(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0042713
(43) 공개일자 2023년03월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 21/02* (2006.01)
A61P 9/06 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2881 (2013.01)
A61K 47/6807 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2023-7005830
(22) 출원일자(국제) 2021년07월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년02월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/040986
(87) 국제공개번호 WO 2022/026152
국제공개일자 2022년02월03일
(30) 우선권주장
63/055,749 2020년07월23일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
다인 세라퓨틱스, 인크.
미국 02451 매사추세츠주 월섬 트라펠로 로드 1560
(72) 발명자
서브라마니안, 로메쉬, 알.
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
콰타나니, 모하메드, 티.
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

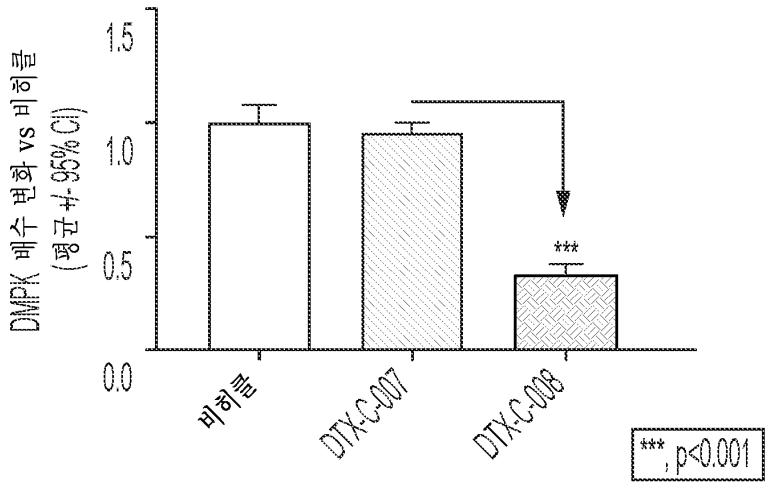
전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 **근육 표적화 복합체 및 근긴장성 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도**

(57) 요 약

본 개시내용의 측면은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 세포 상의 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 질환-연관-반복부를 포함하는 DMPK 대립유전자의 발현 또는 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 RNAi 올리고뉴클레오티드이다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 47/6849 (2017.08)
A61P 21/02 (2018.01)
A61P 9/06 (2018.01)
C12N 15/113 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)
(72) 발명자
위든, 티모시
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
데자르댕, 코디, 에이.
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
퀸, 브렌단
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
나짐, 존
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560

(30) 우선권주장
63/069,075 2020년08월23일 미국(US)
63/143,827 2021년01월30일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

DMPK의 발현 또는 활성을 감소시키도록 구성된 분자 페이로드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 (TfR) 항체를 포함하는 복합체로서,

여기서 항-TfR 항체는 하기를 포함하는 것인 복합체:

(i) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(ii) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(iii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(iv) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(vi) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

(x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL).

청구항 2

제1항에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

(i) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(ii) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(iii) 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(iv) 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(v) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(vi) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(vii) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(viii) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(ix) 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

또는

(x) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, scFv, Fv 및 전장 IgG로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 복합체.

청구항 4

제3항에 있어서, 항체가 Fab 단편인 복합체.

청구항 5

제4항에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

(i) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(ii) 서열식별번호: 97에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(iii) 서열식별번호: 98에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(iv) 서열식별번호: 99에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(v) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(vi) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(vii) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(viii) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 93에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(ix) 서열식별번호: 103에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

(x) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

(i) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(ii) 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(iii) 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(iv) 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(v) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경

쇄;

(vi) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(vii) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(viii) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

(ix) 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

(x) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 트랜스페린 수용체의 트랜스페린 결합 부위에 특이적으로 결합하지 않고/거나 항체가 트랜스페린 수용체에 대한 트랜스페린의 결합을 억제하지 않는 것인 복합체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 인간, 비-인간 영장류 및 설치류 트랜스페린 수용체 중 2종 이상의 세포외 에피토프와 교차-반응성인 복합체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 근육 세포 내로의 분자 페이로드의 트랜스페린 수용체 매개된 내재화를 촉진하도록 구성된 복합체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오티드인 복합체.

청구항 11

제10항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 148-383 및 621-638의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 여기서 올리고뉴클레오티드 내의 티미딘 염기 (T) 중 어느 하나 이상은 임의로 우리딘 염기 (U)일 수 있고/거나 U 중 어느 하나 이상은 임의로 T일 수 있는 것인 복합체.

청구항 12

제11항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함하며, 여기서 올리고뉴클레오티드 내의 U 중 어느 하나 이상은 임의로 T일 수 있는 것인 복합체.

청구항 13

제10항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.

청구항 14

제10항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 DMPK mRNA 전사체의 RNAse H-매개 절단을 매개하는 것인 복합체.

청구항 15

제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 5'-X-Y-Z-3' 식을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 2'-O-메틸, 2'-플루오로, 2'-O-메톡시에틸 및 2',4'-가교 뉴클레오시드로 이루어진 군으로부터 선택된 1개

이상의 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함하는 플랭킹 영역이고, 여기서 Y는 갭 영역이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드인 복합체.

청구항 16

제10항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하는 것인 복합체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 절단가능한 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 것인 복합체.

청구항 18

제17항에 있어서, 절단가능한 링커가 발린-시트룰린 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에의 접합을 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 것인 복합체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 발현을 감소시키는 것이 DMPK의 RNA 수준을 감소시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 감소된 RNA 수준은 세포의 핵에 존재하고, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인 복합체.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, DMPK가 질환-연관 반복부를 포함하는 대립유전자로부터 코딩되는 것인 복합체.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 복합체를 세포에의 분자 페이로드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인, 세포에서 DMPK 발현을 감소시키는 방법.

청구항 23

근긴장성 이영양증과 연관된 DMPK 대립유전자의 질환-연관-반복부의 확장을 갖는 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 복합체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 질환-연관-반복부가 CTG 트리뉴클레오티드 서열의 반복 단위를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 복합체가 대상체에게 정맥내로 투여되는 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2021년 1월 30일에 출원된 "근육 표적화 복합체 및 근긴장성 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도"라는 발명의 명칭의 미국 가출원 일련 번호 63/143827, 2020년 8월 23일에 출원된 "근육 표적화 복합체 및 근긴장성 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도"라는 발명의 명칭의 미국 가출원 일련 번호 63/069075 및 2020년 7월 23일에 출원된 "근육 표적화 복합체 및 근긴장성 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도"라는 발명의 명칭의 미국 가출원 일련 번호 63/055749를 35 U.S.C. § 119(e) 하에 우선권 주장하며; 이들 가출원 각각의 내용은 그 전문

이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 출원은 세포에 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)를 전달하기 위한 표적화 복합체 및 그의 용도, 특히 질환의 치료와 관련된 용도에 관한 것이다.

[0005] EFS-웹을 통한 텍스트 파일로서 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0006] 본 출원은 EFS-웹을 통해 ASCII 포맷으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 상기 ASCII 카피는 2021년 7월 8일에 생성되었고, 파일명이 D082470038WO00-SEQ-DWY이며, 크기가 268,942 바이트이다.

배 경 기 술

[0007] 근긴장성 이영양증 (DM)은 근긴장증, 근육 손실 또는 변성, 감소된 근육 기능, 인슐린 저항성, 심장 부정맥, 평활근 기능장애 및 신경계 이상을 특징으로 하는 우성 유전성 유전 질환이다. DM은, 전세계 8000명의 사람 중 약 1명의 전세계 발생률로, 성인-발병 근육 이영양증의 가장 흔한 형태이다. 이 질환의 2가지 유형인 근긴장성 이영양증 1형 (DM1) 및 근긴장성 이영양증 2형 (DM2)이 설명되어 왔다. 이 질환의 보다 흔한 형태인 DM1은 염색체 19 상의 DMPK의 3' 비-코딩 영역 내의 CTG 트리뉴클레오티드 반복부의 반복부 확장으로부터 발생하고; DM2는 염색체 3 상의 ZNF9의 제1 인트론 내의 CCTG 테트라뉴클레오티드 반복부의 반복부 확장으로부터 발생한다. DM1 환자에서, ~50개 초과 내지 ~3,000+개의 총 반복부를 포함할 수 있는 CTG 트리뉴클레오티드 반복부의 반복부 확장은 필수 세포내 단백질, 예를 들어 머슬블라인드-유사 단백질에 고친화도로 결합하는 헤어핀 구조를 형성할 수 있는 독성 RNA 반복부의 생성을 유도하여, 단백질 격리 및 이 질환의 특징인 기능 상실 표현형을 유발한다. 이 질환의 증상을 해결하기 위한 지지적 관리 및 치료 이외에, DM1에 대한 효과적인 치료제는 현재 이용가능하지 않다.

발명의 내용

[0008] 일부 측면에서, 본 개시내용은 근육 세포에 분자 페이로드를 전달하기 위한, 근육 세포를 표적화하는 복합체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는, 예를 들어 근긴장성 이영양증을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에서 확장된 질환-연관-반복부를 포함하는 DMPK 대립유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 분자 페이로드를 전달하는 데 특히 유용하다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는 근육 세포에 분자 페이로드를 전달하기 위한, 근육 세포의 표면 상의 수용체에 특이적으로 결합하는 근육-표적화제 (예를 들어, 근육 표적화 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 수용체 매개 내재화를 통해 세포 내로 흡수되고, 이 후 분자 페이로드가 방출되어 세포 내부에서 기능을 수행할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드를 전달하도록 조작된 복합체는 올리고뉴클레오티드가 근육 세포에서 돌연변이 DMPK 발현을 억제할 수 있도록 올리고뉴클레오티드를 방출할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 복합체의 근육-표적화제와 올리고뉴클레오티드를 연결하는 공유 링커의 엔도솜 절단에 의해 방출된다.

[0009] 본 개시내용의 한 측면은 DMPK의 발현 또는 활성을 감소시키도록 구성된 분자 페이로드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 (TfR) 항체를 포함하는 복합체에 관한 것이며, 여기서 항-TfR 항체는 하기를 포함한다:

[0010] (i) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0011] (ii) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0012] (iii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0013] (iv) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0014] (v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0015] (vi) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서

열식별번호: 75에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0016] (vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0017] (viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0018] (ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

[0019] (x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL).

[0020] 일부 실시양태에서, 항체는 하기를 포함한다:

[0021] (i) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0022] (ii) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0023] (iii) 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0024] (iv) 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0025] (v) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0026] (vi) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0027] (vii) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0028] (viii) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0029] (ix) 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0030] (x) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL.

[0031] 일부 실시양태에서, 항체는 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, scFv, Fv 및 전장 IgG로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항체는 Fab 단편이다.

[0032] 일부 실시양태에서, 항체는 하기를 포함한다:

[0033] (i) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0034] (ii) 서열식별번호: 97에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0035] (iii) 서열식별번호: 98에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0036] (iv) 서열식별번호: 99에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0037] (v) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0038] (vi) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0039] (vii) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0040] (viii) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 93에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0041] (ix) 서열식별번호: 103에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

[0042] (x) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

[0043] 일부 실시양태에서, 항체는 하기를 포함한다:

[0044] (i) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0045] (ii) 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0046] (iii) 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0047] (iv) 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0048] (v) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0049] (vi) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0050] (vii) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0051] (viii) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0052] (ix) 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

[0053] (x) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

[0054] 일부 실시양태에서, 항체는 트랜스페린 수용체의 트랜스페린 결합 부위에 특이적으로 결합하지 않고/거나 항체는 트랜스페린 수용체에 대한 트랜스페린의 결합을 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간, 비-인간 영장류 및 설치류 트랜스페린 수용체 중 2종 이상의 세포외 에피토프와 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 복합체는 근육 세포 내로의 분자 페이로드의 트랜스페린 수용체 매개된 내재화를 촉진하도록 구성된다.

[0055] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 148-383 및 621-638의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 여기서 올리고뉴클레오티드 내의 티미딘 염기 (T) 중 어느 하나 이상은 임의로 우리딘 염기 (U)일 수 있고/거나 U 중 어느 하나 이상은 임의로 T일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함하며, 여기서 올리고뉴클레오티드 내의 U 중 어느 하나 이상은 임의로 T일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드에 대한 상보성 영역을 포함한다.

[0056] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DMPK mRNA 전사체의 RNAse H-매개 절단을 매개한다.

[0057] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 5'-X-Y-Z-3' 식을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 2'-O-메틸, 2'-플루오로, 2'-O-메톡시에틸 및 2',4'-가교 뉴클레오시드로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함하는 플랭킹 영역이고, 여기서 Y는 갭 영역이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0058] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다.

[0059] 일부 실시양태에서, 항체는 절단가능한 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 절단가능한 링커는 발린-시트룰린 서열을 포함한다.

[0060] 일부 실시양태에서, 항체는 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 분자 페이로드에 공유 연결된다.

[0061] 일부 실시양태에서, 발현을 감소시키는 것은 DMPK의 RNA 수준을 감소시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 감소된 RNA 수준은 세포의 핵에 존재하고, 임의로 여기서 세포는 근육 세포이다. 일부 실시양태에서, DMPK는 질환-연관 반복부를 포함하는 대립유전자로부터 코딩된다.

[0062] 본 개시내용의 또 다른 측면은 본원에 개시된 복합체를 세포에의 분자 페이로드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인, 세포에서 DMPK 발현을 감소시키는 방법에 관한 것이다.

[0063] 본 개시내용의 또 다른 측면은 근긴장성 이영양증과 연관된 DMPK 대립유전자의 질환-연관-반복부의 확장을 갖는 대상체에게 유효량의 본원에 개시된 복합체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 CTG 트리뉴클레오티드 서열의 반복 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 대상체에게 정맥내로 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0064] 도 1은 DMPK를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO300)로 Hepa 1-6 세포를 형질감염시키는 것이 비히클 형질감염에 비해 DMPK의 발현 수준에 대해 나타내는 효과를 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다.

도 2a는 DMPK 안티센스 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 항체를 포함하는 근육 표적화 복합체의 정제 동안 수득된 HIL-HPLC 트레이스를 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다.

도 2b는 근육 표적화 복합체의 SDS-PAGE 분석의 비제한적 영상을 도시한다.

도 3은 ASO300을 포함하는 근육 표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다.

도 4a-4e는 ASO300을 포함하는 근육 표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 비히클 처리, 네이키드 ASO300으로의 처리 또는 대조군 비-표적화 복합체 (DTX-C-007)로의 처리에 비해 생체내 마우스 근육 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=3마리 C57Bl/6 WT 마우스)

도 5a-5b는 ASO300을 포함하는 근육 표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)의 조직 선택성을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. ASO300을 포함하는 근육 표적화 복합체 (DTX-C-008)는 비히클 처리, 네이키드 ASO300으로의 처리 또는 대조군 비-표적화 복합체 (DTX-C-007)로의 처리에 비해 생체내 마우스 뇌 또는 비장 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키지 않는다. (N=3마리 C57Bl/6 WT 마우스).

도 6a-6f는 ASO300을 포함하는 근육 표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 비히클 처리, 네이키드 ASO300으로의 처리 또는 대조군 비-표적화 복합체 (DTX-C-007)로의 처리에 비해 생체내 마우스 근육 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=5마리 C57Bl/6 WT 마우스)

도 7a-7l은 항-hTfR 항체에 공유 연결된 ASO300을 포함하는 근육 표적화 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-012)가 비히클 처리 (염수)에 비해 및 네이키드 ASO300과 비교하여 생체내 시노몰구스 원숭이 근육 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=3마리 수컷 시노몰구스 원숭이)

도 8a-8b는 항-hTfR 항체에 공유 연결된 ASO300을 포함하는 근육 표적화 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-012)가 비히클 처리 (염수)에 비해 및 네이키드 ASO300과 비교하여 생체내 시노몰구스 원숭이 평활근 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=3마리 수컷 시노몰구스 원숭이)

도 9a-9d는 항-hTfR 항체에 공유 연결된 ASO300을 포함하는 근육 표적화 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-012)의 조직 선택성을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. DMPK-ASO를 포함하는 근육 표적화 복합체는 비

히클 처리에 비해 생체내 시노몰구스 원숭이 신장, 뇌 또는 비장 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키지 않는다. (N=3마리 수컷 시노몰구스 원숭이)

도 10은 시노몰구스 원숭이에서의 여러 조직 유형에 걸친 정규화된 DMPK mRNA 조직 발현 수준을 보여준다. (N=3마리 수컷 시노몰구스 원숭이)

도 11a-11b는 ASO300을 포함하는 근육 표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 비히클 처리 (염수)에 비해 및 네이키드 ASO300과 비교하여, DTX-C-008을 투여한 후 최대 28일 동안 생체내 마우스 근육 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다.

도 12는 항-hTFR 항체에 공유 연결된 ASO300을 포함하는 근육 표적화 복합체 (DTX-C-012)의 단일 용량이 시노몰구스 원숭이에서 안전하고 허용된다는 것을 보여준다. (N=3마리 수컷 시노몰구스 원숭이)

도 13a-13b는 ASO300을 포함하는 근육 표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 비히클 처리 (PBS)에 비해; 및 대조군 IgG2a Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-007) 및 네이키드 DMPK ASO (ASO300)와 비교하여, DTX-C-008을 투여한 후 최대 12주 동안 생체내 마우스 근육 조직에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=5마리 C57Bl/6 WT 마우스)

도 14a-14b는 ASO300을 포함하는 근육-표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 마우스 모델에서 핵 돌연변이 DMPK RNA를 표적화하는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=6마리 마우스)

도 15a-15b는 액틴을 표적화하는 올리고뉴클레오티드를 포함하는 근육-표적화 RI7 217 Fab 항체-ASO 복합체 (DTX-액틴)가 근육 조직에서 액틴의 발현 수준 및 근긴장증의 기능적 등급을 용량-의존성으로 감소시키는 능력을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=2마리 HSA^{LR} 마우스)

도 16a-16c는 ASO300을 포함하는 근육-표적화 RI7 217 Fab 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008)가 DM1 심장 모델에서의 부정맥의 기능적 교정의 검증을 위한 마우스 모델에서 연장된 QTc 간격을 유의하게 감소시킬 수 있다는 것을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=10마리 마우스)

도 17a-17b는 항-hTfR 항체에 공유 연결된 ASO300 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 근육-표적화 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-012)가 DM1 환자로부터의 인간 세포에서 DMPK의 발현 수준을 감소시킬 수 있고 DMPK-특이적 표적 유전자 (Bin1)의 스플라이싱을 교정할 수 있다는 것을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=3마리)

도 18a-18c는 인간 DM1 근관에서의 DMPK 녹다운에서 선택된 안티센스 올리고뉴클레오티드의 용량 반응을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. ASO300을 대조군으로서 사용하였다. 모든 시험된 올리고뉴클레오티드는 DMPK 녹다운에서 활성을 보여주었다. 통계적 분석: 터키 HSD 사후 검정과 함께 일원 ANOVA vs. 네이키드 ASO300 처리; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001.

도 19a-19b는 비-인간 영장류 (NHP) DM1 근관에서의 DMPK 녹다운에서 선택된 안티센스 올리고뉴클레오티드의 용량 반응을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. ASO300을 대조군으로서 사용하였다. 모든 시험된 올리고뉴클레오티드는 DMPK 녹다운에서 활성을 보여주었다.

도 20은 정맥내 투여 후 시간 경과에 따른 다양한 종에서의 항-TfR 항체와 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)를 연결하는 데 사용된 링커의 혈청 안정성을 보여준다.

도 21a-21f는 ELISA에 의해 측정된, 인간 TfR1 (hTfR1) 또는 시노몰구스 원숭이 TfR1 (cTfR1)에 대한 인간화 항-TfR Fab의 결합을 보여준다. 도 21a는 hTfR1에 대한 인간화 3M12 변이체의 결합을 보여준다. 도 21b는 cTfR1에 대한 인간화 3M12 변이체의 결합을 보여준다. 도 21c는 hTfR1에 대한 인간화 3A4 변이체의 결합을 보여준다. 도 21d는 cTfR1에 대한 인간화 3A4 변이체의 결합을 보여준다. 도 21e는 hTfR1에 대한 인간화 5H12 변이체의 결합을 보여준다. 도 21f는 hTfR1에 대한 인간화 5H12 변이체의 결합을 보여준다.

도 22는 횡문근육종 (RD) 세포 내로의 항-TfR Fab 접합체의 정량화된 세포 흡수를 보여준다. 시험된 접합체 내의 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드이고, 접합체의 흡수는 나타낸 항-TfR Fab에 의해 용이해졌다. 음성 대조군 Fab (항-마우스 TfR) 또는 양성 대조군 Fab (항-인간 TfR1)를 갖는 접합체가 또한 본 검정에 포함된다. 세포를 100 nM의 농도의 나타낸 접합체와 함께 4시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 흡수를 평균 사이퍼5e(Cypher5e) 형광에 의해 측정하였다.

도 23a-23f는 ELISA에 의해 측정된, 인간 TfR1 (hTfR1) 및 시노몰구스 원숭이 TfR1 (cTfR1)에 대한 올리고뉴클레오티드-접합된 또는 비접합된 인간화 항-TfR Fab의 결합을 보여준다. 도 23a는 hTfR1에 대한 인간화 3M12 변이체 단독 또는 DMPK 표적화 올리고와의 접합체의 결합을 보여준다. 도 23b는 cTfR1에 대한 인간화 3M12 변이체 단독 또는 DMPK 표적화 올리고와의 접합체의 결합을 보여준다. 도 23c는 hTfR1에 대한 인간화 3A4 변이체 단독 또는 DMPK 표적화 올리고와의 접합체의 결합을 보여준다. 도 23d는 cTfR1에 대한 인간화 3A4 변이체 단독 또는 DMPK 표적화 올리고와의 접합체의 결합을 보여준다. 도 23e는 hTfR1에 대한 인간화 5H12 변이체 단독 또는 DMPK 표적화 올리고와의 접합체의 결합을 보여준다. 도 23f는 cTfR1에 대한 인간화 5H12 변이체의 단독 또는 DMPK 표적화 올리고와의 접합체의 결합을 보여준다. 각각의 EC_{50} 값이 또한 제시된다.

도 24는 PBS로 처리된 세포에 비해 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드로 처리된 RD 세포에서의 DMPK 발현을 보여준다. 처리 지속기간은 3일이었다. DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드를 유리 올리고뉴클레오티드로서 (짐노시스 흡수, "유리(free)") 또는 형질감염 시약을 사용하여 ("형질감염(Trans)") 세포에 전달하였다.

도 25는 DMPK-표적화 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO300)에 접합된 나타낸 인간화 항-TfR 항체를 함유하는 다양한 농도의 접합체로 처리된 RD 세포에서의 DMPK 발현을 보여준다. 처리 지속기간은 3일이었다. 형질감염 제를 사용하여 전달된 ASO300 ("형질감염"으로 라벨링됨)을 대조군으로서 사용하였다.

도 26은 비복근에서 측정된, DM1의 HSA-LR 마우스 모델에서의 항-TfR1 항체-올리고뉴클레오티드 접합체 (Ab-ASO)에 의한 Atp2a1에서의 스플라이싱 교정의 결과를 보여준다. 사용된 항-TfR 항체는 RI7 217 Fab이고, 올리고뉴클레오티드는 골격 액틴을 표적화한다.

도 27은 항-TfR1 항체-올리고뉴클레오티드 (Ab-ASO) 접합체 또는 염수로 처리된 HSA-LR 마우스의 비복근에서 측정된, DM1과 관련된 30종 초과의 상이한 RNA에서의 스플라이싱 교정을 보여준다. 사용된 항-TfR 항체는 RI7 217 Fab이고, 올리고뉴클레오티드는 인간 골격 액틴을 표적화한다.

도 28은 항-TfR1 항체-올리고뉴클레오티드 접합체 (Ab-ASO) 또는 염수로 처리된 HSA-LR 마우스의 사두근, 비복근 또는 전경골근에서의 스플라이싱 결함을 보여준다. 데이터는 도 27에 제시된 30종 초과의 RNA에서 측정된 복합 스플라이싱 결함을 나타낸다.

도 29는 염수, 비접합된 올리고뉴클레오티드 (ASO) 또는 항-TfR1 항체-올리고뉴클레오티드 접합체 (Ab-ASO)로 처리된 HSA-LR 마우스의 사두근, 비복근 및 전경골근에서 측정된 근긴장증 등급을 보여준다. 근긴장증을 근전도검사 (EMG)에 의해 측정하고, 근긴장성 방전의 빈도에 기초하여 0, 1, 2 또는 3으로 등급화하였다.

도 30a-30e는 인간 TfR1을 발현하는 마우스 (hTfR1 녹-인 마우스)에서 DMPK mRNA 발현을 감소시키는 데 있어서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드에 접합된 지정된 항-TfR Fab (대조군, 3M12 VH3/VK2, 3M12 VH4/VK3 및 3A4 VH3 N54S/VK4)를 함유하는 접합체의 생체내 활성을 보여준다. 도 30a는 실험 설계 (예를 들어, IV 투여량, 투여 빈도)를 보여준다. DMPK mRNA 수준을 마우스의 전경골근 (도 30b), 비복근 (도 30c), 심장 (도 30d) 및 횡격막 (도 30e)에서 제1 용량 14일 후에 측정하였다.

도 31a-31c는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드에 접합된 항-TfR 항체를 함유하는 접합체가 380개의 CUG 반복부를 함유하는 DMPK 돌연변이 mRNA를 발현하는 CM-DM1-32F 1차 세포에서 스플라이싱을 교정하고 병소를 감소시켰다는 것을 보여준다. 도 31a는 접합체가 돌연변이 DMPK mRNA 발현을 감소시켰다는 것을 보여준다. 도 31b는 접합체가 BIN1 엑손 11 스플라이싱을 교정하였다는 것을 보여준다. 도 31c는 형광 계내 혼성화 (FISH) 분석의 영상 및 영상의 정량화를 보여주며, 이는 접합체가 돌연변이 DMPK mRNA에 의해 형성된 핵 병소를 감소시켰다는 것을 입증한다. 도 31c의 상단 패널에 제시된 현미경검사 영상에서, 밝은 둥근 형상은 세포 핵을 보여주고, DM1 세포의 핵 내의 밝은 점상 (우측 3개의 현미경검사 패널)은 CUG 병소를 보여준다.

도 32는 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 230 pM 내지 500 nM의 Fab의 농도 범위에서의 재조합 인간 (원형), 시노몰구스 원숭이 (정사각형), 마우스 (상향 삼각형) 또는 래트 (하향 삼각형) TfR1 단백질에 대한 결합의 ELISA 측정치를 보여준다. 측정 결과는 항-TfR Fab가 인간 및 시노몰구스 원숭이 TfR1과 반응성임을 보여준다. 마우스 또는 래트 재조합 TfR1에 대한 결합은 관찰되지 않았다. 데이터는 기준선에 대해 정규화된 상대 형광 단위로서 제시된다.

도 33은 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 230 pM 내지 500 nM의 Fab의 농도 범위에 걸친 재조합 인간 TfR1 또는 TfR2에 대한 친화도를 시험하는 ELISA의 결과를 보여준다. 데이터는 기준선에 대해 정규화된 상대 형광 단위로서 제시된다. 결과는 Fab가 재조합 인간 TfR2에 결합하지 않는다는 것을 입증한다.

도 34는 PBS에서 또는 래트, 마우스, 시노몰구스 원숭이 또는 인간 혈청에서 72시간 인큐베이션에 걸쳐 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3을 대조군 안티센스 올리고뉴클레오티드에 연결시키는 데 사용된 링커의 혈청 안정성을 보여준다.

도 35a-35b는 단일 용량의 항-TfR 항체-올리고뉴클레오티드 (Ab-ASO) 접합체 또는 염수로 처리된 HSA-LR 마우스의 전경골근 (도 35a) 또는 사두근 (도 35b)에서 측정된, DM1 환자에서 미스-스플라이싱된 것으로 공지된 30종 초과의 상이한 RNA에서의 스플라이싱 교정을 보여준다. 사용된 항-TfR 항체는 RI7 217 Fab이고, 올리고뉴클레오티드는 골격 액틴 (ACTA1)을 표적화한다.

도 36a-36c는 비히클, 단일 용량의 비접합된 ASO 또는 단일 용량의 항-TfR 항체-ASO 접합체 (Ab-ASO)로 처리된 HSA-LR 마우스의 사두근 (도 36a), 비복근 (도 36b) 및 전경골근 (도 36c)에서의 EMG 근긴장증 등급을 보여준다. 사용된 항-TfR 항체는 RI7 217 Fab이고, 올리고뉴클레오티드는 인간 골격 액틴 (ACTA1)을 표적화한다.

도 37은 비히클-처리된 마우스에 비해, 단일 용량의 네이키드 ASO 또는 등가 용량의 항-TFR 항체-ASO 접합체 (Ab-ASO) 후 HSA^{LR} DM1 마우스에서 qPCR에 의해 측정된 인간 ACTA1 발현을 보여준다. 사용된 항-TfR 항체는 RI7 217 Fab이고, 올리고뉴클레오티드는 인간 골격 액틴 (ACTA1)을 표적화한다.

도 38a-38c는 비히클-처리된 마우스에 비해, 단일 용량의 10 mg/kg 네이키드 ASO, 20 mg/kg 네이키드 ASO 또는 등가 용량의 항-TFR 항체-ASO 접합체 (Ab-ASO) 후 HSA^{LR} DM1 마우스에서의 사두근 (도 38a), 비복근 (도 38b) 및 전경골근 (도 38c)에서의 ACTA1 발현을 보여준다. 사용된 항-TfR 항체는 RI7 217 Fab이고, 올리고뉴클레오티드는 인간 골격 액틴 (ACTA1)을 표적화한다. (* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 본 개시내용의 측면은 특정 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드, 펩티드, 소분자)가 근육 세포에서 유익한 효과를 가질 수 있지만, 이러한 세포를 효과적으로 표적화하는 것이 어려운 것으로 입증되었다는 인식에 관한 것이다. 본원에 기재된 바와 같이, 본 개시내용은 이러한 난제를 극복하기 위해 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 복합체는, 예를 들어 희귀 근육 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에서 근육 세포에 표적 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 분자 페이로드를 전달하는 데 특히 유용하다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, DM1을 갖는 대상체를 치료하기 위해 확장된 질환-연관-반복부를 포함하는 DMPK 대립유전자를 표적화하기 위한 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는 확장된 질환-연관-반복부를 포함하는 DMPK 대립유전자의 발현을 억제하는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 복합체는 머슬블라인드-유사 단백질 (예를 들어, MBNL1, 2 및/또는 (예를 들어, 및) 3)에 대한 질환-연관 DMPK mRNA의 결합을 방해함으로써 질환-연관 DMPK 대립유전자의 독성 효과를 감소시키는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 질환-연관 DMPK 대립유전자의 독성 효과를 감소시키는 1종 이상의 단백질을 발현하는 합성 핵산 페이로드 (예를 들어, DNA 또는 RNA 페이로드)가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체는, 예를 들어 1종 이상의 머슬블라인드-유사-단백질 (예를 들어, MBNL1, 2 및/또는 (예를 들어, 및) 3) 또는 그의 단편을 발현하는 합성 cDNA 및/또는 (예를 들어, 및) 합성 mRNA의 분자 페이로드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체는 DMPK의 질환-연관 반복 서열에 또는 그 근처에 있는 서열에 핵산 프로그램가능한 뉴클레아제 (예를 들어, Cas9)를 표적화할 수 있는 분자 페이로드, 예컨대 가이드 분자 (예를 들어, 가이드 RNA)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이러한 핵산 프로그램가능한 뉴클레아제는 DMPK 유전자로부터의 질환-연관 반복 서열의 일부 또는 모두를 절단하는 데 사용될 수 있다.

[0066] 정의된 용어의 설명을 포함한 본 개시내용의 추가 측면이 하기에 제공된다.

[0067] I. 정의

[0068] 투여: 본원에 사용된 용어 "투여하는" 또는 "투여"는 생리학상 및/또는 (예를 들어, 및) 약리학상 유용한 (예를 들어, 대상체에서 상태를 치료하기 위한) 방식으로 대상체에게 복합체를 제공하는 것을 의미한다.

