(-1.3);缬氨酸(-1.5);亮氨酸(-1.8);异亮氨酸(-1.8);酪氨酸(-2.3);苯丙氨酸(-2.5)和色氨酸(-3.4)。在基于相似亲水性值进行改变时,在多种实施方案中,包括亲水性值在 ± 2 内的氨基酸的置换,在多种实施方案中,包括在 ± 1 内的那些,且在多种实施方案中,包括在 ± 0.5 内的那些。

[0063] 示例性的氨基酸置换在表1中列出。

[0064] 表1

<u>原始残基</u>	<u>示例性置换</u>	<u>优选的置换</u>
Ala	Val、Leu、Ile	Val
Arg	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn	Gln	
Asp	Glu	
Cys	Ser、Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro、Ala	Ala
His	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
Ile	Leu、Val、Met、Ala、Phe、 正亮氨酸	Leu
[0065] Leu	正亮氨酸、Ile、Val、Met、 Ala、Phe	Ile
Lys	Arg、1,4 二氨基-丁酸、Gln、 Asn	Arg
Met	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe	Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr、Ala、Cys	Thr
Thr	Ser	
Trp	Tyr、Phe	Tyr
Tyr	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val	Ile、Met、Leu、Phe、Ala、 正亮氨酸	Leu

[0066] 技术人员将能够使用公知技术确定本文列出的适当的多肽变体。在多种实施方案中,本领域技术人员可通过靶向被认为对于活性不重要的区来鉴定可被改变而不破坏活性的分子的适合区域。在其他实施方案中,技术人员可以鉴定在相似多肽间保守的分子的残基和部分。在另外的实施方案中,即使可能对生物活性或对结构重要的区域也可以经历保守氨基酸置换,而不破坏生物活性或不会不利地影响多肽结构。

[0067] 另外,本领域技术人员可以回顾鉴定相似多肽中对活性或结构重要的残基的结构-功能研究。鉴于这样的比较,技术人员可以预测相应于相似多肽中对活性或结构重要的氨基酸残基的多肽中氨基酸残基的重要性。本领域技术人员可以选择对此类预测的重要氨基酸残基进行化学上相似的氨基酸置换。

[0068] 本领域技术人员还可以在相似多肽中分析与该结构相关的三维结构和氨基酸序列。鉴于这样的信息,本领域技术人员可以对于多肽的三维结构预测其氨基酸残基的排列。在多种实施方案中,本领域技术人员可选择不对预测在多肽表面上的氨基酸残基进行根本改变(radical changes),因为此类残基可能参与与其他分子的重要相互作用。并且,本领域技术人员可以生成在每个期望的氨基酸残基处包含单氨基酸置换的测试变体。然后可使用本领域技术人员已知的活性测定筛选变体。此类变体可被用于收集关于合适变体的信息。例如,如果人们发现,特定氨基酸残基的改变导致受损的、不期望地减少的或不适合的活性,则可以避免具有此类改变的变体。换句话说,基于从此类常规试验收集的信息,本领域

域技术人员可以容易地确定应避免在该处单独的或与其他突变组合的进一步置换的氨基酸。

[0069] 本文中使用的术语“多肽片段”和“截短的多肽”指与相应全长蛋白相比具有氨基末端缺失和/或羧基末端缺失的多肽。在某些实施方案中,片段可以为,例如至少5个、至少10个、至少25个、至少50个、至少100个、至少150个、至少200个、至少250个、至少300个、至少350个、至少400个、至少450个、至少500个、至少600个、至少700个、至少800个、至少900个或至少1000个氨基酸的长度。在某些实施方案中,片段还可以为,例如最多1000个、最多900个、最多800个、最多700个、最多600个、最多500个、最多450个、最多400个、最多350个、最多300个、最多250个、最多200个、最多150个、最多100个、最多50个、最多25个、最多10个或最多5个氨基酸的长度。片段还可以在其任一个或两个末端包含一个或更多个另外的氨基酸,例如,来自不同天然存在的蛋白的氨基酸序列(例如,Fc或亮氨酸拉链结构域)或人工氨基酸序列(例如,人工接头序列)。

[0070] 本文使用的术语“多肽变体”、“杂合多肽”和“多肽突变体”指包含以下氨基酸序列的多肽,其中相对于另一个多肽序列,一个或更多个氨基酸残基被插入至该氨基酸序列、从其中缺失和/或被置换到该氨基酸序列中。在某些实施方案中,待被插入、缺失或置换的氨基酸残基的数量可以是例如,至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少10个、至少25个、至少50个、至少75个、至少100个、至少125个、至少150个、至少175个、至少200个、至少225个、至少250个、至少275个、至少300个、至少350个、至少400个、至少450个或至少500个氨基酸的长度。本公开内容的杂合体包括融合蛋白。

[0071] 多肽的“衍生物”是被化学修饰的多肽,所述化学修饰例如缀合至另一个化学部分诸如例如聚乙二醇、白蛋白(例如人血清白蛋白),磷酸化和糖基化。

[0072] 本文中术语“%序列同一性”与术语“%同一性”可互换使用并且指当使用序列比对程序比对时,两个或更多个肽序列之间的氨基酸序列同一性的水平或两个或更多个核苷酸序列之间的核苷酸序列同一性的水平。例如,如本文使用的,80%同一性与由定义的算法确定的80%序列同一性指相同的事物,并且指的是,给定序列与另一个序列的另一长度至少80%相同。在某些实施方案中,%同一性选自例如,与给定序列至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%或更大的序列同一性。在某些实施方案中,%同一性在例如约60%至约70%、约70%至约80%、约80%至约85%、约85%至约90%、约90%至约95%或约95%至约99%的范围内。

[0073] 本文中术语“%序列同源性”与术语“%同源性”可互换使用并且指当使用序列比对程序比对时,两个或更多个肽序列之间的氨基酸序列同源性的水平或两个或更多个核苷酸序列之间的核苷酸序列同源性的水平。例如,如本文使用的,80%同源性与由定义的算法确定的80%序列同源性指相同的事物,并且相应地,给定序列的同系物相对于给定序列的长度具有大于80%的序列同源性。在某些实施方案中,%同源性选自例如,与给定序列至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%或更大的序列同源性。在某些实施方案中,%同源性在例如约60%至约70%、约70%至约80%、约80%至约85%、约85%至约90%、约90%至约95%或约95%至约99%的范围内。

[0074] 可以被用于确定两个序列之间的同一性的示例性计算机程序包括但不限于,BLAST程序的套件,例如BLASTN、BLASTX和TBLASTX、BLASTP以及TBLASTN,其在互联网在NCBI

的网站上可公开获得。还参见Altschul等人, *J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990 (特别参考公开的默认设置, 即参数 $w=4$ 、 $t=17$) 和Altschul等人, *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-3402, 1997。当相对于GenBank蛋白序列和其他公开数据库中的氨基酸序列评价给定氨基酸序列时, 通常使用BLASTP程序进行序列检索。BLASTX程序优选用于相对于GenBank蛋白序列和其他公开数据库中的氨基酸序列检索在所有阅读框已经被翻译的核酸序列。使用开放缺口罚分11.0和延伸缺口罚分1.0的默认参数并使用BLOSUM-62矩阵运行BLASTP和BLASTX。参见同上。

[0075] 除了计算序列同一性百分比以外, BLAST算法还进行两个序列之间相似性的统计分析(参见, 例如, Karlin&Altschul, *Proc. Nat' l. Acad. Sci. USA*, 90:5873-5787, 1993)。由BLAST算法提供的相似性的一个测量值是最小总概率($P(N)$), 所述最小总概率提供两个核苷酸序列或氨基酸序列之间的匹配偶然发生的概率的指示。例如, 如果在测试核酸与参考核酸的比较中, 最小总概率为, 例如小于约0.1、小于约0.01或小于约0.001, 该核酸被认为与参考序列相似。

[0076] 如本文使用的术语“异源”指非天然或在自然界发现的, 例如可通过用源自另一来源的组分或状态替换现有的天然成分或状态来实现的组分或状态。相似地, 除了其中蛋白天然地表达的生物体之外的生物体中的蛋白表达构成异源表达系统和异源蛋白。

[0077] 如本文使用的术语“抗体”指包含一个或多个多肽并且具有对肿瘤抗原的特异性或具有对在病理状态过表达的分子的特异性的蛋白, 所述多肽基本上或部分地由免疫球蛋白基因或免疫球蛋白基因的片段编码。公认的免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 μ 恒定区基因, 以及这些基因的亚型和大量免疫球蛋白可变区基因。轻链(LC)被分类为 κ 或 λ 。重链(HC)被分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ , 其继而分别定义免疫球蛋白类型IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。典型的免疫球蛋白(例如抗体)结构单元包含四聚体。每个四聚体由相同的两对多肽链组成, 每对具有一条“轻链”(约25kDa)和一条“重链”(约50-70kDa)。每条链的N-末端定义主要负责抗原识别的约100个至110个或更多个氨基酸的可变区。

[0078] 如本文使用的术语“Fc区”定义了免疫球蛋白重链的C末端区域, 其可通过完整抗体的木瓜蛋白酶消化生成。Fc区可以是天然序列Fc区或变体Fc区。免疫球蛋白的Fc区通常包含两个恒定结构域, C_{H2} 结构域和 C_{H3} 结构域, 并任选地包含 C_{H4} 结构域。抗体的Fc部分介导若干重要的效应器功能, 例如细胞因子诱发、ADCC、吞噬作用、补体依赖的细胞毒性(CDC)以及抗体和抗原-抗体复合体的半衰期/清除率(例如, 新生的FcR(FcRn)在内体中在酸性pH结合IgG的Fc区并保护IgG免于降解, 从而对IgG的长血清半衰期作出贡献)。替换Fc部分中的氨基酸残基以改变抗体效应器功能是本领域已知的(参见例如Winter等, 美国专利第5, 648, 260号和第5, 624, 821号)。

[0079] “多核苷酸”指包含核苷酸单元的聚合物。多核苷酸包括天然存在的核酸, 诸如脱氧核糖核酸(“DNA”)和核糖核酸(“RNA”)以及核酸类似物。核酸类似物包括包含以下的那些: 非天然存在的碱基, 以天然存在的磷酸二酯键以外的连接与其他核苷酸衔接(engage)的核苷酸, 或包含通过除了磷酸二酯键以外的连接附连的碱基的核苷酸。因此, 核苷酸类似物包括, 例如, 且不限于, 硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯(phosphorotriester)、氨基磷酸酯、硼烷磷酸酯(boranophosphate)、甲基膦酸酯、手性甲基膦酸酯、2-O-甲基核糖核苷酸、肽核酸(PNA)等。此类多核苷酸可, 例如, 使用自动化DNA合成仪合成。术语“核酸”通常指

大的多核苷酸。术语“寡核苷酸”通常指短的多核苷酸，通常不大于约50个核苷酸。应当理解，当核苷酸序列由DNA序列（即，A、T、G、C）表示时，这还包括其中“U”代替“T”的RNA序列（即，A、U、G、C）。

[0080] 本文使用常规符号描述多核苷酸序列：单链多核苷酸序列的左手端为5'-末端；双链多核苷酸序列的左手方向被称为5'-方向。核苷酸向新生RNA转录物的5'至3'添加的方向被称为转录方向。具有与mRNA相同序列的DNA链被称为“编码链”；在具有与从该DNA转录的mRNA相同的序列的DNA链上且位于RNA转录物的5'-末端的5'的序列被称为“上游序列”；在具有与RNA相同的序列的DNA链上并且在编码RNA转录物的3'-末端的3'的序列被称为“下游序列”。

[0081] “互补”指两个多核苷酸的相互作用表面的拓扑相容性或匹配在一起。因此，这两个分子可被描述为互补的，且此外，接触表面特性为彼此互补。如果第一多核苷酸的核苷酸序列与第二多核苷酸的多核苷酸结合配偶体的核苷酸序列基本上相同，或如果第一多核苷酸可与第二多核苷酸在严格杂交条件下杂交，则第一多核苷酸与第二多核苷酸互补。

[0082] “与...特异性杂交”或“特异性杂交”或“与...选择性杂交”指当该序列存在于复杂混合物（例如，总细胞）DNA或RNA中时，核酸分子优先与特定核苷酸序列在严格条件下的结合、双链体化或杂交。术语“严格条件”指在其下探针将优先与其靶子序列杂交，并且在较小程度上与其它序列杂交或根本不与其他序列杂交的条件。在核酸杂交实验诸如DNA杂交和RNA杂交的背景下，“严格杂交”和“严格杂交洗涤条件”为序列依赖性的，并且在不同的环境参数下是不同的。关于核酸杂交的广泛指导可在以下中发现：Tijssen, 1993, *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Acid Probes*, 第I部分, 第2章, “Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays”, Elsevier, N.Y.; Sambrook等, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 第3增补版, NY; 以及 Ausubel等, 编著, 现行版, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, NY。

[0083] 通常，高度严格的杂交和洗涤条件被选择为比在定义的离子强度和pH下特定序列的热解链温度(T_m)低约5°C。 T_m 为50%的靶序列与完全匹配的探针杂交的温度（在定义的离子强度和pH下）。非常严格的条件被选择为等于特定探针的 T_m 。用于在DNA印迹或RNA印迹中的过滤器上具有多于约100个互补残基的互补核酸的杂交的严格杂交条件的实例为在42°C，50%福尔马林与1mg肝素，杂交被进行过夜。高度严格的洗涤条件的实例为在72°C，0.15M NaCl，持续约15分钟。严格洗涤条件的实例为在65°C，0.2x SSC洗涤，持续15分钟。参见 Sambrook等对于SSC缓冲液描述。高严格洗涤之前可进行低严格洗涤以去除背景探针信号。对于，例如，多于约100个核苷酸的双链体的示例性中度严格洗涤为在45°C，1x SSC，持续15分钟。对于，例如，多于约100个核苷酸的双链体的示例性低严格洗涤为在40°C，4-6x SSC，持续15分钟。通常，比起在特定杂交测定中对于不相关探针观察到的2倍（或更高）的信噪比指示检测到特异性杂交。

[0084] “引物”指能够与指定的多核苷酸模板特异性杂交并提供用于合成互补多核苷酸的起始点的多核苷酸。当多核苷酸引物被置于诱导合成的条件下，即，在核苷酸、互补多核苷酸模板和用于聚合的剂诸如DNA聚合酶的存在下时，此类合成发生。引物通常为单链的，

但可以为双链的。引物通常为脱氧核糖核酸,但多种合成和天然存在的引物可用于许多应用。引物与模板互补,其被设计为与模板杂交以用作合成起始的位点,但不需要反映模板的精确序列。在此类情况下,引物与模板的特异性杂交取决于杂交条件的严格度。引物可用例如,显色的、放射性的或荧光的部分标记并用作可检测的部分。

[0085] 当提及多核苷酸使用时,“探针”指能够与另一多核苷酸的指定序列特异性杂交的多核苷酸。探针与靶互补多核苷酸特异性杂交,但不需要反映模板的精确互补序列。在此类情况下,探针与靶的特异性杂交取决于杂交条件的严格度。探针可用例如,显色的、放射性的或荧光的部分标记并用作可检测的部分。在其中探针提供用于合成互补多核苷酸的起始点的情况下,探针也可以为引物。

[0086] “载体”为可用来将与它连接的另一核酸引入到细胞中的多核苷酸。一种类型的载体为“质粒”,其指可将另外的核酸区段连接到其中的线性或环状双链DNA分子。另一种类型的载体为病毒载体(例如,复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒),其中另外的DNA区段可被引入到病毒基因组中。某些载体能够在引入了它们的宿主细胞中自主复制(例如,包含细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)在引入到宿主细胞后被整合进宿主细胞的基因组中,并且从而与宿主基因组一起复制。“表达载体”为可指导选择的多核苷酸的表达的一种类型的载体。

[0087] “调节序列”为影响与它可操作地连接的核酸的表达(例如,表达的水平、时机或位置)的核酸。调节序列可,例如,直接对被调节的核酸发挥其效应,或通过一种或更多种其他分子(例如,结合调节序列和/或核酸的多肽)的作用发挥其效应。调节序列的实例包括启动子、增强子及其他表达控制元件(例如,聚腺苷酸化信号)。调节序列的另外的实例在以下中描述:例如,Goeddel,1990, Gene Expression Technology:Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. 以及 Baron 等,1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-06。如果调节序列影响核苷酸序列的表达(例如,表达的水平、时机或位置),则核苷酸序列与调节序列“可操作地连接”。

[0088] “宿主细胞”为可用来表达本公开内容的多核苷酸的细胞。宿主细胞可以为原核生物,例如,大肠杆菌(E.coli),或宿主细胞可以为真核生物,例如,单细胞真核生物(例如,酵母或其他真菌)、植物细胞(例如,烟草或番茄植物细胞)、动物细胞(例如,人类细胞、猴细胞、仓鼠细胞、大鼠细胞、小鼠细胞或昆虫细胞)或杂交瘤。通常,宿主细胞为可用编码多肽的核酸转化或转染的培养细胞,所述核酸然后可在宿主细胞中被表达。短语“重组宿主细胞”可用来表示已用待表达的核酸转化或转染的宿主细胞。宿主细胞还可以为包含核酸但不以期望的水平表达该核酸的细胞,除非调节序列被引入到宿主细胞,使得调节序列变成与该核酸可操作地连接。应当理解,术语宿主细胞不仅指特定的受试者细胞,而且还指此类细胞的后代或潜在后代。因为某些修饰可由于,例如,突变或环境影响而在随后世代中发生,此类后代实际上可能与亲本细胞不相同,但仍被包括在如本文使用的该术语的范围内。

[0089] 术语“分离的分子”(其中分子为,例如,多肽或多核苷酸)为这样的分子,该分子凭借其起源或衍生来源(1)与在它天然状态中伴随它的、天然缔合的组分不缔合,(2)基本上不含来自相同物种的其他分子,(3)由来自不同物种的细胞表达,或(4)不存在于自然界中。因此,化学合成的、或在与其原始起源的细胞不同的细胞系统中表达的分子,将是与其天然缔合的组分“分离”的。还可以利用本领域公知的纯化技术通过分离使分子变成基本上不含

天然地缔合的组分。分子纯度或均一性可以通过本领域公知的很多方式来测定。例如,多肽样品的纯度可以使用本领域公知的技术使用聚丙烯酰胺凝胶电泳和使多肽可视化的凝胶染色测定。为了某些目的,可通过使用HPLC或本领域公知的用于纯化的其他手段提供更高的分辨率。

[0090] 当样品的至少约60%至75%表现为单一种类的多肽时,蛋白或多肽是“基本纯”、“基本均一”或“基本纯化”的。多肽或蛋白可以为单体的或多聚体的。基本纯的多肽或蛋白将通常构成蛋白样品的约50%、60%、70%、80%或90%W/W,更通常约95%,并且优选地将超过99%纯。蛋白纯度或均一性可通过本领域公知的许多手段来指示,所述手段诸如蛋白样品的聚丙烯酰胺凝胶电泳,随后在用本领域公知的染色剂染色凝胶之后可视化单一多肽条带。为了某些目的,可通过使用HPLC或本领域公知的用于纯化的其他手段提供更高的分辨率。

[0091] “接头”指共价地或通过离子、范德华力或氢键连接两个其他分子的分子,例如在5'末端处与一个互补序列杂交并在3'末端处与另一个互补序列杂交,从而连接两个非互补序列的核酸分子。“可裂解的接头”指可被降解或以其他方式切断以使通过该可裂解的接头连接的两个组分分离的接头。可裂解的接头通常被酶,通常为肽酶、蛋白酶、核酸酶、脂肪酶等裂解。可裂解接头还可以通过环境诱因,诸如例如温度、pH、盐浓度等的改变来裂解。

[0092] 如本文使用的术语“标记”或“标记的”指在抗体中掺入另一种分子。在一种实施方案中,标记是可检测的标志物,例如掺入放射性标记的氨基酸或附连至可通过标记的抗生物素蛋白检测的生物素基部分的多肽(例如包含荧光标志物的链霉亲和素或可通过光学方法或量热法来检测的酶促活性)。在另一种实施方案中,标记或标志物可以是治疗性的,例如药物缀合物或毒素。多种标记多肽和糖蛋白的方法是本领域已知的并且可被使用。用于多肽的标记的实例包括但不限于以下:放射性同位素或放射性核素(例如³H、¹⁴C、¹⁵N、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁵I、¹³¹I);荧光标记(例如FITC、罗丹明、镧系元素荧光团);酶促标记(例如,辣根过氧化物酶、β半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酯酶);化学发光标志物;生物素基基团;由第二报道子识别的预先确定的多肽表位(例如,亮氨酸拉链配对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签);磁化剂,诸如钆类螯合物;毒素,诸如百日咳毒素;紫杉醇;细胞松弛素B;短杆菌肽D;溴化乙锭;吐根碱;丝裂霉素;依托泊苷;替尼泊苷;长春新碱;长春花碱;秋水仙素;阿霉素;道诺霉素;二羟基蒽二酮;米托蒽醌;光神霉素;放线菌素D;1-去氢睾酮;糖皮质激素;普鲁卡因;丁卡因;利多卡因;普萘洛尔(propranolol)以及嘌呤霉素及其类似物或同系物。在一些实施方案中,通过多种长度的隔离臂衔接标记以减少潜在的位阻。

[0093] “药物组合物”指适合于在动物中药物使用的组合物。药物组合物包含药理学有效量的活性剂和药学上可接受的运载体。“药理学有效量”指有效产生预期药理学结果的剂的量。“药学上可接受的运载体(pharmaceutically acceptable carrier)”指任何标准的药物运载体、媒介物、缓冲液和赋形剂,诸如磷酸盐缓冲盐水溶液、5%右旋糖水溶液,以及乳液,诸如油/水或水/油乳液,以及各种类型的润湿剂和/或佐剂。适当的药学运载体和制剂在Remington's Pharmaceutical Sciences, 21st Ed. 2005, Mack Publishing Co, Easton中描述。“药学上可接受的盐”指可以被配制用于药学应用的化合物的盐,包括例如金属盐(钠、钾、镁、钙等)和氨的盐或有机胺的盐。

[0094] 术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”指减轻或消除生物紊乱和/或至少一个其伴随的症状的方法。如本文使用的,“减轻”疾病、紊乱或状况意指减少该疾病、紊乱或状况的症状的严重性和/或发生频率。另外,本文中对“治疗”的提及包括对治愈性、缓解性和预防性治疗的提及。

[0095] 应理解,本文描述的本公开内容的方面和实施方案包括“由这些方面和实施方案组成”和/或“主要由这些方面和实施方案组成”。

[0096] 本文中,提及“约”值或参数包括(并描述)针对该值或参数本身的变异。例如,提及“约X”的描述包括对“X”的描述。

[0097] 除非上下文另外明确指出,如本文和所附的权利要求中使用的单数形式“一种”、“或”和“该”包含复数指代物。应理解,本文描述的公开内容的方面和变化包括“由这些方面和变化组成”和/或“主要由这些方面和变化组成”。

[0098] 激活蛋白受体多肽

[0099] 如本文使用的,术语激活蛋白IIB型受体(ActRIIB)指具有登录号NP_001097.2(在本文中SEQ ID NO:45)的人激活蛋白受体,及其变体。术语“野生型ActRIIB-ECD”指ActRIIB的细胞外结构域,SEQ ID NO:45的氨基酸1至134(具有信号序列)或氨基酸19到134(不具有信号序列)(在本文中被称为SEQ ID NO:46)。术语激活蛋白IIA型受体(ActRIIA)指具有登录号UniProtKB/Swiss-Prot P27037.1(在本文中SEQ ID NO:47)的人激活蛋白受体,及其变体。术语“野生型ActRIIA-ECD”指ActRIIA的细胞外结构域,SEQ ID NO:46的氨基酸1至135(具有信号序列)或氨基酸20到135(不具有信号序列)(在本文中被称为SEQ ID NO:48)。