[0069] 대략: 본원에 사용된 용어 "대략" 또는 "약"은 1개 이상의 관심 값에 적용되는 경우에 기재된 언급 값에 유사한 값을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 달리 언급되지 않거나 또는 달리 문맥으로부터 명백하지 않는 한 기재된 언급 값의 어느 방향으로 (초과 또는 미만) 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 미만 내에 속하는 값의 범위를 지칭한다 (이러한 수가 가능한 값의 100%를

초과하는 경우는 제외함).

[0070] 항체: 본원에 사용된 용어 "항체"는 적어도 1개의 이뮤노글로불린 가변 도메인 또는 적어도 1개의 항원 결정기, 예를 들어 항원에 특이적으로 결합하는 파라토프를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 키메라 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 그러나, 일부 실시양태에서, 항체는 Fab 단편, Fab', F(ab')2 단편, Fv 단편 또는 scFv 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체는 낙타류 항체로부터 유래된 나노바디 또는 상어 항체로부터 유래된 나노바디이다. 일부 실시양태에서, 항체는 디아바디이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 배선 서열을 갖는 프레임워크를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 IgG, IgG1, IgG2, IgG2A, IgG2B, IgG2C, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgM 및 IgE 불변 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 중쇄 (H) 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 (L) 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 불변 도메인, 예를 들어 Fc 영역을 포함한다. 이뮤노글로불린 불변 도메인은 중쇄 또는 경쇄 불변 도메인을 지칭한다. 인간 IgG 중쇄 및 경쇄 불변 도메인 아미노산 서열 및 그의 기능적 변이는 공지되어 있다. 중쇄와 관련하여, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 중쇄는 알파 (α), 델타 (Δ), 엡실론 (ε), 감마 (ɣ) 또는 뮤 (μ) 중쇄일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 중쇄는 인간 알파 (α), 델타 (Δ), 엡실론 (ε), 감마 (ɣ) 또는 뮤 (μ) 중쇄를 포함할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 감마 1 CH1, CH2 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH 도메인의 아미노산 서열은 인간 감마 (ɣ) 중쇄 불변 영역, 예컨대 관련 기술분야에 공지된 임의의 것의 아미노산 서열을 포함한다. 인간 불변 영역 서열의 비제한적 예는 관련 기술분야에 기재되었으며, 예를 들어 미국 특허 번호 5,693,780 및 상기 문헌 [Kabat E A et al., (1991)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, VH 도메인은 본원에 제공된 임의의 가변 쇄 불변 영역에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 링커 폴리펩티드 또는 이뮤노글로불린 불변 도메인에 연결된 본 개시내용의 1개 이상의 항원 결합 단편을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 구축물이다. 링커 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산 잔기를 포함하고, 1개 이상의 항원 결합 부분을 연결하는 데 사용된다. 링커 폴리펩티드의 예가 보고되었다 (예를 들어, 문헌 [Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123] 참조). 추가로, 항체는 항체 또는 항체 부분과 1종 이상의 다른 단백질 또는 펩티드와의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된 보다 큰 면역부착 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역부착 분자의 예는 사량체 scFv 분자를 제조하기 위한 스트렙타비딘 코어 영역의 사용 (Kipriyanov, S. M., et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101) 및 2가 및 비오티닐화 scFv 분자를 제조하기 위한 시스테인 잔기, 마커 펩티드 및 C-말단 폴리히스티딘 태그의 사용 (Kipriyanov, S. M., et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058)을 포함한다.

[0071] CDR: 본원에 사용된 용어 "CDR"은 항체 가변 서열 내의 상보성 결정 영역을 지칭한다. 전형적인 항체 분자는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하며, 이는 통상적으로 항원 결합에 수반된다. VH 및 VL 영역은 "프레임워크 영역" ("FR")으로 공지된 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, "상보성 결정 영역" ("CDR")으로도 공지된 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 전형적으로 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 프레임워크 영역 및 CDR의 정도는 관련 기술분야에 공지된 방법론을 사용하여, 예를 들어 카바트 정의, IMGT 정의, 코티아 정의, AbM 정의 및/또는 (예를 들어, 및) 접촉 정의에 의해 정확하게 확인될 수 있으며, 이들 모두는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system® http://www.imgt.org, Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999); Ruiz, M. et al.,

Nucleic Acids Res., 28:219-221 (2000); Lefranc, M.-P., Nucleic Acids Res., 29:207-209 (2001); Lefranc, M.-P., Nucleic Acids Res., 31:307-310 (2003); Lefranc, M.-P. et al., In Silico Biol., 5, 0006 (2004) [Epub], 5:45-60 (2005); Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 33:D593-597 (2005); Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 37:D1006-1012 (2009); Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 43:D413-422 (2015); Chothia et al., (1989) Nature 342:877; Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917, Al-lazikani et al. (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948; 및 Almagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004)]을 참조한다. 또한 hgmp.mrc.ac.uk 및 bioinf.org.uk/abs를 참조한다. 본원에 사용된 CDR은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다. 동일한 CDR을 갖는 2종의 항체는 2종의 항체가 동일한 방법, 예를 들어 IMGT 정의에 의해 결정 시 그 CDR과 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 것을 의미한다.

[0072] 중쇄 및 경쇄의 각각의 가변 영역에 3개의 CDR이 존재하며, 이는 각각의 가변 영역에 대해 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 지정된다. 본원에 사용된 용어 "CDR 세트"는 항원에 결합할 수 있는 단일 가변 영역에서 발생하는 3개의 CDR의 군을 지칭한다. 이들 CDR의 정확한 경계는 상이한 시스템에 따라 상이하게 정의되었다. 카바트에 의해 기재된 시스템 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991))은 항체의 임의의 가변 영역에 적용가능한 명백한 잔기 넘버링 시스템을 제공할 뿐만 아니라, 3개의 CDR을 정의하는 정확한 잔기 경계를 제공한다. 이들 CDR은 카바트 CDR로 지칭될 수 있다. CDR의 하위-부분은 L1, L2 및 L3 또는 H1, H2 및 H3으로 지정될 수 있으며, 여기서 "L" 및 "H"는 각각 경쇄 및 중쇄 영역을 지정한다. 이들 영역은 코티아 CDR로 지칭될 수 있으며, 이는 카바트 CDR과 중첩되는 경계를 갖는다. 카바트 CDR과 중첩되는 CDR을 정의하는 다른 경계는 문헌 [Padlan (FASEB J. 9:133-139 (1995)) 및 MacCallum (J Mol Biol 262(5):732-45 (1996))]에 기재되었다. 또 다른 CDR 경계 정의는 상기 시스템 중 하나를 엄격히 따르지 않을 수 있으나 그럼에도 불구하고 카바트 CDR과 중첩될 것이며, 다만 특정한 잔기 또는 잔기의 군 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 유의하게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견에 비추어 단축되거나 연장될 수 있다. 본원에 사용된 방법은 임의의 이들 시스템에 따라 정의된 CDR을 이용할 수 있다. CDR 정의 시스템의 예가 표 1에 제공된다.

[0073] 표 1. CDR 정의

	IMGT[1]	카바트[2]	코티아[3]
CDR-H1	27-38	31-35	26-32
CDR-H2	56-65	50-65	53-55
CDR-H3	105-116/117	95-102	96-101
CDR-L1	27-38	24-34	26-32
CDR-L2	56-65	50-56	50-52
CDR-L3	105-116/117	89-97	91-96

[0074]

[0075] [1] IMGT®, 국제 이뮤노제네틱스 정보 시스템(international ImMunoGeneTics information system)®, imgt.org, [Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)]

[0076] [2] [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]

[0077] [3] [Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917(1987))]

[0078] CDR-그라프트된 항체: 용어 "CDR-그라프트된 항체"는 하나의 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하나, VH 및/또는 (예를 들어, 및) VL의 CDR 영역 중 1개 이상의 서열이 또 다른 종의 CDR 서열로 대체된 항체, 예컨대 뮤린 CDR 중 1개 이상 (예를 들어, CDR3)이 인간 CDR 서열로 대체된 뮤린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다.

[0079] 키메라 항체: 용어 "키메라 항체"는 하나의 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열 및 또 다른 종으로부터의 불변 영역 서열을 포함하는 항체, 예컨대 인간 불변 영역에 연결된 뮤린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다.

[0080] 상보적: 본원에 사용된 용어 "상보적"은 2개의 뉴클레오티드 또는 2개 세트의 뉴클레오티드 사이의 정확한 쌍형성 능력을 지칭한다. 특히, 상보적은 2개의 뉴클레오티드 또는 2개 세트의 뉴클레오티드 사이의 결합을 가져오는 수소 결합 쌍형성의 정도를 특징화하는 용어이다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드의 한 위치에서의 염기가

표적 핵산 (예를 들어, mRNA)의 상응하는 위치에서의 염기와 수소 결합할 수 있으면, 염기들이 그 위치에서 서로에 대해 상보적인 것으로 간주된다. 염기 쌍형성은 정규 왓슨-크릭 염기 쌍형성 및 비-왓슨-크릭 염기 쌍형성 (예를 들어, 워블 염기 쌍형성 및 후그스틴 염기 쌍형성) 둘 다를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 상보적 염기 쌍형성의 경우, 아데노신-유형 염기 (A)는 티미딘-유형 염기 (T) 또는 우라실-유형 염기 (U)에 대해 상보적이고, 시토신-유형 염기 (C)는 구아노신-유형 염기 (G)에 대해 상보적이고, 범용 염기, 예컨대 3-니트로피롤 또는 5-니트로인돌은 임의의 A, C, U 또는 T에 혼성화할 수 있고 그에 대해 상보적인 것으로 간주된다. 이노신 (I)은 또한 관련 기술분야에서 범용 염기인 것으로 간주되어 왔고, 임의의 A, C, U 또는 T에 대해 상보적인 것으로 간주된다.

[0081] 보존적 아미노산 치환: 본원에 사용된 "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 치환이 이루어지는 단백질의 상대 전하 또는 크기 특징을 변경시키지 않는 아미노산 치환을 지칭한다. 변이체는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 폴리펩티드 서열을 변경시키는 방법에 따라 제조될 수 있으며, 예컨대 이러한 방법을 편집해 놓은 참고문헌, 예를 들어 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2012, 또는 Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New York]에서 발견된다. 아미노산의 보존적 치환은 하기 군 내의 아미노산들 사이에 이루어진 치환을 포함한다: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; 및 (g) E, D.

[0082] 공유 연결된: 본원에 사용된 용어 "공유 연결된"은 2개 이상의 분자가 적어도 1개의 공유 결합을 통해 함께 연결된 특징을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2개의 분자는 분자들 사이의 링커로서의 역할을 하는 단일 결합, 예를 들어 디술피드 결합 또는 디술피드 가교에 의해 함께 공유 연결될 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 2개 이상의 분자는 다중 공유 결합을 통해 2개 이상의 분자를 함께 연결하는 링커로서의 역할을 하는 분자를 통해 함께 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 절단가능한 링커일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 비-절단가능한 링커일 수 있다.

[0083] 교차-반응성: 본원에서 표적화제 (예를 들어, 항체)와 관련하여 사용된 용어 "교차-반응성"은 유사한 친화도 또는 결합력으로 유사한 유형 또는 부류의 1종 초과의 항원 (예를 들어, 다수의 상동체, 파라로그 또는 오르토로그의 항원)에 특이적으로 결합할 수 있는 작용제의 특성을 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 유사한 유형 또는 부류의 인간 및 비-인간 영장류 항원 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체 및 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체)에 대해 교차-반응성인 항체는 유사한 친화도 또는 결합력으로 인간 항원 및 비-인간 영장류 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 인간 항원 및 설치류 항원에 대해 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 설치류 항원 및 비-인간 영장류 항원에 대해 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 인간 항원, 비-인간 영장류 항원 및 설치류 항원에 대해 교차-반응성이다.

[0084] 질환-연관-반복부: 본원에 사용된 용어 "질환-연관-반복부"는 해당 개수의 반복 뉴클레오티드 서열 단위가 유전 질환과 상관관계가 있고/거나 (예를 들어, 있고) 그에 직접적으로 또는 간접적으로 기여하거나 그를 유발하는 게놈 위치에서의 반복 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 질환 연관 반복부의 각각의 반복 단위는 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 디뉴클레오티드 반복부이다. 일부 실시양태에서, 질환 연관 반복부는 트리뉴클레오티드 반복부이다. 일부 실시양태에서, 질환 연관 반복부는 테트라뉴클레오티드 반복부이다. 일부 실시양태에서, 질환 연관 반복부는 펜타뉴클레오티드 반복부이다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 CAG 반복부, CTG 반복부, CUG 반복부, CGG 반복부, CCTG 반복부 또는 이들 중 임의의 것의 뉴클레오티드 상보체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 유전자의 비-코딩 부분에 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 유전자의 코딩 영역에 있다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 정상 상태로부터 유전 질환에 직접적으로 또는 간접적으로 기여하거나 그를 유발하는 길이로 확장된다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 RNA (예를 들어, RNA 전사체)에 있다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 DNA (예를 들어, 염색체, 플라스미드)에 있다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 배선 세포의 염색체에서 확장된다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 체세포의 염색체에서 확장된다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 질환의 선천성 발병과 연관된 개수의 반복 단위로 확장된다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 질환의 소아기 발병과 연관된 개수의 반복 단위로 확장된다. 일부 실시양태에서, 질환-연관-반복부는 질환의 성인 발병과 연관된 개수의 반복 단위로 확장된다.

[0085] DMPK: 본원에 사용된 용어 "DMPK"는 세린/트레오닌 단백질 키나제인 미오토닌-단백질 키나제 (근긴장성 이영양

증(myotonic dystrophy) 단백질 키나제 또는 근긴장성 이영양증(dystrophia myotonica) 단백질 키나제로도 공지됨)를 코딩하는 유전자를 지칭한다. 이러한 효소에 대한 기질은 미오게닌, L-형 칼슘 채널의 베타-서브유닛 및 포스포레만을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, DMPK는 인간 (진(Gene) ID: 1760), 비-인간 영장류 (예를 들어, 진 ID: 456139, 진 ID: 715328) 또는 설치류 유전자 (예를 들어, 진 ID: 13400)일 수 있다. 인간에서, DMPK의 3' 비-코딩, 비번역 영역에서의 CTG 반복부 확장은 근긴장성 이영양증 I형 (DM1)과 연관된다. 추가로, 상이한 단백질 이소형을 코딩하는 다수의 인간 전사체 변이체 (예를 들어, 진뱅크(GenBank) RefSeq 수탁 번호: NM_001081563.2, NM_004409.4, NM_001081560.2, NM_001081562.2, NM_001288764.1, NM_001288765.1 및 NM_001288766.1 하에 주석달린 바와 같음)가 특징화되었다.

[0086] DMPK 대립유전자: 본원에 사용된 용어 "DMPK 대립유전자"는 DMPK 유전자의 대안적 형태 (예를 들어, 야생형 또는 돌연변이 형태) 중 어느 하나를 지칭한다. 일부 실시양태에서, DMPK 대립유전자는 그의 정상적이고 전형적인 기능을 보유하는 야생형 미오토닌-단백질 키나제를 코딩할 수 있다. 일부 실시양태에서, DMPK 대립유전자는 1개 이상의 질환-연관-반복부 확장을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 정상 대상체는 5 내지 37개의 범위의 반복 단위를 포함하는 2개의 DMPK 대립유전자를 갖는다. 일부 실시양태에서, DM1을 갖는 대상체에서 CTG 반복 단위의 개수는 ~50 내지 ~ 3,000+개의 범위이고, 보다 많은 개수의 반복부는 질환의 증가된 중증도로 이어진다. 일부 실시양태에서, 경도로 이환된 DM1 대상체는 50 내지 150개의 범위의 반복 단위를 갖는 적어도 1개의 DMPK 대립유전자를 갖는다. 일부 실시양태에서, 전형적 DM1을 갖는 대상체는 100 내지 1,000개 또는 그 초과의 범위의 반복 단위를 갖는 적어도 1개의 DMPK 대립유전자를 갖는다. 일부 실시양태에서, 선천성 발병을 갖는 DM1을 갖는 대상체는 2,000개 초과의 반복 단위를 포함하는 적어도 1개의 DMPK 대립유전자를 가질 수 있다.

[0087] 프레임워크: 본원에 사용된 용어 "프레임워크" 또는 "프레임워크 서열"은 CDR을 제외한 가변 영역의 나머지 서열을 지칭한다. CDR 서열의 정확한 정의는 상이한 시스템에 의해 결정될 수 있기 때문에, 프레임워크 서열의 의미는 상응하는 상이한 해석에 따른다. 6개의 CDR (경쇄의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 및 중쇄의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 또한 경쇄 및 중쇄 상의 프레임워크 영역을 각각의 쇄 상에서 4개의 하위-영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4)으로 분류하며, 여기서 CDR1은 FR1과 FR2 사이에, CDR2는 FR2와 FR3 사이에, CDR3은 FR3과 FR4 사이에 위치한다. 특정한 하위-영역을 FR1, FR2, FR3 또는 FR4로서 명시하지 않으면서, 다른 것으로 지칭되는 프레임워크 영역은, 단일의 자연 발생 이뮤노글로불린 쇄의 가변 영역 내의 조합 FR을 나타낸다. 본원에 사용된 FR은 4개의 하위-영역 중 1개를 나타내고, FR들은 프레임워크 영역을 구성하는 4개의 하위-영역 중 2개 이상을 나타낸다. 인간 중쇄 및 경쇄 수용자 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 관련 기술분야에 공지된 수용자 서열은 본원에 개시된 항체에 사용될 수 있다.

[0088] 인간 항체: 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 본 개시내용의 인간 항체는, 예를 들어 CDR, 특히 CDR3 내에, 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프트된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0089] 인간화 항체: 용어 "인간화 항체"는 비-인간 종 (예를 들어, 마우스)으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하지만, VH 및/또는 (예를 들어, 및) VL 서열의 적어도 한 부분이 보다 "인간-유사"하도록, 즉 인간 배선 가변 서열과 보다 유사하도록 변경된 항체를 지칭한다. 인간화 항체의 한 유형은 인간 CDR 서열이 비-인간 VH 및 VL 서열에 도입되어 상응하는 비인간 CDR 서열을 대체하는 CDR-그라프트된 항체이다. 한 실시양태에서, 인간화 항-트랜스페린 수용체 항체 및 항원 결합 부분이 제공된다. 이러한 항체는 전통적인 하이브리도마 기술을 사용하여 뮤린 항-트랜스페린 수용체 모노클로날 항체를 수득하고, 이어서 시험관내 유전자 조작, 예컨대 PCT 공개 번호 WO 2005/123126 A2 (Kasaian et al.)에 개시된 것을 사용하여 인간화함으로써 생성될 수 있다.

[0090] 내재화 세포 표면 수용체: 본원에 사용된 용어 "내재화 세포 표면 수용체"는, 예를 들어 외부 자극, 예를 들어 수용체에 대한 리간드 결합 시 세포에 의해 내재화되는 세포 표면 수용체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 세포내이입에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 클라트린-매개 세포내이입에 의해 내재화된다. 그러나, 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 클라트린-비의존성 경로, 예컨대, 예를 들어 식세포작용, 거대음세포작용, 카베올라- 및 라프트-매개 흡수 또는 구성적 클라트린-비의존성 세포내이입에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 세포내 도메인, 막횡단 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) 세포외 도메인을 포함하고, 이는 임의로 리간드-결합 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 수용체는 리간드 결합 후 세포에 의해 내재화된다. 일

부 실시양태에서, 리간드는 근육-표적화제 또는 근육-표적화 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 트랜스페린 수용체이다.

[0091] 단리된 항체: 본원에 사용된 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다 (예를 들어, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 트랜스페린 수용체 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, 트랜스페린 수용체 복합체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 다른 종으로부터의 트랜스페린 수용체 분자에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 (예를 들어, 및) 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0092] 카바트 넘버링: 용어 "카바트 넘버링", "카바트 정의" 및 "카바트 라벨링"은 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 관련 기술분야에서 인식되는 이들 용어는 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내의 다른 아미노산 잔기보다 더 가변적인 (즉, 초가변적인) 아미노산 잔기를 넘버링하는 시스템을 지칭한다 (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad, Sci. 190:382-391 및 Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). 중쇄 가변 영역에서, 초가변 영역은 CDR1의 경우 아미노산 위치 31 내지 35, CDR2의 경우 아미노산 위치 50 내지 65 및 CDR3의 경우 아미노산 위치 95 내지 102의 범위이다. 경쇄 가변 영역에서, 초가변 영역은 CDR1의 경우 아미노산 위치 24 내지 34, CDR2의 경우 아미노산 위치 50 내지 56, 및 CDR3의 경우 아미노산 위치 89 내지 97의 범위이다.

[0093] 분자 페이로드: 본원에 사용된 용어 "분자 페이로드"는 생물학적 결과를 조정하는 기능을 하는 분자 또는 종을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육-표적화제에 연결되거나 또는 달리 그와 회합된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 소분자, 단백질, 펩티드, 핵산 또는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DNA 서열의 전사를 조정하거나, 단백질의 발현을 조정하거나 또는 단백질의 활성을 조정하는 기능을 한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 표적 유전자에 대한 상보성 영역을 갖는 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이다.

[0094] 근육-표적화제: 본원에 사용된 용어 "근육-표적화제"는 근육 세포 상에서 발현된 항원에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 근육 세포 내의 또는 상의 항원은 막 단백질, 예를 들어 내재성 막 단백질 또는 말초 막 단백질일 수 있다. 전형적으로, 근육-표적화제는 근육-표적화제 (및 임의의 회합된 분자 페이로드)의 근육 세포 내로의 내재화를 용이하게 하는 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 상의 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합하고, 수용체 매개 내재화를 통해 근육 세포 내로 내재화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 소분자, 단백질, 펩티드, 핵산 (예를 들어, 압타머) 또는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 연결된다.

[0095] 근육-표적화 항체: 본원에 사용된 용어 "근육-표적화 항체"는 근육 세포 내에서 또는 상에서 발견된 항원에 특이적으로 결합하는 항체인 근육-표적화제를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근육-표적화 항체 (및 임의의 회합된 분자 페이로드)의 근육 세포 내로의 내재화를 용이하게 하는 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근육 세포 상에 존재하는 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체이다.

[0096] 근긴장성 이영양증 (DM): 본원에 사용된 용어 "근긴장성 이영양증 (DM)"은 근육 손실, 근육 약화 및 근육 기능을 특징으로 하는 DMPK 유전자 또는 CNBP (ZNF9) 유전자 내의 돌연변이에 의해 유발된 유전 질환을 지칭한다. 이 질환의 2가지 유형인 근긴장성 이영양증 1형 (DM1) 및 근긴장성 이영양증 2형 (DM2)이 설명되어 왔다. DM1은 DMPK의 3' 비-코딩 영역 내의 CTG 트리뉴클레오티드 반복부의 확장과 연관된다. DM2는 ZNF9의 제1 인트론 내의 CCTG 테트라뉴클레오티드 반복부의 확장과 연관된다. DM1 및 DM2 둘 다에서, 뉴클레오티드 확장은 중요한 세포내 단백질, 예를 들어 머슬블라인드-유사 단백질에 고친화도로 결합하는 헤어핀 구조를 형성할 수 있는 독성 RNA 반복부를 유도한다. 근긴장성 이영양증, 이 질환에 대한 유전적 기초 및 관련 증상은 관련 기술분야에 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Thornton, C.A., "Myotonic Dystrophy" Neurol Clin. (2014), 32(3): 705-719.; 및 Konieczny et al. "Myotonic dystrophy: candidate small molecule therapeutics" Drug Discovery Today (2017), 22:11.] 참조). 일부 실시양태에서, 대상체는 선천성 근긴장성 이영양증으로 불리는 DM1의 변이를 가지고 태어난다. 선천성 근긴장성 이영양증의 증상은 출생시부터 존재하고, 모든 근육의 약화, 호흡 문제, 곤봉발, 발달 지체 및 지적 장애를 포함한다. DM1은 온라인 인간 멘델 유전 (OMIM) 엔트리 # 160900과 연관된

다. DM2는 OMIM 엔트리 # 602668과 연관된다.

[0097] 올리고뉴클레오티드: 본원에 사용된 용어 "올리고뉴클레오티드"는 최대 200개의 뉴클레오티드 길이의 올리고머 핵산 화합물을 지칭한다. 올리고뉴클레오티드의 예는 RNAi 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, siRNA, shRNA), 마이크로RNA, 갭머, 믹스머, 포스포로디아미다이트 모르폴리노, 펩티드 핵산, 압타머, 가이드 핵산 (예를 들어, Cas9 가이드 RNA) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 올리고뉴클레오티드는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-O-메틸 당 변형, 퓨린 또는 피리미딘 변형)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 Rp 또는 Sp 입체화학적 입체형태일 수 있는 1개 이상의 포스포로티오에이트 연결을 포함할 수 있다.

[0098] 재조합 항체: 본원에 사용된 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 숙주 세포 내로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체 (본 개시내용에 보다 상세히 기재됨), 재조합 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 (Hoogenboom H. R., (1997) TIB Tech. 15:62-70; Azzazy H., and Highsmith W. E., (2002) Clin. Biochem. 35:425-445; Gavilondo J. V., and Larrick J. W. (2002) BioTechniques 29:128-145; Hoogenboom H., and Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378), 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉인 동물 (예를 들어, 마우스)로부터 단리된 항체 (예를 들어, 문헌 [Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295; Kellermann S-A., and Green L. L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597; Little M. et al. (2000) Immunology Today 21:364-370] 참조) 또는 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열의 다른 DNA 서열로의 스플라이싱을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 이러한 재조합 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는다. 그러나, 특정 실시양태에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발 (또는 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물이 사용되는 경우에, 생체내 체세포 돌연변이유발)에 적용되고, 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 배선 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 그와 관련되지만 생체내 인간 항체 배선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재할 수 없는 서열이다. 본 개시내용의 한 실시양태는 인간 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 완전 인간 항체를 제공하며, 이는 관련 기술분야에 널리 공지된 기술, 예컨대, 비제한적으로 인간 Ig 파지 라이브러리, 예컨대 PCT 공개 번호 WO 2005/007699 A2 (Jermutus et al.)에 개시된 것을 사용하여 생성될 수 있다.

[0099] 상보성 영역: 본원에 사용된 용어 "상보성 영역"은 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 동족 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해, 2개의 뉴클레오티드 서열이 생리학적 조건 하에 (예를 들어, 세포에서) 서로에 대해 어닐링될 수 있도록 하는 데 충분히 상보적인 것을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해 완전히 상보적이다. 그러나, 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해 부분적으로 상보적이다 (예를 들어, 적어도 80%, 90%, 95% 또는 99% 상보성). 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열과 비교하여 1, 2, 3 또는 4개의 미스매치를 함유한다.

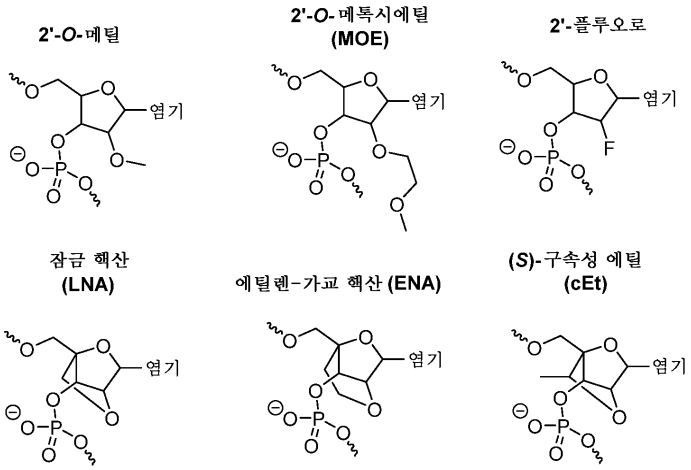
[0100] 특이적으로 결합한다: 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합한다"는 분자가 결합 검정 또는 다른 결합 상황에서 결합 파트너를 적절한 대조군과 구별하는 데 사용될 수 있게 하는 친화도 또는 결합력의 정도로 분자가 결합 파트너에 결합하는 능력을 지칭한다. 항체와 관련하여, 용어 "특이적으로 결합한다"는 적절한 참조 항원 또는 항원들과 비교하여, 항체가 특이적 항원을 다른 것과 구별하는 데, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 항원에 대한 결합을 통해 특정 세포, 예를 들어 근육 세포에 대한 우선적 표적화를 허용하는 정도로 사용될 수 있게 하는 친화도 또는 결합력의 정도로 항체가 특이적 항원에 결합하는 능력을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체가 표적에의 결합에 대한 K_D가 적어도 약 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만인 경우에 항체는 표적에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 트랜스페린 수용체, 예를 들어 트랜스페린 수용체의 정단 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0101] 대상체: 본원에 사용된 용어 "대상체"는 포유동물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 비-인간 영장류 또는 설치류이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 환자, 예를 들어 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다. 일부 실시양태에서, 대상체는, 예를 들어 DMPK 대립유전자 내 질환-연관-반복부 확장으로 인한 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다.

[0102] 트랜스페린 수용체: 본원에 사용된 용어 "트랜스페린 수용체" (TFRC, CD71, p90, TFR 또는 TFR1로도 공지됨)는

트랜스페린에 결합하여 세포내이입에 의한 철 흡수를 용이하게 하는 내재화 세포 표면 수용체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체는 인간 (NCBI 진 ID 7037), 비-인간 영장류 (예를 들어, NCBI 진 ID 711568 또는 NCBI 진 ID 102136007) 또는 설치류 (예를 들어, NCBI 진 ID 22042) 기원의 것일 수 있다. 추가로, 수용체의 상이한 이소형을 코딩하는 다수의 인간 전사체 변이체 (예를 들어, 진뱅크 RefSeq 수탁 번호: NP_001121620.1, NP_003225.2, NP_001300894.1 및 NP_001300895.1 하에 주석달린 바와 같음)가 특징화되었다.

[0103] 2'-변형된 뉴클레오시드: 본원에 사용된 용어 "2'-변형된 뉴클레오시드" 및 "2'-변형된 리보뉴클레오시드"는 상호교환가능하게 사용되고, 2' 위치에서 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 당의 2' 및 4' 위치가 (예를 들어, 메틸렌, 에틸렌 또는 (S)-구속성 에틸 가교를 통해) 가교된 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는, 예를 들어 당 모이어티의 2' 위치가 치환된 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 2'-변형된 뉴클레오시드의 비제한적 예는 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE), 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA), 잠금 핵산 (LNA, 메틸렌-가교 핵산), 에틸렌-가교 핵산 (ENA) 및 (S)-구속성 에틸-가교 핵산 (cEt)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 2'-변형된 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오티드이고, 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 비변형된 올리고뉴클레오티드에 비해 표적 서열에 대해 증가된 친화도를 갖는다. 2'-변형된 뉴클레오시드의 구조의 예가 하기에 제공된다:

[0104] 

[0105] II. 복합체

[0106] 분자 페이로드에 공유 연결된 표적화제, 예를 들어 항체를 포함하는 복합체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화 항체를 포함한다. 복합체는 단일 항원 부위에 특이적으로 결합하거나 또는 동일하거나 상이한 항원 상에 존재할 수 있는 적어도 2개의 항원 부위에 결합하는 항체를 포함할 수 있다.

[0107] 복합체는 적어도 1종의 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 활성 또는 기능을 조정하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체에 존재하는 분자 페이로드는 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 조정을 담당한다. 분자 페이로드는 소분자, 단백질, 핵산, 올리고뉴클레오티드, 또는 세포 내의 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 활성 또는 기능을 조정할 수 있는 임의의 분자 개체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육 세포에서 질환-연관 반복부를 표적화하는 올리고뉴클레오티드이다.

[0108] 일부 실시양태에서, 복합체는 분자 페이로드, 예를 들어 질환-연관 반복부, 예를 들어 DMPK 대립유전자의 질환-연관 반복부를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제, 예를 들어 항-트랜스페린 수용체 항체를 포함한다.

[0109] A. 근육-표적화제

[0110] 본 개시내용의 일부 측면은, 예를 들어 분자 페이로드를 근육 세포에 전달하기 위한 근육-표적화제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 이러한 근육-표적화제는, 예를 들어 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합함으로써 근육 세포에 결합하고, 회합된 분자 페이로드를 근육 세포에 전달할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는

근육 표적화제에 결합 (예를 들어, 공유 결합)되고, 근육 세포 상의 항원에 대한 근육 표적화제의 결합 시, 예를 들어 세포내이입을 통해 근육 세포 내로 내재화된다. 다양한 유형의 근육-표적화제가 본 개시내용에 따라 사용될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 예를 들어, 근육-표적화제는 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 펩티드 (예를 들어, 항체), 지질 (예를 들어, 미세소포) 또는 당 모이어티 (예를 들어, 폴리사카라이드)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 예시적인 근육-표적화제는 본원에 추가로 상세히 기재되어 있지만, 본원에 제공된 예시적인 근육-표적화제는 제한적인 것으로 의도되지 않는 것으로 인지될 것이다.

[0111] 본 개시내용의 일부 측면은 근육, 예컨대 골격근, 평활근 또는 심장 근육 상의 항원에 특이적으로 결합하는 근육-표적화제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 근육-표적화제는 골격근 세포, 평활근 세포 및/또는 (예를 들어, 및) 심장 근육 세포 상의 항원에 결합한다 (예를 들어, 특이적으로 결합함).

[0112] 근육-특이적 세포 표면 인식 요소 (예를 들어, 세포 막 단백질)와 상호작용함으로써, 조직 국재화 및 근육 세포 내로의 선택적 흡수 둘 다가 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육 흡수 수송체에 대한 기질인 분자는 분자 페이로드를 근육 조직 내로 전달하는 데 유용하다. 근육 표면 인식 요소에 대한 결합 후 세포내이입은 심지어 대형 분자, 예컨대 항체도 근육 세포에 진입하게 할 수 있다. 또 다른 예로서 트랜스페린 또는 항-트랜스페린 수용체 항체에 접합된 분자 페이로드는 트랜스페린 수용체에 대한 결합을 통해 근육 세포에 의해 흡수될 수 있고, 이는 이어서, 예를 들어 클라트린-매개 세포내이입을 통해 세포내이입될 수 있다.

[0113] 근육-표적화제의 사용은 다른 조직에서 효과와 연관된 독성을 감소시키면서 근육에서 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)를 농축시키는데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 결합된 분자 페이로드를 대상체 내의 또 다른 세포 유형과 비교하여 근육 세포에 농축시킨다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 결합된 분자 페이로드를 비-근육 세포 (예를 들어, 간, 뉴런, 혈액 또는 지방 세포)에서의 양보다 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100배 더 큰 양으로 근육 세포 (예를 들어, 골격, 평활근 또는 심장 근육 세포)에 농축시킨다. 일부 실시양태에서, 대상체에서의 분자 페이로드의 독성은 그것이 근육-표적화제에 결합된 경우에 대상체에게 전달되었을 때 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90% 또는 95%만큼 감소된다.

[0114] 일부 실시양태에서, 근육 선택성을 달성하기 위해, 근육 인식 요소 (예를 들어, 근육 세포 항원)가 요구될 수 있다. 한 예로서, 근육-표적화제는 근육-특이적 흡수 수송체에 대한 기질인 소분자일 수 있다. 또 다른 예로서, 근육-표적화제는 수송체-매개 세포내이입을 통해 근육 세포에 진입하는 항체일 수 있다. 또 다른 예로서, 근육 표적화제는 근육 세포 상의 세포 표면 수용체에 결합하는 리간드일 수 있다. 수송체-기반 접근법이 세포 진입을 위한 직접 경로를 제공하지만, 수용체-기반 표적화는 목적하는 작용 부위에 도달하도록 자극된 세포내이입을 수반할 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0115] i. 근육-표적화 항체

[0116] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항체이다. 일반적으로, 표적 항원에 대한 항체의 높은 특이성은 근육 세포 (예를 들어, 골격근, 평활근 및/또는 (예를 들어, 및) 심장 근육 세포)를 선택적으로 표적화하는 잠재력을 제공한다. 이러한 특이성은 또한 오프-타겟 독성을 제한할 수 있다. 근육 세포의 표면 항원을 표적화할 수 있는 항체의 예는 보고되었고, 본 개시내용의 범주 내에 있다. 예를 들어, 근육 세포의 표면을 표적화하는 항체는 문헌 [Arahata K., et al. "Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide" Nature 1988; 333: 861-3; Song K.S., et al. "Expression of caveolin-3 in skeletal, cardiac, and smooth muscle cells. Caveolin-3 is a component of the sarcolemma and co-fractionates with dystrophin and dystrophin-associated glycoproteins" J Biol Chem 1996; 271: 15160-5; 및 Weisbart R.H. et al., "Cell type specific targeted intracellular delivery into muscle of a monoclonal antibody that binds myosin IIb" Mol Immunol. 2003 Mar, 39(13):78309]에 기재되어 있으며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0117] a. 항-트랜스페린 수용체 항체

[0118] 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합하는 작용제, 예를 들어 항-트랜스페린-수용체 항체가 근육 세포를 표적화할 수 있다는 인식에 기초한다. 트랜스페린 수용체는 세포 막을 가로질러 트랜스페린을 수송하고 세포내 철 수준의 조절 및 항상성에 참여하는 내재화 세포 표면 수용체이다. 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 트랜스페린 수용체 결합 단백질을 제공한다. 따라서, 본 개시내용의 측면은 트랜스페린 수용체에 결합하는 결합 단백질 (예를 들어, 항체)을 제공한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린

수용체에 결합하는 결합 단백질은 임의의 결합된 분자 페이로드와 함께 근육 세포 내로 내재화된다. 본원에 사용된 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체 항체, 항-트랜스페린 수용체 항체 또는 항-TfR 항체로서 상호교환가능하게 지칭될 수 있다. 트랜스페린 수용체에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체에 결합 시, 예를 들어 수용체-매개 세포내이입을 통해 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0119] 항-트랜스페린 수용체 항체가 여러 공지된 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이를 사용하는 라이브러리 설계를 사용하여 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Diez, P. et al. "High-throughput phage-display screening in array format", Enzyme and microbial technology, 2015, 79, 34-41.; Christoph M. H. and Stanley, J.R. "Antibody Phage Display: Technique and Applications" J Invest Dermatol. 2014, 134:2.; Engleman, Edgar (Ed.) "Human Hybridomas and Monoclonal Antibodies." 1985, Springer.). 다른 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 이전에 특징화되거나 개시되었다. 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,364,934, 출원일 12/4/1979, "Monoclonal antibody to a human early thymocyte antigen and methods for preparing same"; 미국 특허 번호 8,409,573, 출원일 6/14/2006, "Anti-CD71 monoclonal antibodies and uses thereof for treating malignant tumor cells"; 미국 특허 번호 9,708,406, 출원일 5/20/2014, "Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use"; US 9,611,323, 출원일 12/19/2014, "Low affinity blood brain barrier receptor antibodies and uses therefor"; WO 2015/098989, 출원일 12/24/2014, "Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier"; 문헌 [Schneider C. et al. "Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9." J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.; Lee et al. "Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse" 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052.] 참조).

[0120] 일부 측면에서, 근육 표적화제로서 (예를 들어, 근육 표적화 복합체에) 사용하기 위한 새로운 항-TfR 항체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 트랜스페린 수용체에 높은 특이성 및 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 트랜스페린 수용체의 임의의 세포외 에피토프 또는 항체에 노출되게 되는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR 항체는 인간, 비-인간 영장류, 마우스, 래트 등으로부터의 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR 항체는 인간 트랜스페린 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 서열식별번호: 105-108에 제공된 바와 같은 인간 또는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체의 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 트랜스페린 수용체의 정단 도메인에 존재하지 않는, 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 트랜스페린 수용체의 아미노산 90-96에 상응하는 아미노산 절편에 결합한다.

[0121] NCBI 서열 NP_003225.2 (트랜스페린 수용체 단백질 1 이소형 1, 호모 사피엔스(homo sapiens))에 상응하는 인간 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAVDEEENADNNTKANVT
KPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPA
ARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREF
KLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLV
HANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNA
ELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCP
SDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAKSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARA
AAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARG
DFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSG
SHTLPALLENLKLRKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF

[0122] (SEQ ID NO: 105)

[0123] NCBI 서열 NP_001244232.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 마카카 물라타(Macaca mulatta))에 상응하는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDEEENTDNNTKPNGT
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK
LSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH
ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPS
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR
AAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSA
RGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPFRHVFWG
SGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF

[0124] (SEQ ID NO: 106)

[0125] NCBI 서열 XP_005545315.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 마카카 파시쿨라리스(Macaca fascicularis))에 상응하는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDEEENTDNNTKANGT
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK
LSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH
ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPS
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR
AAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSA
RGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPFRHVFWG
SGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF

[0126] (SEQ ID NO: 107)

[0127] NCBI 서열 NP_001344227.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 무스 무스쿨루스(mus musculus))에 상응하는 마우스 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAADEEENADNNMKASV
RKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLGYCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETE
DVPTSSRLYWADLKTLLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFH
EFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVSGKLV
HANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKFPVVE
ADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGKMEGS
CPARWNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGAQRDA
LGAGVAAKSSVGTGLLLKLAQVFSDMISKDGFRPSRSIIFASWTAGDFGAVGATEWLEG
YLSSLHLKAFTYINLDKVVLGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSN
WISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQM
VRTAAEVAGQLIIKLTHDVELNLDYEMYNSKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQWLYS
ARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRFVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESPFRHIFWG
SGSHTLSALVENLKLRQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF
(SEQ ID NO: 108)

[0128]

[0129] 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 하기와 같은 수용체의 아미노산 절편에 결합하고:

FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFE
DLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLG
TGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCR
MVTSESKNVKLTVSNVLKE (SEQ ID NO: 109)

[0130] , 트랜스페린 수용체와 트랜스페린 및/또는 (예를 들어, 및) 인간 혈색소증 단백질 (HFE로도 공지됨) 사이의 결합 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 109 내의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0131] 적절한 방법론을 사용하여, 예를 들어 재조합 DNA 프로토콜의 사용을 통해 항체, 항체 단편 또는 항원-결합제를 수득하고/거나 (예를 들어, 수득하고) 생산할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 또한 하이브리도마의 생성을 통해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kohler, G and Milstein, C. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity" Nature, 1975, 256: 495-497] 참조). 관심 항원은 임의의 형태 또는 개체, 예를 들어 재조합 또는 자연 발생 형태 또는 개체의 면역원으로서 사용될 수 있다. 하이브리도마는 표준 방법, 예를 들어 ELISA 스크리닝을 사용하여 스크리닝되어, 특정한 항원을 표적화하는 항체를 생산하는 적어도 1종의 하이브리도마를 발견한다. 항체는 또한 항체를 발현하는 단백질 발현 라이브러리, 예를 들어 파지 디스플레이 라이브러리의 스크리닝을 통해 생산될 수 있다. 일부 실시양태에서, 파지 디스플레이 라이브러리 설계가 또한 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,223,409, 출원일 3/1/1991, "Directed evolution of novel binding proteins"; WO 1992/18619, 출원일 4/10/1992, "Heterodimeric receptor libraries using phagemids"; WO 1991/17271, 출원일 5/1/1991, "Recombinant library screening methods"; WO 1992/20791, 출원일 5/15/1992, "Methods for producing members of specific binding pairs"; 및 WO 1992/15679, 출원일 2/28/1992, "Improved epitope displaying phage" 참조). 일부 실시양태에서, 관심 항원이 비-인간 동물, 예를 들어 설치류 또는 염소를 면역화하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체가 이어서 비-인간 동물로부터 수득되고, 다수의 방법론을 사용하여, 예를 들어 재조합 DNA 기술을 사용하여 임의로 변형될 수 있다. 항체 생산 및 방법론의 추가의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Harlow et al. "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988.] 참조).

[0132] 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약 1-10, 약 1-5, 약 5-10, 약 1-4, 약 1-3 또는 약 2개의 당 분자가 존재한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화 항

체는 완전히 또는 부분적으로 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 화학 반응 또는 효소적 수단에 의해 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 시험관내에서 또는 임의로 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소, 예를 들어 글리코실트랜스퍼라제가 결핍되어 있을 수 있는 세포 내부에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof")에 기재된 바와 같이 당 또는 탄수화물 분자로 관능화된다.

[0133] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR 항체는 표 2로부터 선택된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 VL 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) VH 도메인을 포함하고, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 이뮤노글로불린 분자, 임의의 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 임의의 하위부류 (예를 들어, IgG2a 및 IgG2b)의 이뮤노글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. 인간 불변 영역의 비제한적 예는 관련 기술분야에 기재되어 있으며, 예를 들어 상기 문헌 [Kabat E A et al., (1991)]을 참조한다.

[0134] 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체에 결합하는 작용제, 예를 들어 항-TfR 항체는 근육 세포를 표적화할 수 있고/거나 (예를 들어, 있고) 혈액 뇌 장벽을 가로지르는 작용제의 수송을 매개할 수 있다. 트랜스페린 수용체는 세포 막을 가로질러 트랜스페린을 수송하고 세포내 철 수준의 조절 및 항상성에 참여하는 내재화 세포 표면 수용체이다. 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 트랜스페린 수용체 결합 단백질을 제공한다. 트랜스페린 수용체에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체에 결합 시, 예를 들어 수용체-매개 세포내이입을 통해 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0135] 일부 측면에서, 트랜스페린 수용체에 높은 특이성 및 친화도로 결합하는 인간화 항체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 트랜스페린 수용체의 임의의 세포외 에피토프 또는 항체에 노출되게 되는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항-TfR 항체는 인간, 비-인간 영장류, 마우스, 래트 등으로부터의 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항-TfR 항체는 인간 트랜스페린 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 105-108에 제공된 바와 같은 인간 또는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체의 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 트랜스페린 수용체의 정단 도메인에 존재하지 않는, 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 트랜스페린 수용체의 아미노산 90-96에 상응하는 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 TfR1에 결합하지만 TfR2에는 결합하지 않는다.

[0136] 일부 실시양태에서, 항-TFR 항체는 TfR1 (예를 들어, 인간 또는 비-인간 영장류 TfR1)에 적어도 약 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 결합 친화도 (예를 들어, Kd에 의해 나타낸 바와 같음)로 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 나노몰 미만의 범위의 KD로 TfR1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 트랜스페린 수용체 1 (TfR1)에 선택적으로 결합하지만, 트랜스페린 수용체 2 (TfR2)에는 결합하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 인간 TfR1 및 시노 TfR1에 결합하지만 (예를 들어, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 Kd로), 마우스 TfR1에는 결합하지 않는다. 항-TfR 항체의 친화도 및 결합 동역학은 바이오센서 기술 (예를 들어, 옥테트(OCTET) 또는 비아코어(BIACORE))을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 적합한 방법을 사용하여 시험될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 결합은 TfR1에 대한 트랜스페린 결합과 경쟁하지 않거나 또는 그를 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 결합은 TfR1에 대한 HFE-베타-2-마이크로글로불린 결합과 경쟁하지 않거나 또는 그를 억제하지 않는다.

[0137] 본원에 기재된 항-TfR 항체는 인간화 항체이다. 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체가 유래된 마우스 모노클로날 항-TfR 항체의 CDR 및 가변 영역 아미노산 서열이 표 2에 제공된다.

[0138] 표 2. 마우스 모노클로날 항-TfR 항체

Ab		넘버링 시스템		
		IMGT	카바트	코티아
3-A4	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	WIDPENGDTEYASKFQD (SEQ ID NO: 8)	ENG (SEQ ID NO: 13)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLHSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 17)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGYTYLFWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-A4 N54T*	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPETGDT (SEQ ID NO: 19)	WIDPETGDTEYASKFQD (SEQ ID NO: 20)	ETG (SEQ ID NO: 21)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLHSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS(SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPETGDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 22)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGYTYLFWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-A4 N54S*	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPESGDT (SEQ ID NO: 23)	WIDPESGDTEYASKFQD (SEQ ID NO: 24)	ESG (SEQ ID NO: 25)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLHSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPESGDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 26)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGYTYLFWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-M12	CDR-H1	GYSITSGYY (SEQ ID NO: 27)	SGYYWN (SEQ ID NO: 33)	GYSITSGY (SEQ ID NO: 38)

[0139]

	CDR-H2	ITFDGAN (SEQ ID NO: 28)	YITFDGANNYNPSLKN (SEQ ID NO: 34)	FDG (SEQ ID NO: 39)
	CDR-H3	TRSSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 29)	SSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 35)	SYDYDVLD (SEQ ID NO: 40)
	CDR-L1	QDISNF (SEQ ID NO: 30)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 36)	SQDISNF (SEQ ID NO: 41)
	CDR-L2	YTS (SEQ ID NO: 31)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 37)	YTS (SEQ ID NO: 31)
	CDR-L3	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)	GHTLPY (SEQ ID NO: 42)
	VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYITFDGAN NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWGQGTTLTV SS (SEQ ID NO: 43)		
	VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 44)		
5-H12	CDR-H1	GYSFTDYC (SEQ ID NO: 45)	DYCIN (SEQ ID NO: 51)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTR YSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSV TVSS (SEQ ID NO: 61)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
5-H12 C33Y*	CDR-H1	GYSFTDYY (SEQ ID NO: 63)	DYYIN (SEQ ID NO: 64)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYYINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTR YSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSV TVSS (SEQ ID NO: 65)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
5-H12 C33D*	CDR-H1	GYSFTDYD (SEQ ID NO: 66)	DYDIN (SEQ ID NO: 67)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)

[0140]

	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRY SERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSVTV SS (SEQ ID NO: 68)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)		

[0141]

[0142] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0143] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR 항체는 표 2에 제공된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 인간화 변이체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR 항체는 표 2에 제공된 항-TfR 항체 중 어느 하나에서의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 인간화 중쇄 가변 영역 및/또는 (예를 들어, 및) 인간화 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0144] 인간화 항체는 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비-인간 종 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 실시양태에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체에서도 발견되지 않고 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않지만 항체 성능을 추가로 정밀화하고 최적화하기 위해 포함되는 잔기를 포함할

수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 또한, 인간화 항체는 최적으로는 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 적어도 한 부분, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에 기재된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 다른 형태의 인간화 항체는 원래 항체에 비해 변경된 1개 이상의 CDR (1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 가지며, 이는 또한 원래 항체로부터의 1개 이상의 CDR로부터 유래된 1개 이상의 CDR로 명명된다. 인간화 항체는 또한 친화도 성숙을 수반할 수 있다.

[0145] 인간화 항체 및 그의 제조 방법은, 예를 들어 문헌 [Almagro et al., Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321 및 7,087,409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005); Padlan et al., Mol. Immunol. 28:489-498 (1991); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005); Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005); 및 Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)]에 기재된 바와 같이 공지되어 있으며, 이들 모두의 내용은 본원에 참조로 포함된다. 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은, 예를 들어 문헌 [Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993); Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993); Almagro et al., Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)); Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997); 및 Rosok et al., J Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)]에 기재되어 있으며, 이들 모두의 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0146] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 표 2에 열거된 VH 중 어느 하나와 비교하여 (예를 들어, VH 프레임워크 영역에) 1개 이상의 아미노산 변이를 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 표 2에 열거된 VL 중 어느 하나와 비교하여 (예를 들어, VL 프레임워크 영역에) 1개 이상의 아미노산 변이를 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0147] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 표 2에 열거된 임의의 항-TfR 항체의 VH (예를 들어, 서열식별번호: 17, 22, 26, 43, 61, 65 및 68 중 어느 하나)와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 표 2에 열거된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 VL (예를 들어, 서열식별번호: 18, 44 및 62 중 어느 하나)과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0148] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 프레임워크 영역에서 표 2에 열거된 임의의 항-TfR 항체의 VH (예를 들어, 서열식별번호: 17, 22, 26, 43, 61, 65 및 68 중 어느 하나)에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 프레임워크 영역에서 표 2에 열거된 임의의 항-TfR 항체의 VL (예를 들어, 서열식별번호: 18, 44 및 62 중 어느 하나)에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0149] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 19 또는 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 26에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR 항체는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (IMGT 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 18에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0150] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 19 또는 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 26에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (IMGT 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 18 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0151] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 24의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 26에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (카바트 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 18에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0152] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 24의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 26에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (카바트 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 18 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0153] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 21 또는 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 26에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (코티아 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 18에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0154] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 21 또는 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 26에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는

99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR 항체는 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (코티아 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 18 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0155] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (IMGT 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0156] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (IMGT 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0157] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (카바트 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0158] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (카바트 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0159] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 43에

제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (코티아 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0160] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (코티아 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0161] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 45, 서열식별번호: 63 또는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 46의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 47의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 65 또는 서열식별번호: 68에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 48의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (IMGT 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 62에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0162] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 45, 서열식별번호: 63 또는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 46의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 47의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 65, 서열식별번호: 68에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 48의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (IMGT 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (IMGT 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (IMGT 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 62에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0163] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 51, 서열식별번호: 64 또는 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 53의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 65, 서열식별번호: 68에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (카바트 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (카바트 정의 시스템에

따름)을 포함하고, 서열식별번호: 62에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0164] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 51, 서열식별번호: 64 또는 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 53의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 65, 서열식별번호: 68에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (카바트 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (카바트 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (카바트 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 62에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0165] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 65, 서열식별번호: 68에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (코티아 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하고, 서열식별번호: 62에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 인간화 VL을 포함한다.

[0166] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 65, 서열식별번호: 68에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1 (코티아 정의 시스템에 따름), 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2 (코티아 정의 시스템에 따름) 및 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3 (코티아 정의 시스템에 따름)을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 프레임워크 영역에서 서열식별번호: 62에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일하다.

[0167] 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체의 아미노산 서열의 예가 표 3에 제공된다.

[0168] 표 3. 인간화 항-TfR 항체의 가변 영역

항체	가변 영역 아미노산 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	V_H: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDP ETGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLD Y**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 69)
	V_L: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**R MSNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	V_H: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDP ESGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLD Y**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 71)
	V_L: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**R MSNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 /Vκ4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDP ENGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLD Y**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 72)
	VL: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**R MSNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3M12 VH3/Vκ2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITF DGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY** WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLH S**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH3/Vκ3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITF DGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY** WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLH S**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
3M12 VH4/Vκ2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFD GANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**W GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLH S**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH4/Vκ3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFD GANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**W GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLH S**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)

[0169]

항체	가변 영역 아미노산 서열**
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIY PGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYH GMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 77)
	VL: DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**R ASNLES**GVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 78)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYDIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIY PGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYH GMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 79)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**R ASNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 80)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIY PGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYH GMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 77)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**R ASNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 80)

[0170]

[0171] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0172] ** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이다.

[0173] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 표 2에 제공된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 인간화 VH를 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 인간화 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 아미노산 변이를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 표 2에 제공된 항-TfR 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 인간화 VL을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 인간화 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 아미노산 변이를 포함한다.

[0174] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 69에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 70에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0175] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 71에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 70에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0176] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 72에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 70에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0177] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 73에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 74에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0178] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 73에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서

열식별번호: 75에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0179] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 76에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 74에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0180] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 76에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 75에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0181] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 77에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 78에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0182] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 79에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 80에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0183] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 77에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 80에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 인간화 VL을 포함한다.

[0184] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 전장 IgG이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 항-TfR 항체의 중쇄는 중쇄 불변 영역 (CH) 또는 그의 부분 (예를 들어, CH1, CH2, CH3 또는 그의 조합)을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어 인간, 마우스, 래트 또는 토끼의 것일 수 있다. 하나의 구체적 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG (감마 중쇄), 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 것이다. 인간 IgG1 불변 영역의 예가 하기에 주어진다:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

[0185]

[0186] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 항-TfR 항체의 중쇄는 돌연변이 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 인간 IgG1의 CH2 도메인에서 LALA 돌연변이 (하부 힌지 잔기 Leu234 Leu235를 Ala234 및 Ala235로 대체하도록 돌연변이된 mAb b12로부터 유래된 돌연변이체)의 도입은 Fcγ 수용체 결합을 감소시키는 것으로 공지되어 있다 (Bruhns, P., et al. (2009) 및 Xu, D. et al. (2000)). 돌연변이 인간 IgG1 불변 영역이 하기에 제공된다 (돌연변이는 볼드체 및 밑줄표시됨):

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)

[0187]

[0188] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 항-TfR 항체의 경쇄는 관련 기술분야에 공지된 임의의 경쇄 불변 영역 (CL)일 수 있는 CL을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 일부 실시양태에서, CL은 카파 경쇄이며, 이의 서열은 하기에 제공된다:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)

[0189]

[0190] 다른 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 IMGT 데이터베이스 (www.imgt.org) 또는 www.vbase2.org/vbstat.php.에 제공되어 있으며, 이들 둘 다는 본원에 참조로 포함된다.

[0191] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81 또는 서열식별번호: 82에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81 또는 서열식별번호: 82와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 82에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0192] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0193] 기재된 항-TfR 항체의 IgG 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기 표 4에 제공된다.

[0194] 표 4. 인간화 항-TfR IgG의 예의 중쇄 및 경쇄 서열

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPE** **TGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 84)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPE** **SGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 86)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 /Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPE** **NGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 87)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITFD** **GANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 88)

[0195]

[0196]

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITFD** **GANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 88)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 91)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 91)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYP GSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGM DY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RAS NLES**GVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYDIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYP GSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGM DY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RA SNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYP GSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGM DY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RA SNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)

[0197]

[0198] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0199] ** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이고; VH/VL 서열은 밑줄표시된다.

[0200] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92 및 94 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93 및 95 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

[0201] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92 및 94 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93 및 95 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92 및 94 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93 및 95 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0202] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별

번호: 85에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0203] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 86에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 85에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0204] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 87에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 85에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0205] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 89에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0206] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 90에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0207] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 91에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 89에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0208] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 91에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 90에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0209] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 93에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0210] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 94에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 95에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0211] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 95에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산

서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0212] 일부 실시양태에서, 항-TfR 항체는 무손상 항체 (전장 항체)의 Fab 단편, Fab' 단편 또는 $F(ab')_2$ 단편이다. 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편은 상용 방법을 통해 (예를 들어, 재조합적으로 또는 전장 IgG의 중쇄 불변 영역을 효소, 예컨대 파파인을 사용하여 소화시킴으로써) 제조될 수 있다. 예를 들어, $F(ab')_2$ 단편은 항체 분자의 펩신 또는 파파인 소화에 의해 생산될 수 있고, Fab' 단편은 $F(ab')_2$ 단편의 디술피드 가교를 환원시킴으로써 생성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 Fab 단편 내의 중쇄 불변 영역은 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0213] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 96)

[0214] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0215] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0216] 기재된 항-TfR 항체의 Fab 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기 표 5에 제공된다.

[0217] 표 5. 인간화 항-TfR Fab의 예의 중쇄 및 경쇄 서열

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPE** **TGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 97)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPE** **SGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 98)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 /Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPE** **NGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 99)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITFD** **GANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHT (SEQ ID NO: 100)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITFD** **GANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHT (SEQ ID NO: 100)

[0218]

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
3M12 VH4/Vκ2	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHT (SEQ ID NO: 101)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHT (SEQ ID NO: 101)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYP** **GSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGM** **DY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RAS** **NLES**GVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYDIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYP** **GSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGM** **DY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 103)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RA** **SNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYP** **GSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGM** **DY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)

[0219]

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RA** **SNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)

[0220]

[0221] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0222] ** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이고; VH/VL 서열은 밑줄표시된다.

[0223] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 97-103 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93 및 95 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노

산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

[0224] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 97-103 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93 및 95 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체는 서열식별번호: 97-103 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93 및 95 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0225] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 97에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 85에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0226] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 98에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 85에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0227] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 99에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 85에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0228] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 100에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 89에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0229] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 100에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 90에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0230] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 101에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 89에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0231] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 101에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 90에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0232] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 102에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 93에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하

는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0233] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 103에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 95에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0234] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 102에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 95에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 인간화 항-TfR 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0235] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 수용체 항체는 무손상 (즉, 전장) 항체, 그의 항원-결합 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')2, Fv), 단일 쇄 항체, 이중특이적 항체 또는 나노바디를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 항체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 scFv이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR 항체는 scFv-Fab (예를 들어, 불변 영역의 부분에 융합된 scFv)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 수용체 항체는 N-말단 또는 C-말단에서 불변 영역 (예를 들어, 서열식별번호: 81 또는 서열식별번호: 82에 제시된 바와 같은 인간 IgG1 불변 영역 또는 그의 부분, 예컨대 Fc 부분)에 융합된 scFv이다.

[0236] 일부 실시양태에서, 보존적 돌연변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 표적 항원 (예를 들어, 트랜스페린 수용체)과 상호작용하는 데 관여할 가능성이 없는 위치에서 항체 서열 (예를 들어, CDR 또는 프레임워크 서열) 내로 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 항-TfR 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시킨다.

[0237] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가, 예를 들어 미국 특허 번호 5,677,425에 기재된 바와 같이 Fc 영역의 힌지 영역 (CH1 도메인) 내로 도입되어 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 개수가 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 개수는 변경되어, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키거나 또는 링커 접합을 용이하게 할 수 있다.

[0238] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체 (예를 들어, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시킨다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역 내의 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 그의 단편 내로 이러한 돌연변이를 도입하는 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변경시키도록 제조될 수 있는 항체의 Fc 수용체 내의 돌연변이의 예는, 예를 들어 문헌 [Smith P et al., (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 번호 6,737,056 및 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631에 기재되어 있으며, 이들은 본원에 참조로 포함된다.

[0239] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킨다. 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예에 대해서는, 예를 들어 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 5,869,046, 6,121,022, 6,277,375 및 6,165,745를 참조한다.

[0240] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-항-TfR 항체의 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 제2 불변 (CH2) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 불변 (CH3) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447)에 1개 이상의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환)를 가질 수 있으며, 여기서 넘버링은 카바트에서의 EU 인덱스에 따른다 (Kabat E A et al., (1991) 상기 문헌). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 IgG1의 불변 영역은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 위치 252에서의 메티오닌 (M)에서 티로신 (Y)으로의 치환, 위치 254에서의 세린 (S)에서 트레오닌 (T)으로의 치환, 및 위치 256에서의 트레오닌 (T)에서 글루탐산 (E)으로의 치환을 포함한다. 미국 특허 번호 7,658,921을 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. "YTE 돌연변이체"로 지칭되는 이러한 유형의 돌연변이 IgG는 동일한 항체의 야생형 버전과 비교하여 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 일부 실시양태에서, 항체는 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 위치 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 및 428-436에서의 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 또는 그 초과의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.

[0241] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 치환이 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입되어 항-항-TfR 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시킨다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 종양 국재화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 불활성화시켜 종양 국재화를 증가시키는 돌연변이의 기재에 대해서는 미국 특허 번호 5,585,097 및 8,591,886을 참조한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환이 본원에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거할 수 있으며, 이는 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조).

[0242] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체의 불변 영역 내의 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체되어 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 변형되어 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 (예를 들어, 증가시키고) Fcɣ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다.

[0243] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인(들) 서열(들)은, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 인간 항체 또는 항원-결합 단편을 생성하는데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에 제공된 임의의 항체로부터 유래된 임의의 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 유용할 수 있고, 이러한 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 그가 유래한 원래 항체에 비해 트랜스페린 수용체에 대한 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과의 결합을 갖도록, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0244] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 바람직한 특성을 항체에 부여하는 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 천연 IgG4 mAb에 의해 발생하는 것으로 공지된 Fab-아암 교환으로 인한 잠재적 합병증을 피하기 위해, 본원에 제공된 항체는 세린 228 (EU 넘버링; 카바트 넘버링의 잔기 241)이 프롤린으로 전환되어 IgG1-유사 힌지 서열을 생성하는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993). 따라서, 임의의 항체는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0245] 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI

화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약 1-10, 약 1-5, 약 5-10, 약 1-4, 약 1-3 또는 약 2개의 당 분자가 존재한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화 항체는 완전히 또는 부분적으로 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 화학 반응 또는 효소적 수단에 의해 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 시험관내에서 또는 임의로 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소, 예를 들어 글리코실트랜스퍼라제가 결핍되어 있을 수 있는 세포 내부에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof")에 기재된 바와 같이 당 또는 탄수화물 분자로 관능화된다.