[0100] 可溶杂合ActRIIB多肽

[0101] 本公开内容提供了源自野生型ActRIIB-ECD和野生型ActRIIA-ECD的新型杂合可溶ActRIIB-ECD多肽。杂合可溶ActRIIB多肽通过在氨基酸水平上基于序列对齐在两个截短的ActRIIB ECD结构域之间的相应位置处,用来自截短的野生型ActRIIA-ECD的氨基酸替换截短的野生型ActRIIB-ECD的一个或更多个氨基酸而被特别地工程化。一个或更多个氨基酸替换是为了提供如下的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的目的而特别地选择的:其与野生型ActRIIB-ECD多肽相比,表现出明显降低的BMP9中和,同时完全保留了强烈的肌生成抑制蛋白和激活蛋白A中和。

[0102] 在多种实施方案中,用于制备新型杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的ActRIIB的截短的细胞外结构域具有以下SEQ ID NO:1列出的110个氨基酸的序列:

[0103] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCDYDRQECVA TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:1)

[0104] 在多种实施方案中,用于制备新型杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的ActRIIA的截短的细胞外结构域具有以下SEQ ID NO:2列出的110个氨基酸的序列:

[0105] ETQECLFFNANWEKDRNTQTGVPEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVE KKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:2)

[0106] 在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,其中氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、L48、Y36、S38、R40、S42、T45、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、

T107、A108或T110中的至少一个用野生型ActRIIA-ECD序列(SEQ ID NO:2)的相应位置处的氨基酸置换,并且其中该杂合可溶ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。

[0107] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0108] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0109] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0110] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71和N72已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0111] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q64、E65、A68、T69、E70、E71和N72已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0112] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0113] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0114] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基A68、T69、E70、E71和N72已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0115] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基F58、A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0116] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74和F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0117] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基A68、T69、E70、E71、N72、Q74和F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0118] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29和L33已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0119] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、L14、E15、S20、L22和R24已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0120] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29和L33已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0121] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L14、E15、S20、L22和R24已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0122] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、L14、E15、S20、L22和R24已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0123] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、L14、E15和S20已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0124] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、L14和E15已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0125] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L14和E15已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0126] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0127] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y36、S38和K51已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0128] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33和F58已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0129] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E70已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0130] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基F58已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0131] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基F58和E70已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0132] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、Q29、F58和E70已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0133] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、F58和E70已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0134] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28和E70已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0135] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0136] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、A68、T69、E70、E71、N72和Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0137] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y7、Y8、L14、E15、S20、L22和R24已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0138] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y36、S38、R40、S42、T45和K51已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0139] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q64和E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0140] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0141] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28和F58已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0142] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26、E28、Q29、L33已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0143] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0144] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0145] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0146] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26、E28、Q29、L33已被SEQ ID

NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0147] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0148] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0149] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0150] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0151] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0152] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0153] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0154] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0155] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0156] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0157] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、E26、E28、Q29、L33、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0158] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、E26、E28、Q29、L33、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0159] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0160] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0161] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0162] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0163] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基I6、Y7、Y8、L14、E15、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0164] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0165] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、K51、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0166] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、L48、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0167] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、T45、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0168] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、T45、L48、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0169] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、T45、L48、K51、Q64、E65已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0170] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q64、E65、F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0171] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R88、T90、H91、L92、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0172] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0173] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、F58、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、R88、T90、H91、L92、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0174] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、Q64、E65、A68、T69、E70、E71、N72、Q74、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0175] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0176] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、K51、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0177] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、L48、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0178] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、T45、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0179] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基T45、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0180] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L48、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0181] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列,

其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基K51、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0182] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基A68、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0183] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基A68、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0184] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0185] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E71、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0186] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基N72、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0187] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q74、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0188] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、Q29、A68、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0189] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q29、T69、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0190] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0191] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、Q29、K51、T69、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0192] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、Q29、L48、K51、T69E、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0193] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、T45、L48、K51、T69、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0194] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基Q29、L48、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0195] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、L33、Q70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0196] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L33、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0197] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、T45、L48、Q64、E65、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0198] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L33、T45、T69、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0199] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L33、L48、T69、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0200] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L33、T45、L48、E70、R88、T90、H91、L92、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的

氨基酸残基替换。

[0201] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、L48、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0202] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、T45、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0203] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0204] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基L48、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0205] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0206] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E28、L48、T79、E70、R88、T90、H91、L92、E94、A95、G96、G97、P98、E99、V100、Y102、E103、P105、P106、T107、A108、T110已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0207] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基R3、I6、Y7、Y8、L14、E15、S20、L22、R24、E26、E28、Q29、L33、Y36、S38、R40、S42、T45、L48、K51、F58、Q64、E65、A68、T69、E71、N72、Q74、F84已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0208] 在多种实施方案中,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:1的氨基酸残基E26、E28、Q29、L33、F56、E68已被SEQ ID NO:2的相应位置中的氨基酸残基替换。

[0209] 异源蛋白-Fc结构域

[0210] 在另一方面,杂合ActRII配体陷阱包含杂合可溶ActRIIB-ECD多肽和至少一种异源蛋白,该至少一种异源蛋白直接或通过接头序列附连至ActRIIB-ECD多肽以形成在本文中被称为杂合ActRIIB配体陷阱的融合蛋白。如本文使用的术语“融合蛋白”指具有经由重组DNA技术附连的异源多肽的蛋白。在多种实施方案中,异源蛋白选自但不限于多组氨酸标签、Glu-Glu、谷胱甘肽S转移酶(GST)、硫氧还蛋白、蛋白A、蛋白G、荧光蛋白、麦芽糖结合蛋白(MBP)、人血清白蛋白或Fc多肽或Fc结构域。在多种实施方案中,Fc结构域是人IgG Fc结

构域。在多种实施方案中, Fc结构域源自SEQ ID NO:38列出的人IgG1重链恒定结构域序列。在多种实施方案中, Fc结构域为具有SEQ ID NO:39列出的氨基酸序列的Fc结构域。在多种实施方案中, Fc结构域源自SEQ ID NO:40列出的人IgG2重链恒定结构域序列。在多种实施方案中, Fc结构域为具有SEQ ID NO:41列出的氨基酸序列的Fc结构域。在多种实施方案中, Fc结构域源自SEQ ID NO:42列出的人IgG4重链恒定结构域序列。在多种实施方案中, Fc结构域为具有SEQ ID NO:43列出的氨基酸序列的Fc结构域。

[0211] 接头

[0212] 杂合ActRIIB配体陷阱可以任选地另外包含“接头”或“铰链接头”序列。接头主要充当杂合可溶ActRIIB-ECD多肽和异源蛋白或其他类型的融合物之间或者两个或更多个杂合可溶ActRIIB-ECD多肽之间的间隔物。在多种实施方案中, 异源蛋白通过接头或铰链接头肽附连至杂合可溶ActRIIB-ECD多肽。接头和/或铰链接头可以是相对地不含二级结构的在5、10、15、20、30、40个或更多个氨基酸之间的人工序列。在多种实施方案中, 接头包含选自甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺和赖氨酸的氨基酸。在多种实施方案中, 接头由大多数在空间上无阻碍的氨基酸, 诸如甘氨酸和丙氨酸组成, 并且是聚甘氨酸(特别地(Gly)₅、(Gly)₈、聚(Gly-Ala)和聚丙氨酸。在多种实施方案中, 接头G/S含量丰富(例如接头中至少约60%、70%、80%、90%或更多的氨基酸是G或S)。在多种实施方案中, 接头具有(GGGGS (SEQ ID NO:44))_n基序, 其中n=1-6。在本领域已经广泛地描述了此类接头和铰链接头(参见例如US 8,410,043 (Sun等), 为了教导此类接头的目的通过引用并入本文)。在多种实施方案中, 具有SEQ ID NO:44列出的氨基酸序列的接头和具有SEQ ID NO:118列出的氨基酸序列的铰链接头被用于将人IgG1Fc (SEQ ID NO:39) 或人IgG4Fc (SEQ ID NO:43) 连接至本公开内容的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽。

[0213] 接头还可以是非肽接头。例如, 可使用烷基接头, 诸如--NH--(CH₂)_s-C(O)--, 其中s=2-20。这些烷基接头还可以被在空间上不阻碍的基团取代, 诸如低级烷基(lower alkyl)(例如C₁-C₆)、低级酰基、卤素(例如Cl、Br)、CN、NH₂、苯基等。

[0214] 杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的分子构造

[0215] 应理解的是, 杂合ActRIIB配体陷阱的不同元件可以以与期望的功能一致的任何方式布置。例如, 可以将异源蛋白布置至杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的C末端, 或任选地可以将杂合可溶ActRIIB-ECD多肽布置至异源结构域的C末端。杂合可溶ActRIIB-ECD多肽结构域和异源结构域不需要邻接, 并且可以在任一结构域的C-末端或N-末端或者在结构域之间包含另外的结构域或氨基酸序列(即包含本文描述的接头)。在图1中示出了新型ActRIIB配体陷阱的示例性分子构造。

[0216] 编码杂合ActRIIB配体陷阱的合成的DNA盒的示例性构造通常可以被描述为包含以下元件: 1) 置于N末端的信号肽(或前导序列), 其可以是ActRIIB的天然信号肽(例如SEQ ID NO:49)或能够介导分泌蛋白的加工和分泌的任何替代信号肽(例如通过用人免疫球蛋白轻链前导序列(SEQ ID NO:50)作为替代信号肽, 可以实现CHO细胞中杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的有效分泌); 2) 融合至信号肽序列的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽序列(例如SEQ ID NO:3-37或51-117中的任一种); 3) 肽接头序列(例如SEQ ID NO:44)和铰链接头序列(SEQ ID NO:118), 以及4) 通过肽/铰链接头融合至杂合可溶ActRIIB-ECD多肽序列的Fc结构域(例如SEQ ID NO:39、41或43)。

[0217] 本公开内容的多种实施方案的实例包括,但不限于,表2中描述的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白。

[0218] 表2

杂合可溶 ActRIIB-ECD多肽 (SEQ ID NO)	接头和铰链接头 (SEQ ID NO)	异源蛋白 (SEQ ID NO)	前导序列 (SEQ ID NO)
SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 36	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50

[0219]

[0221]

SEQ ID NO: 94	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 97	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 98	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 99	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 100	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 101	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 102	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 103	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 106	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 109	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 110	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 111	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 112	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 113	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 115	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 116	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50
SEQ ID NO: 117	SEQ ID NO: 44和118	SEQ ID NO: 39或41或43	SEQ ID NO: 49或50

[0222] 多核苷酸

[0223] 在另一方面,本公开内容提供了分离的核酸分子,该分离的核酸分子包含编码本公开内容的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的多核苷酸。主题核酸可以是单链的或双链的。此类核酸可以是DNA或RNA分子。DNA包括例如cDNA、基因组DNA、合成的DNA、通过PCR扩增的DNA及其组合。编码ActRIIB多肽的基因组DNA获取自基因组文库,该基因组文库对很多物种是可得的。合成的DNA是从化学合成重叠的寡核苷酸片段然后组装片段以重构编码区域和侧翼序列的部分或全部可得的。可以从指导mRNA的高水平合成的原核表达载体,诸如使用T7启动子和RNA聚合酶的载体获得RNA。cDNA可获取自从分离自表达ActRIIB的多种组织的mRNA制备的文库。本公开内容的DNA分子包括全长基因以及多核苷酸及其片段。全长基因还可以包含编码N-末端信号序列的序列。

[0224] 此类核酸可以例如在用于制备新型杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的方法中使用。在多种实施方案中,该多核苷酸编码SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一种,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,该多核苷酸编码具有与SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一个至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列的多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,该多核苷酸编码与SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一个具有至少90%同一性的多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成

抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,该多核苷酸编码具有与SEQ ID NO:3-37或51-117列出的多肽序列中的任一个至少95%同一的氨基酸序列的多肽,其中该杂合ActRIIB-ECD多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。在多种实施方案中,本公开内容的核酸序列可以是分离的、重组的、和/或与异源核苷酸序列融合、或DNA文库中的。

[0225] 在多种实施方案中,本公开内容提供了核酸分子,该核酸分子在严格或中等条件下与本文描述的多核苷酸的多肽编码区域杂交,其中编码的多肽包含SEQ ID NO:3-37或51-117列出的氨基酸序列,并且其中编码的多肽能够结合肌生成抑制蛋白和激活蛋白A,但相对于野生型ActRIIB-ECD多肽表现出对BMP9的降低的结合亲和力。本领域技术人员将容易地理解,促进DNA杂交的适当严格度条件可以变化。例如,技术人员可以在约45°C在6.0X氯化钠/柠檬酸钠进行杂交,然后在50°C用2.0X SSC洗涤。例如,洗涤步骤中的盐浓度可以选自在50°C约2.0X SSC的低严格度至在50°C约0.2X SSC的高严格度。另外,洗涤步骤中的温度可以从在室温,约22°C的低严格度条件升高至在约65°C的高严格度条件。两种温度和盐均可以变化,或者温度或盐浓度可以保持恒定同时另一个变量改变。在一种实施方案中,本公开内容提供了在室温在6X SSC的低严格度条件杂交,然后在室温在2X SSC洗涤的核酸。

[0226] 在多种实施方案中,该分离的核酸分子包含本文描述的多核苷酸,并且还包含编码本文描述的至少一种异源蛋白的多核苷酸。在多种实施方案中,核酸分子还包含编码本文描述的接头或铰链接头的多核苷酸。

[0227] 在多种实施方案中,本公开内容的重组核酸可以可操作地连接至表达构建体中的一种或更多种调控核苷酸序列。调控序列是本领域所认知的并且被选择以指导杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的表达。因此,术语调控序列包括启动子、增强子和其他表达控制元件。示例性调控序列描述于Goeddel;Gene Expression Technology:Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)。通常,所述一种或更多种调控核苷酸序列可以包含但不限于启动子序列、前导或信号序列、核糖体结合位点、转录起始和终止序列、翻译起始和终止序列、以及增强子或激活序列。本公开内容构思了本领域已知的组成型或诱导型启动子。启动子可以是自然存在的启动子或者组合多于一个启动子的元件的杂合启动子。表达构建体可以存在于细胞中的附加体诸如质粒上,或者表达构建体可以插入染色体中。在多种实施方案中,表达构建体包含可选择的标志物基因以允许转化的宿主细胞的选择。可选择的标志物基因是本领域众所周知的并且将随着使用的宿主细胞变化。

[0228] 在本公开内容的另一方面,在包含编码杂合可溶ActRIIB-ECD多肽并可操作地连接至至少一个调控序列的核苷酸序列的表达载体中提供主题核酸。术语“表达载体”指用于从多核苷酸序列表达多肽的质粒、噬菌体、病毒或载体。适合于在宿主细胞中表达的载体是容易地可得的并利用标准重组DNA技术将核酸分子插入到载体中。此类载体可以包括很多种表达控制序列,当被可操作地连接至DNA序列时,所述表达控制序列控制该DNA序列的表达,并可以在这些载体中使用以表达编码杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的DNA序列。此类有用的表达控制序列包括例如SV40的早期启动子和晚期启动子、tet启动子、腺病毒或巨细胞病毒介导的早期启动子、RSV启动子、lac系统、trp系统、TAC或TRC系统、其表达由T7RNA聚合酶

指导的T7启动子、 λ 噬菌体的主要操纵子和启动子区域、fd包衣蛋白的控制区域、3-磷酸甘油酸激酶或其他糖酵解酶的启动子、酸性磷酸酶例如PhoS的启动子、酵母a-交配因子的启动子、杆状病毒系统的多角体启动子和已知控制原核细胞或真核细胞或其病毒的基因表达的其他序列,及其各种组合。应理解的是,表达载体的设计可以取决于诸如待转化的宿主细胞的选择和/或期望表达的蛋白的类型的因素。此外,还应考虑载体的拷贝数、控制该拷贝数的能力、以及载体编码的任何其他蛋白诸如抗生素标志物的表达。适合于vActRIIB的表达的示例性表达载体是包含vActRIIB多核苷酸的pDSRa(描述于WO 90/14363,通过引用并入本文)及其衍生物,以及本领域已知或以下描述的任何另外的合适的载体。

[0229] 本公开内容的重组核酸可以通过将克隆的基因或其一部分连接到适合于在原核细胞、真核细胞(酵母、鸟类、昆虫或哺乳动物)或两者中表达的载体中来产生。用于产生重组ActRIIB多肽的表达载体包括质粒和其他载体。例如,合适的载体包括以下类型的质粒:用于在原核细胞诸如大肠杆菌(E.coli)中表达的pBR322衍生的质粒、pEMBL衍生的质粒、pEX衍生的质粒、pBTac衍生的质粒和pUC衍生的质粒。

[0230] 一些哺乳动物表达载体包含利于载体在细菌中增殖的原核序列以及在真核细胞中表达的一种或更多种真核转录单元两者。pcDNA1/amp、pcDNA1/neo、pRc/CMV、pSV2gpt、pSV2neo、pSV2-dhfr、pTk2、pRSVneo、pMSG、pSVT7、pko-neo和pHyg衍生的载体为适合于转染真核细胞的哺乳动物表达载体的实例。这些载体中的一些来自细菌质粒诸如pBR322的序列修饰,以利于在原核细胞和真核细胞两者中复制和药物耐受性选择。可选地,病毒诸如牛乳头瘤病毒(BPV-1)的衍生物或Epstein-Barr病毒(pHEBo、pREP衍生的和p205)可以用于蛋白在真核细胞中的瞬时表达。以下在基因疗法递送系统的说明中可以找到其他病毒(包括反转录病毒)表达系统的实例。在质粒的制备中以及在宿主生物体的转化中采用的各种方法是本领域众所周知的。对于适合于原核细胞和真核细胞两者的其他表达系统以及一般的重组程序,参见Sambrook、Fritsch和Maniatis的Molecular Cloning A Laboratory Manual,第二版(Cold Spring Harbor Laboratory Press,1989)第16和17章。在一些实例中,可以期望通过使用杆状病毒表达系统表达重组多肽。此类杆状病毒表达系统的实例包括pVL衍生的载体(诸如pVL1392、pVL1393和pVL941)、pAcUW衍生的载体(诸如pAcUW1)以及pBlueBac衍生的载体(诸如含有B-gal的pBlueBac III)。

[0231] 在多种实施方案中,载体将被设计用于在CHO细胞中产生主题杂合可溶ActRIIB-ECD多肽,诸如Pcmv-Script载体(Stratagene,La Jolla,Calif.)、pcDNA4载体(Invitrogen,Carlsbad,Calif.)和pCI-neo载体(Promega,Madison,Wis.)。将明显的是,主题基因构建体可以被用于引起主题杂合可溶ActRIIB-ECD多肽在增殖于培养基中的细胞中表达,例如以产生用于纯化的蛋白,包括融合蛋白或变体蛋白。

[0232] 本公开内容还涉及用重组基因转染的宿主细胞,所述重组基因包含编码一种或更多种主题杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:3-37或51-117)的核苷酸序列。宿主细胞可以是原核细胞或真核细胞。例如,本公开内容的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽可以在细菌细胞诸如大肠杆菌、昆虫细胞(例如,使用杆状病毒表达系统)、酵母、或哺乳动物细胞中表达。其他的合适的宿主细胞对于本领域技术人员是已知的。

[0233] 因此,本公开内容还涉及产生主题杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的方法。例如,可以在适当的条件下培养用编码杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的表达载体转染的宿主细胞,以允

许发生杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的表达。杂合可溶ActRIIB-ECD多肽可以从含有杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的细胞和培养基的混合物分泌和分离。可选地,杂合可溶ActRIIB-ECD多肽可以保留在细胞质中或保留在膜级分中,并收获、裂解细胞和分离蛋白。细胞培养物包括宿主细胞、培养基和其他的副产物。用于细胞培养的合适培养基是本领域熟知的。

[0234] 本公开内容的多肽和蛋白可以根据本领域技术人员所熟知的蛋白纯化技术来纯化。这些技术在一个层面上包括蛋白级分和非蛋白级分的粗分级。已经将肽或多肽与其他蛋白分离,可以利用层析技术和电泳技术进一步纯化感兴趣的肽或多肽以实现部分或完全纯化(或纯化至均一)。如本文使用的术语“分离的多肽”或“纯化的多肽”意图指从其他组分可分离的组合物,其中多肽被纯化至相对于其天然可获得的状态的任何程度。因此纯化的多肽还指脱离其可以天然存在的环境的多肽。通常,“纯化的”将指已经经历分级移除多种其他组分的多肽成分,并且该成分基本上保留了其表达的生物活性。当使用术语“基本上纯化的”时,该指定将指如下肽或多肽成分:其中多肽或肽形成该成分的大部分组分,诸如构成该成分中的蛋白的约50%、约60%、约70%、约80%、约85%、或约90%或更多。

[0235] 适合用于纯化的多种技术对于本领域技术人员将是熟知的。这些技术包括例如用硫酸铵、PEG、抗体(免疫沉淀)等或通过热变性沉淀然后离心;层析,诸如亲和层析(蛋白A柱)、离子交换、凝胶过滤、反相、羟基磷灰石、疏水相互作用层析;等电聚焦;凝胶电泳;以及这些技术的组合。如本领域通常已知的,认为进行多种纯化步骤的顺序可以改变,或者某些步骤可以省略,并且仍导致用于制备基本上纯化的多肽的合适方法。

[0236] 药物组合物

[0237] 在另一方面,本公开内容提供了一种药物组合物,该药物组合物包含分离的杂合可溶ActRIIB多肽或与药学上可接受的运载体混合的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白。此类药学上可接受的运载体是本领域普通技术人员所熟知并理解的,并且已被广泛描述(参见例如Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,A.R.Gennaro编辑,Mack Publishing Company,1990)。可以包括药学上可接受的运载体用于改变、保持或维持例如pH、摩尔渗透压浓度、黏度、透光率、颜色、等渗性、气味、无菌性、稳定性、溶解或释放速率、成分吸收或渗透的目的。此类药物组合物可以影响多肽的物理状态、稳定性、体内释放速率、以及体内清除速率。合适的药学上可接受的运载体包括但不限于,氨基酸(诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸);抗生素;抗氧化剂(诸如抗坏血酸、亚硫酸钠或亚硫酸氢钠);缓冲剂(诸如硼酸盐、碳酸氢盐、Tris-HCl、柠檬酸盐、磷酸盐、其他有机酸);膨胀剂(诸如甘露醇或甘氨酸);螯合剂(诸如乙二胺四乙酸(EDTA));复合剂(complexing agent)(诸如咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、 β -环糊精或羟丙基- β -环糊精);填充剂;单糖;二糖和其他碳水化合物(诸如葡萄糖、甘露糖或糊精);蛋白(诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白);着色剂;调味和稀释剂;乳化剂;亲水性聚合物(诸如聚乙烯吡咯烷酮);低分子量多肽;盐形成抗衡离子(诸如钠);防腐剂(诸如苯扎氯铵、苯甲酸、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸或过氧化氢);溶剂(诸如甘油、丙二醇或聚乙二醇);糖醇(诸如甘露醇或山梨醇);悬浮剂;表面活性剂或润湿剂(诸如普朗尼克,PEG,山梨醇酐酯(sorbitan esters),聚山梨醇酯诸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80, triton, 氨丁三醇, 卵磷脂, 胆固醇, tyloxapal);稳定性增强剂(蔗糖或山梨醇);渗透度增强剂(诸如碱金属卤化物(优选氯化钠或氯化钾)、甘露醇和山梨醇);递送运载体;稀释剂;赋形剂和/或药物佐剂。

[0238] 药物组合物中的主要媒介物 (vehicle) 或运载体 (carrier) 实质上可以是水性的或非水性的。例如, 合适的媒介物或运载体可以是可能用于胃肠外施用的组合物中常见的其他材料补充的注射用水、生理盐水溶液或人工脑脊液。中性缓冲盐水或与血清白蛋白混合的盐水是另外的示例性媒介物。其他的示例性药物组合物包含约 pH 7.0-8.5 的 Tris 缓冲液或约 pH 4.0-5.5 的醋酸盐缓冲液, 其还可以包含山梨醇或其合适的替代物。在本公开内容的一种实施方案中, 可以通过将选择的具有期望的纯度的组合物与任选的制剂用剂 (formulation agent) (Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上) 混合来制备组合物用于以冻干的块状物或水性溶液形式贮存。另外, 可以使用适当的赋形剂诸如蔗糖将治疗性组合物配制为冻干物。最佳的药物组合物将取决于例如意图的施用途径、递送形式或期望的剂量由本领域普通技术人员来确定。