[0246] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 서열에 신호 펩티드 (예를 들어, N-말단 신호 펩티드)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 VH 및 VL 서열 중 어느 하나, IgG 중쇄 및 경쇄 서열 중 어느 하나, 또는 Fab 중쇄 및 경쇄 서열 중 어느 하나를 포함하고, 신호 펩티드 (예를 들어, N-말단 신호 펩티드)를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드는 MGWSCIILFLVATATGVHS (서열식별번호: 104)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0247] 다른 공지된 항-트랜스페린 수용체 항체

[0248] 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 적절한 항-트랜스페린 수용체 항체가 본원에 개시된 복합체에서 근육-표적화제로서 사용될 수 있다. 공지된 항-트랜스페린 수용체 항체의 예가 연관된 참고문헌 및 결합 에피토프를 포함하여 표 6에 열거된다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 본원에 제공된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예를 들어 표 6에 열거된 항-트랜스페린 수용체 항체의 상보성 결정 영역 (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)을 포함한다.

[0249] 표 6 - 항-트랜스페린 수용체 항체 클론의 목록과 연관된 참고문헌 및 결합 에피토프 정보.

항체 클론 명칭	참고문헌(들)	에피토프 / 설명
OKT9	미국 특허 번호 4,364,934, 출원일 12/4/1979, 발명의 명칭 "MONOCLONAL ANTIBODY TO A HUMAN EARLY THYMOCYTE ANTIGEN AND METHODS FOR PREPARING SAME" Schneider C. et al. "Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9." J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.	TfR의 정단 도메인 (진뱅크에서 입수가능한 인간 TfR 서열 XM_052730.3의 잔기 305-366)
(JCR로부터) 클론 M11 클론 M23 클론 M27 클론 B84	• WO 2015/098989, 출원일 12/24/2014, "Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier" • 미국 특허 번호 9,994,641, 출원일 12/24/2014, "Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier"	정단 도메인 (TfR의 잔기 230-244 및 326-347) 및 프로테아제-유사 도메인 (잔기 461-473)
(제넨테크로부터) 7A4, 8A2, 15D2, 10D11, 7B10, 15G11, 16G5, 13C3, 16G4, 16F6, 7G7, 4C2, 1B12, 및 13D4	• WO 2016/081643, 출원일 5/26/2016, 발명의 명칭 "ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE" • 미국 특허 번호 9,708,406, 출원일 5/20/2014, "Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use"	정단 도메인 및 비-정단 영역
(아마젠으로부터) 8D3	• Lee et al. "Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse" 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052. • 미국 특허 출원 2010/077498, 출원일 9/11/2008, 발명의 명칭 "COMPOSITIONS AND METHODS FOR BLOOD-BRAIN BARRIER DELIVERY IN THE MOUSE"	
OX26	• Haobam, B. et al. 2014. Rab17-mediated recycling endosomes contribute to autophagosome formation in response to Group A Streptococcus invasion. Cellular microbiology. 16: 1806-21.	

[0250]

DF1513	• Ortiz-Zapater E et al. Trafficking of the human transferrin receptor in plant cells: effects of tyrphostin A23 and brefeldin A. Plant J 48:757-70 (2006).	
1A1B2, 66IG10, MEM-189, JF0956, 29806, 1A1B2, TFRC/1818, 1E6, 66Ig10, TFRC/1059, Q1/71, 23D10, 13E4, TFRC/1149, ER-MP21, YTA74.4, BU54, 2B6, RI7 217	• 상업적으로 입수가능한 항-트랜스페린 수용체 항체.	노부스 바이올로지칼스, 미국 80120 콜로라도주 리틀톤 A-8 사우스파크 웨이 8100
(INSERM으로부터) BA120g	• 미국 특허 출원 2011/0311544A1, 출원일 6/15/2005, 발명의 명칭 "ANTI-CD71 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF FOR TREATING MALIGNANT TUMOR CELLS"	OKT9와 경쟁하지 않음
LUCA31	• 미국 특허 번호 7,572,895, 출원일 6/7/2004, 발명의 명칭 "TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES"	"LUCA31 에피토프"
(솔크 연구소) B3/25 T58/30	• Trowbridge, I.S. et al. "Anti-transferrin receptor monoclonal antibody and toxin–antibody conjugates affect growth of human tumour cells." Nature, 1981, volume 294, pages 171–173	
R17 217.1.3, 5E9C11, OKT9 (BE0023 클론)	• 상업적으로 입수가능한 항-트랜스페린 수용체 항체.	바이오엑스셀, 미국 03784-1671 뉴햄프셔주 웨스트 레바논 스위트 2B 테크놀로지 드라이브 10
BK19.9, B3/25, T56/14 및 T58/1	• Gatter, K.C. et al. "Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance." J Clin Pathol. 1983 May;36(5):539-45.	

[0251]

[0252] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나로부터의 CDR-H (예를 들어, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3) 아미노산 서열 중 1개 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체 항체는 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 항체는 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 본 개시내용은 또한 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 또는 CDR-L3을 포함하는 분자를 코딩하는 임의의 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 및 경쇄 CDR3 도메인은 항원에 대한 항체의 결합 특이성/친화도에서 특히 중요한 역할을 할 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 항-트랜스페린 수용체 항체는 적어도 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 CDR3을 포함할 수 있다.

[0253] 일부 예에서, 본 개시내용의 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체는 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 하나로부터의 임의의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-L3 서열과 실질적으로 유사한 1개 이상의 CDR (예를 들어, CDR-H 또는 CDR-L) 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본

원에 기재된 항체의 VH (예를 들어, CDR-H1, CDR-H2 또는 CDR-H3) 및/또는 (예를 들어, 및) VL (예를 들어, CDR-L1, CDR-L2 또는 CDR-L3) 영역을 따른 1개 이상의 CDR의 위치는 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 위치만큼 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 항체의 CDR을 정의하는 위치는 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 항체 중 어느 하나의 CDR 위치에 비해 CDR의 N-말단 및/또는 (예를 들어, 및) C-말단 경계를 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산만큼 이동시킴으로써 달라질 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 VH (예를 들어, CDR-H1, CDR-H2 또는 CDR-H3) 및/또는 (예를 들어, 및) VL (예를 들어, CDR-L1, CDR-L2 또는 CDR-L3) 영역을 따른 1개 이상의 CDR의 길이는 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 아미노산만큼 달라질 수 있다 (예를 들어, 더 짧거나 더 길 수 있음).

[0254] 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-H3은 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 CDR 중 1개 이상 (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR)보다 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과로 더 짧은 아미노산일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-H3은 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 CDR 중 1개 이상 (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR)보다 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 아미노산만큼 더 길 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-H3의 아미노 부분은 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 CDR (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR) 중 1개 이상과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 아미노산만큼 연장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-H3의 카르복시 부분은 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 CDR (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR) 중 1개 이상과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 아미노산만큼 연장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-H3의 아미노 부분은 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 CDR (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR) 중 1개 이상과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 아미노산만큼 단축될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및/또는 (예를 들어, 및) CDR-H3의 카르복시 부분은 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 기재된 CDR (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR) 중 1개 이상과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 아미노산만큼 단축될 수 있다. 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이, 예를 들어 관련 기술분야에 기재된 결합 검정 및 조건을 사용하여 유지되는지 여부를 확인하기 위해 임의의 방법이 사용될 수 있다.

[0255] 일부 예에서, 본 개시내용의 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체는 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나와 실질적으로 유사한 1개 이상의 CDR (예를 들어, CDR-H 또는 CDR-L) 서열을 갖는다. 예를 들어, 항체는 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 대한 면역특이적 결합이 유지되는 한 (예를 들어, 실질적으로 유지되는 한, 예를 들어 그가 유래한 원래 항체의 결합에 비해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%로 유지되는 한), 본원에 제공된 CDR (예를 들어, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 CDR) 중 어느 하나에서의 상응하는 CDR 영역과 비교하여 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 잔기 변이를 함유하는, 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체로부터의 1개 이상의 CDR 서열(들)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 CDR 내 임의의 아미노산 변이는 보존적 변이일 수 있다. 보존적 변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 트랜스페린 수용체 단백질 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체 단백질)과 상호작용하는 데 관여할 가능성이 없는 위치에서 CDR 내로 도입될 수 있다. 본 개시내용의 일부 측면은 본원에 제공된 중쇄 가변 (VH) 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 (VL) 도메인 중 1개 이상을 포함하는 트랜스페린 수용체 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 VH 도메인은 본원에 제공된 CDR-H 서열 (예를 들어, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3) 중 1개 이상, 예를 들어 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나에 제공된 임의의 CDR-H 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 VL 도메인은 본원에 제공된 CDR-L 서열 (예를 들어, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3) 중 1개 이상, 예를 들어 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나에 제공된 임의의 CDR-L 서열을 포함한다.

[0256] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인을 포함하는 임의의 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 및 경쇄 가변 쌍을 포함하는 임의의 항체를 포함한다.

[0257] 본 개시내용의 측면은 본원에 기재된 것들 중 임의의 것에 상동인 중쇄 가변 (VH) 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 (VL) 도메인 아미노산 서열을 갖는 항-트랜스페린 수용체 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 서열 및/또는 임의의 경쇄 가변 서열에 대해 적어도 75% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 중쇄 가변 서열 또는 경쇄 가변 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상동 중쇄 가변 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 아미노산 서열은 본원에 제공된 임의의 CDR 서열 내에서 달라지지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 서열 변이의 정도 (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%)는 본원에 제공된 임의의 CDR 서열을 제외한 중쇄 가변 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 서열 내에서 발생할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 프레임워크 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 프레임워크 서열을 포함하는 중쇄 가변 서열 및 경쇄 가변 서열을 포함한다.

[0258] 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 특이적으로 결합하는 항-트랜스페린 수용체 항체는 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체의 임의의 CDR-L 도메인 (CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3) 또는 본원에 제공된 CDR-L 도메인 변이체를 포함하는 경쇄 가변 VL 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체)에 특이적으로 결합하는 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 VL 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 경쇄 가변 영역 서열의 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개를 포함하는 경쇄 가변 (VL) 영역 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 경쇄 가변 영역 서열의 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열의 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 아미노산 서열로부터 유래된 경쇄 가변 프레임워크 영역은 10개 이하의 아미노산 치환, 결실 및/또는 (예를 들어, 및) 삽입, 바람직하게는 10개 이하의 아미노산 치환이 존재하는 것을 제외하고 상기 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 상기 아미노산 서열로부터 유래된 경쇄 가변 프레임워크 영역은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아

미노산 잔기가 상응하는 비-인간, 영장류 또는 인간 경쇄 가변 프레임워크 영역 내의 유사한 위치에서 발견된 아미노산 대신 치환된 상기 아미노산 서열로 이루어진다.

[0259] 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 또는 영장류 항체의 VL로부터 유래된 1, 2, 3 또는 모든 4개의 VL 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 본원에 기재된 경쇄 CDR 서열과 함께 사용하기 위해 선택된 항체의 영장류 또는 인간 경쇄 프레임워크 영역은, 예를 들어 비-인간 모 항체의 경쇄 프레임워크 영역과 적어도 70% (예를 들어, 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 적어도 99%) 동일성을 가질 수 있다. 선택된 영장류 또는 인간 항체는 그의 경쇄 상보성 결정 영역에 본원에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 표 6으로부터 선택된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체의 경쇄 상보성 결정 영역과 동일하거나 실질적으로 동일한 수의 아미노산을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 영장류 또는 인간 경쇄 프레임워크 영역 아미노산 잔기는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 경쇄 프레임워크 영역과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% (또는 그 초과) 동일성을 갖는 천연 영장류 또는 인간 항체 경쇄 프레임워크 영역으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 인간 경쇄 가변 카파 서브패밀리로부터 유래된 1, 2, 3 또는 모든 4개의 VL 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 인간 경쇄 가변 람다 서브패밀리로부터 유래된 1, 2, 3 또는 모든 4개의 VL 프레임워크 영역을 추가로 포함한다.

[0260] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체는 경쇄 불변 영역을 추가로 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역은 포유동물, 예를 들어 인간, 원숭이, 래트 또는 마우스로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 경쇄 불변 영역은 인간 카파 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 경쇄 불변 영역은 인간 람다 경쇄 불변 영역이다. 본원에 제공된 임의의 경쇄 불변 영역은 본원에 제공된 임의의 경쇄 불변 영역의 변이체일 수 있는 것으로 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 경쇄 불변 영역은 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 임의의 경쇄 불변 영역에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0261] 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나이다.

[0262] 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 항-트랜스페린 수용체 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-트랜스페린 수용체 항체 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하며, 여기서 불변 영역은 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 이뮤노글로불린 분자 또는 인간 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 이뮤노글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-트랜스페린 수용체 항체는 임의의 VL 도메인 또는 VL 도메인 변이체 및 임의의 VH 도메인 또는 VH 도메인 변이체를 포함하며, 여기서 VL 및 VH 도메인 또는 그의 변이체는 동일한 항체 클론으로부터의 것이고, 여기서 불변 영역은 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 이뮤노글로불린 분자, 임의의 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 임의의 하위부류 (예를 들어, IgG2a 및 IgG2b)의 이뮤노글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다. 인간 불변 영역의 비제한적 예는 관련 기술분야에 기재되어 있으며, 예를 들어 상기 문헌 [Kabat E A et al., (1991)]을 참조한다.

[0263] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 트랜스페린 수용체 항체 (예를 들어, 국제 출원 공개 WO 2016/081643 (본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 항체 및 그의 변이체)이다.

[0264] 상이한 정의 시스템에 따른 항체의 중쇄 및 경쇄 CDR이 표 7에 제공된다. 상이한 정의 시스템, 예를 들어 카바트 정의, 코티아 정의 및/또는 (예를 들어, 및) 접촉 정의가 기재되었다. 예를 들어, 문헌 [Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, Chothia et al., (1989) Nature 342:877; Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917, Al-lazikani et al. (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948; 및 Almagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004)]을 참조한다. 또한 hgmp.mrc.ac.uk 및 bioinf.org.uk/abs를 참조한다.

[0265] 표 7 마우스 트랜스페린 수용체 항체의 중쇄 및 경쇄 CDR

CDR	카바트	코티아	접촉
CDR-H1	SYWMH (SEQ ID NO: 110)	GYTFTSY (SEQ ID NO: 116)	TSYWMH (SEQ ID NO: 118)
CDR-H2	EINPTNGRTNYIEKFKS (SEQ ID NO: 111)	NPTNGR (SEQ ID NO: 117)	WIGEINPTNGRTN (SEQ ID NO: 119)
CDR-H3	GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)	GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)	ARGTRA (SEQ ID NO: 120)
CDR-L1	RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)	RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)	YSNLAWY (SEQ ID NO: 121)
CDR-L2	DATNLAD (SEQ ID NO: 114)	DATNLAD (SEQ ID NO: 114)	LLVYDATNLA (SEQ ID NO: 122)
CDR-L3	QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)	QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)	QHFWGTPL (SEQ ID NO: 123)

[0266]

[0267] 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 서열이 또한 제공된다:

[0268] VH

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGR TNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVS S (SEQ ID NO: 124)

[0269]

[0270] VL

DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQGKSPQLLVYDATNLADGV PSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 125)

[0271]

[0272] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3과 동일한 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다.

[0273] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 비교하여 집합적으로 5개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. "집합적으로"는 3개의 중쇄 CDR 모두에서 아미노산 변이의 총수가 정의된 범위 내에 있다는 것을 의미한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3과 비교하여 집합적으로 5개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함할 수 있다.

[0274] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하며, 이들 중 적어도 하나는 표 7에 제시된 바와 같은 대응부 중쇄 CDR과 비교하여 3개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함할 수 있으며, 이들 중 적어도 하나는 표 7에 제시된 바와 같은 대응부 경쇄 CDR과 비교하여 3개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유한다.

[0275] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L3과 비교하여 3개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L3과 비교하여 1개의 아미노산 변이를 함유하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 카바트 및 코티아 정의 시스템에 따른 QHFAGTPLT (서열식별번호: 126) 또는 접촉 정의 시스템에 따른 QHFAGTPL (서열식별번호: 127)의 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1 및 CDR-L2를 포함하고, 카바트 및 코티아 정의 시스템에 따른 QHFAGTPLT (서열식별번호: 126) 또는 접촉 정의 시스템에 따른 QHFAGTPL (서열식별번호: 127)의 CDR-L3을 포함한다.

[0276] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 중쇄 CDR에 대해 집합적

으로 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 중쇄 CDR을 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 경쇄 CDR에 대해 집합적으로 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 경쇄 CDR을 포함한다.

[0277] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0278] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 15개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VL을 포함한다.

[0279] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0280] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 인간화 항체 (예를 들어, 항체의 인간화 변이체)이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 인간화 중쇄 가변 영역 및/또는 (예를 들어, 및) 인간화 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0281] 인간화 항체는 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비-인간 종 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 실시양태에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체에서도 발견되지 않고 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않지만 항체 성능을 추가로 정밀화하고 최적화하기 위해 포함되는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 또한, 인간화 항체는 최적으로는 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 적어도 한 부분, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에 기재된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 다른 형태의 인간화 항체는 원래 항체에 비해 변경된 1개 이상의 CDR (1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 가지며, 이는 또한 원래 항체로부터의 1개 이상의 CDR로부터 유래된 1개 이상의 CDR로 명명된다. 인간화 항체는 또한 친화도 성숙을 수반할 수 있다.

[0282] 일부 실시양태에서, 인간화는 CDR (예를 들어, 표 7에 제시된 바와 같은 것)을 IGKV1-NL1*01 및 IGHV1-3*01 인간 가변 도메인 내로 그라프팅함으로써 달성된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 위치 9, 13, 17, 18, 40, 45 및 70에서의 1개 이상의 아미노산 치환 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 위치 1, 5, 7, 11, 12, 20, 38, 40, 44, 66, 75, 81, 83, 87 및 108에서의 1개 이상의 아미노산 치환을 포함하는 인간화 변이체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 위치 9, 13, 17, 18, 40, 45 및 70 모두에서의 아미노산 치환 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 위치 1, 5, 7, 11, 12, 20, 38, 40, 44, 66, 75, 81, 83, 87 및 108 모두에서 아미노산 치환을 포함하는 인간화 변이체이다.

[0283] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 인간화 항체이고, 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL의 위치 43 및 48에서의 잔기를 함유한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 인간화 항체이고, 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH의 위치 48, 67, 69, 71 및 73에서의 잔기를 함유한다.

[0284] 본 개시내용에 따라 사용될 수 있는 예시적인 인간화 항체의 VH 및 VL 아미노산 서열이 제공된다:

[0285] 인간화 VH

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGR
TNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMVTV
SS (SEQ ID NO: 128)

[0286]

[0287] 인간화 VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGV
PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 129)

[0288]

[0289] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0290] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 128에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 129에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 15개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VL을 포함한다.

[0291] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 128에 제시된 바와 같은 VH에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 129에 제시된 바와 같은 VL에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0292] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 위치 43 및 48 중 1개 이상에서의 아미노산 치환 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 위치 48, 67, 69, 71 및 73 중 1개 이상에서의 아미노산 치환을 포함하는 인간화 변이체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 S43A 및/또는 (예를 들어, 및) V48L 돌연변이 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 A67V, L69I, V71R 및 K73T 돌연변이 중 1개 이상을 포함하는 인간화 변이체이다.

[0293] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 125에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 위치 9, 13, 17, 18, 40, 43, 48, 45 및 70 중 1개 이상에서의 아미노산 치환 및/또는 (예를 들어, 및) 서열식별번호: 124에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 위치 1, 5, 7, 11, 12, 20, 38, 40, 44, 48, 66, 67, 69, 71, 73, 75, 81, 83, 87 및 108 중 1개 이상에서의 아미노산 치환을 포함하는 인간화 변이체이다.

[0294] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 키메라 항체이다. 키메라 항체는 제1 종으로부터의 가변 영역 또는 가변 영역의 일부 및 제2 종으로부터의 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 이들 키메라 항체에서, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 포유동물의 한 종 (예를 들어, 비-인간 포유동물, 예컨대 마우스, 토끼 및 래트)으로부터 유래된 항체의 가변 영역을 모방하고, 반면에 불변 부분은 또 다른 포유동물, 예컨대 인간으로부터 유래된 항체 내의 서열에 대해 상동이다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변형은 가변 영역 및/또는 (예를 들어, 및) 불변 영역에서 이루어질 수 있다.

[0295] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 키메라 항체이다. 키메라 항체는 제1 종으로부터의 가변 영역 또는 가변 영역의 일부 및 제2 종으로부터의 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 이들 키메라 항체에서, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 포유동물의 한 종 (예를 들어, 비-인간 포유동물, 예컨대 마우스, 토끼 및 래트)으로부터 유래된 항체의 가변 영역을 모방하고, 반면에 불변 부분은 또 다른 포유동물, 예컨대 인간으로부터 유래된 항체 내의 서열에 대해 상동이다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변형은 가변 영역 및/또는 (예를 들어, 및) 불변 영

역에서 이루어질 수 있다.

[0296] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 트랜스페린 수용체 항체의 중쇄는 중쇄 불변 영역 (CH) 또는 그의 부분 (예를 들어, CH1, CH2, CH3 또는 그의 조합)을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어 인간, 마우스, 래트 또는 토끼의 것일 수 있다. 하나의 구체적 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG (감마 중쇄), 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 것이다. 인간 IgG1 불변 영역의 예가 하기에 주어진다:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
[0297] VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 130)

[0298] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 트랜스페린 수용체 항체의 경쇄는 관련 기술분야에 공지된 임의의 경쇄 불변 영역 (CL)일 수 있는 CL을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 일부 실시양태에서, CL은 카파 경쇄이며, 이의 서열은 하기에 제공된다:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
[0299] DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)

[0300] 다른 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 IMGT 데이터베이스 (www.imgt.org) 또는 www.vbase2.org/vbstat.php.에 제공되어 있으며, 이들 둘 다는 본원에 참조로 포함된다.

[0301] 기재된 트랜스페린 수용체 항체의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기에 제공된다:

[0302] 중쇄 (VH + 인간 IgG1 불변 영역)

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGR
TNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
[0303] VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 132)

[0304] 경쇄 (VL + 카파 경쇄)

DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQGKSPQLLVYDATNLADGV
PSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
[0305] STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 133)

[0306] 중쇄 (인간화 VH + 인간 IgG1 불변 영역)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGR
TNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
[0307] TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)

[0308] 경쇄 (인간화 VL + 카파 경쇄)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGV
PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
[0309] TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 135)

[0310] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 132에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 133에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0311] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 132에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 133에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 15개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

[0312] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 134에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 135에 대해 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0313] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 134에 제시된 바와 같은 인간화 항체의 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 135에 제시된 바와 같은 인간화 항체의 경쇄와 비교하여 15개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

[0314] 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체 항체는 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편 (Fab)이다. 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편은 상용 방법을 통해 제조될 수 있다. 예를 들어, F(ab')2 단편은 항체 분자의 펩신 소화에 의해 생산될 수 있고, Fab' 단편은 F(ab')2 단편의 디술피드 가교를 환원시킴으로써 생성될 수 있다. 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체의 Fab 아미노산 서열의 예가 하기에 제공된다:

[0315] 중쇄 Fab (VH + 인간 IgG1 불변 영역의 부분)

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGR
TNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID

[0316] NO: 136)

[0317] 중쇄 Fab (인간화 VH + 인간 IgG1 불변 영역의 부분)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGR
TNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID

[0318] NO: 137)

[0319] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0320] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 서열식별번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0321] 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 무손상 (즉, 전장) 항체, 그의 항원-결합 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')2, Fv), 단일 쇄 항체, 이중특이적 항체 또는 나노바디를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 항체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 scFv이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 scFv-Fab (예를 들어, 불변 영역의 부분에 융합된 scFv)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 트랜스페린 수용체 항체는 불변 영역 (예를 들어, 서열식별번호: 130에 제시된 바와 같은 인간 IgG1 불변 영역)에 융합된 scFv이다.

[0322] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR 항체 중 어느 하나는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 현탁 배양, 임의로 CHO-K1 세포 (예를 들어, 유럽 동물 세포 배양 수집(European Collection of Animal Cell Culture)으로부터 유래된 CHO-K1 세포, 카탈로그 번호 85051005) 현탁 배양에서 재조합 DNA 기술에 의해 생산된다.

[0323] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 1종 이상의 번역후 변형을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성 (피로-Glu)으로도 불리는 N-말단 고리화는 생산 동안 항체에서 N-말단 글루타메이트 (Glu) 및/또는 글루타민 (Gln) 잔기에서 발생할 수 있다. 따라서, N-말단 글루타메이트 또는 글루타민 잔기를 포함하는 서열을 갖는 것으로 명시된 항체는 번역후 변형으로부터 생성된 피로글루타메이트 형성을 겪은 항체를 포괄하는 것으로 인지되어야 한다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성은 중쇄 서열에서 발생한다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성은 경쇄 서열에서 발생한다.

[0324] b. 다른 근육-표적화 항체

[0325] 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 헤모쥬벨린, 카베올린-3, 뒤시엔느 근육 이영양증 펩티드, 미오신 IIb 또는 CD63에 특이적으로 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근원성 전구체 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 근원성 전구체 단백질은 비제한적으로 ABCG2, M-카드헤린/카드헤린-15, 카베올린-1, CD34, FoxK1, 인테그린 알파 7, 인테그린 알파 7 베타 1, MYF-5, MyoD, 미오게닌, NCAM-1/CD56, Pax3, Pax7 및 Pax9를 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 골격근 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 골격근 단백질은 비제한적으로 알파-사르코글리칸, 베타-사르코글리칸, 칼파인 억제제, 크레아틴 키나제 MM/CKMM, eIF5A, 엔올라제 2/뉴런-특이적 엔올라제, 엡실론-사르코글리칸, FABP3/H-FABP, GDF-8/미오스타틴, GDF-11/GDF-8, 인테그린 알파 7, 인테그린 알파 7 베타 1, 인테그린 베타 1/CD29, MCAM/CD146, MyoD, 미오게닌, 미오신 경쇄 키나제 억제제, NCAM-1/CD56 및 트로포닌 I을 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 평활근 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 평활근 단백질은 비제한적으로 알파-평활근 액틴, VE-카드헤린, 칼데스몬/CALD1, 칼포닌 1, 데스민, 히스타민 H2 R, 모틸린

R/GPR38, 트랜스겔린/TAGLN 및 비멘틴을 포함한다. 그러나, 추가의 표적에 대한 항체는 본 개시내용의 범주 내에 있고, 본원에 제공된 표적의 예시적인 목록은 제한적인 것으로 의도되지 않는 것으로 인지될 것이다.

[0326] c. 항체 특색/변경

[0327] 일부 실시양태에서, 보존적 돌연변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 표적 항원 (예를 들어, 트랜스페린 수용체)과 상호작용하는 데 관여할 가능성이 없는 위치에서 항체 서열 (예를 들어, CDR 또는 프레임워크 서열) 내로 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시킨다.

[0328] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가, 예를 들어 미국 특허 번호 5,677,425에 기재된 바와 같이 Fc 영역의 힌지 영역 (CH1 도메인) 내로 도입되어 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 개수가 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 개수는 변경되어, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키거나 또는 링커 접합을 용이하게 할 수 있다.

[0329] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체 (예를 들어, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시킨다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역 내의 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 그의 단편 내로 이러한 돌연변이를 도입하는 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변경시키도록 제조될 수 있는 항체의 Fc 수용체 내의 돌연변이의 예는, 예를 들어 문헌 [Smith P et al., (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 번호 6,737,056 및 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631에 기재되어 있으며, 이들은 본원에 참조로 포함된다.

[0330] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킨다. 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예에 대해서는, 예를 들어 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 5,869,046, 6,121,022, 6,277,375 및 6,165,745를 참조한다.

[0331] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-트랜스페린 수용체 항체의 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 제2 불변 (CH2) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 불변 (CH3) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447)에 1개 이상의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환)를 가질 수 있으며, 여기서 넘버링은 카바트에서의 EU 인덱스에 따른다 (Kabat E A et al., (1991) 상기 문헌). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 IgG1의 불변 영역은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 위치 252에서의 메티오닌 (M)에서 티로신 (Y)으로의 치환, 위치 254에서의 세린 (S)에서 트레오닌 (T)으로의 치환, 및 위치 256에서의 트레오닌 (T)에서 글루탐산 (E)으로의 치환을 포함한다. 미국 특허 번호 7,658,921을 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. "YTE 돌연변이체"로 지칭되는 이러한 유형의 돌연변이 IgG는 동일한 항체의 야생형 버전과 비교하여 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 일부 실시양태에서, 항체는 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 위치 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 및 428-436에서의 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 또는 그 초과의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.

[0332] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 치환이 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입되어 항-트랜스

페린 수용체 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시킨다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 종양 국재화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 불활성화시켜 종양 국재화를 증가시키는 돌연변이의 기재에 대해서는 미국 특허 번호 5,585,097 및 8,591,886을 참조한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환이 본원에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거할 수 있으며, 이는 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조).

[0333] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 불변 영역 내의 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체되어 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 변형되어 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 (예를 들어, 증가시키고) Fcγ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다.

[0334] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인(들) 서열(들)은, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 인간 항체 또는 항원-결합 단편을 생성하는데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에 제공된 임의의 항체로부터 유래된 임의의 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 유용할 수 있고, 이러한 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 그가 유래한 원래 항체에 비해 트랜스페린 수용체에 대한 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과의 결합을 갖도록, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0335] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 바람직한 특성을 항체에 부여하는 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 천연 IgG4 mAb에 의해 발생하는 것으로 공지된 Fab-아암 교환으로 인한 잠재적 합병증을 피하기 위해, 본원에 제공된 항체는 세린 228 (EU 넘버링; 카바트 넘버링의 잔기 241)이 프롤린으로 전환되어 IgG1-유사 힌지 서열을 생성하는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993). 따라서, 임의의 항체는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0336] 본원에 제공된 바와 같이, 본 개시내용의 항체는 임의로 불변 영역 또는 그의 일부를 포함할 수 있다. 예를 들어, VL 도메인은 그의 C-말단 단부에서 경쇄 불변 도메인, 예컨대 Cκ 또는 Cλ에 부착될 수 있다. 유사하게, VH 도메인 또는 그의 부분은 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 및 임의의 이소형 하위부류와 같은 중쇄의 모두 또는 일부에 부착될 수 있다. 항체는 적합한 불변 영역을 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md. (1991)] 참조). 따라서, 본 개시내용의 범주 내의 항체는 임의의 적합한 불변 영역과 조합된 VH 및 VL 도메인 또는 그의 항원 결합 부분을 포함할 수 있다.

[0337] ii. 근육-표적화 펩티드

[0338] 본 개시내용의 일부 측면은 근육-표적화제로서의 근육-표적화 펩티드를 제공한다. 특이적 세포 유형에 결합하는 짧은 펩티드 서열 (예를 들어, 5-20개의 아미노산 길이의 펩티드 서열)이 기재되었다. 예를 들어, 세포-표적화 펩티드는 문헌 [Vines e., et al., A. "Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery" Biochim Biophys Acta 2008, 1786: 126-38; Jarver P., et al., "In vivo biodistribution and efficacy of peptide mediated delivery" Trends Pharmacol Sci 2010; 31: 528-35; Samoylova T.I., et al., "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening" Muscle Nerve 1999; 22: 460-6]; 2001년 12월 11일에 허여된 미국 특허 번호 6,329,501 (발명의 명칭: "METHODS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING COMPOUNDS TO MUSCLE"); 및 [Samoylov A.M., et al., "Recognition of cell-specific binding of phage display derived peptides using an acoustic wave sensor." Biomol Eng 2002; 18: 269-72]에 기재되었으며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 특이적 세포 표면 항원 (예를 들어, 수용체)과 상호

작용하는 펩티드를 설계함으로써, 목적하는 조직, 예를 들어 근육에 대한 선택성이 달성될 수 있다. 골격근-표적화가 연구되었고, 다양한 분자 페이로드가 전달될 수 있다. 이들 접근법은 대형 항체 또는 바이러스 입자의 많은 실제 단점 없이 근육 조직에 대한 높은 선택성을 가질 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 4 내지 50개의 아미노산 길이인 근육-표적화 펩티드이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 아미노산 길이이다. 근육-표적화 펩티드는 임의의 여러 방법, 예컨대 파지 디스플레이를 사용하여 생성될 수 있다.

[0339] 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 특정 다른 세포와 비교하여 근육 세포에서 과다발현되거나 비교적 고도로 발현되는 내재화 세포 표면 수용체, 예를 들어 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 트랜스페린 수용체를 표적화할 수 있고, 예를 들어 그에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 자연 발생 리간드의 절편, 예를 들어 트랜스페린을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 미국 특허 번호 6,743,893, 출원일 11/30/2000, "RECEPTOR-MEDIATED UPTAKE OF PEPTIDES THAT BIND THE HUMAN TRANSFERRIN RECEPTOR"에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 문헌 [Kawamoto, M. et al., "A novel transferrin receptor-targeted hybrid peptide disintegrates cancer cell membrane to induce rapid killing of cancer cells." BMC Cancer. 2011 Aug 18;11:359]에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 미국 특허 번호 8,399,653, 출원일 5/20/2011, "TRANSFERRIN/TRANSFERRIN RECEPTOR-MEDIATED SIRNA DELIVERY"에 기재된 바와 같다.

[0340] 상기 논의된 바와 같이, 근육 표적화 펩티드의 예가 보고되었다. 예를 들어, 표면 헵타펩티드를 제시하는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 근육-특이적 펩티드가 확인되었다. 한 예로서, 아미노산 서열 ASSLNIA (서열식별번호: 138)을 갖는 펩티드는 시험관내에서 C2C12 뮤린 근관에 결합하였고, 생체내에서 마우스 근육 조직에 결합하였다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 아미노산 서열 ASSLNIA (서열식별번호: 138)을 포함한다. 이러한 펩티드는 간, 신장 및 뇌에 대한 결합이 감소된 마우스에서 정맥내 주사 후 심장 및 골격근 조직에 대한 결합에 대해 개선된 특이성을 나타냈다. 추가의 근육-특이적 펩티드는 파지 디스플레이를 사용하여 확인되었다. 예를 들어, DMD에 대한 치료와 관련하여 근육 표적화를 위한 파지 디스플레이 라이브러리에 의해 12개의 아미노산 펩티드가 확인되었다. 문헌 [Yoshida D., et al., "Targeting of salicylate to skin and muscle following topical injections in rats." Int J Pharm 2002; 231: 177-84]을 참조하며, 이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 여기서, 서열 SKTFNTHPQSTP (서열식별번호: 139)을 갖는 12개의 아미노산 펩티드가 확인되었고, 이러한 근육-표적화 펩티드는 ASSLNIA (서열식별번호: 138) 펩티드에 비해 C2C12 세포에 대한 개선된 결합을 나타냈다.

[0341] 다른 세포 유형에 비해 근육 (예를 들어, 골격근)에 대해 선택적인 펩티드를 확인하기 위한 추가의 방법은 문헌 [Ghosh D., et al., "Selection of muscle-binding peptides from context-specific peptide-presenting phage libraries for adenoviral vector targeting" J Virol 2005; 79: 13667-72] (이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 시험관내 선택을 포함한다. 무작위 12량체 펩티드 파지 디스플레이 라이브러리를 비-근육 세포 유형의 혼합물과 함께 사전-인큐베이션함으로써, 비-특이적 세포 결합제를 선택하였다. 선택 라운드 후, 12개의 아미노산 펩티드 TARGEHKEEELI (서열식별번호: 140)가 가장 빈번하게 출현하였다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 아미노산 서열 TARGEHKEEELI (서열식별번호: 140)를 포함한다.

[0342] 근육-표적화제는 아미노산-함유 분자 또는 펩티드일 수 있다. 근육-표적화 펩티드는 근육 세포에서 발견된 단백질 수용체에 우선적으로 결합하는 단백질의 서열에 상응할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 높은 경향의 소수성 아미노산, 예를 들어 발린을 함유하여, 펩티드가 근육 세포를 우선적으로 표적화하도록 한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 이전에 특징화되거나 개시되지 않았다. 이들 펩티드는 임의의 여러 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이된 펩티드 라이브러리, 1-비드 1-화합물 펩티드 라이브러리, 또는 위치 스캐닝 합성 펩티드 조합 라이브러리를 사용하여 고안, 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Gray, B.P. and Brown, K.C. "Combinatorial Peptide Libraries: Mining for Cell-Binding Peptides" Chem Rev. 2014, 114:2, 1020-1081.; Samoylova, T.I. and Smith, B.F. "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening." Muscle Nerve, 1999, 22:4. 460-6.). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 이전에 개시되었다 (예를 들어, 문헌 [Writer M.J. et al. "Targeted gene delivery to human airway epithelial cells with synthetic vectors incorporating novel targeting peptides selected by phage display." J. Drug

Targeting. 2004;12:185; Cai, D. "BDNF-mediated enhancement of inflammation and injury in the aging heart." Physiol Genomics. 2006, 24:3, 191-7.; Zhang, L. "Molecular profiling of heart endothelial cells." Circulation, 2005, 112:11, 1601-11.; McGuire, M.J. et al. "In vitro selection of a peptide with high selectivity for cardiomyocytes in vivo." J Mol Biol. 2004, 342:1, 171-82.] 참조). 예시적인 근육-표적화 펩티드는 하기 군의 아미노산 서열을 포함한다: CQAQGQLVC (서열식별번호: 141), CSERSMNFC (서열식별번호: 142), CPKTRRVPC (서열식별번호: 143), WLSEAGPVVTVRALRGTGSW (서열식별번호: 144), ASSLNIA (서열식별번호: 138), CMQHSMRVC (서열식별번호: 145) 및 DDTRHWG (서열식별번호: 146). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 약 2-25개의 아미노산, 약 2-20개의 아미노산, 약 2-15개의 아미노산, 약 2-10개의 아미노산 또는 약 2-5개의 아미노산을 포함할 수 있다. 근육-표적화 펩티드는 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β-아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 선형일 수 있고; 다른 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 시클릭, 예를 들어 비시클릭일 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Silvana, M.G. et al. Mol. Therapy, 2018, 26:1, 132-147.] 참조).

[0343] iii. 근육-표적화 수용체 리간드

[0344] 근육-표적화제는 리간드, 예를 들어 수용체 단백질에 결합하는 리간드일 수 있다. 근육-표적화 리간드는 근육 세포에 의해 발현되는 내재화 세포 표면 수용체에 결합하는 단백질, 예를 들어 트랜스페린일 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 트랜스페린 수용체에 결합하는 트랜스페린 또는 그의 유도체이다. 근육-표적화 리간드는 대안적으로 다른 세포 유형에 비해 근육 세포를 우선적으로 표적화하는 소분자, 예를 들어 친지성 소분자일 수 있다. 근육 세포를 표적화할 수 있는 예시적인 친지성 소분자는 콜레스테롤, 콜레스테릴, 스테아르산, 팔미트산, 올레산, 올레일, 리놀렌, 리놀레산, 미리스트산, 스테롤, 디히드로테스토스테론, 테스토스테론 유도체, 글리세린, 알킬 쇄, 트리틸 기 및 알콕시산을 포함하는 화합물을 포함한다.

[0345] iv. 근육-표적화 압타머

[0346] 근육-표적화제는 다른 세포 유형에 비해 근육 세포를 우선적으로 표적화하는 압타머, 예를 들어 RNA 압타머일 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 압타머는 이전에 특징화되거나 개시되지 않았다. 이들 압타머는 임의의 여러 방법론, 예를 들어 지수적 풍부화에 의한 리간드의 체계적 진화를 사용하여 고안, 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Yan, A.C. and Levy, M. "Aptamers and aptamer targeted delivery" RNA biology, 2009, 6:3, 316-20.; Germer, K. et al. "RNA aptamers and their therapeutic and diagnostic applications." Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2013; 4: 27-40.). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 압타머는 이전에 개시된 바 있다 (예를 들어, 문헌 [Phillippou, S. et al. "Selection and Identification of Skeletal-Muscle-Targeted RNA Aptamers." Mol Ther Nucleic Acids. 2018, 10:199-214.; Thiel, W.H. et al. "Smooth Muscle Cell-targeted RNA Aptamer Inhibits Neointimal Formation." Mol Ther. 2016, 24:4, 779-87.] 참조). 예시적인 근육-표적화 압타머는 A01B RNA 압타머 및 RNA Apt 14를 포함한다. 일부 실시양태에서, 압타머는 핵산-기반 압타머, 올리고뉴클레오티드 압타머 또는 펩티드 압타머이다. 일부 실시양태에서, 압타머는 약 5-15 kDa, 약 5-10 kDa, 약 10-15 kDa, 약 1-5 Da, 약 1-3 kDa 또는 그 미만일 수 있다.

[0347] v. 다른 근육-표적화제

[0348] 근육 세포 (예를 들어, 골격근 세포)를 표적화하기 위한 하나의 전략은 근육 수송체 단백질, 예컨대 근초 상에 발현된 수송체 단백질의 기질을 사용하는 것이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 조직에 특이적인 유입 수송체의 기질이다. 일부 실시양태에서, 유입 수송체는 골격근 조직에 특이적이다. 다음 2종의 주요 부류의 수송체가 골격근 근초 상에서 발현된다: (1) 골격근 조직으로부터의 유출을 용이하게 하는 아데노신 트리포스페이트 (ATP) 결합 카세트 (ABC) 슈퍼패밀리 및 (2) 골격근 내로의 기질 유입을 용이하게 할 수 있는 용질 담체 (SLC) 슈퍼패밀리. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 ABC 슈퍼패밀리 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질이다. 일부 실시양태에서, ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질은 자연 발생 기질이다. 일부 실시양태에서, ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질은 비-자연 발생 기질, 예를 들어 ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 그의 합성 유도체이다.

[0349] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체의 기질이다. SLC 수송체는 평형화 수송체이거나 또는 기질의 수송을 구동하기 위해 막을 가로질러 생성된 양성자 또는 나트륨 이온 구배를 사용한다. 높은 골

격근 발현을 갖는 예시적인 SLC 수송체는 비제한적으로 SATT 수송체 (ASCT1; SLC1A4), GLUT4 수송체 (SLC2A4), GLUT7 수송체 (GLUT7; SLC2A7), ATRC2 수송체 (CAT-2; SLC7A2), LAT3 수송체 (KIAA0245; SLC7A6), PHT1 수송체 (PTR4; SLC15A4), OATP-J 수송체 (OATP5A1; SLC21A15), OCT3 수송체 (EMT; SLC22A3), OCTN2 수송체 (FLJ46769; SLC22A5), ENT 수송체 (ENT1; SLC29A1 및 ENT2; SLC29A2), PAT2 수송체 (SLC36A2) 및 SAT2 수송체 (KIAA1382; SLC38A2)를 포함한다. 이들 수송체는 골격근 내로의 기질의 유입을 용이하게 하여, 근육 표적화를 위한 기회를 제공할 수 있다.

[0350] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 평형화 뉴클레오시드 수송체 2 (ENT2) 수송체의 기질이다. 다른 수송체에 비해, ENT2는 골격근에서 가장 높은 mRNA 발현 중 하나를 갖는다. 인간 ENT2 (hENT2)는 대부분의 신체 기관, 예컨대 뇌, 심장, 태반, 흉선, 췌장, 전립선 및 신장에서 발현되지만, 골격근에서 특히 풍부하다. 인간 ENT2는 그의 기질의 흡수를 이들의 농도 구배에 따라 용이하게 한다. ENT2는 광범위한 퓨린 및 피리미딘 핵염기를 수송함으로써 뉴클레오시드 항상성을 유지하는 데 소정 역할을 한다. hENT2 수송체는 이노신을 제외한 모든 뉴클레오시드 (아데노신, 구아노신, 우리딘, 티미딘 및 시티딘)에 대해 낮은 친화도를 갖는다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 ENT2 기질이다. 예시적인 ENT2 기질은 비제한적으로 이노신, 2',3'-디데옥시이노신 및 클로파라빈을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 근육-표적화제는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 페이로드)와 회합된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 비-공유 연결된다.

[0351] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 나트륨 이온-의존성, 고친화도 카르니틴 수송체인 유기 양이온/카르니틴 수송체 (OCTN2)의 기질이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 OCTN2에 결합하는 카르니틴, 밀드로네이트, 아세틸카르니틴 또는 그의 임의의 유도체이다. 일부 실시양태에서, 카르니틴, 밀드로네이트, 아세틸카르니틴 또는 그의 유도체는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 페이로드)에 공유 연결된다.

[0352] 근육-표적화제는 근육 세포를 표적화하는 적어도 1종의 가용성 형태로 존재하는 단백질인 단백질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 단백질은 철 과부하 및 항상성에 수반되는 단백질인 헤모쥬벨린 (반발성 유도 분자 C 또는 혈색소증 2형 단백질로도 공지됨)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 헤모쥬벨린은 전장, 또는 기능성 헤모쥬벨린 단백질에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 단편 또는 돌연변이체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 헤모쥬벨린 돌연변이체는 가용성 단편일 수 있고/거나 (예를 들어, 있고), N-말단 신호전달이 결여될 수 있고/거나 (예를 들어, 있고), C-말단 앵커링 도메인이 결여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 헤모쥬벨린은 진뱅크 RefSeq 수탁 번호 NM_001316767.1, NM_145277.4, NM_202004.3, NM_213652.3 또는 NM_213653.3 하에 주석달린 것일 수 있다. 헤모쥬벨린은 인간, 비-인간 영장류 또는 설치류 기원일 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0353] B. 분자 페이로드

[0354] 본 개시내용의 일부 측면은, 예를 들어 생물학적 결과, 예를 들어 DNA 서열의 전사, 단백질의 발현 또는 단백질의 활성을 조정하기 위한 분자 페이로드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육-표적화제에 연결되거나 또는 달리 그와 회합된다. 일부 실시양태에서, 이러한 분자 페이로드는, 예를 들어 회합된 근육-표적화제에 의한 근육 세포로의 전달 후 근육 세포 내 핵산 또는 단백질에 대한 특이적 결합을 통해 근육 세포에 표적화될 수 있다. 다양한 유형의 근육-표적화제가 본 개시내용에 따라 사용될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 예를 들어, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드), 펩티드 (예를 들어, 근육 세포에서 질환과 연관된 핵산 또는 단백질에 결합하는 펩티드), 단백질 (예를 들어, 근육 세포에서 질환과 연관된 핵산 또는 단백질에 결합하는 단백질), 또는 소분자 (예를 들어, 근육 세포에서 질환과 연관된 핵산 또는 단백질의 기능을 조정하는 소분자)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 질환-연관-반복부 확장을 포함하는 DMPK 대립유전자에 대한 상보성 영역을 갖는 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 예시적인 분자 페이로드는 본원에 추가로 상세히 기재되어 있지만, 본원에 제공된 예시적인 분자 페이로드는 제한적인 것으로 의도되지 않는 것으로 인지될 것이다.

[0355] i. 올리고뉴클레오티드

[0356] 임의의 적합한 올리고뉴클레오티드가 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드로서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 mRNA의 분해를 유발하도록 설계될 수 있다 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 분해를 유발하는 갭머, siRNA, 리보자임 또는 압타머일 수 있음). 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 mRNA의 번역을 차단하도록 설계될 수 있다 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 번역을 차단하는 믹스머, siRNA 또는 압타머일 수 있음). 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 mRNA의 분해를 유발하고 그의 번역을 차단

하도록 설계될 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 효소 (예를 들어, 유전자 편집 효소)의 활성을 지시하기 위한 가이드 핵산 (예를 들어, 가이드 RNA)일 수 있다. 올리고뉴클레오티드의 다른 예가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 하나의 포맷의 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드)는 하나의 포맷에서 또 다른 포맷 (예를 들어, siRNA 올리고뉴클레오티드)으로 기능적 서열 (예를 들어, 안티센스 가닥 서열)을 혼입시킴으로써 다른 포맷에 적합하게 적합화될 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0357] DMPK를 표적화하는 데 유용한 올리고뉴클레오티드의 예는 2010년 1월 1일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20100016215A1 (발명의 명칭: "Compound And Method For Treating Myotonic Dystrophy"); 2010년 7월 19일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20130237585A1 (발명의 명칭: "Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (DMPK) Expression"); 2015년 3월 5일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20150064181A1 (발명의 명칭: "Antisense Conjugates For Decreasing Expression Of Dmpk"); 2015년 8월 27일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20150238627A1 (발명의 명칭: "Peptide-Linked Morpholino Antisense Oligonucleotides For Treatment Of Myotonic Dystrophy"); 및 2016년 10월 20일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20160304877A1 (발명의 명칭: "Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (Dmpk) Expression")에 제공되어 있으며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 포함된다.

[0358] DMPK 유전자 편집을 촉진하기 위한 올리고뉴클레오티드의 예는 2017년 3월 3일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20170088819A1 (발명의 명칭: "Genetic Correction Of Myotonic Dystrophy Type 1"); 및 2018년 4월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO18002812A1 (발명의 명칭: "Materials And Methods For Treatment Of Myotonic Dystrophy Type 1 (DM1) And Other Related Disorders")을 포함하며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 포함된다.

[0359] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 예시적인 인간 DMPK 유전자 서열 (진 ID 1760; NM_001081560.2)인 하기 제시된 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다:

[0360] AGGGGGGCTGGACCAAGGGGTGGGGAGAAGGGGAGGAGGCCTCGGCCGGCCGCAG
AGAGAAGTGGCCAGAGAGGCCCAGGGGACAGCCAGGGACAGGCAGACATGCAGCC
AGGGCTCCAGGGCCTGGACAGGGGCTGCCAGGCCCTGTGACAGGAGGACCCCGAG
CCCCCGGCCCGGGGAGGGGCCATGGTGCTGCCTGTCCAACATGTCAGCCGAGGTGC
GGCTGAGGCGGCTCCAGCAGCTGGTGTTGGACCCGGGCTTCCTGGGGCTGGAGCCC
CTGCTCGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGCGCCTCCGAACTGGCCCAG
GACAAGTACGTGGCCGACTTCTTGCAGTGGGCGGAGCCCATCGTGGTGAGGCTTAA
GGAGGTCCGACTGCAGAGGGACGACTTCGAGATTCTGAAGGTGATCGGACGCGGG

GCGTTCAGCGAGGTAGCGGTAGTGAAGATGAAGCAGACGGGCCAGGTGTATGCCAT
GAAGATCATGAACAAGTGGGACATGCTGAAGAGGGGCGAGGTGTCGTGCTTCCGTG
AGGAGAGGGACGTGTTGGTGAATGGGGACCGGCGGTGGATCACGCAGCTGCACTTC
GCCTTCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAGTATTACGTGGGCGGGGA
CCTGCTGACACTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATTCCGGCCGAGATGGCGCGCT
TCTACCTGGCGGAGATTGTCATGGCCATAGACTCGGTGCACCGGCTTGGCTACGTGC
ACAGGGACATCAAACCCGACAACATCCTGCTGGACCGCTGTGGCCACATCCGCCTG
GCCGACTTCGGCTCTTGCCTCAAGCTGCGGGCAGATGGAACGGTGCGGTCGCTGGT
GGCTGTGGGCACCCCAGACTACCTGTCCCCCGAGATCCTGCAGGCTGTGGGCGGTG
GGCCTGGGACAGGCAGCTACGGGCCCGAGTGTGACTGGTGGGCGCTGGGTGTATTC
GCCTATGAAATGTTCTATGGGCAGACGCCCTTCTACGCGGATTCCACGGCGGAGAC
CTATGGCAAGATCGTCCACTACAAGGAGCACCTCTCTCTGCCGCTGGTGGACGAAG
GGGTCCCTGAGGAGGCTCGAGACTTCATTCAGCGGTTGCTGTGTCCCCCGGAGACA
CGGCTGGGCCGGGGTGGAGCAGGCGACTTCCGGACACATCCCTTCTTCTTTGGCCTC
GACTGGGATGGTCTCCGGGACAGCGTGCCCCCCTTTACACCGGATTTCGAAGGTGC
CACCGACACATGCAACTTCGACTTGGTGGAGGACGGGCTCACTGCCATGGAGACAC
TGTCGGACATTCGGGAAGGTGCGCCGCTAGGGGTCCACCTGCCTTTTGTGGGCTACT
CCTACTCCTGCATGGCCCTCAGGGACAGTGAGGTCCCAGGCCCCACACCCATGGAA
CTGGAGGCCGAGCAGCTGCTTGAGCCACACGTGCAAGCGCCCAGCCTGGAGCCCTC
GGTGTCCCCACAGGATGAAACAGCTGAAGTGGCAGTTCCAGCGGCTGTCCCTGCGG
CAGAGGCTGAGGCCGAGGTGACGCTGCGGGAGCTCCAGGAAGCCCTGGAGGAGGA
GGTGCTCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGGGAGATGGAGGCCATCCGCACGGACAAC
CAGAACTTCGCCAGTCAACTACGCGAGGCAGAGGCTCGGAACCGGGACCTAGAGG
CACACGTCCGGCAGTTGCAGGAGCGGATGGAGTTGCTGCAGGCAGAGGGAGCCAC
AGCTGTCACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATG
GCCCCCCGGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCAC
CGCCGCCACCTGCTGCTCCCTGCCAGGGTCCCTAGGCCTGGCCTATCGGAGGCGCTT
TCCCTGCTCCTGTTCGCCGTTGTTCTGTCTCGTGCCGCCGCCCTGGGCTGCATTGGGT
TGGTGGCCCACGCCGGCCAACTCACCGCAGTCTGGCGCCGCCCAGGAGCCGCCCGC
GCTCCCTGAACCCTAGAACTGTCTTCGACTCCGGGGCCCCGTTGGAAGACTGAGTGC
CCGGGGCACGGCACAGAAGCCGCGCCCACCGCCTGCCAGTTCACAACCGCTCCGAG
CGTGGGTCTCCGCCCAGCTCCAGTCCTGTGATCCGGGCCCGCCCCCTAGCGGCCGGG
GAGGGAGGGGCCGGGTCCGCGGCCGGCGAACGGGGCTCGAAGGGTCCTTGTAGCC
GGGAATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
[0361] GCTGCTGCTGGGGGGGATCACAGACCATTTCTTTCTTTCGGCCAGGCTGAGGCCCTGA

CGTGGATGGGCAAACTGCAGGCCTGGGAAGGCAGCAAGCCGGGCCGTCCGTGTTCC
ATCCTCCACGCACCCCCACCTATCGTTGGTTCGCAAAGTGCAAAGCTTTCTTGTGCA
TGACGCCCTGCTCTGGGGAGCGTCTGGCGCGATCTCTGCCTGCTTACTCGGGAAATT
TGCTTTTGCCAAACCCGCTTTTTCGGGGATCCCGCGCCCCCCTCCTCACTTGCGCTGC
TCTCGGAGCCCCAGCCGGCTCCGCCCGCTTCGGCGGTTTGGATATTTATTGACCTCG
TCCTCCGACTCGCTGACAGGCTACAGGACCCCCAACAACCCCAATCCACGTTTTGGA
TGCACTGAGACCCCGACATTCCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTAGGACCCCC
ACCCCCGACCCTCGCGAATAAAAGGCCCTCCATCTGCCCAAAGCTCTGGA(SEQ ID
[0362] NO: 131).

[0363] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 예시적인 마우스 DMPK 유전자 서열 (진 ID 13400; NM_001190490.1)인 하기 제시된 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다:

GAACTGGCCAGAGAGACCCAAGGGATAGTCAGGGACGGGCAGACATGCAGCTAGG
GTTCTGGGGCCTGGACAGGGGCAGCCAGGCCCTGTGACGGGAAGACCCCGAGCTCC
GGCCCGGGGAGGGGCCATGGTGTTGCCTGCCCAACATGTCAGCCGAAGTGCGGCTG
AGGCAGCTCCAGCAGCTGGTGCTGGACCCAGGCTTCCTGGGACTGGAGCCCCTGCT
CGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGTGCCTCTCACCTAGCCCAGGACA
AGTATGTGGCCGACTTCTTGCAGTGGGTGGAGCCCATTGCAGCAAGGCTTAAGGAG
GTCCGACTGCAGAGGGATGATTTTGAGATTTTGAAGGTGATCGGGCGTGGGGCGTT
CAGCGAGGTAGCGGTGGTGAAGATGAAACAGACGGGCCAAGTGTATGCCATGAAG
ATTATGAATAAGTGGGACATGCTGAAGAGAGGCGAGGTGTCGTGCTTCCGGGAAGA
AAGGGATGTATTAGTGAAAGGGGACCGGCGCTGGATCACACAGCTGCACTTTGCCT
TCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAATACTACGTGGGCGGGGACCTG
CTAACGCTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATCCCCGCCGAGATGGCTCGCTTCTA
CCTGGCCGAGATTGTCATGGCCATAGACTCCGTGCACCGGCTGGGCTACGTGCACA
GGGACATCAAACCAGATAACATTCTGCTGGACCGATGTGGGCACATTCGCCTGGCA
GACTTCGGCTCCTGCCTCAAACTGCAGCCTGATGGAATGGTGAGGTCGCTGGTGGCT
GTGGGCACCCCGGACTACCTGTCTCCTGAGATTCTGCAGGCCGTTGGTGGAGGGCCT
GGGGCAGGCAGCTACGGGCCAGAGTGTGACTGGTGGGCACTGGGCGTGTTCGCCTA
TGAGATGTTCTATGGGCAGACCCCCTTCTACGCGGACTCCACAGCCGAGACATATG
CCAAGATTGTGCACTACAGGGAACACTTGTCGCTGCCGCTGGCAGACACAGTTGTC
CCCGAGGAAGCTCAGGACCTCATTCGTGGGCTGCTGTGTCCTGCTGAGATAAGGCT
AGGTCGAGGTGGGGCAGACTTCGAGGGTGCCACGGACACATGCAATTTCGATGTGG
TGGAGGACCGGCTCACTGCCATGGTGAGCGGGGGCGGGGAGACGCTGTCAGACAT
[0364] GCAGGAAGACATGCCCCTTGGGGTGCGCCTGCCCTTCGTGGGCTACTCCTACTGCTG

CATGGCCTTCAGAGACAATCAGGTCCCGGACCCCACCCCTATGGAACTAGAGGCCC
TGCAGTTGCCTGTGTCAGACTTGCAAGGGCTTGACTTGCAGCCCCCAGTGTCCCCAC
CGGATCAAGTGGCTGAAGAGGCTGACCTAGTGGCTGTCCCTGCCCCTGTGGCTGAG
GCAGAGACCACGGTAACGCTGCAGCAGCTCCAGGAAGCCCTGGAAGAAGAGGTTC
TCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGCGAGCTGGAGGCCATCCGGACCGCCAACCAGAAC
TTCTCCAGCCAACTACAGGAGGCCGAGGTCCGAAACCGAGACCTGGAGGCGCATGT
TCGGCAGCTACAGGAACGGATGGAGATGCTGCAGGCCCCAGGAGCCGCAGCCATC
ACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATGGCCCCCC
GGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCACCGCCGTC
ACCTGCTGCTCCCTGCCAGGATCCCTAGGCCTGGCCTATCCGAGGCGCGTTGCCTGC
TCCTGTTCGCCGCTGCTCTGGCTGCTGCCGCCACACTGGGCTGCACTGGGTTGGTGG
CCTATACCGGCGGTCTCACCCCAGTCTGGTGTTTCCCGGGAGCCACCTTCGCCCCCT
GAACCCTAAGACTCCAAGCCATCTTTCATTTAGGCCTCCTAGGAAGGTCGAGCGAC
CAGGGAGCGACCCAAAGCGTCTCTGTGCCCATCGCGCCCCCCCCCCCCCCCCACCG
CTCCGCTCCACACTTCTGTGAGCCTGGGTCCCCACCCAGCTCCGCTCCTGTGATCCA
GGCCTGCCACCTGGCGGCCGGGGAGGGAGGAACAGGGCTCGTGCCCAGCACCCCTG
GTTCCTGCAGAGCTGGTAGCCACCGCTGCTGCAGCAGCTGGGCATTCGCCGACCTTG
CTTTACTCAGCCCCGACGTGGATGGGCAAACTGCTCAGCTCATCCGATTTCACTTTT
TCACTCTCCCAGCCATCAGTTACAAGCCATAAGCATGAGCCCCCTATTTCCAGGGAC
ATCCCATTCCCATAGTGATGGATCAGCAAGACCTCTGCCAGCACACACGGAGTCTTT
GGCTTCGGACAGCCTCACTCCTGGGGGGTTGCTGCAACTCCTTCCCCGTGTACACGTC
TGCACTCTAACAACGGAGCCACAGCTGCACTCCCCCCTCCCCCAAAGCAGTGTGGG
TATTTATTGATCTTGTTATCTGACTCACTGACAGACTCCGGGACCCACGTTTTAGAT
GCATTGAGACTCGACATTCCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTACGACCTCCACT
CCCGACCCTTGCGAATAAAATACTTCTGGTCTGCCCTAAA (SEQ ID NO: 147)

[0365]

[0366] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 인간, 마우스 및 비-인간 종으로부터 선택된 다수의 종의 DMPK 유전자 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다.

[0367] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DMPK의 돌연변이 형태, 예를 들어 문헌 [Botta A. et al. "The CTG repeat expansion size correlates with the splicing defects observed in muscles from myotonic dystrophy type 1 patients." J Med Genet. 2008 Oct;45(10):639-46.; 및 Machuca-Tzili L. et al. "Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies: a review." Muscle Nerve. 2005 Jul;32(1):1-18.] (이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 보고된 바와 같은 돌연변이 형태에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다.

[0368] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 분해를 위해 lncRNA 또는 mRNA를 표적화할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 분해를 위해 미스매치 복구 경로에 수반되는 단백질, 예를 들어 MSH2, MutL알파, MutS베타, MutL알파를 코딩하는 핵산을 표적화할 수 있다. 미스매치 복구 경로에 수반되는 단백질을 코딩하는 mRNA가 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드에 의해 표적화될 수 있는 이러한 단백질의 비제한적 예는 문헌 [Iyer, R.R. et al., "DNA triplet repeat expansion and mismatch repair" Annu Rev Biochem. 2015;84:199-226.; 및 Schmidt M.H. and Pearson C.E., "Disease-associated repeat instability and mismatch repair" DNA Repair (Amst). 2016 Feb;38:117-26]에 기재되어 있다.

[0369] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 DMPK를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 표적화 올리고뉴클레오티드는 2016년 10월 20일에 공개된 미국 특허 출원 공개 US20160304877A1 (발명의 명칭: "Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (DMPK) Expression") (본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 DMPK를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머) 중 어느 하나이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 진뱅크 수탁 번호 NM_001081560.2 (서열식별번호: 131)에 제시된 바와 같은 또는 진뱅크 수탁 번호 NG_009784.1에

제시된 바와 같은 DMPK 유전자 서열의 영역을 표적화한다.

[0370] 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 131에서의 적어도 10개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 적어도 10, 적어도 12, 적어도 14, 적어도 16개 또는 그 초과의 연속 뉴클레오티드)인 표적 영역에 대해 상보적인 영역을 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0371] 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 갭머 모티프를 포함한다. "갭머"는 RNase H 절단을 지지하는 복수의 뉴클레오티드를 갖는 내부 영역이 1개 이상의 뉴클레오티드를 갖는 외부 영역들 사이에 위치되며, 여기서 내부 영역에 포함되는 뉴클레오티드는 외부 영역에 포함되는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드들과 화학적으로 별개인 키메라 안티센스 화합물을 의미한다. 내부 영역은 "갭 절편"으로 지칭될 수 있고, 외부 영역은 "윙 절편"으로 지칭될 수 있다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 뉴클레오티드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 완전 포스포로티오에이트 백본을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 cET 말단을 갖는 DNA 갭머 (예를 들어, 3-10-3; cET-DNA-cET)이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 6'-(S)-CH_3 비시클릭 뉴클레오티드, 1개 이상의 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 5-메틸시토신 뉴클레오티드를 포함한다.

[0372] 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 식 5'-X-Y-Z-3'를 갖는 갭머이며, 여기서 X 및 Z는 윙 절편이고, Y는 갭 절편이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 5'-4-8-4-3' 식을 갖는 갭머이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 5'-5-10-5-3' 식을 갖는 갭머이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 5'-3-10-3-3' 식을 갖는 갭머이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 5-메틸시토신 뉴클레오티드, 2'OMe 뉴클레오티드, 2'플루오로 뉴클레오티드, LNA 및/또는 (예를 들어, 및) 2'-O-메톡시에틸 (2'-O-MOE) 뉴클레오티드 중 1개 이상을 포함하는 갭머이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 연결)을 포함하는 갭머이다. 일부 실시양태에서, DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드는 완전 포스포로티오에이트 백본을 포함하는 갭머이다.