[0239] 当构思胃肠外施用, 治疗性药物组合物可以为在药学上可接受的媒介物中包含期望的 ActRIIB 多肽的无致热原、胃肠外可接受的水性溶液的形式。特别适用于胃肠外注射的媒介物是无菌蒸馏水, 其中多肽被配制为适当地储存的无菌、等渗溶液。在多种实施方案中, 适用于可注射施用的药物制剂可以在水性溶液, 优选地在生理上相容的缓冲液诸如 Hanks 溶液、Ringer 溶液或生理缓冲盐水中配制。含水注射悬浮液可以包含增加悬浮液黏度的物质, 例如羧甲基纤维素钠、山梨醇、或右旋糖酐。另外, 可以将活性化合物的悬浮液制备成适当的油注射悬浮液。任选地, 悬浮液还可以包含合适的稳定剂或增加化合物的溶解度并允许高度浓缩的溶液的制备的剂。

[0240] 在多种实施方案中, 可以使用胶体分散系统将治疗性药物组合物配制为用于靶向递送。胶体分散系统包括大分子复合体、纳米胶囊、微球、珠、和基于脂质的系统, 基于脂质的系统包括水包油乳液、微团、混合的微团和脂质体。在脂质体产生中有用的脂质的实例包括磷脂酰化合物, 诸如磷脂酰甘油、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺、鞘脂、脑苷脂和神经节苷脂。示例性磷脂包括卵磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱和二硬脂酰磷脂酰胆碱。脂质体的靶向还可能基于例如器官特异性、细胞特异性和细胞器特异性并且是本领域已知的。

[0241] 在多种实施方案中, 构思了药物组合物的口服施用。以该形式施用的药物组合物可以使用或不使用固体剂型诸如片剂和胶囊的复合中通常使用的那些运载体配制。在用于口服施用的固体剂型 (胶囊、片剂、丸剂、糖衣丸、粉末、颗粒等) 中, 本公开内容的一种或更多种治疗化合物可以与一种或更多种药学上可接受的运载体诸如柠檬酸钠或磷酸氢钙 (dicalcium phosphate), 和/或以下中的任一种混合: (1) 填充剂或增量剂 (extender), 诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或硅酸; (2) 粘合剂, 诸如例如羧甲基纤维素、藻酸盐 (alginate)、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯树胶; (3) 保湿剂, 诸如甘油; (4) 崩解剂, 诸如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠; (5) 溶液阻滞剂, 诸如石蜡; (6) 吸收加速剂, 诸如季铵化合物; (7) 润湿剂, 诸如例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯; (8) 吸收剂, 诸如高岭土和膨润土; (9) 润滑剂, 诸如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠、及其混合物; 以及 (10) 着色剂。在胶囊、片剂和丸剂的情况中, 药物组合物还可以包含缓冲剂。相似类型的固体组合物还可以用作使用诸如乳糖 (lactose) 或乳糖 (milk sugar) 以及高分子量聚乙二醇等的赋形剂软填充和硬填充的明胶胶囊中的填充剂。用于口服施用的液体剂型包括药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆剂和

酞剂。除了活性成分之外,液体剂型可以包含本领域中常用的惰性稀释剂,诸如水或其他的溶剂、增溶剂和乳化剂诸如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(特别地,棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨醇的脂肪酸酯、以及其混合物。除惰性稀释剂之外,口服组合物还可以包含佐剂,诸如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、增甜剂、调味剂、着色剂、增香剂和防腐剂。

[0242] 在多种实施方案中,构思了将药物组合物局部施用(topical administration)至皮肤或施用至黏膜。局部制剂还可以包含已知作为皮肤或角质层渗透增强剂有效的很多种剂中的一种或更多种。这些剂的实例是2-吡咯烷酮、N-甲基-2-吡咯烷酮、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、丙二醇、甲醇或异丙醇、二甲基亚砷和氮酮。还可以包含另外的剂以使制剂在化妆品上可接受。这些剂的实例是脂肪、蜡、油、染料、芳香剂、防腐剂、稳定剂和表面活性剂。还可以包含角质软化剂(keratolytic agent),诸如本领域已知的那些角质软化剂。实例是水杨酸和硫磺。用于局部或经皮施用的剂量形式包括粉末、喷雾剂、软膏剂、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂。可以在无菌条件下将活性化合物与药学上可接受的运载体以及可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。除了本公开内容的主题化合物(例如,杂合ActRIIB配体陷阱)之外,软膏剂、糊剂、霜剂和凝胶可以包含赋形剂,诸如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄芪胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌,或其混合物。

[0243] 在本文中构思用于使用的另外的药物组合物包括在持续或控制递送的制剂中包含多肽的制剂。用于配制多种其他持续或控制递送工具诸如脂质体运载体、生物可侵蚀的微粒或多孔珠和贮库型注射剂的技术也是本领域技术人员所已知的。

[0244] 待在治疗上使用的药物组合物的有效量将取决于例如治疗背景和治疗目标。本领域技术人员将领会到,用于治疗的适当剂量水平将因此部分地取决于递送的分子、多肽所用于的适应症、施用途径、以及患者的尺寸(体重、体表或器官尺寸)和状况(年龄和总体健康)而变化。因此,临床医师可以调整剂量并且改变使用途径以获得最佳治疗效果。通常的剂量可以取决于以上提到的因素从约0.1mg/kg至多达约100mg/kg或更多变化。多肽组合物可以优选地注射或静脉内施用。长效药物组合物可以取决于特定制剂的半衰期和清除速率每三天至每四天、每周、或每两周施用。给药频率将取决于使用的制剂中的多肽的药代动力学参数。通常,施用组合物直至达到实现期望的效果的剂量。因此组合物可以作为单剂量,或作为随时间的多个剂量(相同或不同的浓度/剂量),或者作为持续的输注施用。常规地进行适当剂量的进一步改进。适当的剂量可以通过使用适当剂量响应数据来确定。

[0245] 药物组合物的施用途径根据已知方法,例如口服;通过静脉内、腹膜内、脑内(实质内)、脑室内、肌内、眼内、动脉内、门静脉内、病灶内途径,髓内、囊内、心室内、经皮、皮下或腹膜内注射;以及鼻内、肠内、局部、舌下、尿道、阴道或直肠方式;通过持续释放系统或通过植入装置。当期望时,组合物可以通过团注(bolus)注射施用,或通过输注持续施用,或通过植入装置施用。可选地或另外地,组合物可以经由期望的分子已经吸附或包封至其上的膜、海绵状物或另一种适当的材料的植入局部施用。当使用植入装置时,可以将该装置植入到任何合适的组织或器官中,并且期望的分子的递送可以经由扩散施用、缓释团注或持续施用。

[0246] 治疗应用

[0247] 在另一方面,本公开内容提供了用于治疗受试者的肌生成抑制蛋白相关紊乱或激活蛋白A相关紊乱的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。重要的是,本公开内容的药物组合物可以被用于增加以体重的百分比计的瘦肌肉质量,以及降低以体重百分比计的脂肪质量,同时避免针对目前的基于ActRIIB-Fc融合蛋白的治疗报道的安全性问题。

[0248] 本公开内容提供了用于治疗受试者的肌肉萎缩疾病的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱,其中此类施用减弱肌肉质量的丢失和/或肌肉功能的丢失。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗包括但不限于以下的多种肌肉疾病中是有用的:肌肉萎缩症(诸如DMD、Becker型MD、肢带型MD、肌强直性MD和FSDH)、肌炎、肌病(包括遗传性肌病和获得性肌病)、运动神经元疾病(诸如葛雷克氏症或ALS)、神经退行性疾病(诸如帕金森病、亨廷顿氏病和阿尔茨海默病)、与癌症有关的肌肉萎缩(诸如胰腺癌、肺癌、胃癌、卵巢癌、结肠直肠癌、黑色素瘤白血病、肺癌、前列腺癌、脑癌、膀胱癌、和头颈癌)、与慢性心力衰竭有关的肌肉萎缩、慢性肾病(CKD)、糖尿病、慢性阻塞性肺病(COPD)、感染(诸如AIDS、结核病和脓毒症)、类风湿性关节炎、创伤(诸如烧伤或机动车事故)、ICU重症护理、去神经化(诸如卒中或脊髓损伤)、长期卧床休息、肌少型肥胖症和年龄相关肌少症。

[0249] 本公开内容提供了治疗受试者的心血管疾病的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱,其中此类施用减弱肌肉质量的丢失和/或肌肉功能的丢失。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗心力衰竭、心肌萎缩、高血压、心肌炎、冠状动脉疾病、心肌梗塞、心律失常、心脏瓣膜病、心肌病、心包疾病、主动脉疾病和马凡综合征中是有用的。

[0250] 本公开内容提供了治疗受试者的心脏功能异常或心力衰竭的方法,包括将有效量的杂合ActRIIB配体陷阱施用至受试者。该调节可以使所述受试者的心脏功能改善至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、或至少95%。心脏功能的改善可以通过超声心动描记术测量以下来评价:1)针对排出的血液体积和排出效率的心脏泵功能,和2)针对心肌收缩的强度的心肌功能。

[0251] 本公开内容提供了用于治疗受试者的新陈代谢紊乱的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗选自以下的新陈代谢疾病中是有用的:肥胖症、血脂异常、糖尿病、胰岛素耐受、肌少型肥胖症、脂肪变性、和新陈代谢综合征,以及糖尿病性肌病、肾病、神经病、视网膜病、骨质丢失、受损的葡萄糖耐量、低血糖症和雄激素剥夺。

[0252] 本公开内容提供了治疗受试者的癌症细胞的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱,其中此类施用抑制癌症细胞的生长和/或增殖。特别地,本公开内容的

杂合ActRIIB配体陷阱在治疗以癌症为特征的紊乱中是有用的。此类紊乱包括但不限于实体瘤,诸如乳腺癌、呼吸道癌、脑癌、生殖器官的癌症、消化道的癌症、尿道的癌症、眼癌、肝癌、皮肤癌、头颈癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌以及其远端转移,淋巴瘤,肉瘤,多发性骨髓瘤和白血病。乳腺癌的实例包括但不限于侵袭性导管癌、侵袭性小叶癌、原位导管癌和原位小叶癌。呼吸道的癌症的实例包括但不限于小细胞肺癌和非小细胞肺癌,以及支气管腺瘤和胸膜肺母细胞瘤(pleuropulmonary blastoma)。脑癌的实例包括但不限于脑干和下丘脑胶质瘤、小脑和大脑星形细胞瘤、髓母细胞瘤、室管膜瘤,以及神经外胚层和松果体肿瘤。雄性生殖器官的肿瘤包括但不限于前列腺癌和睾丸癌。雌性生殖器官的肿瘤包括但不限于子宫内膜癌、宫颈癌、卵巢癌、阴道癌和外阴癌,以及子宫的肉瘤。消化道的肿瘤包括但不限于肝癌、结肠癌、结肠直肠癌、食管癌、胆囊癌、胃癌、胰腺癌、直肠癌、小肠癌和唾液腺癌。尿道的肿瘤包括但不限于膀胱癌、阴茎癌、肾癌、肾盂癌、输尿管癌和尿道癌。眼癌包括但不限于眼内黑色素瘤和视网膜母细胞瘤。肝癌的实例包括但不限于肝细胞癌(具有或不具有纤维板层变体的肝细胞癌)、胆管癌(肝内胆管癌)和混合性肝细胞胆管癌。皮肤癌包括但不限于鳞状细胞癌、卡波济氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、恶性黑色素瘤、梅克尔细胞癌(Merkel cell skin cancer)和非黑色素瘤皮肤癌。头颈癌包括但不限于鼻咽癌以及唇和口腔癌。淋巴瘤包括但不限于AIDS相关淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)和中枢神经系统淋巴瘤。肉瘤包括但不限于软组织肉瘤、骨肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、淋巴肉瘤和横纹肌肉瘤。白血病患者包括但不限于急性髓性白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞性白血病和毛细胞白血病。在某些实施方案中,癌症将是具有TGF- β 家族成员,诸如激活蛋白A、肌生成抑制蛋白、TGF- β 和GDF15的高表达的癌症,例如胰腺癌、胃癌、卵巢癌、结肠直肠癌、黑色素瘤白血病、肺癌、前列腺癌、脑癌、膀胱癌和头颈癌。

[0253] 本公开内容提供了治疗受试者的慢性肾病(CKD)的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱,其中此类施用减弱肌肉质量的丢失和/或肌肉功能的丢失或抑制肾纤维化。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗CKD,包括肾衰竭、间质性纤维化和肾透析以及与CKD有关的蛋白能量耗损(protein energy wasting, PEW)中是有用的。该调节可以使所述受试者的CKD或PEW改善至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、或至少95%。肾功能的改善可以通过测量尿中的蛋白/肌酐比率(PCR)和肾小球过滤比率(GFR)来评价。PEW的改善可以通过测量白蛋白和炎性细胞因子的血清水平、蛋白合成和降解的速率、体重(body mass)、肌肉质量、身体活动和营养结果来评价。

[0254] 本公开内容提供了用于治疗受试者的自身免疫疾病的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗选自以下的自身免疫紊乱中是有用的:多发性硬化、糖尿病(1型)、肾小球性肾炎、重症肌无力、银屑病、全身性硬化症和系统性红斑狼疮、多肌炎和原发性胆汁性肝硬化。

[0255] 本公开内容提供了用于治疗受试者的关节炎的方法,包括向所述受试者施用治疗

有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗选自类风湿性关节炎和骨关节炎的关节炎中是有用的。

[0256] 本公开内容提供了用于治疗受试者的厌食症的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗选自神经性厌食症和厌食症-恶病质综合症的厌食症中是有用的。

[0257] 本公开内容提供了用于治疗受试者的肝病的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗选自以下的肝病中是有用的:非酒精性脂肪肝病、非酒精性脂肪性肝炎、酒精性脂肪肝病、肝硬化、肝衰竭、自身免疫性肝炎和肝细胞癌。

[0258] 本公开内容提供了用于受试者的器官或组织移植的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。特别地,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱在治疗选自心脏、肾、肝、肺、胰腺、肠和胸腺的器官移植,或选自骨、肌腱、角膜、皮肤、心脏瓣膜、神经和血管的组织移植的移植中是有用的。

[0259] 本公开内容提供了用于治疗受试者的贫血症的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的(作为单一疗法或在组合疗法方案中)在药学上可接受的运载体中的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱。在多种实施方案中,贫血症选自多种贫血性紊乱,包括癌相关性贫血、化学疗法引起的贫血、慢性肾病相关性贫血、缺铁性贫血、地中海贫血、镰状细胞疾病、再生障碍性贫血和骨髓增生异常综合征。

[0260] 本公开内容提供了用于治疗受试者中的纤维化的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,纤维化选自肺纤维化(诸如特发性肺纤维化和囊性纤维化)、肝纤维化(诸如非酒精性肝炎和肝硬化)、心脏纤维化(诸如心肌梗塞、舒张功能异常或心脏瓣膜病)、肾纤维化(诸如间质性纤维化)、骨髓纤维化、特发性腹膜后纤维化、肾源性纤维化硬皮病、克罗恩病、瘢痕瘤、硬皮病、系统性硬化症和关节纤维化。

[0261] 本公开内容提供了治疗受试者的疼痛的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,疼痛选自神经性疼痛、炎性疼痛或癌症疼痛。

[0262] 本公开内容提供了治疗受试者的骨病的方法,包括向有相应需要的受试者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一种实施方案中,受试者是人类受试者。在多种实施方案中,骨病选自骨软化症、骨质疏松症、成骨不全症、进行性骨化性纤维发育不良、皮质类固醇引起的骨质丢失、骨折和骨转移。

[0263] 本公开内容提供了抑制受试者中的肌肉质量和/或肌肉功能的丢失的方法,包括将有效量的杂合ActRIIB配体陷阱施用至受试者。该调节可以使所述受试者的肌肉质量和/或功能的丢失减弱至少5%、10%、至少25%、至少50%、至少75%、或至少90%。肌肉质量和功能的丢失的抑制可以通过利用成像技术和身体力量测试(physical strength test)来

评价。用于肌肉质量评价的成像技术的实例包括双能X射线吸收测定 (DEXA)、磁共振成像 (MRI) 和计算机断层扫描 (CT)。肌肉功能测试的实例包括握力强度测试、登楼测试、简易体能状况量表 (short physical performance battery, SPPB) 和6分钟步行,以及用于测量呼吸肌强度的最大吸气压力 (MIP) 和最大呼气压力 (MEP)。

[0264] “治疗有效量”或“治疗有效剂量”指将使被治疗的紊乱的一种或更多种症状减轻至一定程度的被施用的治疗剂的量。

[0265] 可以通过确定 IC_{50} 从细胞培养测定初始评估治疗有效剂量。随后,可以在动物模型中配制剂量以获得包括如在细胞培养中确定的 IC_{50} 的循环血浆浓度范围。这些信息可用于更精确地确定人体中的有用剂量。可以例如通过HPLC测量血浆中的水平。确切的组合物、施用途径和剂量可以由个体医师鉴于受试者的状况选择。

[0266] 可以调整剂量方案以提供最适的期望应答 (例如,治疗应答或预防应答)。例如,可以施用单次团注,可以随时间施用多个分次剂量 (多个或重复或维持) 并且剂量可以如治疗情境的迫切需要指示的按比例减少或增加。为了容易施用和剂量的一致性,配制剂量单位形式的胃肠外组合物是特别有利的。本文使用的剂量单位形式指适于作为用于待被治疗的哺乳动物受试者的单一剂量的物理上的分散单元;每一个单元含有被计算以产生期望的治疗效果的预先确定的量的活性化合物与要求的药学运载体的组合。本公开内容的剂量单位形式的规格将主要由抗体的独特性质和待被实现的特定治疗效果或预防效果决定。

[0267] 因此,技术人员将理解,基于本文提供的公开内容,根据治疗领域公知的方法调整剂量和给药方案。即,最大可耐受剂量可以被容易地确定,并且向受试者提供可检测的治疗益处有效量也可以被确定,向受试者提供可检测的治疗益处而施用每个剂的时间要求同样可以被确定。因此,尽管在本文中举例说明了某个剂量和施用方案,这些实例绝不限制在实践本公开内容时可以被提供至受试者的剂量和施用方案。

[0268] 应注意到,剂量值可以随着待被缓解的状况的类型和严重性变化,并且可以包括单剂量或多剂量。还应理解,对于任何特定受试者,应根据个体需要和施用或监督组合物的施用的人士的专业判断随时间调整具体剂量方案,并且本文列出的剂量范围仅是示例性的并且不意图限制所要求保护的组合物的范围或实践。另外,使用此公开内容的组合物的剂量方案可以基于多个因素,包括疾病的类型、受试者的年龄、体重、性别、医学状况、状况的严重性、施用途径和使用的特定抗体。因此,给药方案可以广泛变化,但可以使用标准方法常规地确定。例如,可以基于药代动力学或药效学参数调整剂量,所述参数可以包括临床作用诸如毒性作用和/或实验值。因此,本公开内容包括如技术人员确定的受试者内的剂量递增 (intra-subject dose-escalation)。确定适当的剂量和方案是相关技术领域公知的并且可以被理解为一旦提供本文公开的教导,则由技术人员掌握。

[0269] 本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱的治疗有效量或预防有效量的示例性、非限制性每日剂量范围可以为0.001至100mg/kg体重、0.001至90mg/kg体重、0.001至80mg/kg体重、0.001至70mg/kg体重、0.001至60mg/kg体重、0.001至50mg/kg体重、0.001至40mg/kg体重、0.001至30mg/kg体重、0.001至20mg/kg体重、0.001至10mg/kg体重、0.001至5mg/kg体重、0.001至4mg/kg体重、0.001至3mg/kg体重、0.001至2mg/kg体重、0.001至1mg/kg体重、0.010至50mg/kg体重、0.010至40mg/kg体重、0.010至30mg/kg体重、0.010至20mg/kg体重、0.010至10mg/kg体重、0.010至5mg/kg体重、0.010至4mg/kg体重、0.010至3mg/kg体重、

0.010至2mg/kg体重、0.010至1mg/kg体重、0.1至50mg/kg体重、0.1至40mg/kg体重、0.1至30mg/kg体重、0.1至20mg/kg体重、0.1至10mg/kg体重、0.1至5mg/kg体重、0.1至4mg/kg体重、0.1至3mg/kg体重、0.1至2mg/kg体重、0.1至1mg/kg体重、1至50mg/kg体重、1至40mg/kg体重、1至30mg/kg体重、1至20mg/kg体重、1至10mg/kg体重、1至5mg/kg体重、1至4mg/kg体重、1至3mg/kg体重、1至2mg/kg或1至1mg/kg体重。应注意到,剂量值可以随着待被缓解的状况的类型和严重性变化。还应理解,对于任何特定受试者,应根据个体需要和施用或监督组合物的施用的人士的专业判断随时间调整具体剂量方案,并且本文列出的剂量范围仅是示例性的并且不意图限制所要求保护的组合物的范围或实践。

[0270] 在多种实施方案中,施用的总剂量将获得范围在例如约1至1000 μ g/ml、约1至750 μ g/ml、约1至500 μ g/ml、约1至250 μ g/ml、约10至1000 μ g/ml、约10至750 μ g/ml、约10至500 μ g/ml、约10至250 μ g/ml、约20至1000 μ g/ml、约20至750 μ g/ml、约20至500 μ g/ml、约20至250 μ g/ml、约30至1000 μ g/ml、约30至750 μ g/ml、约30至500 μ g/ml、约30至250 μ g/ml的血浆抗体浓度。

[0271] 本公开内容的药物组合物的毒性和治疗指数可在细胞培养物或实验动物中通过标准制药学过程确定,例如,用于确定LD₅₀(对群体的50%致死的剂量)和ED₅₀(对群体的50%治疗有效的剂量)。毒性和治疗有效剂量之间的剂量比是治疗指数,并且其可以表示为比率LD₅₀/ED₅₀。表现出大治疗指数的组合物通常是优选的。

[0272] 杂合ActRIIB配体陷阱药物组合物的施用的给药频率取决于疗法的性质和被治疗的特定疾病。受试者可以以规律间隔治疗,诸如每周地或每月地,直到获得期望的治疗结果。示例性的给药频率包括但不限于:无间断地每周一次;每隔一周地每周一次;每2周一次;每3周一次;无间断地每周一次,持续2周,随后每月一次;无间断地每周一次,持续3周,随后每月一次;每月一次;每隔一个月一次;每3个月一次;每4个月一次;每5个月一次;或每6个月一次,或每年一次。

[0273] 组合疗法

[0274] 如本文使用的,提及本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱和一种或更多种其他治疗剂时,术语“共施用(co-administration)”、“共施用(co-administered)”和“与...组合(in combination with)”旨在意指,并且的确指并包括以下:当此类组分被一起配制成在基本上同时将所述组分释放至所述受试者的单一剂型时,将本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱和一种或更多种治疗剂的此类组合同时施用至需要治疗的受试者;当此类组分彼此分开配制成在基本上同时被所述受试者服用的单独的剂型,届时所述组分基本上同时释放至所述受试者时,将本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱和一种或更多种治疗剂的此类组合基本上同时施用至需要治疗的受试者;当此类组分彼此分开配制成以每次施用之间的显著的时间间隔被所述受试者在连续时间服用的单独的剂型,届时所述组分在基本上不同的时间释放至所述受试者时,将本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱和一种或更多种治疗剂的此类组合依次施用至需要治疗的受试者;以及,当此类组分一起配制成以受控方式释放所述组分的单一剂型,届时它们在相同和/或不同的时间同时、连续和/或重叠地释放至所述受试者,将本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱和一种或更多种治疗剂的此类组合依次施用至需要治疗的受试者,其中每个部分可通过相同或不同的途径施用。

[0275] 在另一方面,本公开内容涉及治疗受试者的肌肉萎缩疾病的方法,包括施用以下

的组合:a) 治疗有效量的本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱;和b) 第二剂。对于对使用单独的第二剂治疗是耐受性或难治性的肌肉萎缩疾病,该组合疗法可以是特别有效的。在多种实施方案中,第二剂选自:生长激素,生长素释放肽(ghrelin),IGF1,炎性细胞因子诸如TNF- α 的拮抗剂和TNF- β ,IL-6、IL-1及其受体,以及肌生成抑制蛋白和激活蛋白A的其他拮抗剂及其受体。