[0373] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나는 염 형태, 예를 들어 나트륨, 칼륨 또는 마그네슘 염일 수 있다.

[0374] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 임의로 스페이서를 통해 아민 기에 접합된다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 지방족 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 포스포디에스테르 연결은 스페이서와 올리고뉴클레오티드의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 사이에 존재한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 올리고뉴클레오티드의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, -N(R^A)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^AC(=O)R^A-, -C(=O)R^A-, -NR^AC(=O)O-, -NR^AC(=O)N(R^A)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)N(R^A)-, -S(O)$_2$NR^A-, -NR^AS(O)$_2$- 또는 그의 조합인 스페이서에 접합되고; 각각의 R^A는 독립적으로 수소 또는 치환 또는 비치환된 알킬이다. 특정 실시양태에서, 스페이서는 치환 또는 비치환된 알킬렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, -N(R^A)- 또는 -C(=O)N(R^A)$_2$ 또는 그의 조합이다.

[0375] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드는 화학식 -NH_2-$(CH_2)_n$-의 화합물에 접합되며, 여기서 n은 1 내지 12의 정수이다. 일부 실시양태에서, n은 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다. 일부 실시양태에서, 포스포디에스테르 연결은 화학식 NH_2-$(CH_2)_n$-의 화합물과 올리고뉴클레오티드의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 사이에 존재한다. 일부 실시양태에서, 화학식 NH_2-$(CH_2)_6$-의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 (NH_2-$(CH_2)_6$-OH)과 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다.

[0376] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 아민 기를 통해 표적화제, 예를 들어 근육 표적화제, 예

컨대 항-TfR 항체에 접합된다.

[0377] a. 올리고뉴클레오티드 크기/서열

[0378] 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 포맷에 따라 다양한 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 75개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 8 내지 50개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이 등이다.

[0379] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 목적을 위한 올리고뉴클레오티드의 상보적 핵산 서열은 표적 분자 (예를 들어, mRNA)에 대한 서열의 결합이 표적 (예를 들어, mRNA)의 정상 기능을 방해하여 활성의 손실 (예를 들어, 번역을 억제함) 또는 발현의 손실 (예를 들어, 표적 mRNA를 분해함)을 유발하는 경우에 표적 핵산에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이고, 비-특이적 결합의 회피가 요망되는 조건 하에, 예를 들어 생체내 검정 또는 치유적 치료의 경우에는 생리학적 조건 하에, 및 시험관내 검정의 경우에는 검정이 적합한 엄격도 조건 하에 수행되는 조건 하에, 비-표적 서열에 대한 서열의 비-특이적 결합을 회피하는 데 충분한 정도의 상보성이 존재한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 연속 뉴클레오티드에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상보적 뉴클레오티드 서열은 표적 핵산에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이 되기 위해 그의 표적의 서열에 대해 100% 상보적일 필요는 없다.

[0380] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 8 내지 15, 8 내지 30, 8 내지 40, 또는 10 내지 50, 또는 5 내지 50, 또는 5 내지 40개의 뉴클레오티드 길이의 범위인 표적 핵산에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 핵산에 대한 올리고뉴클레오티드의 상보성 영역은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 적어도 8개의 연속 뉴클레오티드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 연속 뉴클레오티드의 부분과 비교하여 1, 2 또는 3개의 염기 미스매치를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 15개 염기에 걸쳐 3개 이하의 미스매치 또는 10개 염기에 걸쳐 2개 이하의 미스매치를 가질 수 있다.

[0381] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 148-383 및 621-638 중 어느 하나를 포함하는 서열의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 148-383 및 621-638 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 148-383 및 621-638 중 어느 하나의 적어도 12개 또는 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 97% 서열 동일성을 공유하는 서열을 포함한다.

[0382] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나를 포함하는 DMPK 서열을 표적화하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나를 포함하는 DMPK 서열에 대해 상보적인 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오티드 (예를 들어, 연속 뉴클레오티드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나의 적어도 12개 또는 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 97% 상보적인 서열을 포함한다.

[0383] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 및 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 표 8 및 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드에 대해 100% 상보적이다.

[0384] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나에서의 티민 염기 (T) 중 1개 이상은 임의로 우라실 염기 (U)일 수 있고/거나, U 중 1개 이상은 임의로 T일 수 있다.

[0385] b. 올리고뉴클레오티드 변형:

[0386] 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 변형될 수 있으며, 예를 들어 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오시드간 연결, 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 그의 조합을 포함할 수 있다. 추가로, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하기 특성 중 1종 이상을 나타낼 수 있다: 대안적 스플라이싱을 매개하지 않음; 면역 자극성이 아님; 뉴클레아제 저항성임; 비변형된 올리고뉴클레오티드와 비교하여 개선된 세포 흡수를 가짐; 세포 또는 포유동물에 대해 독성이 아님; 세포 내부에 개선된 엔도솜 출구를 가짐; TLR 자극을 최소화함; 또는 패턴 인식 수용체를 회피함. 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 올리고뉴클레오티드 내에 포함될 수 있다.

[0387] 일부 실시양태에서, 변형이 혼입되는 올리고뉴클레오티드를 천연 올리고데옥시뉴클레오티드 또는 올리고리보뉴클레오티드 분자보다 뉴클레아제 소화에 대해 더 저항성으로 만드는 이러한 특정 뉴클레오티드 변형이 사용될 수 있고; 이들 변형된 올리고뉴클레오티드는 비변형된 올리고뉴클레오티드보다 더 긴 시간 동안 무손상으로 생존한다. 변형된 올리고뉴클레오티드의 구체적 예는 변형된 백본, 예를 들어 변형된 뉴클레오시드간 연결, 예컨대 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, 메틸 포스포네이트, 단쇄 알킬 또는 시클로알킬 당간 연결 또는 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로시클릭 당간 연결을 포함하는 것을 포함한다. 따라서, 본 개시내용의 올리고뉴클레오티드는, 예컨대 변형, 예를 들어 뉴클레오티드 변형의 혼입에 의해 핵산분해적 분해에 대해 안정화될 수 있다.

[0388] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드의 2 내지 10, 2 내지 15, 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 25, 2 내지 30, 2 내지 40, 2 내지 45개 또는 그 초과의 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 50개 이하 또는 100개 이하의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드의 2 내지 10, 2 내지 15, 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 25, 2 내지 30개의 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드의 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 2 내지 7, 2 내지 8, 2 내지 9, 2 내지 10, 2 내지 11, 2 내지 12, 2 내지 13, 2 내지 14개의 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 8 내지 15개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 임의로, 올리고뉴클레오티드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오티드가 변형된 것을 제외하고는 모든 뉴클레오티드를 가질 수 있다. 올리고뉴클레오티드 변형은 본원에 추가로 기재된다.

[0389] c. 변형된 뉴클레오시드

[0390] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 당의 2' 위치에서 변형된 적어도 1개의 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 1개의 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 내의 모든 뉴클레오시드는 2'-변형된 뉴클레오시드이다.

[0391] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0392] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 리보스 고리가 고리 내의 2개의 원자를 연결하는, 예를 들어 메틸렌 (LNA) 가교, 에틸렌 (ENA) 가교 또는 (S)-구속성 에틸 (cEt) 가교를 통해 2'-O 원자를 4'-C 원자에 연결하는 가교 모이어티를 포함하는 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드를 포함한다. LNA의 예는 2008년 4월 17일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO/2008/043753 (발명의 명칭: "RNA Antagonist Compounds For The Modulation Of PCSK9")에 기재되어 있으며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. ENA의 예는 2005년 5월 12일에 공개된 국제 특허 공개 번호 WO 2005/042777 (발명의 명칭: "APP/ENA Antisense"); 문헌 [Morita et al., Nucleic Acid Res., Suppl 1:241-242, 2001; Surono et al., Hum. Gene Ther., 15:749-757, 2004; Koizumi, Curr. Opin. Mol. Ther., 8:144-149, 2006 및 Horie et al., Nucleic Acids Symp. Ser (Oxf), 49:171-172, 2005]에 제공되어 있으며; 이의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. cEt의 예는 미국 특허 7,101,993; 7,399,845 및 7,569,686에 제공되어 있으며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0393] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하기 미국 특허 또는 특허 출원 공개 중 하나에 개시된 변형된 뉴클레오시드를 포함한다: 2008년 7월 15일에 허여된 미국 특허 7,399,845 (발명의 명칭: "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2010년 6월 22일에 허여된 미국 특허 7,741,457 (발명의 명칭: "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2011년 9월 20일에 허여된 미국 특허 8,022,193 (발명의 명칭: "6-Modified Bicyclic

Nucleic Acid Analogs"); 2009년 8월 4일에 허여된 미국 특허 7,569,686 (발명의 명칭: "Compounds And Methods For Synthesis Of Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2008년 2월 26일에 허여된 미국 특허 7,335,765 (발명의 명칭: "Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues"); 2008년 1월 1일에 허여된 미국 특허 7,314,923 (발명의 명칭: "Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues"); 2010년 10월 19일에 허여된 미국 특허 7,816,333 (발명의 명칭: "Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same") 및 미국 공개 번호 2011/0009471이며 2015년 2월 17일에 허여된 현재 미국 특허 8,957,201 (발명의 명칭: "Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same") (이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨).

[0394] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오시드를 갖지 않는 올리고뉴클레오티드와 비교하여 1℃, 2℃, 3℃, 4℃ 또는 5℃ 범위의 올리고뉴클레오티드 Tm의 증가를 유발하는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 올리고뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오시드를 갖지 않는 올리고뉴클레오티드와 비교하여 2℃, 3℃, 4℃, 5℃, 6℃, 7℃, 8℃, 9℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃, 35℃, 40℃, 45℃ 또는 그 초과의 범위의 올리고뉴클레오티드 Tm의 총 증가를 유발하는 복수의 변형된 뉴클레오시드를 가질 수 있다.

[0395] 올리고뉴클레오티드는 상이한 종류의 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드와 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드와 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드와 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드와 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me)와 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)의 혼합을 포함할 수 있다.

[0396] 올리고뉴클레오티드는 상이한 종류의 교대 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 교대 2'-데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드 및 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대 데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드 및 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드 및 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 및 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me) 및 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)를 포함할 수 있다.

[0397] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 5'-비닐포스포네이트 변형, 1개 이상의 무염기성 잔기 및/또는 1개 이상의 역전된 무염기성 잔기를 포함한다.

[0398] d. 뉴클레오시드간 연결 / 백본

[0399] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오시드간 연결을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 말단에서 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다.

[0400] 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455, 233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563, 253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050

을 참조한다.

[0401] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 헤테로원자 백본, 예컨대 메틸렌(메틸이미노) 또는 MMI 백본; 아미드 백본 (문헌 [De Mesmaeker et al. Ace. Chem. Res. 1995, 28:366-374] 참조); 모르폴리노 백본 (미국 특허 번호 5,034,506 (Summerton and Weller) 참조); 또는 펩티드 핵산 (PNA) 백본 (여기서 올리고뉴클레오티드의 포스포디에스테르 백본은 폴리아미드 백본으로 대체되고, 뉴클레오티드는 폴리아미드 백본의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합됨, 문헌 [Nielsen et al., Science 1991, 254, 1497] 참조)을 가질 수 있다.

[0402] e. 입체특이적 올리고뉴클레오티드

[0403] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드간 인 원자는 키랄이고, 올리고뉴클레오티드의 특성은 키랄 인 원자의 배위에 기초하여 조정된다. 일부 실시양태에서, 적절한 방법을 사용하여 P-키랄 올리고뉴클레오티드 유사체를 입체제어된 방식으로 합성할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Oka N, Wada T, Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms. Chem Soc Rev. 2011 Dec;40(12):5829-43.]에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 실질적으로 모든 Sp 또는 실질적으로 모든 Rp 포스포로티오에이트 당간 연결에 의해 함께 연결된 뉴클레오시드 단위를 포함하는 포스포로티오에이트 함유 올리고뉴클레오티드가 제공된다. 일부 실시양태에서, 실질적으로 키랄 순수한 당간 연결을 갖는 이러한 포스포로티오에이트 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 1996년 12월 12일에 허여된 미국 특허 5,587,261 (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 효소적 또는 화학적 합성에 의해 제조된다. 일부 실시양태에서, 키랄 제어된 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 선택적 절단 패턴을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 키랄 제어된 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 2017년 2월 2일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20170037399 A1 (발명의 명칭: "CHIRAL DESIGN") (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 핵산의 상보적 서열 내에 단일 부위 절단을 제공한다.

[0404] f. 모르폴리노

[0405] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 모르폴리노-기재 화합물일 수 있다. 모르폴리노-기재 올리고머 화합물은 문헌 [Dwaine A. Braasch and David R. Corey, Biochemistry, 2002, 41(14), 4503-4510); Genesis, volume 30, issue 3, 2001; Heasman, J., Dev. Biol., 2002, 243, 209-214; Nasevicius et al., Nat. Genet., 2000, 26, 216-220; Lacerra et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 97, 9591-9596]; 및 1991년 7월 23일에 허여된 미국 특허 번호 5,034,506에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 모르폴리노-기재 올리고머 화합물은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다 (예를 들어, 문헌 [Iverson, Curr. Opin. Mol. Ther., 3:235-238, 2001; 및 Wang et al., J. Gene Med., 12:354-364, 2010]에 기재된 바와 같고, 이들의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0406] g. 펩티드 핵산 (PNA)

[0407] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 단위의 당 및 뉴클레오시드간 연결 (백본) 둘 다는 신규 기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 염기 단위는 적절한 핵산 표적 화합물과의 혼성화를 위해 유지된다. 탁월한 혼성화 특성을 갖는 것으로 나타난 올리고뉴클레오티드 모방체인 하나의 이러한 올리고머 화합물은 펩티드 핵산 (PNA)으로 지칭된다. PNA 화합물에서, 올리고뉴클레오티드의 당-백본은 아미드 함유 백본, 예를 들어 아미노에틸글리신 백본으로 대체된다. 핵염기는 보유되고, 백본의 아미드 부분의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 제조를 보고하는 대표적인 공개는 미국 특허 번호 5,539,082; 5,714,331; 및 5,719,262를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다. PNA 화합물의 추가의 교시는 문헌 [Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500]에서 찾을 수 있다.

[0408] h. 갭머

[0409] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 갭머이다. 갭머 올리고뉴클레오티드는 일반적으로 식 5'-X-Y-Z-3'을 가지며, 여기서 X 및 Z는 갭 영역 Y 주위의 플랭킹 영역이다. 일부 실시양태에서, 식 5'-X-Y-Z-3'의 플랭킹 영역 X는 또한 X 영역, 플랭킹 서열 X, 5' 윙 영역 X 또는 5' 윙 절편으로 지칭된다. 일부 실시양태에서, 식 5'-X-Y-Z-3'의 플랭킹 영역 Z는 또한 Z 영역, 플랭킹 서열 Z, 3' 윙 영역 Z 또는 3' 윙 절편으로 지칭된다. 일부 실시양태에서, 식 5'-X-Y-Z-3'의 갭 영역 Y는 또한 Y 영역, Y 절편 또는 갭-절편 Y로 지칭된다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이고, 5' 윙 영역 X나 3' 윙 영역 Z 모두는 임의의 2'-데옥시리보뉴클레오시드를 함유하지 않는다.

[0410] 일부 실시양태에서, Y 영역은 RNAse, 예컨대 RNAse H를 동원할 수 있는 뉴클레오티드의 인접 스트레치, 예를 들

어 6개 이상의 DNA 뉴클레오티드의 영역이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 표적 핵산에 결합하고, 이 지점에 RNAse가 동원된 다음, 표적 핵산을 절단할 수 있다. 일부 실시양태에서, Y 영역은 고친화도 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 1 내지 6개의 고친화도의 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 영역 X 및 Z가 5' 및 3' 둘 다에 플랭킹된다. 고친화도 변형된 뉴클레오시드의 예는 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'O-Me, 2'-F) 또는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, cEt, ENA)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 플랭킹 서열 X 및 Z는 1-20개의 뉴클레오티드, 1-8개의 뉴클레오티드 또는 1-5개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 플랭킹 서열 X 및 Z는 유사한 길이 또는 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭-절편 Y는 5-20개의 뉴클레오티드, 5-15개의 뉴클레오티드 또는 6-10개의 뉴클레오티드 길이의 뉴클레오티드 서열일 수 있다.

[0411] 일부 실시양태에서, 갭머 올리고뉴클레오티드의 갭 영역은 DNA 뉴클레오티드에 추가로 효율적인 RNase H 작용에 허용되는 것으로 공지된 변형된 뉴클레오티드, 예컨대 C4'-치환된 뉴클레오티드, 비-시클릭 뉴클레오티드 및 아라비노-구성된 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭 영역은 1개 이상의 비변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 또는 둘 다의 플랭킹 영역은 각각 독립적으로 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 사이에 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 또는 다른 연결)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 및 2개의 플랭킹 영역은 각각 독립적으로 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 사이에 변형된 뉴클레오시드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 또는 다른 연결)을 포함한다.

[0412] 갭머는 적절한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 갭머의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허, 미국 특허 공개 및 PCT 공개는 미국 특허 번호 5,013,830; 5,149,797; 5,220,007; 5,256,775; 5,366,878; 5,403,711; 5,491,133; 5,565,350; 5,623,065; 5,652,355; 5,652,356; 5,700,922; 5,898,031; 7,015,315; 7,101,993; 7,399,845; 7,432,250; 7,569,686; 7,683,036; 7,750,131; 8,580,756; 9,045,754; 9,428,534; 9,695,418; 10,017,764; 10,260,069; 9,428,534; 8,580,756; 미국 특허 공개 번호 US20050074801, US20090221685; US20090286969, US20100197762 및 US20110112170; PCT 공개 번호 WO2004069991; WO2005023825; WO2008049085 및 WO2009090182; 및 EP 특허 번호 EP2,149,605를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0413] 일부 실시양태에서, 갭머는 10-40개의 뉴클레오시드 길이이다. 예를 들어, 갭머는 10-40, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-40, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-40, 20-35, 20-30, 20-25, 25-40, 25-35, 25-30, 30-40, 30-35 또는 35-40개의 뉴클레오시드 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭머는 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40개의 뉴클레오시드 길이이다.

[0414] 일부 실시양태에서, 갭머 내의 갭 영역 Y는 5-20개의 뉴클레오시드 길이이다. 예를 들어, 갭 영역 Y는 5-20, 5-15, 5-10, 10-20, 10-15 또는 15-20개의 뉴클레오시드 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오시드 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 모든 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 뉴클레오시드 중 1개 이상은 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 본원에 기재된 것)이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 1개 이상의 시토신은 임의로 5-메틸-시토신이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 시토신은 5-메틸-시토신이다.

[0415] 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 독립적으로 1-20개의 뉴클레오시드 길이이다. 예를 들어, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 독립적으로 1-20, 1-15, 1-10, 1-7, 1-5, 1-3, 1-2, 2-5, 2-7, 3-5, 3-7, 5-20, 5-15, 5-10, 10-20, 10-15 또는 15-20개의 뉴클레오시드 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오시드 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 동일한 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 상이한 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)보다 더 길다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머

의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)보다 더 짧다.

[0416] 일부 실시양태에서, 갭머는 5-10-5, 4-12-4, 3-14-3, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 4-6-4, 3-6-3, 2-6-2, 4-7-4, 3-7-3, 2-7-2, 4-8-4, 3-8-3, 2-8-2, 1-8-1, 2-9-2, 1-9-1, 2-10-2, 1-10-1, 1-12-1, 1-16-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-14-3, 3-14-1, 2-14-2, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-3, 3-13-2, 1-12-5, 5-12-1, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 1-11-6, 6-11-1, 2-11-5, 5-11-2, 3-11-4, 4-11-3, 1-17-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-15-3, 3-15-1, 2-15-2, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-3, 3-14-2, 1-13-5, 5-13-1, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 1-12-6, 6-12-1, 2-12-5, 5-12-2, 3-12-4, 4-12-3, 1-11-7, 7-11-1, 2-11-6, 6-11-2, 3-11-5, 5-11-3, 4-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 1-16-3, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 5-14-1, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 3-16-1, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-19-1, 1-18-2, 2-18-1, 1-17-3, 3-17-1, 2-17-2, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-3, 3-16-2, 1-15-5, 2-15-4, 4-15-2, 3-15-3, 1-14-6, 6-14-1, 2-14-5, 5-14-2, 3-14-4, 4-14-3, 1-13-7, 7-13-1, 2-13-6, 6-13-2, 3-13-5, 5-13-3, 4-13-4, 1-12-8, 8-12-1, 2-12-7, 7-12-2, 3-12-6, 6-12-3, 4-12-5, 5-12-4, 2-11-8, 8-11-2, 3-11-7, 7-11-3, 4-11-6, 6-11-4, 5-11-5, 1-20-1, 1-19-2, 2-19-1, 1-18-3, 3-18-1, 2-18-2, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-3, 3-17-2, 1-16-5, 2-16-4, 4-16-2, 3-16-3, 1-15-6, 6-15-1, 2-15-5, 5-15-2, 3-15-4, 4-15-3, 1-14-7, 7-14-1, 2-14-6, 6-14-2, 3-14-5, 5-14-3, 4-14-4, 1-13-8, 8-13-1, 2-13-7, 7-13-2, 3-13-6, 6-13-3, 4-13-5, 5-13-4, 2-12-8, 8-12-2, 3-12-7, 7-12-3, 4-12-6, 6-12-4, 5-12-5, 3-11-8, 8-11-3, 4-11-7, 7-11-4, 5-11-6, 6-11-5, 1-21-1, 1-20-2, 2-20-1, 1-20-3, 3-19-1, 2-19-2, 1-18-4, 4-18-1, 2-18-3, 3-18-2, 1-17-5, 2-17-4, 4-17-2, 3-17-3, 1-16-6, 6-16-1, 2-16-5, 5-16-2, 3-16-4, 4-16-3, 1-15-7, 7-15-1, 2-15-6, 6-15-2, 3-15-5, 5-15-3, 4-15-4, 1-14-8, 8-14-1, 2-14-7, 7-14-2, 3-14-6, 6-14-3, 4-14-5, 5-14-4, 2-13-8, 8-13-2, 3-13-7, 7-13-3, 4-13-6, 6-13-4, 5-13-5, 1-12-10, 10-12-1, 2-12-9, 9-12-2, 3-12-8, 8-12-3, 4-12-7, 7-12-4, 5-12-6, 6-12-5, 4-11-8, 8-11-4, 5-11-7, 7-11-5, 6-11-6, 1-22-1, 1-21-2, 2-21-1, 1-21-3, 3-20-1, 2-20-2, 1-19-4, 4-19-1, 2-19-3, 3-19-2, 1-18-5, 2-18-4, 4-18-2, 3-18-3, 1-17-6, 6-17-1, 2-17-5, 5-17-2, 3-17-4, 4-17-3, 1-16-7, 7-16-1, 2-16-6, 6-16-2, 3-16-5, 5-16-3, 4-16-4, 1-15-8, 8-15-1, 2-15-7, 7-15-2, 3-15-6, 6-15-3, 4-15-5, 5-15-4, 2-14-8, 8-14-2, 3-14-7, 7-14-3, 4-14-6, 6-14-4, 5-14-5, 3-13-8, 8-13-3, 4-13-7, 7-13-4, 5-13-6, 6-13-5, 4-12-8, 8-12-4, 5-12-7, 7-12-5, 6-12-6, 5-11-8, 8-11-5, 6-11-7 또는 7-11-6의 5'-X-Y-Z-3'를 포함한다. 숫자는 5'-X-Y-Z-3' 갭머 내의 X, Y 및 Z 영역 내의 뉴클레오시드의 수를 나타낸다.

[0417] 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 또는 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 고친화도 변형된 뉴클레오시드)이다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 고친화도 변형된 뉴클레오시드)는 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 또는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 고친화도 변형된 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, cEt 또는 ENA) 또는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA))이다.

[0418] 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이고, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이고, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다.

[0419] 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)과 동일한 고친화도 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이다.

[0420] 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 및 Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)개의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10)개의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 및 Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)과 상이한 고친화도 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)를 포함할 수 있고, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)를 포함할 수 있고, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함할 수 있다.

[0421] 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)개의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10)개의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)개의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10)개의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0422] 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me) 및 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me) 및 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 둘 다는 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me) 및 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함한다.

[0423] 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 2-7개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 (가장 5'의 위치는 위치 1임) 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, 여기서 X 및 Z 둘 다 내의 나머지 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, 여기서 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 2-7개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 Z

의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 (가장 5'의 위치는 위치 1임) 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, 여기서 X 및 Z 둘 다 내의 나머지 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, 여기서 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 2-7개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6) 및 Z 내의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6) (예를 들어, 가장 5'의 위치는 위치 1임)는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, 여기서 X 및 Z 둘 다 내의 나머지 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, 여기서 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0424] 갭머의 5'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및/또는 갭머의 3'윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)와 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)의 혼합을 갖는 갭머 구성의 비제한적 예는 하기를 포함한다: BBB-(D)n-BBBAA; KKK-(D)n-KKKAA; LLL-(D)n-LLLAA; BBB-(D)n-BBBEE; KKK-(D)n-KKKEE; LLL-(D)n-LLLEE; BBB-(D)n-BBBAA; KKK-(D)n-KKKAA; LLL-(D)n-LLLAA; BBB-(D)n-BBBEE; KKK-(D)n-KKKEE; LLL-(D)n-LLLEE; BBB-(D)n-BBBAAA; KKK-(D)n-KKKAAA; LLL-(D)n-LLLAAA; BBB-(D)n-BBBEEE; KKK-(D)n-KKKEEE; LLL-(D)n-LLLEEE; BBB-(D)n-BBBAAA; KKK-(D)n-KKKAAA; LLL-(D)n-LLLAAA; BBB-(D)n-BBBEEE; KKK-(D)n-KKKEEE; LLL-(D)n-LLLEEE; BABA-(D)n-ABAB; KAKA-(D)n-AKAK; LALA-(D)n-ALAL; BEBE-(D)n-EBEB; KEKE-(D)n-EKEK; LELE-(D)n-ELEL; BABA-(D)n-ABAB; KAKA-(D)n-AKAK; LALA-(D)n-ALAL; BEBE-(D)n-EBEB; KEKE-(D)n-EKEK; LELE-(D)n-ELEL; ABAB-(D)n-ABAB; AKAK-(D)n-AKAK; ALAL-(D)n-ALAL; EBEB-(D)n-EBEB; EKEK-(D)n-EKEK; ELEL-(D)n-ELEL; ABAB-(D)n-ABAB; AKAK-(D)n-AKAK; ALAL-(D)n-ALAL; EBEB-(D)n-EBEB; EKEK-(D)n-EKEK; ELEL-(D)n-ELEL; AABB-(D)n-BBAA; BBAA-(D)n-AABB; AAKK-(D)n-KKAA; AALL-(D)n-LLAA; EEBB-(D)n-BBEE; EEKK-(D)n-KKEE; EELL-(D)n-LLEE; AABB-(D)n-BBAA; AAKK-(D)n-KKAA; AALL-(D)n-LLAA; EEBB-(D)n-BBEE; EEKK-(D)n-KKEE; EELL-(D)n-LLEE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBAA; AKKK-(D)n-KKKAA; ALLL-(D)n-LLLAA; EBBB-(D)n-BBBEE; EKKK-(D)n-KKKEE; ELLL-(D)n-LLLEE; ABBB-(D)n-BBBAA; AKKK-(D)n-KKKAA; ALLL-(D)n-LLLAA; EBBB-(D)n-BBBEE; EKKK-(D)n-KKKEE; ELLL-(D)n-LLLEE; AABBB-(D)n-BBB; AAKKK-(D)n-KKK; AALLL-(D)n-LLL; EEBBB-(D)n-BBB; EEKKK-(D)n-KKK; EELLL-(D)n-LLL; AABBB-(D)n-BBB; AAKKK-(D)n-KKK; AALLL-(D)n-LLL; EEBBB-(D)n-BBB; EEKKK-(D)n-KKK; EELLL-(D)n-LLL; AABBB-(D)n-BBBA; AAKKK-(D)n-KKKA; AALLL-(D)n-LLLA; EEBBB-(D)n-BBBE; EEKKK-(D)n-KKKE; EELLL-(D)n-LLLE; AABBB-(D)n-BBBA; AAKKK-(D)n-KKKA; AALLL-(D)n-LLLA; EEBBB-(D)n-BBBE; EEKKK-(D)n-KKKE; EELLL-(D)n-LLLE; ABBAABB-(D)n-BB; AKKAAKK-(D)n-KK; ALLAALLL-(D)n-LL; EBBEEBB-(D)n-BB; EKKEEKK-(D)n-KK; ELLEELL-(D)n-LL; ABBAABB-(D)n-BB; AKKAAKK-(D)n-KK; ALLAALL-(D)n-LL; EBBEEBB-(D)n-BB; EKKEEKK-(D)n-KK; ELLEELL-(D)n-LL; ABBABB-(D)n-BBB; AKKAKK-(D)n-KKK; ALLALLL-(D)n-LLL; EBBEBB-(D)n-BBB; EKKEKK-(D)n-KKK; ELLELL-(D)n-LLL; ABBABB-(D)n-BBB; AKKAKK-(D)n-KKK; ALLALL-(D)n-LLL; EBBEBB-(D)n-BBB; EKKEKK-(D)n-KKK; ELLELL-(D)n-LLL; EEEK-(D)n-EEEEEEEE; EEK-(D)n-EEEEEEEEE; EK-(D)n-EEEEEEEEEE; EK-(D)n-EEEKK; K-(D)n-EEEKEKE; K-(D)n-EEEKEKEE; K-(D)n-EEKEK; EK-(D)n-EEEEKEKE; EK-(D)n-EEEKEK; EEK-(D)n-KEEKE; EK-(D)n-EEKEK; EK-(D)n-KEEK; EEK-(D)n-EEEKEK; EK-(D)n-KEEEKEE; EK-(D)n-EEKEKE; EK-(D)n-EEEKEKE; 및 EK-(D)n-EEEEKEK. "A" 뉴클레오시드는 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함하고; "B"는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드를 나타내고; "K"는 구속성 에틸 뉴클레오시드 (cEt)를 나타내고; "L"은 LNA 뉴클레오시드를 나타내고; "E"는 2'-MOE 변형된 리보뉴클레오시드를 나타내고; "D"는 2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "n"은 갭 절편 (5'-X-Y-Z-3' 구성에서 Y)의 길이를 나타내고, 1-20의 정수이다.

[0425] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 갭머 중 어느 하나는 각각의 X, Y 및 Z 영역에 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 연결)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 갭머 중 어느 하나 내의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 실시양태에서, 각각의 X, Y 및 Z 영역은 독립적으로 포스포로티오에이트 연결과 포스포디에스테르 연결의 혼합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이고, 5'윙 영역 X는 포스포로티

오에이트 연결과 포스포디에스테르 연결의 혼합을 포함하고, 3'윙 영역 Z는 포스포로티오에이트 연결과 포스포디에스테르 연결의 혼합을 포함한다.

[0426] i. 믹스머

[0427] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 믹스머일 수 있거나 또는 믹스머 서열 패턴을 포함할 수 있다. 일반적으로, 믹스머는 자연 및 비-자연 발생 뉴클레오시드 둘 다를 포함하거나 또는 2종의 상이한 유형의 비-자연 발생 뉴클레오시드를 전형적으로 교대 패턴으로 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 믹스머는 일반적으로 비변형된 올리고뉴클레오티드보다 더 높은 결합 친화도를 갖고, 표적 분자에 특이적으로 결합하는 데, 예를 들어 표적 분자 상의 결합 부위를 차단하는 데 사용될 수 있다. 일반적으로, 믹스머는 RNase를 표적 분자로 동원하지 않고, 따라서 표적 분자의 절단을 촉진하지 않는다. RNase H를 동원할 수 없는 이러한 올리고뉴클레오티드는 기재되었으며, 예를 들어 WO2007/112754 또는 WO2007/112753을 참조한다.