[0276] 在多种实施方案中,组合疗法包括同时施用在同一药物组合物中或在单独的药物组合物中的杂合ActRIIB配体陷阱和第二剂的组合物。在多种实施方案中,依次施用杂合ActRIIB配体陷阱组合物和第二剂组合物,即,在施用第二剂组合物之前或之后施用杂合ActRIIB配体陷阱组合物。

[0277] 在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱组合物和第二剂组合物的施用是同时的,即,杂合ActRIIB配体陷阱组合物和第二剂组合物的施用时间段彼此重叠。

[0278] 在多种实施方案中,杂合ActRIIB配体陷阱组合物和第二剂组合物的施用是非同时的。例如,在多种实施方案中,在施用第二剂组合物之前终止杂合ActRIIB配体陷阱组合物的施用。在多种实施方案中,在施用杂合ActRIIB配体陷阱组合物之前终止施用第二剂组合物。

[0279] 给出以下实施例以更充分地说明本公开内容,但并不被理解为限制其范围。

[0280] 实施例1

[0281] 本公开内容的多肽可以根据本领域技术人员所熟知的重组DNA技术来制备。在此实例中,一般性地描述了杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的制备。

[0282] 通过将人ActRIIB细胞外结构域内的选择性位置处的多个氨基酸残基用基于在氨基酸水平上的序列对齐的相应位置处的源自人ActRIIA细胞外结构域的氨基酸残基置换,设计多种杂合ActRIIB-ECD多肽。编码杂合ActRIIB-ECD多肽的DNA表达盒通过利用定点诱变生成,并且随后通过符合读框地在5'末端放置编码人免疫球蛋白轻链信号肽的cDNA片段并在3'末端放置编码肽接头然后人Fc的DNA片段,被工程化为Fc融合蛋白构建体。

[0283] 实施例2

[0284] 在该实施例中,一般性地描述了如图1中示出的构造的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的制备。

[0285] 将编码多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的合成DNA盒克隆到Freedom pCHO 1.0和pcDNA3.1表达载体(Life Technologies)中,每种所述合成DNA盒包含信号肽前导序列(SEQ ID NO:49或50)、来自实施例1的杂合可溶ActRIIB-ECD多肽(或野生型ActRIIB-ECD序列)、肽接头序列(SEQ ID NO:44)、铰链接头序列(SEQ ID NO:118)和Fc结构域序列(SEQ ID NO:39或41或43)。

[0286] 对于稳定转染,使用FreeStyle MAX试剂(Life Technologies)将编码多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的pCHO 1.0表达载体各自转染至CHO-S细胞。转染后48小时,使细胞在37°C在CO₂震荡培养箱中在包含嘌呤霉素和氨甲喋呤(MTX)选择的无血清CD FortiCHO培养基中生长持续3-7周。在包含30M嘌呤霉素和500nM氨甲喋呤的条件下,直到细胞超过90%的生存力才产生稳定的库(pool)。通过按照制造商的推荐方案(Life Technologies)稀释克隆来生产稳定的克隆。对于瞬时转染,使用ExpriFectamine293转染试剂(Life Technologies)将编码多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的pcDNA3.1表达质粒各自转染至

Expi293细胞。

[0287] 转染后,使稳定转染的CHO-S细胞在37°C在CO₂震荡培养箱中在补充有葡萄糖的完全无血清CD FortiCHO培养基中生长持续直至14天。收集调节培养液用于蛋白纯化。在37°C在CO₂震荡培养箱中,在Expi293表达培养基中培养瞬时转染的Expi293细胞持续直至7天,并收集培养基用于蛋白纯化。

[0288] 对于纯化,通过利用AKTA FPLC (GE Healthcare) 经由Hitrap蛋白A高性能柱 (Hitrap Protein A High Performance Column) 纯化包含杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的调节培养基。将杂合ActRIIB配体陷阱蛋白用经1M Tris-HCl (pH 8.0) 中和的醋酸缓冲液 (pH 3.6) 洗脱,并且然后经历缓冲液交换。通过使用分光光度计 (Beckman) 确定蛋白浓度。

[0289] 实施例3

[0290] 在该实施例中,评价了7种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的肌生成抑制蛋白和BMP9结合活性。

[0291] 利用Octect Red (ForteBio) 初始地分析多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的肌生成抑制蛋白和BMP9结合活性。以最大载量将纯化的蛋白或调节培养基单独地装载至AHC生物传感器。在基线洗涤阶段后,将传感器分别暴露至10nM肌生成抑制蛋白或BMP9用于缔合步骤,然后是解离步骤。所有的实验以1,000rpm震荡进行。利用ForteBio的软件,用使用比率Kd/Ka计算的KD分析结合活性。

[0292] 结果

[0293] 检查杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的肌生成抑制蛋白和BMP9的结合活性以与野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白比较。结果表明,与野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白相比,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白表现出对BMP9的结合亲和力的明显降低。很多杂合ActRIIB配体陷阱蛋白显示出BMP9结合亲和力的剧烈降低,比野生型ActRIIB-ECD-Fc蛋白的BMP9结合亲和力弱100倍,并且同时他们保留了与野生型ActRIIB-ECD-Fc蛋白的肌生成抑制蛋白结合亲和力相似的强肌生成抑制蛋白结合亲和力。通过Octet Red分析获得的初步结合数据的总结被示于表3。

[0294] 表3

[0295]

ActRIIB-ECD多肽	肌生成抑制蛋白结合	BMP9结合
野生型	+++	+++
AG-0003 (SEQ ID NO:5)	+++	++
AG-0005 (SEQ ID NO:7)	+++	+
AG-0006 (SEQ ID NO:8)	+++	+
AG-0007 (SEQ ID NO:9)	+++	+
AG-0008 (SEQ ID NO:10)	+++	++
AG-0011 (SEQ ID NO:13)	+++	N.D.
AG-0027 (SEQ ID NO:29)	+++	N.D.

[0296] +++ KD <10⁻⁸ M
++ KD:10(-6):10(-7), 2012]。

[0297] + KD 10^{-4} - 10^{-6} M
N.D. 无可检测的结合

[0298] 通过动力学排除测定 (kinetic exclusion assay, KinExA) (Sapidyne Instruments, Inc.) 分析AG-0014和AG-0027。使用Sapidyne Instruments推荐的实验程序将20-30 μ g/ml的肌生成抑制蛋白、激活蛋白A或BMP9分别偶联至NHS活化琼脂糖凝胶4快流珠 (NHS-Activated Sepharose 4 Fast Flow beads, GE Healthcare)。随着以2.5倍系列稀释滴定配体, 每种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的浓度保持恒定。通过在室温孵育直至24小时, 并且随后通过KinExA 3000仪器 (Sapidyne Instruments) 上用配体包被的琼脂糖凝胶珠预先填充的流动池, 允许溶液达到平衡。通过Alexa Fluor 647标记的山羊抗人Fc抗体 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) 检测捕获到珠上的游离杂合ActRIIB配体陷阱蛋白。利用KinExA Pro软件 (Sapidyne Instruments) 计算配体结合亲和力的值 (K_D)。

[0299] 结果

[0300] 通过KinExA分析获得的初步结合数据的总结被示于表4。数据表明, 与野生型ActRIIB-Fc相似, 两种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白在个位数pM的范围 (single-digit pM range) 对肌生成抑制蛋白和激活蛋白A两者具有高亲和力。但是, 与表现出对BMP9在个位数pM的范围的强结合亲和力的野生型ActRIIB-Fc相反, 两种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白对BMP9未显示出可检测的结合。

[0301] 表4

分子	肌生成抑制蛋白	激活蛋白A	BMP9
	K_D (pM)	K_D (pM)	K_D (pM)
[0302] WT ActRIIB-Fc	5.06 pM	1.38 pM	4.25 pM
AG-0014 (SEQ ID NO: 16)	8.75 pM	0.357 pM	无结合
AG-0027 (SEQ ID NO: 29)	7.87 pM	1.09 pM	无结合

[0303] 实施例4

[0304] 在该实施例中, 描述了肌生成抑制蛋白/激活蛋白A信号传导测定和BMP9信号传导测定, 其分别被用于定量杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的肌生成抑制蛋白/激活蛋白A阻断活性和BMP9阻断活性。

[0305] 为了评价肌生成抑制蛋白/激活蛋白A信号传导, 将具有12个重复的CAGA序列的报道子构建体 (Dennler等, EMBO 17:3091-3100, 1998) 克隆到pGL3-luc报道子载体 (Promega) 中。将工程化的pGL3-CAGA₁₂-luc载体稳定地转染到C2C12细胞中, 以生成能够感应肌生成抑制蛋白或激活蛋白A介导的Smad3/4信号传导的萤光素酶报道子细胞系C2C12-CAGA-luc。为了测量肌生成抑制蛋白和激活蛋白A中和活性, 将4nM重组肌生成抑制蛋白或激活蛋白A与递增浓度的多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白以及野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白 (作为对照) 一起在室温预孵育, 持续1小时。随后, 将反应混合物添加至C2C12-CAGA-luc细胞培养物。在CO₂培养箱中在37 $^{\circ}$ C孵育持续5小时后, 通过使用LuminoSkan Ascent (Thermo Scientific) 测量C2C12-CAGA-luc报道子培养物的萤光素酶活性。

[0306] 在已经用包含感应Smad1/5/8信号传导的BMP响应元件 (BRE) 的萤光素酶报道子稳

定转染的C2C12细胞中测试BMP9信号传导 (Korchynski等, J. Biol. Chem. 277:4883-4891, 2002)。特别地, 合成2个重复的BMP响应元件 (Briter等, PLoS One, 2012) 并将其克隆到pGL3-luc载体 (Promega) 中。然后将pGL3-2XBRE-luc载体稳定地转染到C2C12细胞中。使用稳定转染的报道子细胞系C2C12-BRE-luc来定量BMP9介导的Smad1/5/8信号传导。为了测量BMP中和活性, 将4nM BMP9与递增浓度的多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白以及野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白 (作为对照) 一起在室温预孵育, 持续1小时。然后将反应混合物添加至C2C12-BRE-luc细胞培养物。在CO2培养箱中在37°C孵育5小时后, 通过使用LuminoSkan Ascent (Thermo Scientific) 测量C2C12BRE-luc报道子培养物的萤光素酶活性。

[0307] 结果

[0308] 结果显示, 与野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白相比, 两种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白保留了强的肌生成抑制蛋白和激活蛋白A中和活性, 但具有明显降低的BMP9中和活性 (参见图2)。图2显示了与野生型对照ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A和BMP9的基于细胞的中和活性相比, 2种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白AG-0003 (SEQ ID NO:5) 和AG-0005 (SEQ ID NO:7) 对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A和BMP9的基于细胞的中和活性。

[0309] 实施例5

[0310] 在该实施例中, 在实施例4中描述的肌生成抑制蛋白/激活蛋白A信号传导测定和BMP9信号传导测定分别被用于定量以下杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的肌生成抑制蛋白/激活蛋白A阻断活性和BMP9阻断活性: AG-0003 (SEQ ID NO:5)、AG-0014 (SEQ ID NO:16)、AG-0023 (SEQ ID NO:25)、AG-0024 (SEQ ID NO:26)、AG-0025 (SEQ ID NO:27)、AG-0027 (SEQ ID NO:29)、AG-0028 (SEQ ID NO:30)、AG-0029 (SEQ ID NO:31) 和AG-0035 (SEQ ID NO:37)。

[0311] 结果

[0312] 结果显示, 与野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白相比, 这些杂合ActRIIB配体陷阱蛋白中的若干种保留了强的肌生成抑制蛋白和激活蛋白A中和活性, 但具有明显降低的BMP9中和活性。图3显示了与野生型对照ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白的对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A和BMP9的基于细胞的中和活性相比, 2种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白AG-0014和AG-0027对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A和BMP9的基于细胞的中和活性。

[0313] 并且如表5和6中显示的, 与野生型ActRIIB-ECD-Fc融合蛋白 (WT ActRIIB-Fc) 相比, 多种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白在基于细胞的Smad1/5/8BRE-luc报道子测定中显示出剧烈降低的BMP9中和活性, 而在基于细胞的Smad2/3CAGA-luc报道子测定中保留了对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A和激活蛋白B的强烈的中和活性。表5分别显示了与WT ActRIIB-Fc的基于细胞的对肌生成抑制蛋白、激活蛋白A、激活蛋白B和BMP9的中和的 IC_{50} 相比, 2种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 的那些 IC_{50} 。表6概述了与WT ActRIIB-Fc的BMP9和肌生成抑制蛋白的中和活性相比, 若干种示例性杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的BMP9和肌生成抑制蛋白中和活性。与WT ActRIIB-Fc相比, 杂合蛋白AG-0003 (SEQ ID NO:5)、AG-0004 (SEQ ID NO:6)、AG-0005 (SEQ ID NO:7)、AG-0014 (SEQ ID NO:16)、AG-0023 (SEQ ID NO:25)、AG-0024 (SEQ ID NO:26)、AG-0025 (SEQ ID NO:27)、AG-0027 (SEQ ID NO:29) 和AG-0028 (SEQ ID NO:30) 显示出剧烈降低的或几乎无BMP9中和活性 (还参见图10); AG-0003 (SEQ ID NO:5)、AG-0005 (SEQ ID NO:7)、AG-

0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 保留了全部的肌生成抑制蛋白中和活性, 而AG-0004 (SEQ ID NO:6)、AG-0023 (SEQ ID NO:25)、AG-0024 (SEQ ID NO:26)、AG-0025 (SEQ ID NO:27) 和AG-0028 (SEQ ID NO:30) 表现出肌生成抑制蛋白中和活性的损失 (还参见图11)。总而言之, 这些结果表明多种杂合ActRIIB配体陷阱蛋白优先地阻断肌生成抑制蛋白/激活蛋白介导的Smad2/3信号传导, 最小地损害或不损害BMP9介导的Smad1/5/8信号传导的能力。

[0314] 表5

	基于细胞的IC ₅₀ (nM)			
	针对 肌生成抑制蛋白	针对 激活蛋白A	针对 激活蛋白B	针对 BMP9
[0315] WT ActRIIB-Fc (SEQ ID NO: 1)	1.24	1.27	1.04	3.40
AG-0014 (SEQ ID NO: 16)	0.95	1.15	2.10	N.D.
AG-0027 (SEQ ID NO: 29)	1.14	1.62	1.30	N.D.

[0316] N.D.: 无可检测的中和活性

[0317] 表6

	ActRIIB细胞外 结构域突变	BMP9中和 活性	肌生成抑制蛋白 中和活性
WT ActRIIB-Fc (SEQ ID NO: 1)	野生型	++++	++++
AG-0003 (SEQ ID NO: 5)	F58I+Q64T+E65D +A68E+T69K+E70K +E71D+N72S+Q74E	+/-	++++
AG-0004 (SEQ ID NO: 6)	F58I+Q64T+E65D +A68E+T69K+E70K +E71D+N72S	+/-	++
AG-0005 (SEQ ID NO: 7)	Q64T+E65D +A68E+T69K+E70K +E71D+N72S	-	++++
AG-0007 (SEQ ID NO: 9)	A68E+T69K+E70K +E71D+N72S+Q74E	+++	++
AG-0008 (SEQ ID NO: 10)	A68E+T69K+E70K +E71D+N72S	+++	+++
[0318] AG-0014 (SEQ ID NO: 16)	E26Y+E28D+Q29K +L33R	-/+	++++
AG-0027 (SEQ ID NO: 29)	E28D+F58I+E70K	-	++++
AG-0029 (SEQ ID NO: 31)	E28D	+++	++
AG-0024 (SEQ ID NO: 26)	F58I	+++	++++
AG-0023 (SEQ ID NO: 25)	E70K	-	+
AG-0028 (SEQ ID NO: 30)	E28D+E70K	-	+
AG-0025 (SEQ ID NO: 27)	F58I+E70K	-	+++
AG-0035 (SEQ ID NO: 37)	E28D+F58I	+++	+++

[0319] +++++:完全的中和活性;+++ :部分的中和活性;++ :弱的中和活性;+ :很弱的中和活性;+/- :很少的或无中和活性;- :无中和活性

[0320] 实施例6

[0321] 在该实施例中,在分别用10mg/kg的剂量的PBS(媒介物)、野生型ActRIIB-Fc(WT)、AG-0014(SEQ ID NO:16)和AG-0027(SEQ ID NO:29)每周一次皮下注射的9周龄雄性C57B1/6小鼠中评价对体重和肌肉质量的影响。在第0天、第5天、第12天和第18天记录体重。n=每组6/8。体重改变的值被计算为从第0天的基线的重量增加的百分比。在最终的尸体剖检期间,将来自每只动物的单独的腓肠肌解剖并称重。将值表示为每个处理组中的平均腓肠肌质量与媒介物组的平均腓肠肌质量相比的增加百分比。如图4和表7中示出的,施用两种示

例性杂合配体陷阱蛋白中的每一种能够在小鼠中以与野生型ActRIIB-Fc相似的方式明显增加体重获得。

[0322] 表7

[0323] 从基线的体重增加

组	第 5 天	第 12 天	第 18 天
媒介物	1.5 %	3.9 %	5.6 %
[0324] WT ActRIIB-Fc	9.4 %	20.1 %	25.8 %
AG-0014	9.0 %	16.8 %	25.2 %
AG-0027	7.1 %	18.1 %	24.3 %

[0325] 如图5和表8中示出的,分别施用两种示例性杂合配体陷阱蛋白AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 能够在小鼠中以与野生型ActRIIB-Fc相似的方式明显增加肌肉质量。

[0326] 表8

[0327] 与媒介物相比的肌肉质量增加

组	与媒介物相比腓肠肌质量的增加
[0328] WT ActRIIB-Fc	31.3 %
AG-0014	30.0 %
AG-0027	30.7 %

[0329] 实施例7

[0330] 在该实施例中,评价了对分别用10mg/kg的剂量的PBS (媒介物)、野生型ActRIIB-Fc (WT)、AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 每周一次处理的8周龄雄性Ba1bC小鼠的小鼠腹腔、小鼠睾丸和小鼠肺组织的影响。在处理两周后,将200 μ l伊文思蓝染料(在PBS中0.5%, pH7.2) 经由尾静脉注射入每组动物(n=4)。在伊文思蓝染料注射后90min进行尸体剖检。如分别在图6-8中中标记的,显示了每组的以外科手术的方式暴露的腹腔、解剖的睾丸器官和解剖的肺组织的代表性图像。蓝色表明血管的泄露。将睾丸和肺组织称重,并且然后单独地置于含有甲酰胺的小瓶中,以提取伊文思蓝染料。在55 $^{\circ}$ C孵育持续24小时后,对样品离心。使用分光光度计在610nm的波长测量每个样品的水相的吸光度。在图9中显示了在不同处理组中,每mg湿肺组织(左图) 和睾丸组织(右图) 的渗出的伊文思蓝染料的量。

[0331] 重要的是,如图6-9中所示出的,在处理的动物中在评价的所有组织中,与野生型ActRIIB-Fc蛋白相比,施用两种示例性杂合配体陷阱蛋白明显地降低了血管泄露的水平。

[0332] 实施例8

[0333] 进行自动ELISA分析以进一步表征与野生型ActRIIB ECD-Fc (WT ActRIIB-Fc) 和野生型ActRIIA ECD-Fc (WT ActRIIA-Fc) 两者相比,不同浓度的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白的BMP9结合。如图12中显示的,数据显示,两种示例性杂合蛋白AG-0014 (SEQ ID NO:16) 和AG-0027 (SEQ ID NO:29) 与WT ActRIIB-Fc或WT ActRIIA-Fc相比分别表现出大大地降低的BMP9结合。这些数据表明,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白具有不同于WT ActRIIB-Fc和WT ActRIIA-Fc的明显的BMP9结合选择性。

[0334] 该数据表明,本文描述的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白有效地结合并中和多种引起萎缩的细胞因子。并且,重要的是,杂合ActRIIB配体陷阱蛋白对肌肉具有强烈改善的选择性,即,尽管有效地阻断引起肌肉萎缩的细胞因子的活动,它们使非肌肉相关的细胞因子的信号传导保持完整,从而维持非肌肉细胞的正常生理功能。如以上说明的,BMP在很多生理过程中发挥重要作用,并且已经显示BMP9信号传导在维持正常的血液维管结构/渗透性中是重要的。通过保留BMP9信号传导,并且优先地拮抗肌生成抑制蛋白和激活蛋白信号传导,本公开内容的杂合ActRIIB配体陷阱蛋白提供了比有效地中和BMP-9的现有可溶ActRIIB蛋白更有效且更安全的治疗,即,通过选择性地靶向多种平行的引起萎缩的细胞因子,并通过避免干扰非肌肉相关细胞因子的信号传导,这些杂合ActRIIB配体陷阱蛋白代表了具有出众的肌肉生长效果和改善的安全特征的一群临床候选物,并且从而其提供了成为用于对抗 (combating) 肌肉萎缩、恶病质和虚弱的一流治疗的潜力。因此,这些新型杂合ActRIIB配体陷阱蛋白被认为具有很广泛的临床适应症,包括年龄相关肌少症、癌症恶病质、与慢性疾病 (CHF、CKD、COPD、糖尿病等) 相关的肌肉萎缩、由于不使用或去神经化引起的肌肉萎缩、药物诱导性肌病、多种形式的肌炎、神经肌肉疾病、和神经退行性疾病。

[0335] 本文公开的和要求保护的所有物品和方法鉴于本公开内容均可被制备和执行,无需过度实验。尽管已根据优选的实施方案描述本公开内容的物品和方法,但是变化形式可被应用到所述物品和方法而不偏离本公开内容的精神和范围,这对本领域技术人员而言是明显的。对于本领域技术人员明显的所有这样的变化和等效物,无论是现存的或以后开发的,都被认为是在本公开内容的精神和范围之内,如由所附权利要求所限定的。说明书中提及的所有专利、专利申请和出版物指示本公开内容所属领域的普通技术人员的水平。出于所有目的所有专利、专利申请和出版物通过引用整体并入本文,并且其程度如同每个单独出版物单独地且具体地被指示出于任何和所有目的通过引用整体并入本文。本文例证地表述的本公开内容可在本文未具体地公开的任何一个或更多个要素不存在的条件下被合适地实践。因此,应理解,尽管本公开内容已通过优选的实施方案和任选的特征被具体地公开,但是本领域技术人员可寻求本文公开的概念的改变和变化形式,并且认为此类改变和变化形式在本公开内容的如由所附的权利要求所限定的范围内。

[0336] 序列表

[0337] 如37C.F.R.1.822中规定的,使用核苷酸碱基的标准字母缩写和氨基酸的三字母代码示出随附的序列表中列出的核酸和氨基酸序列。

[0338] SEQ ID NO:1是截短的野生型人ActRIIB-ECD多肽的氨基酸序列。

[0339] SEQ ID NO:2是截短的野生型人ActRIIA-ECD多肽的氨基酸序列。

[0340] SEQ ID NO:3-37是多种杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的氨基酸序列。

- [0341] SEQ ID NO:38是人免疫球蛋白 γ -1 (IgG1) 重链恒定区的氨基酸序列
- [0342] SEQ ID NO:39是IgG1Fc结构域的氨基酸序列
- [0343] SEQ ID NO:40是人免疫球蛋白 γ -2重链恒定区的氨基酸序列
- [0344] SEQ ID NO:41是IgG2Fc结构域的氨基酸序列
- [0345] SEQ ID NO:42是人免疫球蛋白 γ -4重链恒定区的氨基酸序列
- [0346] SEQ ID NO:43是IgG4Fc结构域的氨基酸序列
- [0347] SEQ ID NO:44是肽接头的氨基酸序列。
- [0348] SEQ ID NO:45是人ActRIIB多肽的全长氨基酸序列
- [0349] SEQ ID NO:46是野生型人ActRIIB细胞外结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:45的19-34)。
- [0350] SEQ ID NO:47是人ActRIIA多肽的全长氨基酸序列
- [0351] SEQ ID NO:48是野生型人ActRIIA细胞外结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:47的20-135)。
- [0352] SEQ ID NO:49是ActRIIB天然信号肽的氨基酸序列
- [0353] SEQ ID NO:50是免疫球蛋白轻链信号肽的氨基酸序列
- [0354] SEQ ID NO:51-117是多种杂合可溶ActRIIB-ECD多肽的氨基酸序列。
- [0355] SEQ ID NO:118是肽接头的氨基酸序列。
- [0356] 序列表
- [0357] 截短的野生型ActRIIB-ECD
- [0358] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD
DFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT
(SEQ ID NO: 1)
- [0359] 截短的野生型ActRIIA-ECD
- [0360] ETQECLFFNANWEKDRNTQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLD
DINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:2)
- [0361] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0001)
- [0362] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD
DINCYD
RTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 3)
- [0363] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0002)
- [0364] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD
DFNCYD
RTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:4)
- [0365] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0003)
- [0366] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD
DINCYD
RTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:5)
- [0367] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0004)
- [0368] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD
DINCYD
RTDCVEKKDSPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:6)
- [0369] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0005)
- [0370] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD
DFNCYD
RTDCVE

KKDSPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:7)

[0371] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0006)

[0372] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVE

KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:8)

[0373] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0007)

[0374] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVE

KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:9)

[0375] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0008)

[0376] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVEKKDSPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 10)

[0377] 杂合人ActRIIA-ECD (AG-0009)

[0378] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 11)

[0379] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0010)

[0380] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 12)

[0381] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0011)

[0382] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVE

KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:13)

[0383] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0012)

[0384] ETQECIYYNANWEKDRTNQTGVPEPCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA

TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:14)

[0385] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0013)

[0386] ETQECIYYNANWEKDRTNQTGVPEPCYGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 15)

[0387] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0014)

[0388] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA

TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:16)

[0389] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0015)

[0390] ETRECIYYNANWEKDRTNQTGVPEPCYGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 17)

[0391] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0016)

[0392] ETQECIYYNANWEKDRTNQTGVPEPCYGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA

TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:18)

[0393] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0017)

[0394] ETQECIYYNANWEKDRTNQTGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA

TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:19)

[0395] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0018)

[0396] ETQECIYYNANWEKDRTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA

TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:20)

[0397] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0019)

[0398] E^ˆTRECIYYNANWEKDR^ˆTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 21)

杂合人ActRIIB-ECD (AG-0020)

[0399] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:22)

[0400] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0021)

[0401] E^ˆTRECIYYNANWELERT^ˆNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWRN^ˆSSGTIELVKQGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 23)

[0402] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0022)

[0403] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVA TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:24)

[0404] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0023)

[0405] E^ˆTRECIYYNANWELERT^ˆNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 25)

[0406] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0024)

[0407] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVA TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:26)

[0408] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0025)

[0409] E^ˆTRECIYYNANWELERT^ˆNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 27)

[0410] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0026)

[0411] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGD^ˆKDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVA TKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:28)

[0412] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0027)

[0413] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGD^ˆQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVA TKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:29)

[0414] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0028)

[0415] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGD^ˆQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA TKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:30)

[0416] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0029)

[0417] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGD^ˆQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:31)

[0418] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0030)

[0419] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRQECVE KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:32)

[0420] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0031)

[0421] ETRECIFFNANWEKDR^ˆTNQ^ˆTGVPECEGEQDKRLHCYASWRN^ˆSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA

TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:33)

[0422] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0032)

[0423] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIELVKQGCWLDDFNCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 34)

[0424] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0033)

[0425] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO:35)

[0426] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0034)

[0427] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 36)

[0428] 杂合人ActRIIB-ECD (AG-0035)

[0429] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT (SEQ ID NO: 37)

人免疫球蛋白 γ -1重链恒定区

[0430] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

[0431] GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
KVSNAKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:38)

[0432] IgG1 Fc结构域

[0433] VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:
39)

[0434] 人免疫球蛋白 γ -2重链恒定区

[0435] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPK
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVH
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

[0436] IgG2Fc结构域

[0437] VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLT
VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:41)

[0438] 人免疫球蛋白 γ -4重链恒定区

[0439] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAK
GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:42)

- [0440] IgG4Fc结构域
- [0441] APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:43)
- [0442] 肽接头序列
- [0443] GGGGS (SEQ ID NO: 44)
- [0444] 人ActRIIB多肽的全长氨基酸序列
- [0445] MTAPWVALALLWGSLCAGSGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSG TIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTLLTVLAYSLL PIGGLSLIVLLAFWMYRHRKPPYGHVDIHEDPGPPPPSPLVGLKPLQLLEIKARGRFGCVWKAQLMNDVAVKIFP LQDKQSWQSEREIFSTPGMKHENLLQFIAAEKRGSNLEVELWLI TAFHDKGSLTDYLGKNIITWNECHVAETMSR GLSYLHEDVPWCRGEGHKPSIAHRDFKSKNVLLKSDLTAVLADFG LAVRFEPGKPPGDTHGQVGTTRYMAPEVLEG AINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELVSRC AADGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLEELQEVVVHKKMRPTIKDHWLKH PGLAQLCVTIEECWDHDAEARLSAGCVEERVSLIRRSVNGTSDCLVSLVTSVTNVDLPPKESSI (SEQ ID NO: 45)
- [0446] 野生型人ActRIIB细胞外结构域 (SEQ ID NO:45的19-134)
- [0447] SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYD RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:46)
- [0448] 人ActRIIA多肽的全长氨基酸序列
- [0449] MGAATKLAFAVFLISCSGAILGRSETQECIYYNANWEKDKTNRSGIEPCYGDKDKRRHCFATWKNIS GSIEIVKQGCWLDDINCYDRNDCIEKKDSPEVFFCCCEGNMCNERFFYFPEMEVTQPTSNPVTPKPLFNTLLYSL VPIMGIAVIVLFSFWMYRHHKLAYPPVLVPTQDPGPPPPSPLMGLKPLQLLEIKARGRFGCVWKAQLLNEYVAVKI FPIQDKQSWQNEYEIYSLPGMKHDNILQFIGAEKRGTSIDVDLWLI TAFHEKGS L TDFLKANVSVNELCHIAQTM ARGLAYLHEDIPGLKDGHKPAISHRDIKSKNVLLKNNLTACIADFG LALKFEAGKSAGDTHGQVGTTRYMAPEVLE GAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELASRCTASDGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLEDMQEVVVHKKRPVLRWCWKH SGMAMLCETIEECWDHDAEARLSAGCVEERI IQMQKLTNIITTEDIVTVVMTNVDLPPKESSL (SEQ ID NO: 47)
- [0450] 野生型人ActRIIA细胞外结构域 (SEQ ID NO:47的20-135)
- [0451] AILGRSETQECLFFNANWEKDRNTQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYD RTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:48)
- [0452] ActRIIB天然信号肽:
- [0453] MTAPWVALALLWGSLCAG (SEQ ID NO:49)
- [0454] 免疫球蛋白轻链信号肽
- [0455] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC (SEQ ID NO:50)
- [0456] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0457] ETQECLFFNANWEKDRNTQSGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRQECVA TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:51)
- [0458] 杂合人ActRIIB-ECD

- [0459] ETQECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCY
DRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 52)
- [0460] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0461] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCY
DRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 53)
- [0462] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0463] ETQECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCYGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 54)
- [0464] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0465] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCY
DRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 55)
- [0466] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0467] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 56)
- [0468] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0469] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 57)
- [0470] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0471] ETRECLFFNANWEKDRTNQSGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 58)
- [0472] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0473] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 59)
- [0474] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0475] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 60)
- [0476] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0477] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 61)
- [0478] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0479] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 62)
- [0480] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0481] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 63)
- [0482] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0483] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 64)
- [0484] 杂合人ActRIIB-ECD

- [0485] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:65)
- [0486] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0487] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:66)
- [0488] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0489] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:67)
- [0490] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0491] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDR
TDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 68)
- [0492] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0493] ETQECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:69)
- [0494] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0495] ETRECLFFNANWEKDRTNQTGVPECEGEQDKRLHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDR
TDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 70)
- [0496] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0497] ETRECLFFNANWEKDRTNQSVEPCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:71)
- [0498] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0499] ETRECLFFNANWEKDRTNQSVEPCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYDRTDCVE
KKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:72)
- [0500] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0501] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:73)
- [0502] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0503] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:74)
- [0504] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0505] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:75)
- [0506] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0507] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:76)
- [0508] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0509] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:77)
- [0510] 杂合人ActRIIB-ECD

- [0511] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:78)
- [0512] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0513] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRTDCVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:79)
- [0514] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0515] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 80)
- [0516] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0517] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:81)
- [0518] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0519] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYD
RTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 82)
- [0520] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0521] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYD
RTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 83)
- [0522] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0523] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 84)
- [0524] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0525] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:85)
- [0526] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0527] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIEIVKQGCWLDDFNCYD
RQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 86)
- [0528] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0529] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCY
DRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 87)
- [0530] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0531] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:88)
- [0532] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0533] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKQGCWLDDFNCYD
RQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 89)
- [0534] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0535] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:90)
- [0536] 杂合人ActRIIB-ECD

- [0537] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVE
TEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:91)
- [0538] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0539] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYD
RQECVAKEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 92)
- [0540] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0541] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:93)
- [0542] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0543] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TEDNPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:94)
- [0544] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0545] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYD
RQECVATEESPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 95)
- [0546] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0547] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECV
ATEENPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:96)
- [0548] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0549] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVE
TEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:97)
- [0550] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0551] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
KEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:98)
- [0552] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0553] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVA
TKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:99)
- [0554] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0555] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKQGCWLDDFNCYD
RQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 100)
- [0556] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0557] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKQGCWLDDFNCYD
RQECVAEKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 101)
- [0558] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0559] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCYGDQDKRLHCYASWRNSSGSIEIVKQGCWLDDFNCYDRQECVA
KKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:102)
- [0560] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0561] ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGTIEIVKQGCWLDDFNCYD
RQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 103)
- [0562] 杂合人ActRIIB-ECD

- [0563] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDQDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPEVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 104)
- [0564] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0565] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:105)
- [0566] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0567] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGEQDKRLHCYASWRNSSGSIEIVKKGCWLDDFNCYDRTDCVATEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO: 106)
- [0568] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0569] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVAKEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:107)
- [0570] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0571] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVAKEENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:108)
- [0572] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0573] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRRHCYASWRNSSGSIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:109)
- [0574] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0575] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:110)
- [0576] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0577] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGSIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:111)
- [0578] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0579] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:112)
- [0580] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0581] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:113)
- [0582] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0583] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:114)
- [0584] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0585] ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGDQDKRLHCYASWRNSSGTIEIVKKGCWLDDFNCYDRQECVAKKENPQVYFCCCEGNFCNEKFSYFPQMEVTQPTSNPVTPKPP (SEQ ID NO:115)
- [0586] 杂合人ActRIIB-ECD
- [0587] ETQECLFFNANWEKDRTNQTGVPEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO:116)
- [0588] 杂合人ActRIIB-ECD

- [0589] E⁺TRECIYYNANWELERTNQSGLERCYGDKDKRRHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDINCYD
RQECVATKENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT (SEQ ID NO: 117)
- [0590] 肽接头序列
- [0591] ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:118)

[0001] 序列表

[0002] <110> 奥健美国公司

[0003] <120> 用于治疗肌肉萎缩疾病的新型杂合ACTRIIB配体陷阱蛋白

[0004] <130> CACAG1.0003WO

[0005] <160> 118

[0006] <170> PatentIn version 3.5

[0007] <210> 1

[0008] <211> 110

[0009] <212> PRT

[0010] <213> 智人(Homo sapiens)

[0011] <400> 1

[0012] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg

[0013] 1 5 10 15

[0014] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg

[0015] 20 25 30

[0016] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

[0017] 35 40 45

[0018] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln

[0019] 50 55 60

[0020] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

[0021] 65 70 75 80

[0022] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

[0023] 85 90 95

[0024] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr

[0025] 100 105 110

[0026] <210> 2

[0027] <211> 110

[0028] <212> PRT

[0029] <213> 智人(Homo sapiens)

[0030] <400> 2

[0031] Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg

[0032] 1 5 10 15

[0033] Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg

[0034] 20 25 30

[0035] Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

[0036] 35 40 45

[0037] Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr

[0038] 50 55 60

[0039]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0040]	65 70 75 80
[0041]	Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu
[0042]	85 90 95
[0043]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[0044]	100 105 110
[0045]	<210> 3
[0046]	<211> 110
[0047]	<212> PRT
[0048]	<213> 人工的 (Artificial)
[0049]	<220>
[0050]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[0051]	<400> 3
[0052]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[0053]	1 5 10 15
[0054]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[0055]	20 25 30
[0056]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0057]	35 40 45
[0058]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[0059]	50 55 60
[0060]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0061]	65 70 75 80
[0062]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0063]	85 90 95
[0064]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0065]	100 105 110
[0066]	<210> 4
[0067]	<211> 110
[0068]	<212> PRT
[0069]	<213> 人工的 (Artificial)
[0070]	<220>
[0071]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[0072]	<400> 4
[0073]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[0074]	1 5 10 15
[0075]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[0076]	20 25 30
[0077]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

[0078]	35	40	45
[0079]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr		
[0080]	50	55	60
[0081]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[0082]	65	70	75
[0083]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[0084]	85	90	95
[0085]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[0086]	100	105	110
[0087]	<210> 5		
[0088]	<211> 110		
[0089]	<212> PRT		
[0090]	<213> 人工的 (Artificial)		
[0091]	<220>		
[0092]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[0093]	<400> 5		
[0094]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[0095]	1	5	10
[0096]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg		
[0097]	20	25	30
[0098]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu		
[0099]	35	40	45
[0100]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr		
[0101]	50	55	60
[0102]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[0103]	65	70	75
[0104]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[0105]	85	90	95
[0106]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[0107]	100	105	110
[0108]	<210> 6		
[0109]	<211> 110		
[0110]	<212> PRT		
[0111]	<213> 人工的 (Artificial)		
[0112]	<220>		
[0113]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[0114]	<400> 6		
[0115]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[0116]	1	5	10

[0117]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0118]	20 25 30
[0119]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0120]	35 40 45
[0121]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[0122]	50 55 60
[0123]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0124]	65 70 75 80
[0125]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0126]	85 90 95
[0127]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0128]	100 105 110
[0129]	<210> 7
[0130]	<211> 110
[0131]	<212> PRT
[0132]	<213> 人工的 (Artificial)
[0133]	<220>
[0134]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[0135]	<400> 7
[0136]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[0137]	1 5 10 15
[0138]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0139]	20 25 30
[0140]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0141]	35 40 45
[0142]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[0143]	50 55 60
[0144]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0145]	65 70 75 80
[0146]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0147]	85 90 95
[0148]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0149]	100 105 110
[0150]	<210> 8
[0151]	<211> 110
[0152]	<212> PRT
[0153]	<213> 人工的 (Artificial)
[0154]	<220>
[0155]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[0156] <400> 8
 [0157] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [0158] 1 5 10 15
 [0159] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [0160] 20 25 30
 [0161] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [0162] 35 40 45
 [0163] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [0164] 50 55 60
 [0165] Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [0166] 65 70 75 80
 [0167] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [0168] 85 90 95
 [0169] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [0170] 100 105 110
 [0171] <210> 9
 [0172] <211> 110
 [0173] <212> PRT
 [0174] <213> 人工的 (Artificial)
 [0175] <220>
 [0176] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [0177] <400> 9
 [0178] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [0179] 1 5 10 15
 [0180] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [0181] 20 25 30
 [0182] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [0183] 35 40 45
 [0184] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [0185] 50 55 60
 [0186] Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [0187] 65 70 75 80
 [0188] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [0189] 85 90 95
 [0190] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [0191] 100 105 110
 [0192] <210> 10
 [0193] <211> 110
 [0194] <212> PRT

[0195]	<213>	人工的 (Artificial)
[0196]	<220>	
[0197]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0198]	<400>	10
[0199]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0200]	1	5 10 15
[0201]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[0202]		20 25 30
[0203]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0204]		35 40 45
[0205]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0206]		50 55 60
[0207]	Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0208]	65	70 75 80
[0209]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0210]		85 90 95
[0211]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0212]		100 105 110
[0213]	<210>	11
[0214]	<211>	110
[0215]	<212>	PRT
[0216]	<213>	人工的 (Artificial)
[0217]	<220>	
[0218]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0219]	<400>	11
[0220]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0221]	1	5 10 15
[0222]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[0223]		20 25 30
[0224]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0225]		35 40 45
[0226]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0227]		50 55 60
[0228]	Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0229]	65	70 75 80
[0230]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0231]		85 90 95
[0232]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0233]		100 105 110

[0234] <210> 12
 [0235] <211> 110
 [0236] <212> PRT
 [0237] <213> 人工的 (Artificial)
 [0238] <220>
 [0239] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [0240] <400> 12
 [0241] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [0242] 1 5 10 15
 [0243] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [0244] 20 25 30
 [0245] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [0246] 35 40 45
 [0247] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [0248] 50 55 60
 [0249] Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [0250] 65 70 75 80
 [0251] Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [0252] 85 90 95
 [0253] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [0254] 100 105 110
 [0255] <210> 13
 [0256] <211> 110
 [0257] <212> PRT
 [0258] <213> 人工的 (Artificial)
 [0259] <220>
 [0260] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [0261] <400> 13
 [0262] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [0263] 1 5 10 15
 [0264] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
 [0265] 20 25 30
 [0266] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [0267] 35 40 45
 [0268] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [0269] 50 55 60
 [0270] Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [0271] 65 70 75 80
 [0272] Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

[0273]		85		90		95
[0274]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[0275]		100		105		110
[0276]	<210> 14					
[0277]	<211> 110					
[0278]	<212> PRT					
[0279]	<213> 人工的 (Artificial)					
[0280]	<220>					
[0281]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[0282]	<400> 14					
[0283]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg					
[0284]	1	5		10		15
[0285]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg					
[0286]		20		25		30
[0287]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[0288]		35		40		45
[0289]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[0290]		50		55		60
[0291]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[0292]	65	70		75		80
[0293]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly					
[0294]		85		90		95
[0295]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[0296]		100		105		110
[0297]	<210> 15					
[0298]	<211> 110					
[0299]	<212> PRT					
[0300]	<213> 人工的 (Artificial)					
[0301]	<220>					
[0302]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[0303]	<400> 15					
[0304]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg					
[0305]	1	5		10		15
[0306]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg					
[0307]		20		25		30
[0308]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[0309]		35		40		45
[0310]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[0311]		50		55		60

[0312] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0313] 65 70 75 80
[0314] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0315] 85 90 95
[0316] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0317] 100 105 110
[0318] <210> 16
[0319] <211> 110
[0320] <212> PRT
[0321] <213> 人工的 (Artificial)
[0322] <220>
[0323] <223> 杂合人ActRIIB ECD
[0324] <400> 16
[0325] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[0326] 1 5 10 15
[0327] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[0328] 20 25 30
[0329] Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0330] 35 40 45
[0331] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0332] 50 55 60
[0333] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0334] 65 70 75 80
[0335] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0336] 85 90 95
[0337] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0338] 100 105 110
[0339] <210> 17
[0340] <211> 110
[0341] <212> PRT
[0342] <213> 人工的 (Artificial)
[0343] <220>
[0344] <223> 杂合人ActRIIB ECD
[0345] <400> 17
[0346] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
[0347] 1 5 10 15
[0348] Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
[0349] 20 25 30
[0350] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

[0351]	35	40	45
[0352]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[0353]	50	55	60
[0354]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[0355]	65	70	75
[0356]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[0357]	85	90	95
[0358]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[0359]	100	105	110
[0360]	<210> 18		
[0361]	<211> 110		
[0362]	<212> PRT		
[0363]	<213> 人工的 (Artificial)		
[0364]	<220>		
[0365]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[0366]	<400> 18		
[0367]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg		
[0368]	1	5	10
[0369]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg		
[0370]	20	25	30
[0371]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu		
[0372]	35	40	45
[0373]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[0374]	50	55	60
[0375]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[0376]	65	70	75
[0377]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[0378]	85	90	95
[0379]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[0380]	100	105	110
[0381]	<210> 19		
[0382]	<211> 110		
[0383]	<212> PRT		
[0384]	<213> 人工的 (Artificial)		
[0385]	<220>		
[0386]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[0387]	<400> 19		
[0388]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg		
[0389]	1	5	10

[0390]	Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0391]	20 25 30
[0392]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0393]	35 40 45
[0394]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0395]	50 55 60
[0396]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0397]	65 70 75 80
[0398]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0399]	85 90 95
[0400]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0401]	100 105 110
[0402]	<210> 20
[0403]	<211> 110
[0404]	<212> PRT
[0405]	<213> 人工的 (Artificial)
[0406]	<220>
[0407]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[0408]	<400> 20
[0409]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
[0410]	1 5 10 15
[0411]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0412]	20 25 30
[0413]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0414]	35 40 45
[0415]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0416]	50 55 60
[0417]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0418]	65 70 75 80
[0419]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0420]	85 90 95
[0421]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0422]	100 105 110
[0423]	<210> 21
[0424]	<211> 110
[0425]	<212> PRT
[0426]	<213> 人工的 (Artificial)
[0427]	<220>
[0428]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[0429]	<400> 21
[0430]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
[0431]	1 5 10 15
[0432]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0433]	20 25 30
[0434]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0435]	35 40 45
[0436]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0437]	50 55 60
[0438]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0439]	65 70 75 80
[0440]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0441]	85 90 95
[0442]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0443]	100 105 110
[0444]	<210> 22
[0445]	<211> 110
[0446]	<212> PRT
[0447]	<213> 人工的 (Artificial)
[0448]	<220>
[0449]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[0450]	<400> 22
[0451]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[0452]	1 5 10 15
[0453]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0454]	20 25 30
[0455]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0456]	35 40 45
[0457]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0458]	50 55 60
[0459]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0460]	65 70 75 80
[0461]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0462]	85 90 95
[0463]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0464]	100 105 110
[0465]	<210> 23
[0466]	<211> 110
[0467]	<212> PRT

[0468]	<213>	人工的 (Artificial)
[0469]	<220>	
[0470]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0471]	<400>	23
[0472]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0473]	1	5 10 15
[0474]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[0475]		20 25 30
[0476]	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0477]		35 40 45
[0478]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0479]		50 55 60
[0480]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0481]		65 70 75 80
[0482]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0483]		85 90 95
[0484]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0485]		100 105 110
[0486]	<210>	24
[0487]	<211>	110
[0488]	<212>	PRT
[0489]	<213>	人工的 (Artificial)
[0490]	<220>	
[0491]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0492]	<400>	24
[0493]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0494]	1	5 10 15
[0495]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg	
[0496]		20 25 30
[0497]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0498]		35 40 45
[0499]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0500]		50 55 60
[0501]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0502]		65 70 75 80
[0503]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0504]		85 90 95
[0505]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0506]		100 105 110

[0507] <210> 25
 [0508] <211> 110
 [0509] <212> PRT
 [0510] <213> 人工的 (Artificial)
 [0511] <220>
 [0512] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [0513] <400> 25
 [0514] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [0515] 1 5 10 15
 [0516] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [0517] 20 25 30
 [0518] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [0519] 35 40 45
 [0520] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [0521] 50 55 60
 [0522] Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [0523] 65 70 75 80
 [0524] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [0525] 85 90 95
 [0526] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [0527] 100 105 110
 [0528] <210> 26
 [0529] <211> 110
 [0530] <212> PRT
 [0531] <213> 人工的 (Artificial)
 [0532] <220>
 [0533] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [0534] <400> 26
 [0535] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [0536] 1 5 10 15
 [0537] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [0538] 20 25 30
 [0539] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [0540] 35 40 45
 [0541] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [0542] 50 55 60
 [0543] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [0544] 65 70 75 80
 [0545] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

[0546]		85		90		95
[0547]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[0548]		100		105		110
[0549]	<210> 27					
[0550]	<211> 110					
[0551]	<212> PRT					
[0552]	<213> 人工的 (Artificial)					
[0553]	<220>					
[0554]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[0555]	<400> 27					
[0556]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[0557]	1	5		10		15
[0558]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[0559]		20		25		30
[0560]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[0561]		35		40		45
[0562]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[0563]		50		55		60
[0564]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[0565]	65	70		75		80
[0566]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly					
[0567]		85		90		95
[0568]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[0569]		100		105		110
[0570]	<210> 28					
[0571]	<211> 110					
[0572]	<212> PRT					
[0573]	<213> 人工的 (Artificial)					
[0574]	<220>					
[0575]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[0576]	<400> 28					
[0577]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[0578]	1	5		10		15
[0579]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Lys Asp Lys Arg					
[0580]		20		25		30
[0581]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[0582]		35		40		45
[0583]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[0584]		50		55		60