[0428] 일부 실시양태에서, 믹스머는 반복 패턴의 뉴클레오시드 유사체 및 자연 발생 뉴클레오시드, 또는 한 유형의 뉴클레오시드 유사체 및 제2 유형의 뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 그러나, 믹스머는 반복 패턴을 포함할 필요가 없고, 대신에 변형된 뉴클레오시드 및 자연 발생 뉴클레오시드의 임의의 배열 또는 한 유형의 변형된 뉴클레오시드 및 제2 유형의 변형된 뉴클레오시드의 임의의 배열을 포함할 수 있다. 반복 패턴은, 예를 들어 매 두 번째 또는 매 세 번째 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA이고, 나머지 뉴클레오시드는 자연 발생 뉴클레오시드, 예컨대 DNA 또는 2' 치환된 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 2' MOE 또는 2' 플루오로 유사체 또는 본원에 기재된 임의의 다른 변형된 뉴클레오시드일 수 있다. 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA 단위의 반복 패턴은 고정된 위치, 예를 들어 5' 또는 3' 말단에서 변형된 뉴클레오시드와 조합될 수 있는 것으로 인식된다.

[0429] 일부 실시양태에서, 믹스머는 5개 초과, 4개 초과, 3개 초과 또는 2개 초과의 연속 자연 발생 뉴클레오시드, 예컨대 DNA 뉴클레오시드의 영역을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 믹스머는 적어도 2개의 연속 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 적어도 2개의 연속 LNA로 이루어진 영역을 적어도 포함한다. 일부 실시양태에서, 믹스머는 적어도 3개의 연속 변형된 뉴클레오시드 단위, 예컨대 적어도 3개의 연속 LNA로 이루어진 영역을 적어도 포함한다.

[0430] 일부 실시양태에서, 믹스머는 7개 초과, 6개 초과, 5개 초과, 4개 초과, 3개 초과 또는 2개 초과의 연속 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 LNA의 영역을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, LNA 단위는 다른 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 본원에 언급된 것으로 대체될 수 있다.

[0431] 믹스머는 친화도 증진 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 비제한적 예에서 LNA 뉴클레오시드 및 2'-O-Me 뉴클레오시드의 혼합물을 포함하도록 설계될 수 있다. 일부 실시양태에서, 믹스머는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 또는 그 초과의 뉴클레오시드 사이에 변형된 뉴클레오시드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 또는 다른 연결)을 포함한다.

[0432] 믹스머는 임의의 적합한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 믹스머의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허, 미국 특허 공개 및 PCT 공개는 미국 특허 공개 번호 US20060128646, US20090209748, US20090298916, US20110077288 및 US20120322851, 및 미국 특허 번호 7687617을 포함한다.

[0433] 일부 실시양태에서, 믹스머는 1개 이상의 모르폴리노 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 믹스머는 1개 이상의 다른 뉴클레오시드 (예를 들어, DNA, RNA 뉴클레오시드) 또는 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, 2'-O-Me 뉴클레오시드)와 혼합된 (예를 들어, 교대 방식으로 혼합된) 모르폴리노 뉴클레오시드를 포함할 수 있다.

[0434] 일부 실시양태에서, 믹스머는, 예를 들어 문헌 [Touznik A., et al., LNA/DNA mixmer-based antisense oligonucleotides correct alternative splicing of the SMN2 gene and restore SMN protein expression in type 1 SMA fibroblasts Scientific Reports, volume 7, Article number: 3672 (2017), Chen S. et al., Synthesis of a Morpholino Nucleic Acid (MNA)-Uridine Phosphoramidite, and Exon Skipping Using MNA/2'-O-Methyl Mixmer Antisense Oligonucleotide, Molecules 2016, 21, 1582] (이들 각각의 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 보고된 바와 같이, 스플라이스 교정 또는 엑손 스킵핑에 유용하다.

[0435] j. RNA 간섭 (RNAi)

[0436] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 짧은 간섭 RNA 또는 침묵 RNA로도 공지된 소형 간섭

RNA (siRNA)의 형태일 수 있다. siRNA는 세포 내의 RNA 간섭 (RNAi) 경로를 통한 분해를 위해 핵산 (예를 들어, mRNA)을 표적화하는, 전형적으로 약 20-25개의 염기 쌍 길이의 이중 가닥 RNA 분자의 부류이다. siRNA 분자의 특이성은 분자의 안티센스 가닥이 그의 표적 RNA에 결합하는 것에 의해 결정될 수 있다. 효과적인 siRNA 분자는 인터페론 반응을 통한 세포 내의 비-특이적 RNA 간섭 경로의 촉발을 방지하기 위해 일반적으로 30 내지 35개 미만의 염기 쌍 길이이며, 더 긴 siRNA도 효과적일 수 있다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개 또는 그 초과의 염기 쌍 길이이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 8 내지 30개의 염기 쌍 길이, 10 내지 15개의 염기 쌍 길이, 10 내지 20개의 염기 쌍 길이, 15 내지 25개의 염기 쌍 길이, 19 내지 21개의 염기 쌍 길이, 21 내지 23개의 염기 쌍 길이이다.

[0437] 적절한 표적 RNA 서열의 선택 후에, 표적 서열의 모두 또는 부분에 대해 상보적인 뉴클레오티드 서열, 즉 안티센스 서열을 포함하는 siRNA 분자가 적절한 방법을 사용하여 설계되고 제조될 수 있다 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2004/016735; 및 미국 특허 공개 번호 2004/0077574 및 2008/0081791 참조). siRNA 분자는 이중 가닥 (즉, 혼성화하여 dsRNA를 형성하는 안티센스 가닥 및 상보적 센스 가닥을 포함하는 dsRNA 분자) 또는 단일 가닥 (즉, 안티센스 가닥만을 포함하는 ssRNA 분자)일 수 있다. siRNA 분자는 자기-상보적 센스 및 안티센스 가닥을 갖는 듀플렉스, 비대칭 듀플렉스, 헤어핀 또는 비대칭 헤어핀 2차 구조를 포함할 수 있다.

[0438] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 8 내지 50개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오티드 길이, 19 내지 21개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이이다.

[0439] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 8 내지 50개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오티드 길이, 19 내지 21개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이이다.

[0440] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 표적 mRNA 내의 표적 영역에 대한 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 mRNA 내의 표적 영역에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 표적 영역은 표적 mRNA 내의 연속 뉴클레오티드의 영역이다. 일부 실시양태에서, 상보적 뉴클레오티드 서열은 표적 RNA 서열에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이기 위해 그의 표적의 서열에 대해 100% 상보적일 필요는 없다.

[0441] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 표적 RNA 서열에 대한 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하고, 상보성 영역은 8 내지 15, 8 내지 30, 8 내지 40 또는 10 내지 50 또는 5 내지 50 또는 5 내지 40개 범위의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 RNA 서열의 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25개 또는 그 초과의 연속 뉴클레오티드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 표적 RNA 서열의 연속 뉴클레오티드의 부분과 비교하여 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 염기 미스매치를 함유하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 15개의 염기에 걸쳐 3개 이하의 미스매치 또는 10개의 염기에 걸쳐 2개 이하의 미스매치를 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0442] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드의 표적 RNA 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드의 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어

도 18개, 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 적어도 24개, 적어도 25개 또는 그 초과의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0443] 이중 가닥 siRNA는 동일한 길이 또는 상이한 길이인 센스 및 안티센스 RNA 가닥을 포함할 수 있다. 이중 가닥 siRNA 분자는 또한 스템-루프 구조의 단일 올리고뉴클레오티드로부터 조립될 수 있으며, 여기서 siRNA 분자의 자기-상보적 센스 및 안티센스 영역은 핵산 기반 또는 비-핵산-기반 링커(들)에 의해 연결될 뿐만 아니라 2개 이상의 루프 구조 및 자기-상보적 센스 및 안티센스 가닥을 포함하는 스템을 갖는 원형 단일 가닥 RNA로부터 조립될 수 있으며, 여기서 원형 RNA는 생체내 또는 시험관내에서 프로세싱되어 RNAi를 매개할 수 있는 활성 siRNA 분자를 생성할 수 있다. 따라서, 소형 헤어핀 RNA (shRNA) 분자가 또한 본원에서 고려된다. 이들 분자는 전형적으로 스페이서 또는 루프 서열에 의해 분리되어 있는, 역 상보체 (센스) 서열에 추가로 특이적 안티센스 서열을 포함한다. 스페이서 또는 루프의 절단은 단일 가닥 RNA 분자 및 그의 역 상보체를 제공하여, 이들이 어닐링되어 dsRNA 분자를 형성할 수 있다 (임의로 어느 한쪽 또는 양쪽 가닥의 3' 말단 및/또는 (예를 들어, 및) 5' 말단으로부터 1, 2, 3개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 부가 또는 제거를 유발할 수 있는 추가의 프로세싱 단계가 존재함). 스페이서는 안티센스 및 센스 서열이 스페이서의 절단 (및 임의로, 어느 한쪽 또는 양쪽 가닥의 3' 말단 및/또는 (예를 들어, 및) 5' 말단으로부터 1, 2, 3, 4개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 부가 또는 제거를 유발할 수 있는 후속 프로세싱 단계) 전에 어닐링되어 이중 가닥 구조 (또는 스템)를 형성하도록 허용하는 데 충분한 길이일 수 있다. 스페이서 서열은 이중 가닥 핵산으로 어닐링되는 경우 shRNA에 포함되는 2개의 상보적 뉴클레오티드 서열 영역 사이에 위치하는 비관련 뉴클레오티드 서열일 수 있다.

[0444] siRNA 분자의 전체 길이는 설계되는 siRNA 분자의 유형에 따라 약 14 내지 약 100개의 뉴클레오티드로 달라질 수 있다. 일반적으로, 이들 뉴클레오티드 중 약 14 내지 약 50개는 RNA 표적 서열에 대해 상보적이며, 즉 siRNA 분자의 특이적 안티센스 서열을 구성한다. 예를 들어, siRNA가 이중- 또는 단일 가닥 siRNA인 경우에, 길이는 약 14 내지 약 50개의 뉴클레오티드로 달라질 수 있는 반면, siRNA가 shRNA 또는 원형 분자인 경우에, 길이는 약 40개의 뉴클레오티드 내지 약 100개의 뉴클레오티드로 달라질 수 있다.

[0445] siRNA 분자는 분자의 한쪽 말단에 3' 오버행을 포함할 수 있다. 다른쪽 말단은 평활 말단일 수 있거나 또는 또한 오버행 (5' 또는 3')을 가질 수 있다. siRNA 분자가 분자의 양쪽 말단에 오버행을 포함하는 경우에, 오버행의 길이는 동일하거나 상이할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 siRNA 분자는 분자의 양쪽 말단 상에 약 1 내지 약 3개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 센스 가닥 상에 약 1 내지 약 3개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 안티센스 가닥 상에 약 1 내지 약 3개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 센스 가닥 및 안티센스 가닥 둘 다 상에 약 1 내지 약 3개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다.

[0446] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O--N-메틸아세트아미도 (2'-O--NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 포스포로디아미데이트 모르폴리노를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 각각의 뉴클레오티드는 포스포로디아미데이트 모르폴리노이다.

[0447] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오티드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 siRNA 분자의 5' 또는 3' 말단에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다.

[0448] 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포

네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455, 233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563, 253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050을 참조한다.

[0449] 본원에 기재된 siRNA 분자의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 siRNA 분자 내에 포함될 수 있다.

[0450] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오티드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O--N-메틸아세트아미도 (2'-O--NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 포스포로디아미데이트 모르폴리노를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다.

[0451] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오티드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 siRNA 분자의 5' 또는 3' 말단에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455, 233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563, 253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050을 참조한다.

[0452] 본원에 기재된 안티센스 가닥의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 안티센스 가닥 내에 포함될 수 있다.

[0453] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O--N-메틸아세트아미도 (2'-O--NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 포스포로디아미데이트 모르폴리노를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오티드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서,

센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 센스 가닥의 5' 또는 3' 말단에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다.

[0454] 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455, 233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563, 253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050을 참조한다.

[0455] 본원에 기재된 센스 가닥의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 센스 가닥 내에 포함될 수 있다.

[0456] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 또는 센스 가닥은 RNA-유도 침묵 복합체 (RISC) 로딩을 증진 또는 감소시키는 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 RISC 로딩을 증진시키는 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 RISC 로딩을 감소시키고 오프-타겟 효과를 감소시키는 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE) 변형을 포함한다. 절단 부위에서의 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE) 기의 부가는 문헌 [Song et al., (2017) Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 변형된 가닥의 배향된 RNA-유도 침묵 복합체 (RISC) 로딩을 용이하게 함으로써 siRNA의 특이성 및 침묵 활성 둘 다를 개선시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 문헌 [Wu et al., (2014) Nat Commun 5:3459] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 2'-OMe-포스포로디티오에이트 변형을 포함하며, 이는 RISC 로딩을 증가시킨다.

[0457] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Kumar et al., (2019) Chem Commun (Camb) 55(35):5139-5142] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 5'-모르폴리노를 포함하며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩을 감소시키고, 안티센스 가닥 선택 및 RNAi 활성을 개선시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Elman et al., (2005) Nucleic Acids Res. 33(1): 439-447] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 합성 RNA-유사 고친화도 뉴클레오티드 유사체인 잠금 핵산 (LNA)으로 변형되며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩을 감소시키고, RISC 내로의 안티센스 가닥 혼입을 추가로 증진시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Snead et al., (2013) Mol Ther Nucleic Acids 2(7):e103] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 5' 비잠금 핵산 (UNA) 변형을 포함하며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩을 감소시키고, 안티센스 가닥의 침묵 효력을 개선시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Zhang et al., (2012) Chembiochem 13(13):1940-1945] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 5-니트로인돌 변형을 포함하며, 이는 센스 가닥의 RNAi 효력을 감소시키고, 오프-타겟 효과를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 문헌 [Zheng et al., FASEB (2013) 27(10): 4017-4026] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 2'-O'메틸 (2'-O-Me) 변형을 포함하며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩 및 오프-타겟 효과를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Kole et al., (2012) Nature reviews. Drug Discovery 11(2):125-140] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 모르폴리노, 2'-MOE 또는 2'-O-Me 잔기로 완전히 치환되고, RISC에 의해 인식되지 않는다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 2'-MOE 변형을 포함하고, 센스 가닥은 2'-O-Me 변형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Song et al., (2017) Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250] 참조). 일부 실시양태에서, 적어도 1개 (예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 10개)의 siRNA 분자가 근육-표적화제에 (예를 들어, 공유) 연결된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 펩티드 (예를 들어, 항체), 지질 (예를 들어, 미세소포) 또는 당 모이어티 (예를 들어, 폴리사카라이드)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는

항-트랜스페린 수용체 항체 (예를 들어, 본원에 제공된 항-TfR 항체 중 어느 하나)이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥의 5' 말단에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥의 3' 말단에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥에 내부적으로 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥의 5' 말단에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥의 3' 말단에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥에 내부적으로 연결될 수 있다.

[0458] k. 마이크로RNA (miRNA)

[0459] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 마이크로RNA (miRNA)일 수 있다. 마이크로RNA ("miRNA"로 지칭됨)는 표적 RNA 전사체 상의 상보적 부위에 결합함으로써 유전자 발현을 제어하는 조절 분자의 부류에 속하는 소형 비-코딩 RNA이다. 전형적으로, miRNA는 대형 RNA 전구체 (pri-miRNA로 명명됨)로부터 생성되며, 이들은 핵에서 대략 70개의 뉴클레오티드의 pre-miRNA로 프로세싱되어 불완전한 스템-루프 구조로 폴딩된다. 이들 pre-miRNA는 전형적으로 세포질 내에서 RNase III 효소인 다이서에 의해 pre-miRNA 헤어핀의 한 측면으로부터 18-25개의 뉴클레오티드 길이의 성숙 miRNA가 절제되는 추가의 프로세싱 단계를 겪는다.

[0460] 본원에 사용된 바와 같이, miRNA는 pri-miRNA, pre-miRNA, 성숙 miRNA 또는 성숙 miRNA의 생물학적 활성을 보유하는 그의 단편 또는 변이체를 포함한다. 한 실시양태에서, miRNA의 크기 범위는 21개의 뉴클레오티드 내지 170개의 뉴클레오티드일 수 있다. 한 실시양태에서, miRNA의 크기 범위는 70 내지 170개의 뉴클레오티드 길이이다. 또 다른 실시양태에서, 21 내지 25개의 뉴클레오티드 길이의 성숙 miRNA가 사용될 수 있다.

[0461] l. 압타머

[0462] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 압타머의 형태일 수 있다. 일반적으로, 분자 페이로드와 관련하여, 압타머는 세포 내의 표적, 예컨대 소분자, 단백질, 핵산에 특이적으로 결합하는 임의의 핵산이다. 일부 실시양태에서, 압타머는 DNA 압타머 또는 RNA 압타머이다. 일부 실시양태에서, 핵산 압타머는 단일 가닥 DNA 또는 RNA (ssDNA 또는 ssRNA)이다. 단일 가닥 핵산 압타머는 나선 및/또는 (예를 들어, 및) 루프 구조를 형성할 수 있는 것으로 이해될 것이다. 핵산 압타머를 형성하는 핵산은 자연 발생 뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드, 탄화수소 링커 (예를 들어, 알킬렌) 또는 폴리에테르 링커 (예를 들어, PEG 링커)가 1개 이상의 뉴클레오티드 사이에 삽입된 자연 발생 뉴클레오티드, 탄화수소 또는 PEG 링커가 1개 이상의 뉴클레오티드 사이에 삽입된 변형된 뉴클레오티드, 또는 그의 조합을 포함할 수 있다. 압타머 및 압타머의 제조 방법을 기재하는 예시적인 공개 및 특허는, 예를 들어 문헌 [Lorsch and Szostak, 1996; Jayasena, 1999]; 미국 특허 번호 5,270,163; 5,567,588; 5,650,275; 5,670,637; 5,683,867; 5,696,249; 5,789,157; 5,843,653; 5,864,026; 5,989,823; 6,569,630; 8,318,438 및 PCT 출원 WO 99/31275를 포함하며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다.

[0463] m. 리보자임

[0464] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 리보자임의 형태일 수 있다. 리보자임 (리보핵산 효소)은 단백질 효소의 작용과 유사한 특이적 생화학적 반응을 수행할 수 있는 분자, 전형적으로 RNA 분자이다. 리보자임은 이들이 혼성화된 RNA 분자 내의 특정 포스포디에스테르 연결에서 절단 능력을 포함한 촉매 활성을 갖는 분자, 예컨대 mRNA, RNA-함유 기질, lncRNA 및 리보자임 그 자체이다.

[0465] 리보자임은 여러 물리적 구조 중 하나를 취할 수 있으며, 이 중 하나는 "해머헤드"로 불린다. 해머헤드 리보자임은 9개의 보존된 염기를 함유하는 촉매 코어, 이중 가닥 스템 및 루프 구조 (스템-루프 II), 및 촉매 코어의 표적 RNA 플랭킹 영역에 대해 상보적인 2개의 영역으로 구성된다. 플랭킹 영역은 리보자임이 이중 가닥 스템 I 및 III을 형성함으로써 특이적으로 표적 RNA에 결합할 수 있게 한다. 절단은 3',5'-포스페이트 디에스테르로부터 2',3'-시클릭 포스페이트 디에스테르로의 에스테르교환 반응에 의해 특이적 리보뉴클레오티드 삼중체 옆에서 시스로 일어나거나 (즉, 해머헤드 모티프를 함유하는 동일한 RNA 분자의 절단) 또는 트랜스로 일어난다 (리보자임을 함유하는 것 이외의 RNA 기질의 절단). 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 이러한 촉매 활성은 리보자임의 촉매 영역에 고도로 보존된 특이적 서열의 존재를 요구하는 것으로 여겨진다.

[0466] 리보자임 구조에서의 변형은 또한 분자의 다양한 비-코어 부분의 비-뉴클레오티드 분자로의 치환 또는 대체를 포함하였다. 예를 들어, 문헌 [Benseler et al. (J. Am. Chem. Soc. (1993) 115:8483-8484)]에는 스템 II의 염기 쌍 중 2개 및 루프 II의 뉴클레오티드 중 4개 모두가 헥사에틸렌 글리콜, 프로판디올, 비스(트리에틸렌 글리콜)포스페이트, 트리스(프로판디올)비스포스페이트 또는 비스(프로판디올)포스페이트 기반 비-뉴클레오시드 링커로 대체된 해머헤드-유사 분자가 개시되었다. 문헌 [Ma et al. (Biochem. (1993) 32:1751-1758; Nucleic

Acids Res. (1993) 21:2585-2589)]에서는 TAR 리보자임 헤어핀의 6개의 뉴클레오티드 루프를 비-뉴클레오티드인 에틸렌 글리콜-관련 링커로 대체하였다. 문헌 [Thomson et al. (Nucleic Acids Res. (1993) 21:5600-5603)]에서는 루프 II를 13, 17 및 19개 원자 길이의 선형 비-뉴클레오티드 링커로 대체하였다.

[0467] 리보자임 올리고뉴클레오티드는 널리 공지된 방법 (예를 들어, PCT 공개 WO9118624; WO9413688; WO9201806; 및 WO 92/07065; 및 미국 특허 5436143 및 5650502 참조)을 사용하여 제조될 수 있거나 또는 상업적 공급원 (예를 들어, 유에스 바이오케미칼스(US Biochemicals))으로부터 구입될 수 있고, 원하는 경우에, 세포에서 뉴클레아제에 의한 분해에 대한 올리고뉴클레오티드의 저항성을 증가시키는 뉴클레오티드 유사체를 혼입시킬 수 있다. 리보자임은 임의의 공지된 방식으로, 예를 들어 상업적으로 입수가능한 합성기를 사용하여, 예를 들어 어플라이드 바이오시스템즈, 인크.(Applied Biosystems, Inc.) 또는 밀리겐(Milligen)에 의해 생산된 합성기를 사용하여 합성될 수 있다. 리보자임은 또한 통상적인 수단에 의해 재조합 벡터에서 생산될 수 있다. 문헌 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (Current edition)]을 참조한다. 리보자임 RNA 서열은 통상적으로, 예를 들어 RNA 폴리머라제, 예컨대 T7 또는 SP6을 사용하여 합성될 수 있다.

[0468] n. 가이드 핵산

[0469] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 가이드 핵산, 예를 들어 가이드 RNA (gRNA) 분자이다. 일반적으로, 가이드 RNA는 (1) 핵산 프로그램가능한 DNA 결합 단백질 (napDNAbp), 예컨대 Cas9에 결합하는 스캐폴드 서열, 및 (2) gRNA가 결합하는 DNA 표적 서열 (예를 들어, 게놈 DNA 표적)을 정의하여 핵산 프로그램가능한 DNA 결합 단백질을 이러한 DNA 표적 서열에 근접하게 가져오는 뉴클레오티드 스페이서 부분으로 구성된 짧은 합성 RNA이다. 일부 실시양태에서, napDNAbp는 핵산-프로그램가능한 단백질을 표적 DNA 서열 (예를 들어, 표적 게놈 DNA 서열)에 표적화하는 1개 이상의 RNA(들)와 복합체를 형성하는 (예를 들어, 그와 결합하거나 회합하는) 핵산-프로그램가능한 단백질이다. 일부 실시양태에서, 핵산-프로그램가능한 뉴클레아제는, RNA와의 복합체로 존재하는 경우에, 뉴클레아제:RNA 복합체로 지칭될 수 있다. 가이드 RNA는 2개 이상의 RNA의 복합체로서 또는 단일 RNA 분자로서 존재할 수 있다.

[0470] 단일 RNA 분자로서 존재하는 가이드 RNA (gRNA)는 단일-가이드 RNA (sgRNA)로 지칭될 수 있으며, gRNA는 또한 단일 분자로서 또는 2개 이상의 분자의 복합체로서 존재하는 가이드 RNA를 지칭하는 것으로 사용된다. 전형적으로, 단일 RNA 종으로서 존재하는 gRNA는 다음 2개의 도메인: (1) 표적 핵산에 대한 상동성을 공유하는 (즉, 표적에 대한 Cas9 복합체의 결합을 지시하는) 도메인; 및 (2) Cas9 단백질에 결합하는 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 도메인 (2)는 tracrRNA로 공지된 서열에 상응하며, 스템-루프 구조를 포함한다. 일부 실시양태에서, 도메인 (2)는 문헌 [Jinek et al., Science 337:816-821 (2012)] (이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 제공된 바와 같은 tracrRNA와 동일하거나 상동이다.

[0471] 일부 실시양태에서, gRNA는 도메인 (1) 및 (2) 중 2개 이상을 포함하며, 연장된 gRNA로 지칭될 수 있다. 예를 들어, 연장된 gRNA는 본원에 기재된 바와 같이 2개 이상의 Cas9 단백질에 결합하고, 2개 이상의 별개의 영역에서 표적 핵산에 결합할 것이다. gRNA는 표적 부위에 대해 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 이는 상기 표적 부위에 대한 뉴클레아제/RNA 복합체의 결합을 매개하여, 뉴클레아제:RNA 복합체의 서열 특이성을 제공한다. 일부 실시양태에서, RNA-프로그램가능한 뉴클레아제는 (CRISPR-연관 시스템) Cas9 엔도뉴클레아제, 예를 들어 스트렙토코쿠스 피오게네스(Streptococcus pyogenes)로부터의 Cas9 (Csn1)이다 (예를 들어, 문헌 ["Complete genome sequence of an M1 strain of Streptococcus pyogenes." Ferretti J.J., McShan W.M., Ajdic D.J., Savic D.J., Savic G., Lyon K., Primeaux C., Sezate S., Suvorov A.N., Kenton S., Lai H.S., Lin S.P., Qian Y., Jia H.G., Najar F.Z., Ren Q., Zhu H., Song L., White J., Yuan X., Clifton S.W., Roe B.A., McLaughlin R.E., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98:4658-4663 (2001); "CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III." Deltcheva E., Chylinski K., Sharma C.M., Gonzales K., Chao Y., Pirzada Z.A., Eckert M.R., Vogel J., Charpentier E., Nature 471:602-607 (2011); 및 "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity." Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J.A., Charpentier E. Science 337:816-821 (2012)] 참조, 이들 문헌 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨).

[0472] o. 다량체

[0473] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 링커에 의해 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드의 다량체 (예를 들어, 콘카테머)를 포함할 수 있다. 이러한 방식으로, 일부 실시양태에서, 복합체/접합체의 올리고뉴클레오티드 로딩은 표적화제 상의 이용가능한 연결 부위 (예를 들어, 항체 상의 이용가능한 티올 부위)를 넘어 증가되거나 또는

달리 특정한 페이로드 로딩 함량을 달성하도록 조정될 수 있다. 다량체 내의 올리고뉴클레오티드는 동일하거나 상이할 수 있다 (예를 들어, 상이한 유전자 또는 동일한 유전자 상의 상이한 부위 또는 그의 생성물을 표적화함).

[0474] 일부 실시양태에서, 다량체는 절단가능한 링커에 의해 함께 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 그러나, 일부 실시양태에서, 다량체는 비-절단가능한 링커에 의해 함께 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 함께 연결된 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 함께 연결된 2 내지 5, 2 내지 10 또는 4 내지 20개의 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0475] 일부 실시양태에서, 다량체는 말단-대-말단 (선형 배열로) 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 올리고뉴클레오티드 기반 링커 (예를 들어, 폴리-dT 링커, 무염기성 링커)를 통해 말단-대-말단 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 한 올리고뉴클레오티드의 5' 말단이 또 다른 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 연결된 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 한 올리고뉴클레오티드의 3' 말단이 또 다른 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 연결된 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 한 올리고뉴클레오티드의 5' 말단이 또 다른 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 연결된 것을 포함한다. 또한, 일부 실시양태에서, 다량체는 분지화 링커에 의해 함께 연결된 다수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 분지형 구조를 포함할 수 있다.

[0476] 본원에 제공된 복합체에 사용될 수 있는 다량체의 추가의 예는, 예를 들어 2015년 11월 5일에 공개된 미국 특허 출원 번호 2015/0315588 A1 (발명의 명칭: Methods of delivering multiple targeting oligonucleotides to a cell using cleavable linkers); 2015년 9월 3일에 공개된 미국 특허 출원 번호 2015/0247141 A1 (발명의 명칭: Multimeric Oligonucleotide Compounds); 2011년 6월 30일에 공개된 미국 특허 출원 번호 US 2011/0158937 A1 (발명의 명칭: Immunostimulatory Oligonucleotide Multimers); 및 1997년 12월 2일에 허여된 미국 특허 번호 5,693,773 (발명의 명칭: Triplex-Forming Antisense Oligonucleotides Having Abasic Linkers Targeting Nucleic Acids Comprising Mixed Sequences Of Purines And Pyrimidines)에 개시되어 있으며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0477] ii. 소분자:

[0478] 임의의 적합한 소분자가 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드로서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 소분자는 2016년 2월 25일에 공개된 미국 특허 출원 공개 2016052914A1 (발명의 명칭: "Compounds And Methods For Myotonic Dystrophy Therapy")에 기재된 바와 같다. 소분자 페이로드의 추가의 예는 문헌 [Lopez-Morato M, et al., Small Molecules Which Improve Pathogenesis of Myotonic Dystrophy Type 1, (Review) Front. Neurol., 18 May 2018]에 제공된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 소분자는 MBNL1 상향조절제, 예컨대 페닐부타존, 케토프로펜, ISOX 또는 보리노스타트이다. 일부 실시양태에서, 소분자는 H-Ras 경로 억제제, 예컨대 마누마이신 A이다. 일부 실시양태에서, 소분자는 단백질 키나제 조정제, 예컨대 Ro-318220, C16, C51, 메트포르민, AICAR, 염화리튬, TDZD-8 또는 Bio이다. 일부 실시양태에서, 소분자는 식물 알칼로이드, 예컨대 하르민이다. 일부 실시양태에서, 소분자는 전사 억제제, 예컨대 펜타미딘, 프로파미딘, 헵타미딘 또는 악티노마이신 D이다. 일부 실시양태에서, 소분자는, 예를 들어 문헌 [Jones K, et al., GSK3β mediates muscle pathology in myotonic dystrophy. J Clin Invest. 2012 Dec;122(12):4461-72; 및 Wei C, et al., GSK3β is a new therapeutic target for myotonic dystrophy type 1. Rare Dis. 2013; 1: e26555; 및 Palomo V, et al., Subtly Modulating Glycogen Synthase Kinase 3 β: Allosteric Inhibitor Development and Their Potential for the Treatment of Chronic Diseases. J Med Chem. 2017 Jun 22;60(12):4983-5001] (이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 바와 같이, 글리코겐 신타제 키나제 3 베타 (GSK3B)의 억제제이다. 일부 실시양태에서, 소분자는 문헌 [Gonzalez AL, et al., In silico discovery of substituted pyrido[2,3-d]pyrimidines and pentamidine-like compounds with biological activity in myotonic dystrophy models. PLoS One. 2017 Jun 5;12(6):e0178931] (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 바와 같은 치환된 피리도[2,3-d]피리미딘 및 펜타미딘-유사 화합물이다. 일부 실시양태에서, 소분자는, 예를 들어 문헌 [Zhange F, et al., A flow cytometry-based screen identifies MBNL1 modulators that rescue splicing defects in myotonic dystrophy type I. Hum Mol Genet. 2017 Aug 15;26(16):3056-3068] (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 바와 같은 MBNL1 조정제이다.

[0479] iii. 펩티드

[0480] 임의의 적합한 펩티드 또는 단백질이 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드로서 사용될 수 있다. 펩티드 또는 단백질 페이로드는 근육 세포에서 발견되는 핵산, 예를 들어 질환-연관 반복부 또는 단백질, 예를 들어 MBNL1에 우선적으로 결합하는 단백질의 서열에 상응할 수 있다. 일부 실시양태에서, 펩티드 또는 단백질은 여러 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이된 펩티드 라이브러리, 1-비드 1-화합물 펩티드 라이브러리 또는 위치 스캐닝 합성 펩티드 조합 라이브러리를 사용하여 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Gray, B.P. and Brown, K.C. "Combinatorial Peptide Libraries: Mining for Cell-Binding Peptides" Chem Rev. 2014, 114:2, 1020-1081.; Samoylova, T.I. and Smith, B.F. "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening." Muscle Nerve, 1999, 22:4. 460-6.).