[0624]	35	40	45
[0625]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[0626]	50	55	60
[0627]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[0628]	65	70	75
[0629]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[0630]	85	90	95
[0631]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[0632]	100	105	110
[0633]	<210> 31		
[0634]	<211> 110		
[0635]	<212> PRT		
[0636]	<213> 人工的 (Artificial)		
[0637]	<220>		
[0638]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[0639]	<400> 31		
[0640]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[0641]	1	5	10
[0642]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg		
[0643]	20	25	30
[0644]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu		
[0645]	35	40	45
[0646]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[0647]	50	55	60
[0648]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[0649]	65	70	75
[0650]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[0651]	85	90	95
[0652]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[0653]	100	105	110
[0654]	<210> 32		
[0655]	<211> 110		
[0656]	<212> PRT		
[0657]	<213> 人工的 (Artificial)		
[0658]	<220>		
[0659]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[0660]	<400> 32		
[0661]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[0662]	1	5	10

[0663]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[0664]	20 25 30
[0665]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0666]	35 40 45
[0667]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0668]	50 55 60
[0669]	Glu Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0670]	65 70 75 80
[0671]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0672]	85 90 95
[0673]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0674]	100 105 110
[0675]	<210> 33
[0676]	<211> 110
[0677]	<212> PRT
[0678]	<213> 人工的(Artificial)
[0679]	<220>
[0680]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[0681]	<400> 33
[0682]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
[0683]	1 5 10 15
[0684]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[0685]	20 25 30
[0686]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[0687]	35 40 45
[0688]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[0689]	50 55 60
[0690]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[0691]	65 70 75 80
[0692]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[0693]	85 90 95
[0694]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[0695]	100 105 110
[0696]	<210> 34
[0697]	<211> 110
[0698]	<212> PRT
[0699]	<213> 人工的(Artificial)
[0700]	<220>
[0701]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[0702]	<400>	34
[0703]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0704]	1	5 10 15
[0705]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[0706]		20 25 30
[0707]	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Leu	
[0708]		35 40 45
[0709]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0710]		50 55 60
[0711]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0712]		65 70 75 80
[0713]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0714]		85 90 95
[0715]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0716]		100 105 110
[0717]	<210>	35
[0718]	<211>	110
[0719]	<212>	PRT
[0720]	<213>	人工的 (Artificial)
[0721]	<220>	
[0722]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0723]	<400>	35
[0724]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0725]	1	5 10 15
[0726]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[0727]		20 25 30
[0728]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0729]		35 40 45
[0730]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[0731]		50 55 60
[0732]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0733]		65 70 75 80
[0734]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0735]		85 90 95
[0736]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0737]		100 105 110
[0738]	<210>	36
[0739]	<211>	110
[0740]	<212>	PRT

[0741]	<213>	人工的 (Artificial)
[0742]	<220>	
[0743]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0744]	<400>	36
[0745]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0746]	1	5 10 15
[0747]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[0748]		20 25 30
[0749]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0750]		35 40 45
[0751]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0752]		50 55 60
[0753]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0754]		65 70 75 80
[0755]	Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0756]		85 90 95
[0757]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0758]		100 105 110
[0759]	<210>	37
[0760]	<211>	110
[0761]	<212>	PRT
[0762]	<213>	人工的 (Artificial)
[0763]	<220>	
[0764]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[0765]	<400>	37
[0766]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[0767]	1	5 10 15
[0768]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg	
[0769]		20 25 30
[0770]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[0771]		35 40 45
[0772]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[0773]		50 55 60
[0774]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[0775]		65 70 75 80
[0776]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[0777]		85 90 95
[0778]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[0779]		100 105 110

[0780] <210> 38
 [0781] <211> 330
 [0782] <212> PRT
 [0783] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0784] <400> 38
 [0785] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [0786] 1 5 10 15
 [0787] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [0788] 20 25 30
 [0789] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [0790] 35 40 45
 [0791] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [0792] 50 55 60
 [0793] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [0794] 65 70 75 80
 [0795] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [0796] 85 90 95
 [0797] Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [0798] 100 105 110
 [0799] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [0800] 115 120 125
 [0801] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [0802] 130 135 140
 [0803] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [0804] 145 150 155 160
 [0805] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [0806] 165 170 175
 [0807] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [0808] 180 185 190
 [0809] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [0810] 195 200 205
 [0811] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [0812] 210 215 220
 [0813] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 [0814] 225 230 235 240
 [0815] Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [0816] 245 250 255
 [0817] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [0818] 260 265 270

[0819]	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
[0820]	275 280 285
[0821]	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
[0822]	290 295 300
[0823]	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
[0824]	305 310 315 320
[0825]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0826]	325 330
[0827]	<210> 39
[0828]	<211> 208
[0829]	<212> PRT
[0830]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0831]	<400> 39
[0832]	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
[0833]	1 5 10 15
[0834]	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
[0835]	20 25 30
[0836]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
[0837]	35 40 45
[0838]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
[0839]	50 55 60
[0840]	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
[0841]	65 70 75 80
[0842]	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
[0843]	85 90 95
[0844]	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
[0845]	100 105 110
[0846]	Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
[0847]	115 120 125
[0848]	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
[0849]	130 135 140
[0850]	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
[0851]	145 150 155 160
[0852]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
[0853]	165 170 175
[0854]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
[0855]	180 185 190
[0856]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0857]	195 200 205

[0897]	Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[0898]	275 280 285
[0899]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0900]	290 295 300
[0901]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[0902]	305 310 315 320
[0903]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0904]	325
[0905]	<210> 41
[0906]	<211> 207
[0907]	<212> PRT
[0908]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0909]	<400> 41
[0910]	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
[0911]	1 5 10 15
[0912]	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
[0913]	20 25 30
[0914]	Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
[0915]	35 40 45
[0916]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
[0917]	50 55 60
[0918]	Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
[0919]	65 70 75 80
[0920]	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
[0921]	85 90 95
[0922]	Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
[0923]	100 105 110
[0924]	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
[0925]	115 120 125
[0926]	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
[0927]	130 135 140
[0928]	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
[0929]	145 150 155 160
[0930]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
[0931]	165 170 175
[0932]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[0933]	180 185 190
[0934]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0935]	195 200 205

[0936] <210> 42
 [0937] <211> 327
 [0938] <212> PRT
 [0939] <213> 智人 (Homo sapiens)
 [0940] <400> 42
 [0941] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 [0942] 1 5 10 15
 [0943] Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [0944] 20 25 30
 [0945] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [0946] 35 40 45
 [0947] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [0948] 50 55 60
 [0949] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 [0950] 65 70 75 80
 [0951] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [0952] 85 90 95
 [0953] Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 [0954] 100 105 110
 [0955] Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 [0956] 115 120 125
 [0957] Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 [0958] 130 135 140
 [0959] Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 [0960] 145 150 155 160
 [0961] Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 [0962] 165 170 175
 [0963] Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 [0964] 180 185 190
 [0965] Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 [0966] 195 200 205
 [0967] Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 [0968] 210 215 220
 [0969] Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 [0970] 225 230 235 240
 [0971] Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 [0972] 245 250 255
 [0973] Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 [0974] 260 265 270

[0975]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
[0976]	275 280 285
[0977]	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
[0978]	290 295 300
[0979]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
[0980]	305 310 315 320
[0981]	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0982]	325
[0983]	<210> 43
[0984]	<211> 217
[0985]	<212> PRT
[0986]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0987]	<400> 43
[0988]	Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
[0989]	1 5 10 15
[0990]	Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
[0991]	20 25 30
[0992]	Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
[0993]	35 40 45
[0994]	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
[0995]	50 55 60
[0996]	Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
[0997]	65 70 75 80
[0998]	Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
[0999]	85 90 95
[1000]	Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
[1001]	100 105 110
[1002]	Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
[1003]	115 120 125
[1004]	Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
[1005]	130 135 140
[1006]	Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
[1007]	145 150 155 160
[1008]	Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
[1009]	165 170 175
[1010]	Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
[1011]	180 185 190
[1012]	Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
[1013]	195 200 205

[1014] Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 [1015] 210 215
 [1016] <210> 44
 [1017] <211> 5
 [1018] <212> PRT
 [1019] <213> 人工的 (Artificial)
 [1020] <220>
 [1021] <223> 肽接头
 [1022] <400> 44
 [1023] Gly Gly Gly Gly Ser
 [1024] 1 5
 [1025] <210> 45
 [1026] <211> 512
 [1027] <212> PRT
 [1028] <213> 智人 (Homo sapiens)
 [1029] <400> 45
 [1030] Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys
 [1031] 1 5 10 15
 [1032] Ala Gly Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr
 [1033] 20 25 30
 [1034] Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg
 [1035] 35 40 45
 [1036] Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg
 [1037] 50 55 60
 [1038] Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp
 [1039] 65 70 75 80
 [1040] Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn
 [1041] 85 90 95
 [1042] Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg
 [1043] 100 105 110
 [1044] Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro
 [1045] 115 120 125
 [1046] Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu
 [1047] 130 135 140
 [1048] Pro Ile Gly Gly Leu Ser Leu Ile Val Leu Leu Ala Phe Trp Met Tyr
 [1049] 145 150 155 160
 [1050] Arg His Arg Lys Pro Pro Tyr Gly His Val Asp Ile His Glu Asp Pro
 [1051] 165 170 175
 [1052] Gly Pro Pro Pro Pro Ser Pro Leu Val Gly Leu Lys Pro Leu Gln Leu

[1092]	Val Thr Ser Val Thr Asn Val Asp Leu Pro Pro Lys Glu Ser Ser Ile
[1093]	500 505 510
[1094]	<210> 46
[1095]	<211> 116
[1096]	<212> PRT
[1097]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1098]	<400> 46
[1099]	Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
[1100]	1 5 10 15
[1101]	Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
[1102]	20 25 30
[1103]	Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser
[1104]	35 40 45
[1105]	Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
[1106]	50 55 60
[1107]	Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
[1108]	65 70 75 80
[1109]	Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
[1110]	85 90 95
[1111]	His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro
[1112]	100 105 110
[1113]	Thr Ala Pro Thr
[1114]	115
[1115]	<210> 47
[1116]	<211> 513
[1117]	<212> PRT
[1118]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1119]	<400> 47
[1120]	Met Gly Ala Ala Thr Lys Leu Ala Phe Ala Val Phe Leu Ile Ser Cys
[1121]	1 5 10 15
[1122]	Ser Ser Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr
[1123]	20 25 30
[1124]	Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Lys Thr Asn Arg Ser Gly Ile Glu
[1125]	35 40 45
[1126]	Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp
[1127]	50 55 60
[1128]	Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu
[1129]	65 70 75 80
[1130]	Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Asn Asp Cys Ile Glu Lys Lys Asp

[1131]		85		90		95
[1132]	Ser Pro Glu Val Phe Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu					
[1133]		100		105		110
[1134]	Arg Phe Phe Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn					
[1135]		115		120		125
[1136]	Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Leu Phe Asn Thr Leu Leu Tyr Ser Leu					
[1137]		130		135		140
[1138]	Val Pro Ile Met Gly Ile Ala Val Ile Val Leu Phe Ser Phe Trp Met					
[1139]		145		150		160
[1140]	Tyr Arg His His Lys Leu Ala Tyr Pro Pro Val Leu Val Pro Thr Gln					
[1141]		165		170		175
[1142]	Asp Pro Gly Pro Pro Pro Pro Ser Pro Leu Met Gly Leu Lys Pro Leu					
[1143]		180		185		190
[1144]	Gln Leu Leu Glu Ile Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys					
[1145]		195		200		205
[1146]	Ala Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Ile Gln					
[1147]		210		215		220
[1148]	Asp Lys Gln Ser Trp Gln Asn Glu Tyr Glu Ile Tyr Ser Leu Pro Gly					
[1149]		225		230		240
[1150]	Met Lys His Asp Asn Ile Leu Gln Phe Ile Gly Ala Glu Lys Arg Gly					
[1151]		245		250		255
[1152]	Thr Ser Ile Asp Val Asp Leu Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Glu Lys					
[1153]		260		265		270
[1154]	Gly Ser Leu Thr Asp Phe Leu Lys Ala Asn Val Val Ser Trp Asn Glu					
[1155]		275		280		285
[1156]	Leu Cys His Ile Ala Gln Thr Met Ala Arg Gly Leu Ala Tyr Leu His					
[1157]		290		295		300
[1158]	Glu Asp Ile Pro Gly Leu Lys Asp Gly His Lys Pro Ala Ile Ser His					
[1159]		305		310		320
[1160]	Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Asn Asn Leu Thr Ala					
[1161]		325		330		335
[1162]	Cys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Leu Lys Phe Glu Ala Gly Lys Ser					
[1163]		340		345		350
[1164]	Ala Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro					
[1165]		355		360		365
[1166]	Glu Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg					
[1167]		370		375		380
[1168]	Ile Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Ala Ser Arg					
[1169]		385		390		400

[1170] Cys Thr Ala Ser Asp Gly Pro Val Asp Glu Tyr Met Leu Pro Phe Glu
 [1171] 405 410 415
 [1172] Glu Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Asp Met Gln Glu Val Val
 [1173] 420 425 430
 [1174] Val His Lys Lys Lys Arg Pro Val Leu Arg Glu Cys Trp Gln Lys His
 [1175] 435 440 445
 [1176] Ser Gly Met Ala Met Leu Cys Glu Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His
 [1177] 450 455 460
 [1178] Asp Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Glu Glu Arg Ile Ile
 [1179] 465 470 475 480
 [1180] Gln Met Gln Lys Leu Thr Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Ile Val Thr
 [1181] 485 490 495
 [1182] Val Val Thr Met Val Thr Asn Val Asp Phe Pro Pro Lys Glu Ser Ser
 [1183] 500 505 510
 [1184] Leu
 [1185] <210> 48
 [1186] <211> 116
 [1187] <212> PRT
 [1188] <213> 智人(Homo sapiens)
 [1189] <400> 48
 [1190] Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala
 [1191] 1 5 10 15
 [1192] Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr
 [1193] 20 25 30
 [1194] Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile
 [1195] 35 40 45
 [1196] Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile
 [1197] 50 55 60
 [1198] Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu
 [1199] 65 70 75 80
 [1200] Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser
 [1201] 85 90 95
 [1202] Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr
 [1203] 100 105 110
 [1204] Pro Lys Pro Pro
 [1205] 115
 [1206] <210> 49
 [1207] <211> 18
 [1208] <212> PRT

[1287]		85		90		95
[1288]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[1289]		100		105		110
[1290]	<210> 54					
[1291]	<211> 110					
[1292]	<212> PRT					
[1293]	<213> 人工的 (Artificial)					
[1294]	<220>					
[1295]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[1296]	<400> 54					
[1297]	Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg					
[1298]	1	5		10		15
[1299]	Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[1300]		20		25		30
[1301]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[1302]		35		40		45
[1303]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[1304]		50		55		60
[1305]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[1306]	65	70		75		80
[1307]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly					
[1308]		85		90		95
[1309]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[1310]		100		105		110
[1311]	<210> 55					
[1312]	<211> 110					
[1313]	<212> PRT					
[1314]	<213> 人工的 (Artificial)					
[1315]	<220>					
[1316]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[1317]	<400> 55					
[1318]	Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg					
[1319]	1	5		10		15
[1320]	Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg					
[1321]		20		25		30
[1322]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[1323]		35		40		45
[1324]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[1325]		50		55		60

[1365]	35	40	45
[1366]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[1367]	50	55	60
[1368]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[1369]	65	70	75
[1370]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[1371]	85	90	95
[1372]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[1373]	100	105	110
[1374]	<210> 58		
[1375]	<211> 110		
[1376]	<212> PRT		
[1377]	<213> 人工的 (Artificial)		
[1378]	<220>		
[1379]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[1380]	<400> 58		
[1381]	Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg		
[1382]	1	5	10
[1383]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg		
[1384]	20	25	30
[1385]	Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile		
[1386]	35	40	45
[1387]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr		
[1388]	50	55	60
[1389]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[1390]	65	70	75
[1391]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[1392]	85	90	95
[1393]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[1394]	100	105	110
[1395]	<210> 59		
[1396]	<211> 110		
[1397]	<212> PRT		
[1398]	<213> 人工的 (Artificial)		
[1399]	<220>		
[1400]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[1401]	<400> 59		
[1402]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[1403]	1	5	10

[1404]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1405]	20 25 30
[1406]	Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
[1407]	35 40 45
[1408]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[1409]	50 55 60
[1410]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1411]	65 70 75 80
[1412]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1413]	85 90 95
[1414]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1415]	100 105 110
[1416]	<210> 60
[1417]	<211> 110
[1418]	<212> PRT
[1419]	<213> 人工的(Artificial)
[1420]	<220>
[1421]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[1422]	<400> 60
[1423]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1424]	1 5 10 15
[1425]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1426]	20 25 30
[1427]	Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
[1428]	35 40 45
[1429]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[1430]	50 55 60
[1431]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1432]	65 70 75 80
[1433]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1434]	85 90 95
[1435]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1436]	100 105 110
[1437]	<210> 61
[1438]	<211> 110
[1439]	<212> PRT
[1440]	<213> 人工的(Artificial)
[1441]	<220>
[1442]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[1443] <400> 61
 [1444] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [1445] 1 5 10 15
 [1446] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 [1447] 20 25 30
 [1448] Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
 [1449] 35 40 45
 [1450] Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [1451] 50 55 60
 [1452] Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [1453] 65 70 75 80
 [1454] Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [1455] 85 90 95
 [1456] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [1457] 100 105 110
 [1458] <210> 62
 [1459] <211> 110
 [1460] <212> PRT
 [1461] <213> 人工的 (Artificial)
 [1462] <220>
 [1463] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [1464] <400> 62
 [1465] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [1466] 1 5 10 15
 [1467] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [1468] 20 25 30
 [1469] Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
 [1470] 35 40 45
 [1471] Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [1472] 50 55 60
 [1473] Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [1474] 65 70 75 80
 [1475] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [1476] 85 90 95
 [1477] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [1478] 100 105 110
 [1479] <210> 63
 [1480] <211> 110
 [1481] <212> PRT

[1482]	<213>	人工的 (Artificial)
[1483]	<220>	
[1484]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[1485]	<400>	63
[1486]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[1487]	1	5 10 15
[1488]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[1489]		20 25 30
[1490]	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile	
[1491]		35 40 45
[1492]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[1493]		50 55 60
[1494]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[1495]		65 70 75 80
[1496]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[1497]		85 90 95
[1498]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[1499]		100 105 110
[1500]	<210>	64
[1501]	<211>	110
[1502]	<212>	PRT
[1503]	<213>	人工的 (Artificial)
[1504]	<220>	
[1505]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[1506]	<400>	64
[1507]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[1508]	1	5 10 15
[1509]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[1510]		20 25 30
[1511]	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile	
[1512]		35 40 45
[1513]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[1514]		50 55 60
[1515]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[1516]		65 70 75 80
[1517]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[1518]		85 90 95
[1519]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[1520]		100 105 110

[1521]	<210>	65
[1522]	<211>	110
[1523]	<212>	PRT
[1524]	<213>	人工的 (Artificial)
[1525]	<220>	
[1526]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[1527]	<400>	65
[1528]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[1529]	1	5 10 15
[1530]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[1531]		20 25 30
[1532]	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile	
[1533]		35 40 45
[1534]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[1535]		50 55 60
[1536]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[1537]		65 70 75 80
[1538]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[1539]		85 90 95
[1540]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[1541]		100 105 110
[1542]	<210>	66
[1543]	<211>	110
[1544]	<212>	PRT
[1545]	<213>	人工的 (Artificial)
[1546]	<220>	
[1547]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[1548]	<400>	66
[1549]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[1550]	1	5 10 15
[1551]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg	
[1552]		20 25 30
[1553]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[1554]		35 40 45
[1555]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[1556]		50 55 60
[1557]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[1558]		65 70 75 80
[1559]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	

[1560]		85		90		95
[1561]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[1562]		100		105		110
[1563]	<210> 67					
[1564]	<211> 110					
[1565]	<212> PRT					
[1566]	<213> 人工的 (Artificial)					
[1567]	<220>					
[1568]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[1569]	<400> 67					
[1570]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[1571]	1	5		10		15
[1572]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg					
[1573]		20		25		30
[1574]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[1575]		35		40		45
[1576]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr					
[1577]		50		55		60
[1578]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[1579]	65	70		75		80
[1580]	Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly					
[1581]		85		90		95
[1582]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[1583]		100		105		110
[1584]	<210> 68					
[1585]	<211> 110					
[1586]	<212> PRT					
[1587]	<213> 人工的 (Artificial)					
[1588]	<220>					
[1589]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[1590]	<400> 68					
[1591]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[1592]	1	5		10		15
[1593]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg					
[1594]		20		25		30
[1595]	Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile					
[1596]		35		40		45
[1597]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr					
[1598]		50		55		60

[1599]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1600]	65 70 75 80
[1601]	Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1602]	85 90 95
[1603]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1604]	100 105 110
[1605]	<210> 69
[1606]	<211> 110
[1607]	<212> PRT
[1608]	<213> 人工的 (Artificial)
[1609]	<220>
[1610]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[1611]	<400> 69
[1612]	Glu Thr Gln Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1613]	1 5 10 15
[1614]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1615]	20 25 30
[1616]	Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile
[1617]	35 40 45
[1618]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[1619]	50 55 60
[1620]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1621]	65 70 75 80
[1622]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1623]	85 90 95
[1624]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1625]	100 105 110
[1626]	<210> 70
[1627]	<211> 110
[1628]	<212> PRT
[1629]	<213> 人工的 (Artificial)
[1630]	<220>
[1631]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[1632]	<400> 70
[1633]	Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg
[1634]	1 5 10 15
[1635]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[1636]	20 25 30
[1637]	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile

[1638]	35	40	45
[1639]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr		
[1640]	50	55	60
[1641]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[1642]	65	70	75
[1643]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[1644]	85	90	95
[1645]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[1646]	100	105	110
[1647]	<210> 71		
[1648]	<211> 110		
[1649]	<212> PRT		
[1650]	<213> 人工的 (Artificial)		
[1651]	<220>		
[1652]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[1653]	<400> 71		
[1654]	Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg		
[1655]	1	5	10
[1656]	Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg		
[1657]	20	25	30
[1658]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu		
[1659]	35	40	45
[1660]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr		
[1661]	50	55	60
[1662]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[1663]	65	70	75
[1664]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly		
[1665]	85	90	95
[1666]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr		
[1667]	100	105	110
[1668]	<210> 72		
[1669]	<211> 110		
[1670]	<212> PRT		
[1671]	<213> 人工的 (Artificial)		
[1672]	<220>		
[1673]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[1674]	<400> 72		
[1675]	Glu Thr Arg Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg		
[1676]	1	5	10

[1677]	Thr Asn Gln Ser Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1678]	20 25 30
[1679]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[1680]	35 40 45
[1681]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[1682]	50 55 60
[1683]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1684]	65 70 75 80
[1685]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1686]	85 90 95
[1687]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1688]	100 105 110
[1689]	<210> 73
[1690]	<211> 110
[1691]	<212> PRT
[1692]	<213> 人工的(Artificial)
[1693]	<220>
[1694]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[1695]	<400> 73
[1696]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1697]	1 5 10 15
[1698]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1699]	20 25 30
[1700]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[1701]	35 40 45
[1702]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[1703]	50 55 60
[1704]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1705]	65 70 75 80
[1706]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1707]	85 90 95
[1708]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1709]	100 105 110
[1710]	<210> 74
[1711]	<211> 110
[1712]	<212> PRT
[1713]	<213> 人工的(Artificial)
[1714]	<220>
[1715]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[1716]	<400> 74
[1717]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1718]	1 5 10 15
[1719]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1720]	20 25 30
[1721]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[1722]	35 40 45
[1723]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[1724]	50 55 60
[1725]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1726]	65 70 75 80
[1727]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1728]	85 90 95
[1729]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1730]	100 105 110
[1731]	<210> 75
[1732]	<211> 110
[1733]	<212> PRT
[1734]	<213> 人工的 (Artificial)
[1735]	<220>
[1736]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[1737]	<400> 75
[1738]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1739]	1 5 10 15
[1740]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1741]	20 25 30
[1742]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile
[1743]	35 40 45
[1744]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
[1745]	50 55 60
[1746]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1747]	65 70 75 80
[1748]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
[1749]	85 90 95
[1750]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
[1751]	100 105 110
[1752]	<210> 76
[1753]	<211> 110
[1754]	<212> PRT

[1755]	<213>	人工的 (Artificial)
[1756]	<220>	
[1757]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[1758]	<400>	76
[1759]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[1760]	1	5 10 15
[1761]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg	
[1762]		20 25 30
[1763]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu	
[1764]		35 40 45
[1765]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[1766]		50 55 60
[1767]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[1768]	65	70 75 80
[1769]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[1770]		85 90 95
[1771]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[1772]		100 105 110
[1773]	<210>	77
[1774]	<211>	110
[1775]	<212>	PRT
[1776]	<213>	人工的 (Artificial)
[1777]	<220>	
[1778]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[1779]	<400>	77
[1780]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[1781]	1	5 10 15
[1782]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg	
[1783]		20 25 30
[1784]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile	
[1785]		35 40 45
[1786]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[1787]		50 55 60
[1788]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[1789]	65	70 75 80
[1790]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[1791]		85 90 95
[1792]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[1793]		100 105 110

[1794] <210> 78
 [1795] <211> 110
 [1796] <212> PRT
 [1797] <213> 人工的 (Artificial)
 [1798] <220>
 [1799] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [1800] <400> 78
 [1801] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [1802] 1 5 10 15
 [1803] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 [1804] 20 25 30
 [1805] Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile
 [1806] 35 40 45
 [1807] Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [1808] 50 55 60
 [1809] Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [1810] 65 70 75 80
 [1811] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 [1812] 85 90 95
 [1813] Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
 [1814] 100 105 110
 [1815] <210> 79
 [1816] <211> 110
 [1817] <212> PRT
 [1818] <213> 人工的 (Artificial)
 [1819] <220>
 [1820] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [1821] <400> 79
 [1822] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [1823] 1 5 10 15
 [1824] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [1825] 20 25 30
 [1826] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [1827] 35 40 45
 [1828] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [1829] 50 55 60
 [1830] Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [1831] 65 70 75 80
 [1832] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly

[1833]		85		90		95
[1834]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr					
[1835]		100		105		110
[1836]	<210> 80					
[1837]	<211> 110					
[1838]	<212> PRT					
[1839]	<213> 人工的 (Artificial)					
[1840]	<220>					
[1841]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[1842]	<400> 80					
[1843]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[1844]	1	5		10		15
[1845]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[1846]		20		25		30
[1847]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[1848]		35		40		45
[1849]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[1850]		50		55		60
[1851]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[1852]	65	70		75		80
[1853]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu					
[1854]		85		90		95
[1855]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro					
[1856]		100		105		110
[1857]	<210> 81					
[1858]	<211> 110					
[1859]	<212> PRT					
[1860]	<213> 人工的 (Artificial)					
[1861]	<220>					
[1862]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[1863]	<400> 81					
[1864]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[1865]	1	5		10		15
[1866]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[1867]		20		25		30
[1868]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[1869]		35		40		45
[1870]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[1871]		50		55		60

[1872] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [1873] 65 70 75 80
 [1874] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
 [1875] 85 90 95
 [1876] Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 [1877] 100 105 110
 [1878] <210> 82
 [1879] <211> 110
 [1880] <212> PRT
 [1881] <213> 人工的 (Artificial)
 [1882] <220>
 [1883] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [1884] <400> 82
 [1885] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [1886] 1 5 10 15
 [1887] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 [1888] 20 25 30
 [1889] Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [1890] 35 40 45
 [1891] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr
 [1892] 50 55 60
 [1893] Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [1894] 65 70 75 80
 [1895] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu
 [1896] 85 90 95
 [1897] Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 [1898] 100 105 110
 [1899] <210> 83
 [1900] <211> 110
 [1901] <212> PRT
 [1902] <213> 人工的 (Artificial)
 [1903] <220>
 [1904] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [1905] <400> 83
 [1906] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [1907] 1 5 10 15
 [1908] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
 [1909] 20 25 30
 [1910] Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

[1911]	35	40	45
[1912]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr		
[1913]	50	55	60
[1914]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[1915]	65	70	75
[1916]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu		
[1917]	85	90	95
[1918]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro		
[1919]	100	105	110
[1920]	<210> 84		
[1921]	<211> 110		
[1922]	<212> PRT		
[1923]	<213> 人工的 (Artificial)		
[1924]	<220>		
[1925]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[1926]	<400> 84		
[1927]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[1928]	1	5	10
[1929]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg		
[1930]	20	25	30
[1931]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu		
[1932]	35	40	45
[1933]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[1934]	50	55	60
[1935]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[1936]	65	70	75
[1937]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu		
[1938]	85	90	95
[1939]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro		
[1940]	100	105	110
[1941]	<210> 85		
[1942]	<211> 110		
[1943]	<212> PRT		
[1944]	<213> 人工的 (Artificial)		
[1945]	<220>		
[1946]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[1947]	<400> 85		
[1948]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[1949]	1	5	10

[1950]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1951]	20 25 30
[1952]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[1953]	35 40 45
[1954]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[1955]	50 55 60
[1956]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1957]	65 70 75 80
[1958]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[1959]	85 90 95
[1960]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[1961]	100 105 110
[1962]	<210> 86
[1963]	<211> 110
[1964]	<212> PRT
[1965]	<213> 人工的 (Artificial)
[1966]	<220>
[1967]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[1968]	<400> 86
[1969]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1970]	1 5 10 15
[1971]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1972]	20 25 30
[1973]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile
[1974]	35 40 45
[1975]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[1976]	50 55 60
[1977]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1978]	65 70 75 80
[1979]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[1980]	85 90 95
[1981]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[1982]	100 105 110
[1983]	<210> 87
[1984]	<211> 110
[1985]	<212> PRT
[1986]	<213> 人工的 (Artificial)
[1987]	<220>
[1988]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[1989]	<400> 87
[1990]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[1991]	1 5 10 15
[1992]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg
[1993]	20 25 30
[1994]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu
[1995]	35 40 45
[1996]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[1997]	50 55 60
[1998]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[1999]	65 70 75 80
[2000]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2001]	85 90 95
[2002]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2003]	100 105 110
[2004]	<210> 88
[2005]	<211> 110
[2006]	<212> PRT
[2007]	<213> 人工的 (Artificial)
[2008]	<220>
[2009]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[2010]	<400> 88
[2011]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[2012]	1 5 10 15
[2013]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[2014]	20 25 30
[2015]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu
[2016]	35 40 45
[2017]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[2018]	50 55 60
[2019]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2020]	65 70 75 80
[2021]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2022]	85 90 95
[2023]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2024]	100 105 110
[2025]	<210> 89
[2026]	<211> 110
[2027]	<212> PRT

[2028]	<213>	人工的 (Artificial)
[2029]	<220>	
[2030]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2031]	<400>	89
[2032]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2033]	1	5 10 15
[2034]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[2035]		20 25 30
[2036]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile	
[2037]		35 40 45
[2038]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2039]		50 55 60
[2040]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2041]		65 70 75 80
[2042]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2043]		85 90 95
[2044]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2045]		100 105 110
[2046]	<210>	90
[2047]	<211>	110
[2048]	<212>	PRT
[2049]	<213>	人工的 (Artificial)
[2050]	<220>	
[2051]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2052]	<400>	90
[2053]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2054]	1	5 10 15
[2055]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[2056]		20 25 30
[2057]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[2058]		35 40 45
[2059]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2060]		50 55 60
[2061]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2062]		65 70 75 80
[2063]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2064]		85 90 95
[2065]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2066]		100 105 110

[2067]	<210>	91
[2068]	<211>	110
[2069]	<212>	PRT
[2070]	<213>	人工的 (Artificial)
[2071]	<220>	
[2072]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2073]	<400>	91
[2074]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2075]	1	5 10 15
[2076]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[2077]		20 25 30
[2078]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[2079]		35 40 45
[2080]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2081]		50 55 60
[2082]	Glu Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2083]		65 70 75 80
[2084]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2085]		85 90 95
[2086]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2087]		100 105 110
[2088]	<210>	92
[2089]	<211>	110
[2090]	<212>	PRT
[2091]	<213>	人工的 (Artificial)
[2092]	<220>	
[2093]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2094]	<400>	92
[2095]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2096]	1	5 10 15
[2097]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[2098]		20 25 30
[2099]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[2100]		35 40 45
[2101]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2102]		50 55 60
[2103]	Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2104]		65 70 75 80
[2105]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	

[2106]		85		90		95
[2107]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro					
[2108]		100		105		110
[2109]	<210> 93					
[2110]	<211> 110					
[2111]	<212> PRT					
[2112]	<213> 人工的 (Artificial)					
[2113]	<220>					
[2114]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[2115]	<400> 93					
[2116]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[2117]	1	5		10		15
[2118]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[2119]		20		25		30
[2120]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[2121]		35		40		45
[2122]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[2123]		50		55		60
[2124]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[2125]	65	70		75		80
[2126]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu					
[2127]		85		90		95
[2128]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro					
[2129]		100		105		110
[2130]	<210> 94					
[2131]	<211> 110					
[2132]	<212> PRT					
[2133]	<213> 人工的 (Artificial)					
[2134]	<220>					
[2135]	<223> 杂合人ActRIIB ECD					
[2136]	<400> 94					
[2137]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[2138]	1	5		10		15
[2139]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[2140]		20		25		30
[2141]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu					
[2142]		35		40		45
[2143]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[2144]		50		55		60

[2145] Glu Cys Val Ala Thr Glu Asp Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [2146] 65 70 75 80
 [2147] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
 [2148] 85 90 95
 [2149] Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 [2150] 100 105 110
 [2151] <210> 95
 [2152] <211> 110
 [2153] <212> PRT
 [2154] <213> 人工的 (Artificial)
 [2155] <220>
 [2156] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [2157] <400> 95
 [2158] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [2159] 1 5 10 15
 [2160] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [2161] 20 25 30
 [2162] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [2163] 35 40 45
 [2164] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [2165] 50 55 60
 [2166] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Ser Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [2167] 65 70 75 80
 [2168] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
 [2169] 85 90 95
 [2170] Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 [2171] 100 105 110
 [2172] <210> 96
 [2173] <211> 110
 [2174] <212> PRT
 [2175] <213> 人工的 (Artificial)
 [2176] <220>
 [2177] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [2178] <400> 96
 [2179] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [2180] 1 5 10 15
 [2181] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [2182] 20 25 30
 [2183] Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu

[2184]	35	40	45
[2185]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[2186]	50	55	60
[2187]	Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[2188]	65	70	75
[2189]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu		
[2190]	85	90	95
[2191]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro		
[2192]	100	105	110
[2193]	<210> 97		
[2194]	<211> 110		
[2195]	<212> PRT		
[2196]	<213> 人工的 (Artificial)		
[2197]	<220>		
[2198]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[2199]	<400> 97		
[2200]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[2201]	1	5	10
[2202]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Lys Asp Lys Arg		
[2203]	20	25	30
[2204]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu		
[2205]	35	40	45
[2206]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[2207]	50	55	60
[2208]	Glu Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[2209]	65	70	75
[2210]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu		
[2211]	85	90	95
[2212]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro		
[2213]	100	105	110
[2214]	<210> 98		
[2215]	<211> 110		
[2216]	<212> PRT		
[2217]	<213> 人工的 (Artificial)		
[2218]	<220>		
[2219]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[2220]	<400> 98		
[2221]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[2222]	1	5	10

[2223]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg
[2224]	20 25 30
[2225]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[2226]	35 40 45
[2227]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[2228]	50 55 60
[2229]	Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2230]	65 70 75 80
[2231]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2232]	85 90 95
[2233]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2234]	100 105 110
[2235]	<210> 99
[2236]	<211> 110
[2237]	<212> PRT
[2238]	<213> 人工的 (Artificial)
[2239]	<220>
[2240]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[2241]	<400> 99
[2242]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[2243]	1 5 10 15
[2244]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
[2245]	20 25 30
[2246]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[2247]	35 40 45
[2248]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[2249]	50 55 60
[2250]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2251]	65 70 75 80
[2252]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2253]	85 90 95
[2254]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2255]	100 105 110
[2256]	<210> 100
[2257]	<211> 110
[2258]	<212> PRT
[2259]	<213> 人工的 (Artificial)
[2260]	<220>
[2261]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[2301]	<213>	人工的 (Artificial)
[2302]	<220>	
[2303]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2304]	<400>	102
[2305]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2306]	1	5 10 15
[2307]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Gln Asp Lys Arg	
[2308]		20 25 30
[2309]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile	
[2310]		35 40 45
[2311]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2312]		50 55 60
[2313]	Glu Cys Val Ala Lys Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2314]		65 70 75 80
[2315]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2316]		85 90 95
[2317]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2318]		100 105 110
[2319]	<210>	103
[2320]	<211>	110
[2321]	<212>	PRT
[2322]	<213>	人工的 (Artificial)
[2323]	<220>	
[2324]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2325]	<400>	103
[2326]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2327]	1	5 10 15
[2328]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg	
[2329]		20 25 30
[2330]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile	
[2331]		35 40 45
[2332]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2333]		50 55 60
[2334]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2335]		65 70 75 80
[2336]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2337]		85 90 95
[2338]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2339]		100 105 110

[2340] <210> 104
 [2341] <211> 110
 [2342] <212> PRT
 [2343] <213> 人工的 (Artificial)
 [2344] <220>
 [2345] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [2346] <400> 104
 [2347] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [2348] 1 5 10 15
 [2349] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Gln Asp Lys Arg
 [2350] 20 25 30
 [2351] Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [2352] 35 40 45
 [2353] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [2354] 50 55 60
 [2355] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [2356] 65 70 75 80
 [2357] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
 [2358] 85 90 95
 [2359] Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
 [2360] 100 105 110
 [2361] <210> 105
 [2362] <211> 110
 [2363] <212> PRT
 [2364] <213> 人工的 (Artificial)
 [2365] <220>
 [2366] <223> 杂合人ActRIIB ECD
 [2367] <400> 105
 [2368] Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 [2369] 1 5 10 15
 [2370] Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 [2371] 20 25 30
 [2372] Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 [2373] 35 40 45
 [2374] Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 [2375] 50 55 60
 [2376] Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 [2377] 65 70 75 80
 [2378] Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu

[2379]		85		90		95
[2380]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro					
[2381]		100		105		110
[2382]	<210>	106				
[2383]	<211>	110				
[2384]	<212>	PRT				
[2385]	<213>	人工的 (Artificial)				
[2386]	<220>					
[2387]	<223>	杂合人ActRIIB ECD				
[2388]	<400>	106				
[2389]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[2390]	1	5		10		15
[2391]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[2392]		20		25		30
[2393]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile					
[2394]		35		40		45
[2395]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr					
[2396]		50		55		60
[2397]	Asp Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys					
[2398]	65	70		75		80
[2399]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu					
[2400]		85		90		95
[2401]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro					
[2402]		100		105		110
[2403]	<210>	107				
[2404]	<211>	110				
[2405]	<212>	PRT				
[2406]	<213>	人工的 (Artificial)				
[2407]	<220>					
[2408]	<223>	杂合人ActRIIB ECD				
[2409]	<400>	107				
[2410]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg					
[2411]	1	5		10		15
[2412]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg					
[2413]		20		25		30
[2414]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu					
[2415]		35		40		45
[2416]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln					
[2417]		50		55		60

[2418]	Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2419]	65 70 75 80
[2420]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2421]	85 90 95
[2422]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2423]	100 105 110
[2424]	<210> 108
[2425]	<211> 110
[2426]	<212> PRT
[2427]	<213> 人工的 (Artificial)
[2428]	<220>
[2429]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[2430]	<400> 108
[2431]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[2432]	1 5 10 15
[2433]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[2434]	20 25 30
[2435]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile
[2436]	35 40 45
[2437]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[2438]	50 55 60
[2439]	Glu Cys Val Ala Lys Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2440]	65 70 75 80
[2441]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2442]	85 90 95
[2443]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2444]	100 105 110
[2445]	<210> 109
[2446]	<211> 110
[2447]	<212> PRT
[2448]	<213> 人工的 (Artificial)
[2449]	<220>
[2450]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[2451]	<400> 109
[2452]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[2453]	1 5 10 15
[2454]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
[2455]	20 25 30
[2456]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Ile

[2457]	35	40	45
[2458]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[2459]	50	55	60
[2460]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[2461]	65	70	75
[2462]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu		
[2463]	85	90	95
[2464]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro		
[2465]	100	105	110
[2466]	<210> 110		
[2467]	<211> 110		
[2468]	<212> PRT		
[2469]	<213> 人工的 (Artificial)		
[2470]	<220>		
[2471]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[2472]	<400> 110		
[2473]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[2474]	1	5	10
[2475]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg		
[2476]	20	25	30
[2477]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile		
[2478]	35	40	45
[2479]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln		
[2480]	50	55	60
[2481]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys		
[2482]	65	70	75
[2483]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu		
[2484]	85	90	95
[2485]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro		
[2486]	100	105	110
[2487]	<210> 111		
[2488]	<211> 110		
[2489]	<212> PRT		
[2490]	<213> 人工的 (Artificial)		
[2491]	<220>		
[2492]	<223> 杂合人ActRIIB ECD		
[2493]	<400> 111		
[2494]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg		
[2495]	1	5	10

[2496]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
[2497]	20 25 30
[2498]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Ser Ile Glu Leu
[2499]	35 40 45
[2500]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[2501]	50 55 60
[2502]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2503]	65 70 75 80
[2504]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2505]	85 90 95
[2506]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2507]	100 105 110
[2508]	<210> 112
[2509]	<211> 110
[2510]	<212> PRT
[2511]	<213> 人工的 (Artificial)
[2512]	<220>
[2513]	<223> 杂合人ActRIIB ECD
[2514]	<400> 112
[2515]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
[2516]	1 5 10 15
[2517]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg
[2518]	20 25 30
[2519]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
[2520]	35 40 45
[2521]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
[2522]	50 55 60
[2523]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
[2524]	65 70 75 80
[2525]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu
[2526]	85 90 95
[2527]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro
[2528]	100 105 110
[2529]	<210> 113
[2530]	<211> 110
[2531]	<212> PRT
[2532]	<213> 人工的 (Artificial)
[2533]	<220>
[2534]	<223> 杂合人ActRIIB ECD

[2535]	<400>	113
[2536]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2537]	1	5 10 15
[2538]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[2539]		20 25 30
[2540]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile	
[2541]		35 40 45
[2542]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2543]		50 55 60
[2544]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2545]		65 70 75 80
[2546]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2547]		85 90 95
[2548]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2549]		100 105 110
[2550]	<210>	114
[2551]	<211>	110
[2552]	<212>	PRT
[2553]	<213>	人工的 (Artificial)
[2554]	<220>	
[2555]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2556]	<400>	114
[2557]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2558]	1	5 10 15
[2559]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
[2560]		20 25 30
[2561]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[2562]		35 40 45
[2563]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2564]		50 55 60
[2565]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2566]		65 70 75 80
[2567]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2568]		85 90 95
[2569]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2570]		100 105 110
[2571]	<210>	115
[2572]	<211>	110
[2573]	<212>	PRT

[2574]	<213>	人工的 (Artificial)
[2575]	<220>	
[2576]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2577]	<400>	115
[2578]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2579]	1	5 10 15
[2580]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Asp Gln Asp Lys Arg	
[2581]		20 25 30
[2582]	Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Ile	
[2583]		35 40 45
[2584]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2585]		50 55 60
[2586]	Glu Cys Val Ala Lys Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2587]		65 70 75 80
[2588]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Gln Met Glu	
[2589]		85 90 95
[2590]	Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro	
[2591]		100 105 110
[2592]	<210>	116
[2593]	<211>	110
[2594]	<212>	PRT
[2595]	<213>	人工的 (Artificial)
[2596]	<220>	
[2597]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2598]	<400>	116
[2599]	Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg	
[2600]	1	5 10 15
[2601]	Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg	
[2602]		20 25 30
[2603]	Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile	
[2604]		35 40 45
[2605]	Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr	
[2606]		50 55 60
[2607]	Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2608]		65 70 75 80
[2609]	Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[2610]		85 90 95
[2611]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[2612]		100 105 110

[2613]	<210>	117
[2614]	<211>	110
[2615]	<212>	PRT
[2616]	<213>	人工的 (Artificial)
[2617]	<220>	
[2618]	<223>	杂合人ActRIIB ECD
[2619]	<400>	117
[2620]	Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
[2621]	1	5 10 15
[2622]	Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg	
[2623]		20 25 30
[2624]	Arg His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
[2625]		35 40 45
[2626]	Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
[2627]		50 55 60
[2628]	Glu Cys Val Ala Thr Lys Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
[2629]		65 70 75 80
[2630]	Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
[2631]		85 90 95
[2632]	Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
[2633]		100 105 110
[2634]	<210>	118
[2635]	<211>	12
[2636]	<212>	PRT
[2637]	<213>	人工的 (Artificial)
[2638]	<220>	
[2639]	<223>	肽接头
[2640]	<400>	118
[2641]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	
[2642]	1	5 10

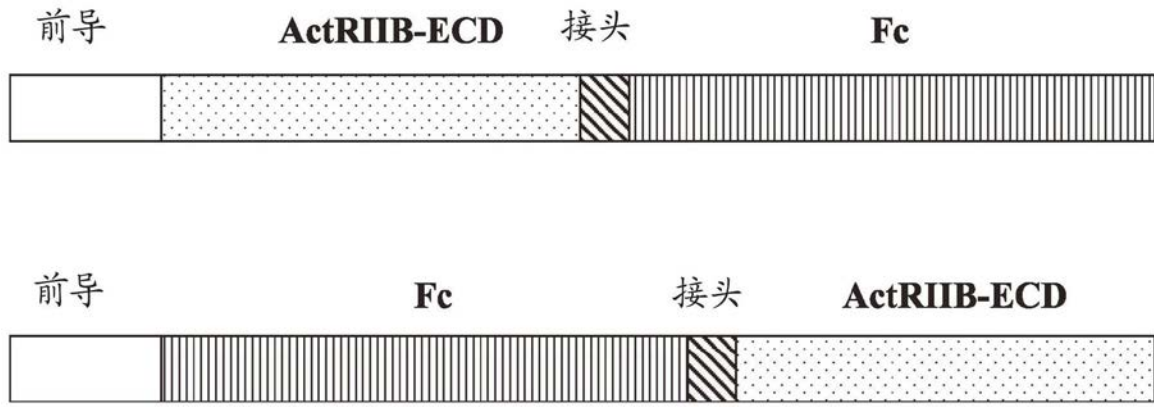


图1

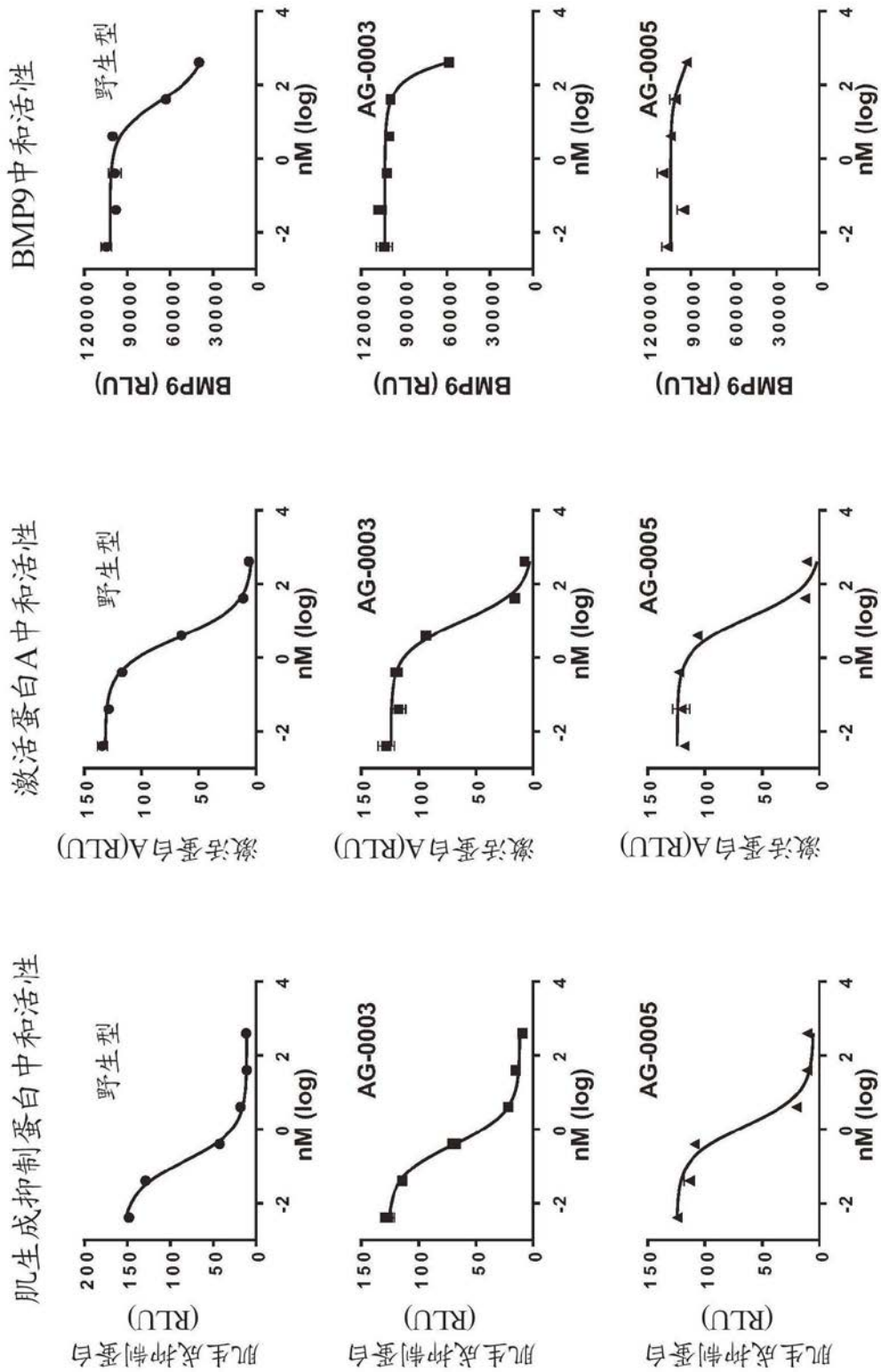


图2

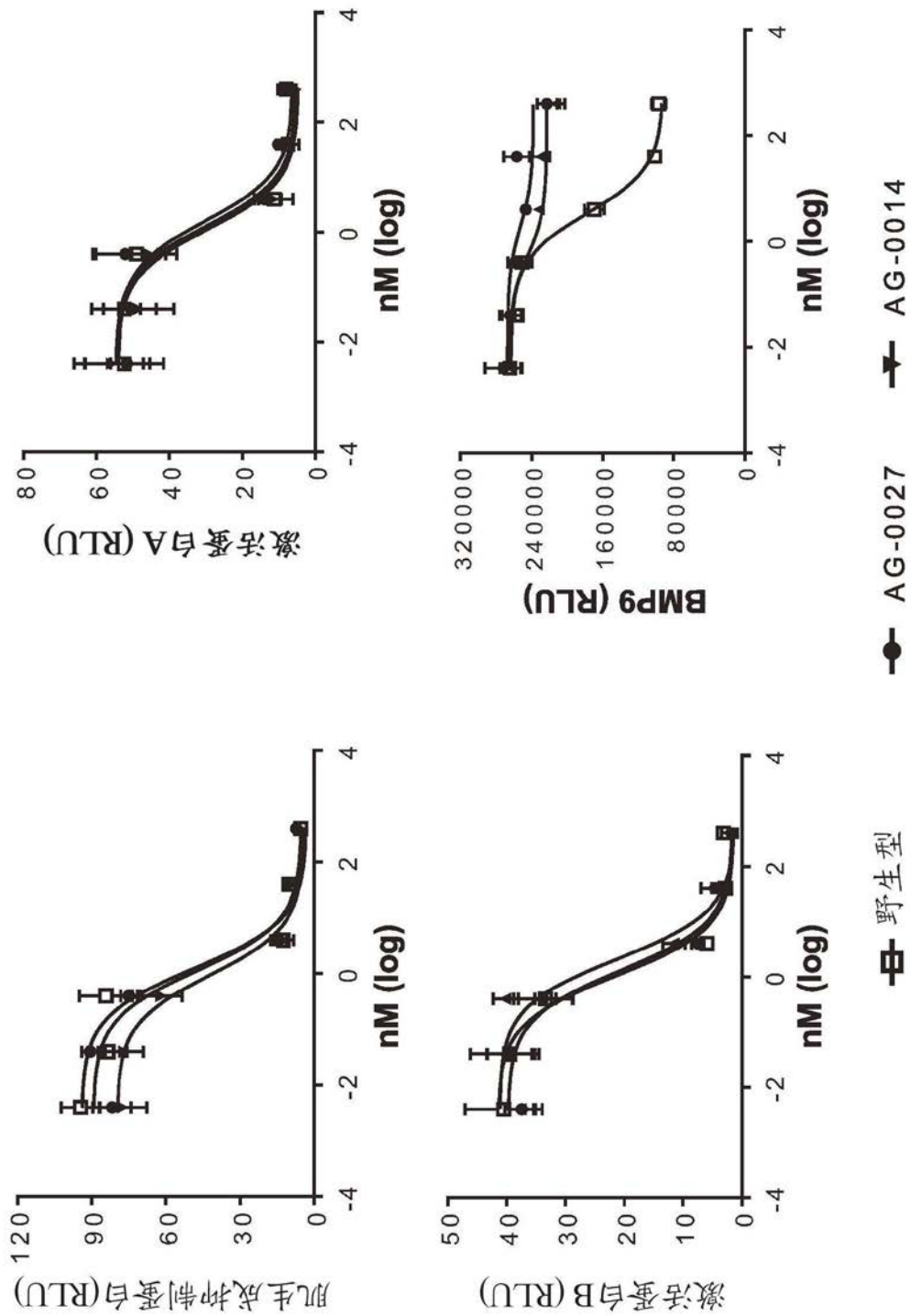


图3

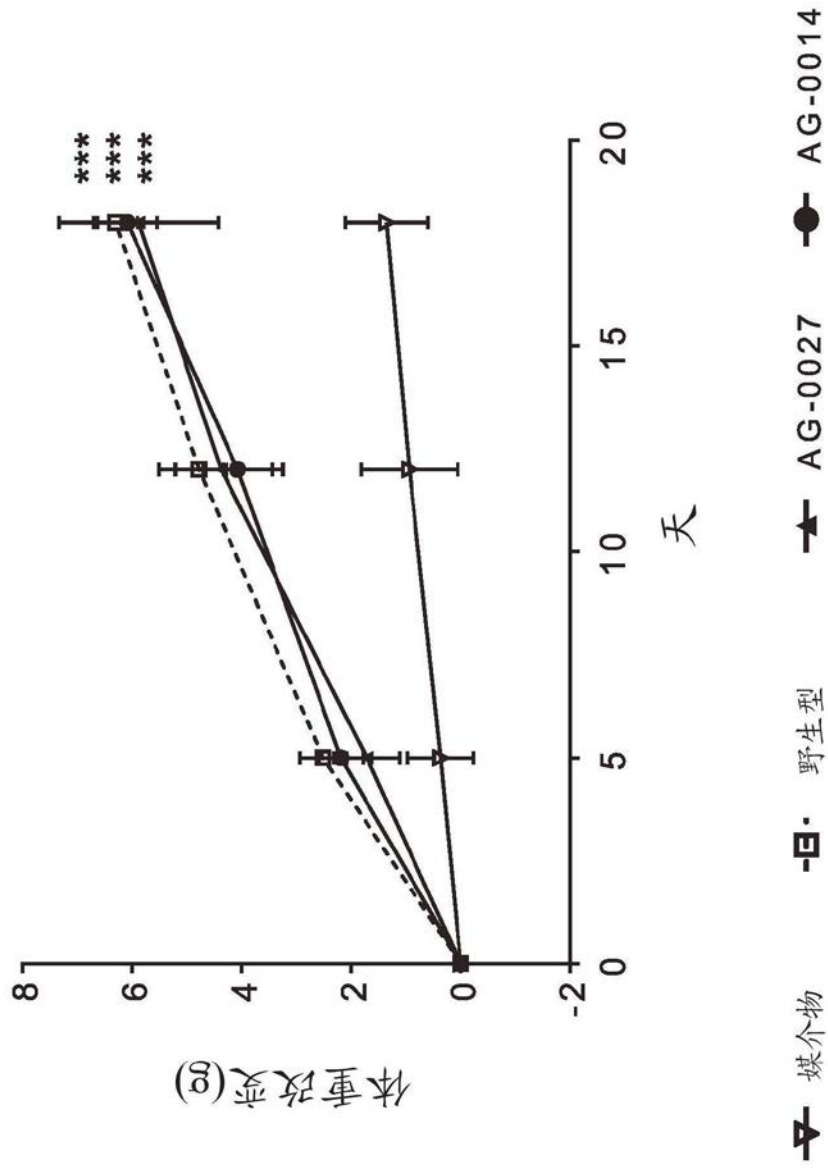


图4

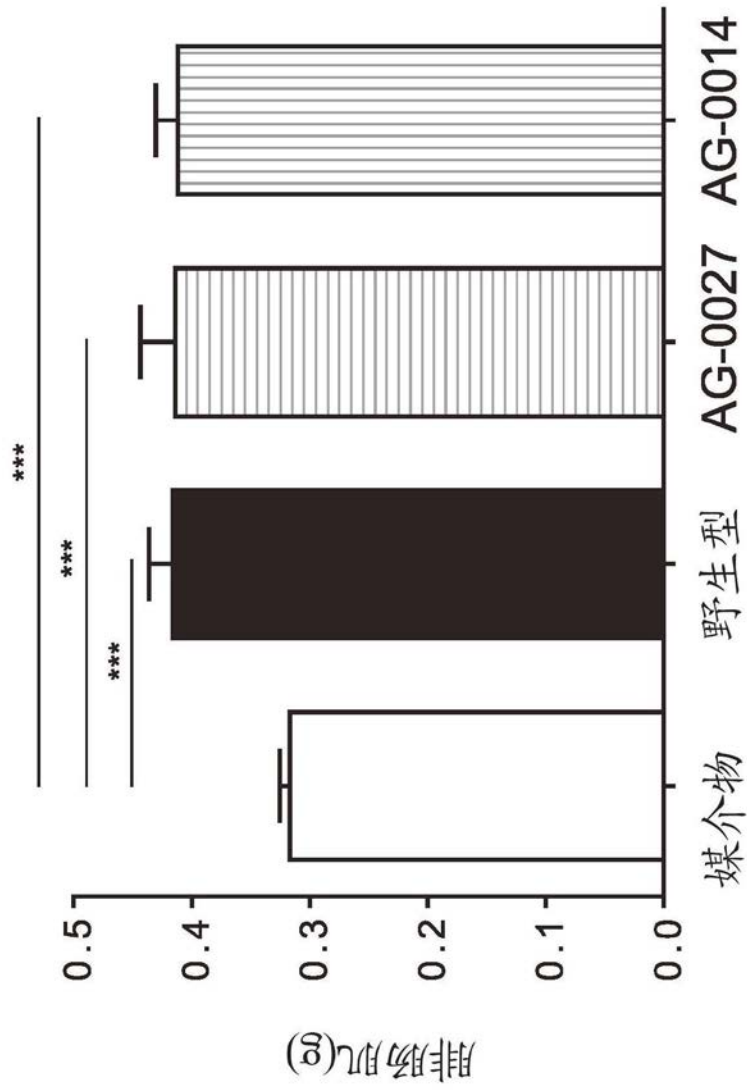


图5

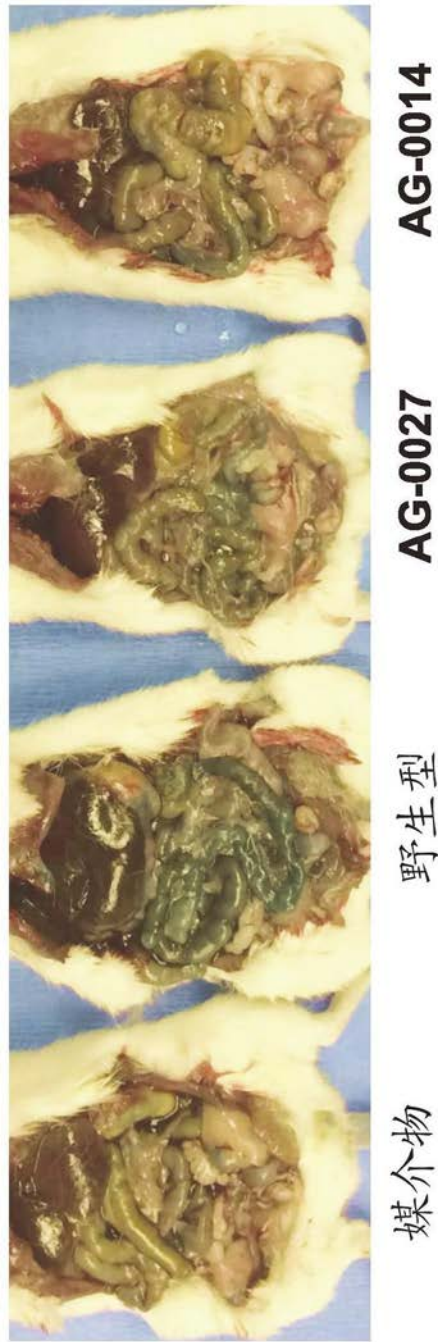


图6



图7



AG-0014



AG-0027



野生型



媒介物

图8

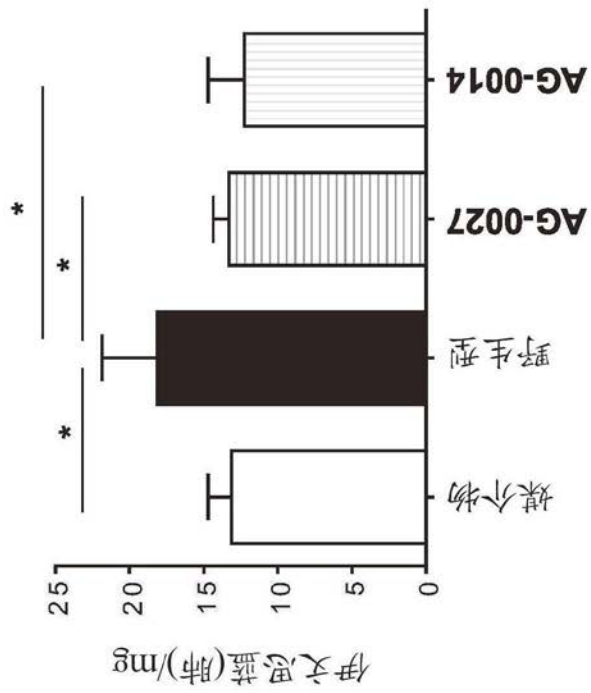
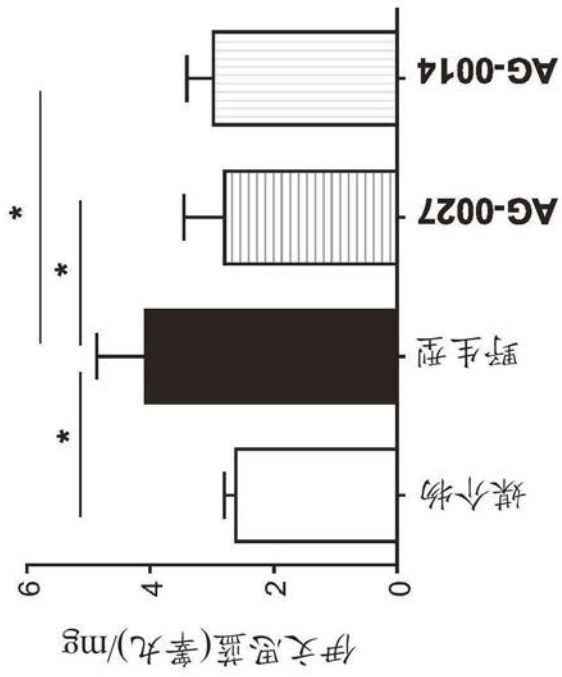


图6

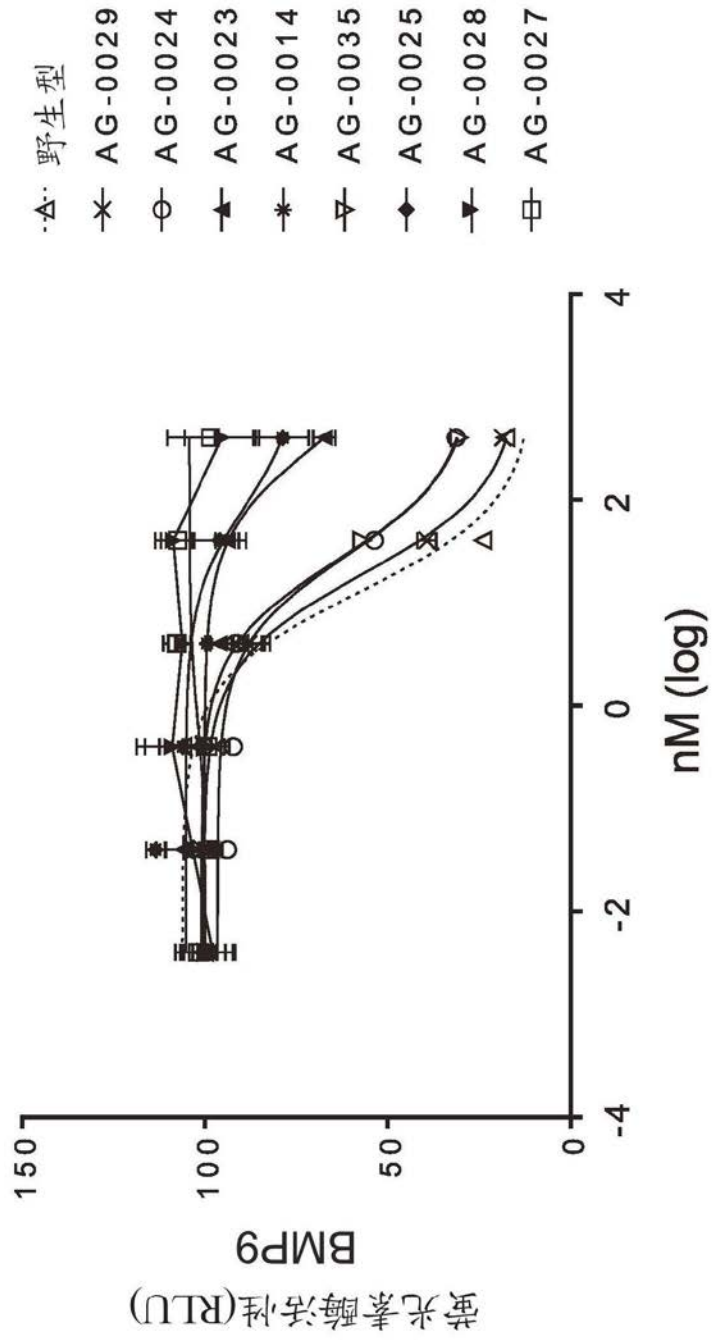


图10

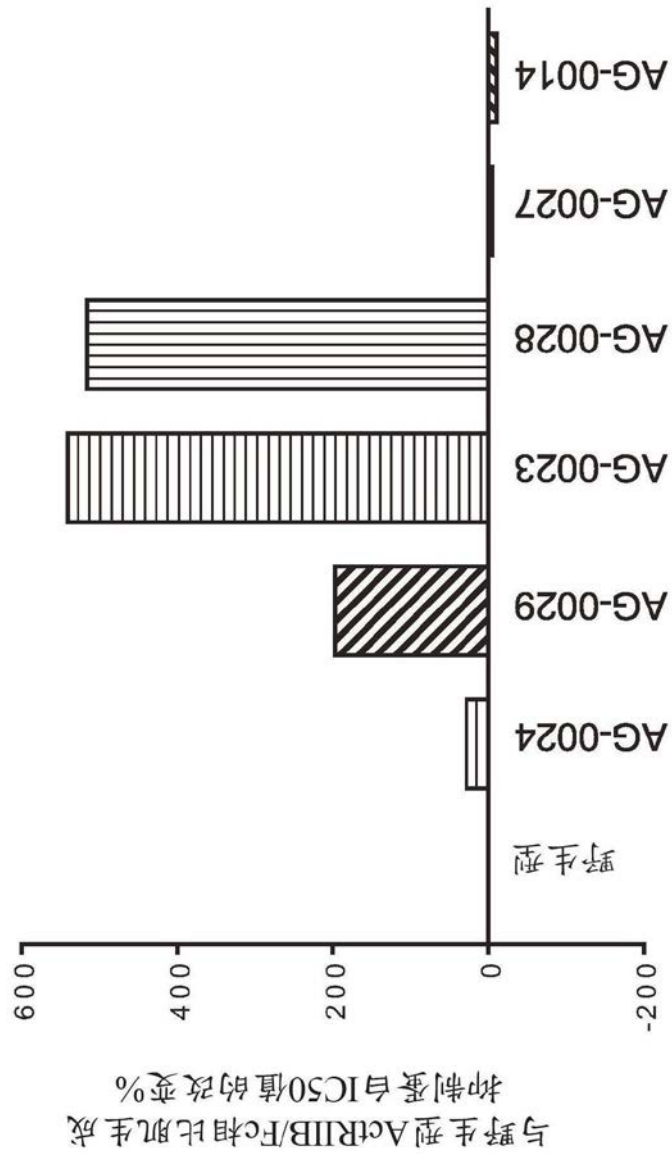


图11

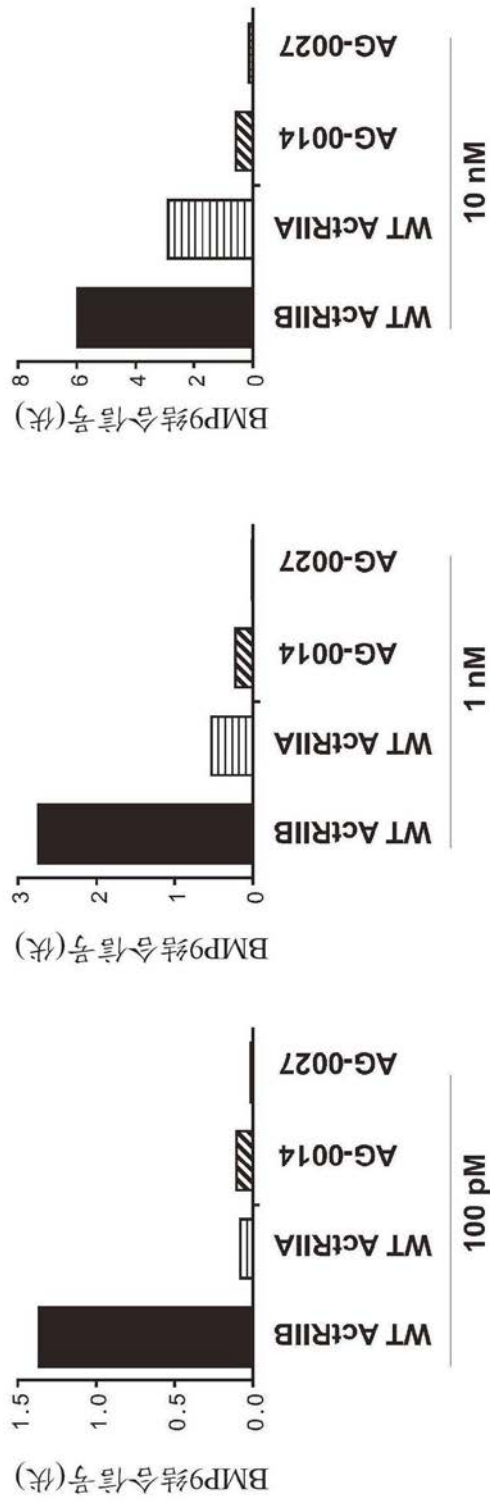


图12