[0481] 일부 실시양태에서, 펩티드는 1/25/2018에 공개된 미국 특허 출원 2018/0021449 ("Antisense conjugates for decreasing expression of DMPK")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 펩티드는 문헌 [Garcia-Lopez et al., "In vivo discovery of a peptide that prevents CUG-RNA hairpin formation and reverses RNA toxicity in myotonic dystrophy models", PNAS July 19, 2011. 108 (29) 11866-11871]에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 펩티드 또는 단백질은 질환-연관 반복부, 예를 들어 RNA CUG 반복부 확장을 표적화할 수 있고, 예를 들어 그에 결합할 수 있다.

[0482] 일부 실시양태에서, 펩티드 또는 단백질은 MBNL 단백질, 예를 들어 MBNL1의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 또는 단백질은 적어도 1개의 아연 핑거를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 또는 단백질은 약 2-25개의 아미노산, 약 2-20개의 아미노산, 약 2-15개의 아미노산, 약 2-10개의 아미노산 또는 약 2-5개의 아미노산을 포함할 수 있다. 펩티드 또는 단백질은 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β-아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드는 선형일 수 있고; 다른 실시양태에서, 펩티드는 시클릭, 예를 들어 비시클릭일 수 있다.

[0483] iv. 핵산 구축물

[0484] 임의의 적합한 유전자 발현 구축물이 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드로서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 벡터 또는 cDNA 단편일 수 있다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 메신저 RNA (mRNA)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 사용된 mRNA는, 예를 들어 2014년 4월 24일에 허여된 미국 특허 8,710,200 (발명의 명칭: "Engineered nucleic acids encoding a modified erythropoietin and their expression")에 기재된 바와 같은 변형된 mRNA일 수 있다. 일부 실시양태에서, mRNA는 5'-메틸 캡을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, mRNA는 임의로 160개 이하의 뉴클레오티드 길이의 폴리A 테일을 포함할 수 있다. 유전자 발현 구축물은 근육 세포에서 발견되는 핵산, 예를 들어 질환-연관 반복부 또는 근육 세포에서 발견되는 단백질, 예를 들어 MBNL1에 우선적으로 결합하는 단백질의 서열을 코딩할 수 있다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 근육 세포의 핵 내에서 발현, 예를 들어 과다발현될 수 있다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 MBNL 단백질, 예를 들어 MBNL1을 코딩한다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 적어도 1개의 아연 핑거를 포함하는 단백질을 코딩한다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 질환-연관 반복부에 결합하는 단백질을 코딩한다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 질환-연관 반복부의 발현의 감소를 유도하는 단백질을 코딩한다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현 구축물은 유전자 편집 효소를 코딩한다. 분자 페이로드로서 사용될 수 있는 핵산 구축물의 추가의 예는 2017년 9월 19일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2017152149A1 (발명의 명칭: "Closed-Ended Linear Duplex Dna For Non-Viral Gene Transfer"); 2014년 10월 7일에 허여된 미국 특허 8,853,377B2 (발명의 명칭: "mRNA For Use In Treatment Of Human Genetic Diseases"); 및 2014년 9월 2일에 허여된 미국 특허 US8822663B2 (발명의 명칭: "Engineered Nucleic Acids And Methods Of Use Thereof")에 제공되어 있으며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0485] C. 링커

[0486] 본원에 기재된 복합체는 일반적으로 본원에 기재된 항-TfR 항체 중 어느 하나를 분자 페이로드에 연결하는 링커를 포함한다. 링커는 적어도 1개의 공유 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR 항체를 분자 페이로드에 연결하는 단일 결합, 예를 들어 디술피드 결합 또는 디술피드 가교일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 본원에 기재된 항-TfR 항체 중 어느 하나를 다중 공유 결합을 통해 분자 페이로드에 연결시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 절단가능한 링커일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 비-절

단가능한 링커일 수 있다. 링커는 일반적으로 시험관내 및 생체내에서 안정하고, 특정 세포 환경에서 안정할 수 있다. 추가적으로, 일반적으로 링커는 항-TfR 항체 또는 분자 페이로드의 기능적 특성에 부정적인 영향을 미치지 않는다. 링커의 합성의 예 및 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Kline, T. et al. "Methods to Make Homogenous Antibody Drug Conjugates." Pharmaceutical Research, 2015, 32:11, 3480-3493.; Jain, N. et al. "Current ADC Linker Chemistry" Pharm Res. 2015, 32:11, 3526-3540.; McCombs, J.R. and Owen, S.C. "Antibody Drug Conjugates: Design and Selection of Linker, Payload and Conjugation Chemistry" AAPS J. 2015, 17:2, 339-351.] 참조).

[0487] 링커에 대한 전구체는 전형적으로 항-TfR 항체 및 분자 페이로드 둘 다에 대한 부착을 가능하게 하는 2종의 상이한 반응성 종을 함유할 것이다. 일부 실시양태에서, 2종의 상이한 반응성 종은 친핵체 및/또는 (예를 들어, 및) 친전자체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 항-TfR 항체에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 말레이미드-함유 링커를 통해 항-TfR 항체의 시스테인 잔기에 연결되며, 여기서 임의로 말레이미드-함유 링커는 말레이미도카프로일 또는 말레이미도메틸 시클로헥산-1-카르복실레이트 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 3-아릴프로피오니트릴 관능기를 통해 항-TfR 항체 또는 티올 관능화 분자 페이로드의 시스테인 잔기에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR 항체의 리신 잔기에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 아미드 결합, 카르바메이트 결합, 히드라지드, 트리아졸, 티오에테르 또는 디술피드 결합을 통해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결된다.

[0488] i. 절단가능한 링커

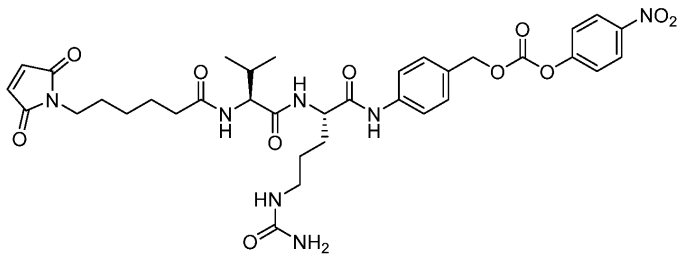
[0489] 절단가능한 링커는 프로테아제-감수성 링커, pH-감수성 링커 또는 글루타티온-감수성 링커일 수 있다. 이들 링커는 일반적으로 세포내에서만 절단가능하고, 바람직하게는 세포외 환경, 예를 들어 근육 세포에 대한 세포외 환경에서 안정하다.

[0490] 프로테아제-감수성 링커는 프로테아제 효소적 활성에 의해 절단가능하다. 이들 링커는 전형적으로 펩티드 서열을 포함하고, 2-10개의 아미노산, 약 2-5개의 아미노산, 약 5-10개의 아미노산, 약 10개의 아미노산, 약 5개의 아미노산, 약 3개의 아미노산 또는 약 2개의 아미노산 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 펩티드 서열은 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β-아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 프로테아제-감수성 링커는 발린-시트룰린 또는 알라닌-시트룰린 디펩티드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 프로테아제-감수성 링커는 리소좀 프로테아제, 예를 들어 카텝신 B 및/또는 (예를 들어, 및) 엔도좀 프로테아제에 의해 절단될 수 있다.

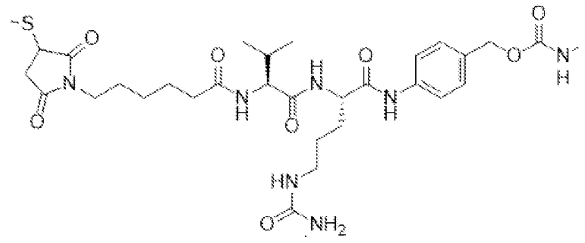
[0491] pH-감수성 링커는 높은 또는 낮은 pH 환경에서 용이하게 분해되는 공유 연결이다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 4 내지 6의 범위의 pH에서 절단될 수 있다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 히드라존 또는 시클릭 아세탈을 포함한다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 엔도좀 또는 리소좀 내에서 절단된다.

[0492] 일부 실시양태에서, 글루타티온-감수성 링커는 디술피드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 글루타티온-감수성 링커는 세포 내부의 글루타티온 종과의 디술피드 교환 반응에 의해 절단된다. 일부 실시양태에서, 디술피드 모이어티는 적어도 1개의 아미노산, 예를 들어 시스테인 잔기를 추가로 포함한다.

[0493] 일부 실시양태에서, 링커는 Val-cit 링커이다 (예를 들어, 본원에 참조로 포함된 미국 특허 6,214,345에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 접합 전에, val-cit 링커는 하기 구조를 갖는다:

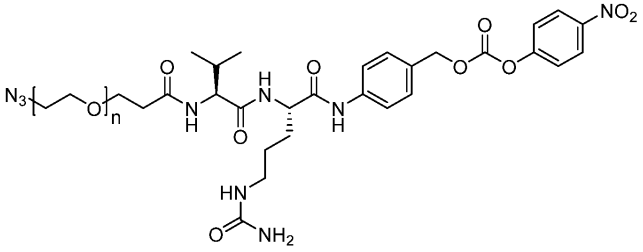
[0494] 

[0495] 일부 실시양태에서, 접합 후에, val-cit 링커는 하기 구조를 갖는다:



[0496]

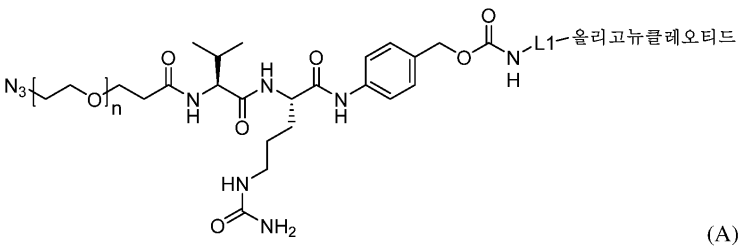
[0497] 일부 실시양태에서, Val-cit 링커는 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착된다. 일부 실시양태에서, 클릭 화학 접합 전에, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착된 val-cit 링커는 하기 구조를 갖고:



[0498]

[0499] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이다.

[0500] 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착된 val-cit 링커는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 (예를 들어, 상이한 화학적 모이어티를 통해) 접합된다. 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착되고 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 접합된 val-cit 링커는 하기 구조를 갖고 (클릭 화학 접합 전):

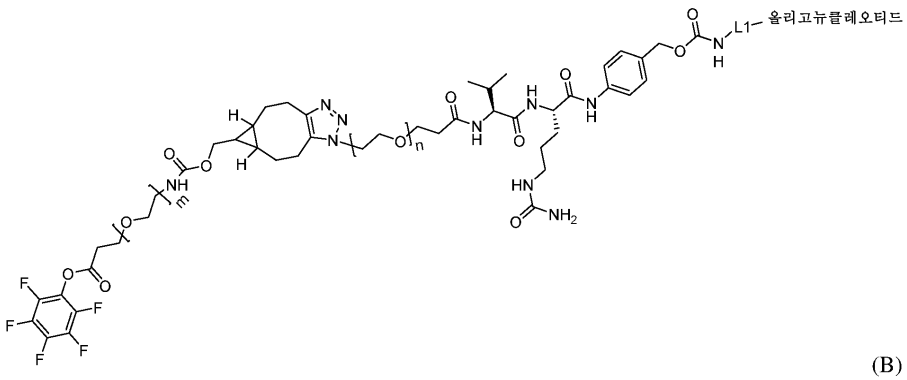


(A)

[0501]

[0502] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이다.

[0503] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 대한 접합 후에, val-cit 링커는 하기 구조를 갖고:



(B)

[0504]

[0505] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고, m은 4이다.

[0506] ii. 비-절단가능한 링커

[0507] 일부 실시양태에서, 비-절단가능한 링커가 사용될 수 있다. 일반적으로, 비-절단가능한 링커는 세포 또는 생리학적 환경에서 용이하게 분해될 수 없다. 일부 실시양태에서, 비-절단가능한 링커는 임의로 치환된 알킬 기를 포함하며, 여기서 치환은 할로겐, 히드록실 기, 산소 종 및 다른 통상의 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 임의로 치환된 알킬, 임의로 치환된 알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 포함하는 펩티드 서열, 말단절단된 글리칸, 효소적으로 분해될 수 없는 당 또는 당들, 아지드, 알킨-아지드, LPXT 서열을 포함하는 펩티드 서열, 티오에테르, 비오틴, 비페닐, 폴리에틸렌 글리콜의 반복 단위 또는 등가 화합물, 산 에스테르, 산 아미드, 술파미드 및/또는 (예를 들어, 및) 알콕시-아민 링커를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 소르타제-매개 라이게이션은 LPXT 서열을 포함하는 항-TfR 항체를 $(G)_n$ 서열을 포함하는 분자 페이로드에 공유 연결시키는 데 이용될 것이다 (예를 들어, 문헌 [Proft T. Sortase-mediated protein ligation: an emerging biotechnology tool for protein modification and immobilization. Biotechnol Lett. 2010, 32(1):1-10.] 참조).

[0508] 일부 실시양태에서, 링커는 치환된 알킬렌, 임의로 치환된 알케닐렌, 임의로 치환된 알키닐렌, 임의로 치환된 시클로알킬렌, 임의로 치환된 시클로알케닐렌, 임의로 치환된 아릴렌, N, O 및 S로부터 선택된 적어도 1개의 헤테로원자를 추가로 포함하는 임의로 치환된 헤테로아릴렌; N, O 및 S로부터 선택된 적어도 1개의 헤테로원자를 추가로 포함하는 임의로 치환된 헤테로시클릴렌; 이미노, 임의로 치환된 질소 종, 임의로 치환된 산소 종 O, 임의로 치환된 황 종, 또는 폴리(알킬렌 옥시드), 예를 들어 폴리에틸렌 옥시드 또는 폴리프로필렌 옥시드를 포함할 수 있다.

[0509] iii. 링커 접합

[0510] 일부 실시양태에서, 링커는 포스페이트, 티오에테르, 에테르, 탄소-탄소, 카르바메이트 또는 아미드 결합을 통해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 포스페이트 또는 포스포로티오에이트 기, 예를 들어 올리고뉴클레오티드 백본의 말단 포스페이트를 통해 올리고뉴클레오티드에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR 항체 상에 존재하는 리신 또는 시스테인 잔기를 통해 항-TfR 항체에 연결된다.

[0511] 일부 실시양태에서, 링커는 아지드와 알킨 사이의 고리화첨가 반응으로 트리아졸을 형성하는 것에 의해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결되며, 여기서 아지드 및 알킨은 항-TfR 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 알킨은 시클릭 알킨, 예를 들어 시클로옥틴일 수 있다. 일부 실시양태에서, 알킨은 비시클로노닌 (비시클로[6.1.0]노닌 또는 BCN으로도 공지됨) 또는 치환된 비시클로노닌일 수 있다. 일부 실시양태에서, 시클로옥탄은 2011년 11월 3일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2011136645 (발명의 명칭: "Fused Cyclooctyne Compounds And Their Use In Metal-free Click Reactions")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 아지드는 아지드를 포함하는 당 또는 탄수화물 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 아지드는 6-아지도-6-데옥시갈락토스 또는 6-아지도-N-아세틸갈락토사민일 수 있다. 일부 실시양태에서, 아지드를 포함하는 당 또는 탄수화물 분자는 2016년 10월 27일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2016170186 (발명의 명칭: "Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A β(1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 아지드와 알킨 사이의 고리화첨가 반응으로 트리아졸을 형성하며, 여기서 아지드 및 알킨은 항-TfR 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다는 것은 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof"); 또는 2016년 10월 27일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2016170186 (발명의 명칭: "Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A β(1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase")에 기재된 바와 같다.

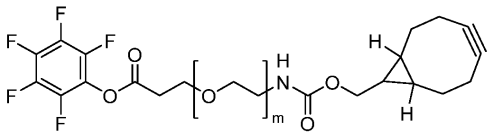
[0512] 일부 실시양태에서, 링커는 스페이서, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 스페이서 또는 아실/카르보모일 술파미드 스페이서, 예를 들어 히드라스페이스(HydraSpace)™ 스페이서를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 문헌 [Verkade, J.M.M. et al., "A Polar Sulfamide Spacer Significantly Enhances the Manufacturability, Stability, and Therapeutic Index of Antibody-Drug Conjugates", Antibodies, 2018, 7, 12]에 기재된 바와 같다.

[0513] 일부 실시양태에서, 링커는 친디엔체와 디엔/헤테로-디엔 사이의 딜스-알더 반응에 의해 항-TfR 항체 및/또는

(예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결되고, 여기서 친디엔체 및 디엔/헤테로-디엔은 항-TfR 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 다른 페리시클릭 반응, 예를 들어 엔 반응에 의해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 아미드, 티오아미드 또는 술폰아미드 결합 반응에 의해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 축합 반응에 의해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결되어 링커와 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드 사이에 존재하는 옥심, 히드라존 또는 세미카르바지드 기를 형성한다.

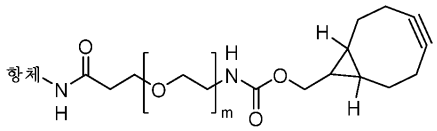
[0514] 일부 실시양태에서, 링커는 친핵체, 예를 들어 아민 또는 히드록실 기와 친전자체, 예를 들어 카르복실산, 카르보네이트 또는 알데히드 사이의 공액 첨가 반응에 의해 항-TfR 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 연결된다. 일부 실시양태에서, 친핵체는 링커 상에 존재할 수 있고, 친전자체는 링커와 항-TfR 항체 또는 분자 페이로드 사이의 반응 전 항-TfR 항체 또는 분자 페이로드 상에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친전자체는 링커 상에 존재할 수 있고, 친핵체는 링커와 항-TfR 항체 또는 분자 페이로드 사이의 반응 전 항-TfR 항체 또는 분자 페이로드 상에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친전자체는 아지드, 펜타플루오로페닐, 규소 중심, 카르보닐, 카르복실산, 무수물, 이소시아네이트, 티오이소시아네이트, 숙신이미딜 에스테르, 술포숙신이미딜 에스테르, 말레이미드, 알킬 할라이드, 알킬 슈도할라이드, 에폭시드, 에피술피드, 아지리딘, 아릴, 활성화된 인 중심 및/또는 (예를 들어, 및) 활성화된 황 중심일 수 있다. 일부 실시양태에서, 친핵체는 임의로 치환된 알켄, 임의로 치환된 알킨, 임의로 치환된 아릴, 임의로 치환된 헤테로시클릴, 히드록실 기, 아미노 기, 알킬아미노 기, 아닐리도 기 또는 티올 기일 수 있다.

[0515] 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착된 val-cit 링커는 하기 구조에 의해 항-TfR 항체에 접합되고:

[0516] 

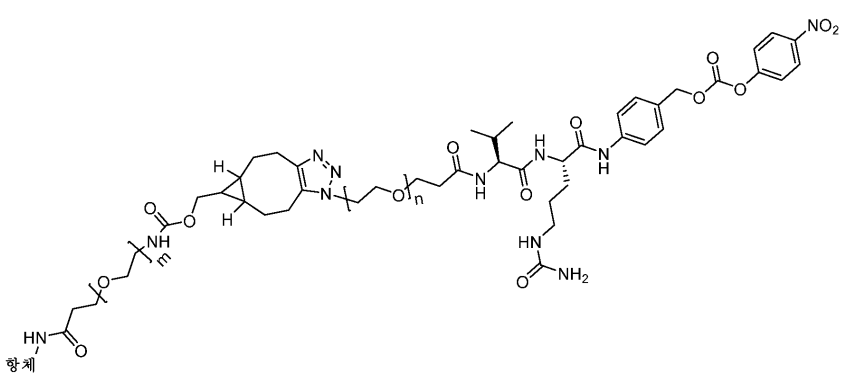
[0517] 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, m은 4이다.

[0518] 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착된 val-cit 링커는 하기 구조를 갖는 항-TfR 항체에 접합되고:

[0519] 

[0520] 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, m은 4이다.

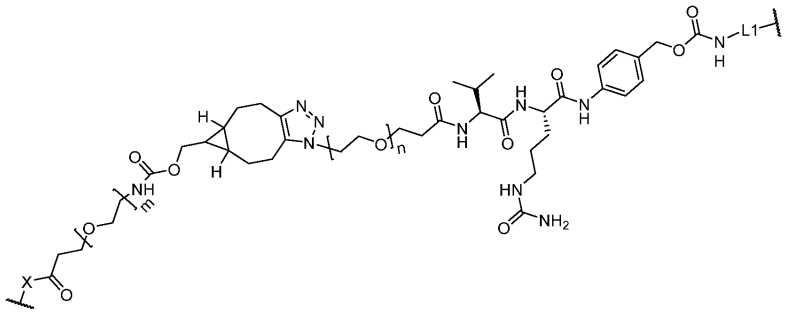
[0521] 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학 접합을 위한 SPAAC)에 부착되고 항-TfR 항체에 접합된 val-cit 링커는 하기 구조를 갖고:

[0522] 

[0523] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예

를 들어, 이고) m은 4이다.

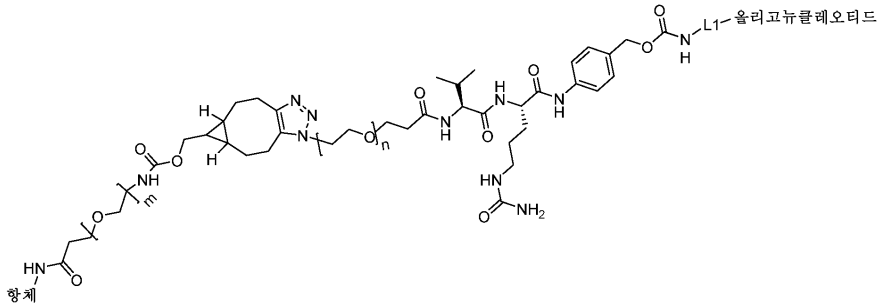
[0524] 일부 실시양태에서, 항체와 분자 페이로드를 연결하는 val-cit 링커는 하기 구조를 갖고:



[0525] (C)

[0526] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m은 4이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m은 4이다. 일부 실시양태에서, X는 항체의 NH (예를 들어, 리신의 아민 기로부터의 NH), S (예를 들어, 시스테인의 티올 기로부터의 S) 또는 O (예를 들어, 세린, 트레오닌 또는 티로신의 히드록실 기로부터의 O)이다.

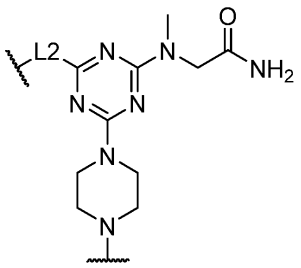
[0527] 일부 실시양태에서, 항-TfR 항체와 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)를 공유 연결하는 데 사용되는 val-cit 링커는 하기 구조를 갖고:



[0528]

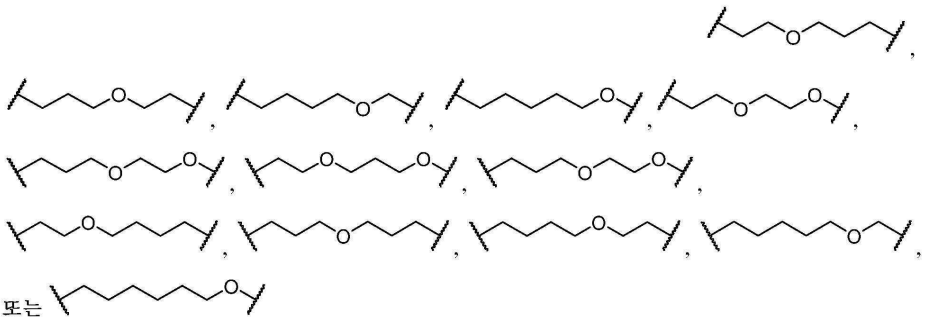
[0529] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고, m은 4이다.

[0530] 구조식 (A), (B), (C) 및 (D)에서, L1은, 일부 실시양태에서, 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, $-N(R^A)-$, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, $-C(=O)NR^A-$, $-NR^AC(=O)-$, $-NR^AC(=O)R^A-$, $-C(=O)R^A-$, $-NR^AC(=O)O-$, $-NR^AC(=O)N(R^A)-$, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, $-OC(=O)N(R^A)-$, $-S(O)_2NR^A-$, $-NR^AS(O)_2-$ 또는 그의 조합인 스페이서이다. 일부 실시양태에서, L1은 하기이고:



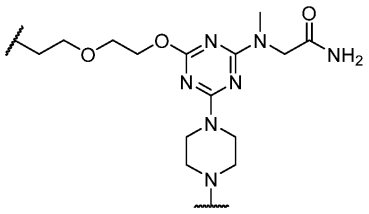
[0531]

[0532] 여기서 피페라진 모이어티는 올리고뉴클레오티드에 연결되고, 여기서 L2는

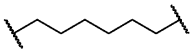


이다.

[0533] 일부 실시양태에서, L1은 하기이고:

[0534] ,

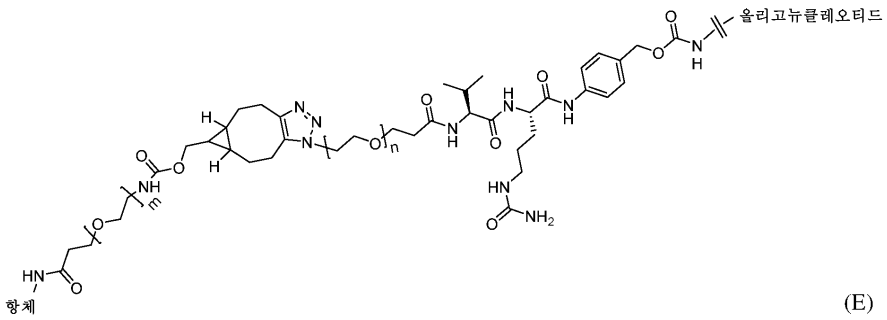
[0535] 여기서 피페라진 모이어티는 올리고뉴클레오티드에 연결된다.

[0536] 일부 실시양태에서, L1은 이다.

[0537] 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트에 연결된다.

[0538] 일부 실시양태에서, L1은 임의적이다 (예를 들어, 반드시 존재할 필요는 없음).

[0539] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나는 하기 구조를 갖고:

[0540] 

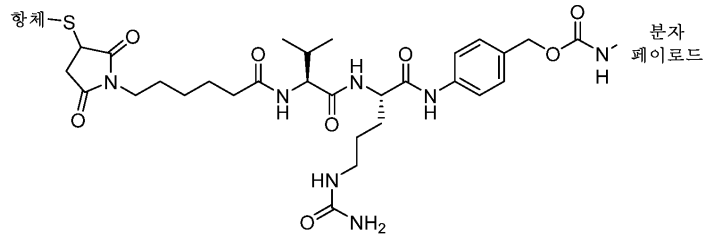
(E)

[0541] 여기서 n은 0-15 (예를 들어, 3)이고, m은 0-15 (예를 들어, 4)이다.

[0542] C. 항체-분자 페이로드 복합체의 예

[0543] 본원에 기재된 임의의 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된 본원에 기재된 어느 하나의 항-TfR 항체를 포함하는 복합체의 비제한적 예가 본원에 추가로 제공된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR 항체 (예를 들어, 표 2에 제공된 항-TfR 항체 중 어느 하나)는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된다. 본원에 기재된 임의의 링커가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오티드인 경우에, 링커는 올리고뉴클레오티드의 5' 말단, 3' 말단 또는 내부에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR 항체에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항-TfR 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, Val-cit 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR 항체)에 아민 기를 통해 (예를 들어, 항체 내의 리신을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

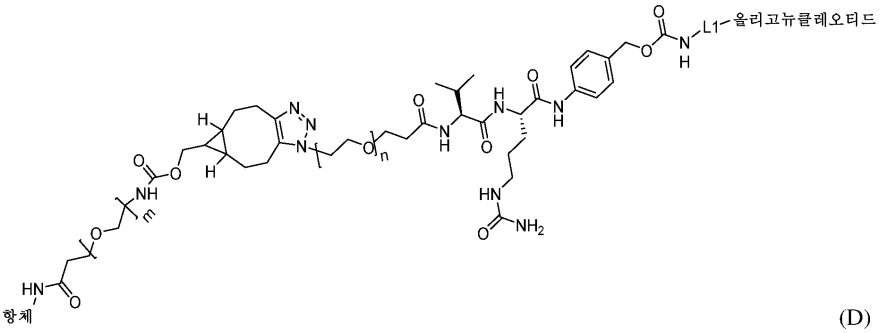
[0544] Val-cit 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하는 복합체의 구조의 예가 하기에 제공된다:



[0545]

[0546] 여기서 링커는 항체에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0547] Val-cit 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하는 복합체의 구조의 또 다른 예가 하기에 제공된다:



(D)

[0548]

[0549] 여기서 n은 0-10의 수이고, 여기서 m은 0-10의 수이고, 여기서 링커는 항체에 아민 기를 통해 (예를 들어, 리신 잔기 상에서) 연결되고/거나 (예를 들어, 연결되고), 여기서 링커는 올리고뉴클레오티드에 (예를 들어, 5' 말단, 3' 말단 또는 내부에) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항체에 리신을 통해 연결되고, 링커는 올리고뉴클레오티드에 5' 말단에서 연결되고, n은 3이고, m은 4이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 링커는 5' 말단 또는 3' 말단에서 센스 가닥 또는 안티센스 가닥에 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0550] 항체는 분자 페이로드에, 약물 대 항체 비 (DAR) (여기서 "약물"은 분자 페이로드임)로 지칭될 수 있는 특성인 상이한 화학량론으로 연결될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 1개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 1). 일부 실시양태에서, 2개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 2). 일부 실시양태에서, 3개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 3). 일부 실시양태에서, 4개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 4). 일부 실시양태에서, 각각 상이한 DAR을 갖는 상이한 복합체의 혼합물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 이러한 혼합물 중 복합체의 평균 DAR은 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5 또는 그 초과의 범위일 수 있다. DAR은 분자 페이로드를 항체 상의 상이한 부위에 접합시킴으로써 및/또는 (예를 들어, 및) 다량체를 항체 상의 1개 이상의 부위에 접합시킴으로써 증가될 수 있다. 예를 들어, DAR 2는 단일 분자 페이로드를 항체 상의 2개의 상이한 부위에 접합시킴으로써 또는 이량체 분자 페이로드를 항체의 단일 부위에 접합시킴으로써 달성될 수 있다.

[0551] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 본원에 기재된 항-TfR 항체 (예를 들어, IgG 또는 Fab 형태의 표 2에 제공된 3-A4, 3-M12 및 5-H12 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 링커 (예를 들어, Val-cit 링커)를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 본원에 기재된 항-TfR 항체 (예를 들어, IgG 또는 Fab 형태의 표 2에 제공된 3-A4, 3-M12 및 5-H12 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, Val-cit 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR 항체)에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, Val-cit 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR 항체)에 아민 기를 통해 (예를 들어, 항체 내의 리신을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0552] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체의 예 중 어느 하나에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)를 포함한다.

[0553] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 표 2에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3; 및 표 2에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3과 동일한 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0554] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 69, 서열식별번호: 71 또는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0555] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 73 또는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0556] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 73 또는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0557] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0558] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 77 또는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0559] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84, 서열식별번호: 86 또는 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0560] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88 또는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0561] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88 또는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0562] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92 또는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0563] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8

또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0564] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98 또는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

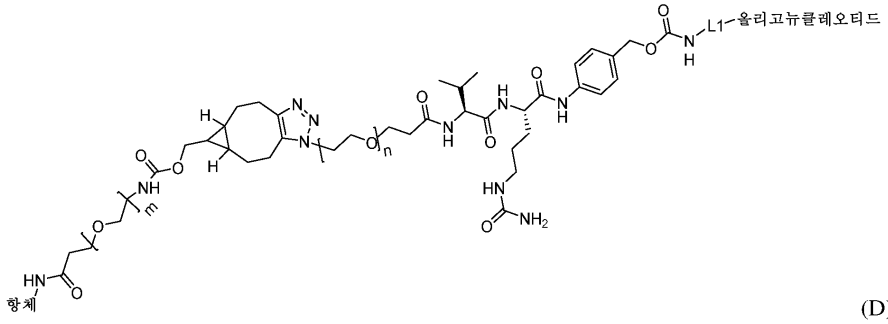
[0565] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 100 또는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0566] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 100 또는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0567] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

[0568] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 102 또는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 17에 열거된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)이다.

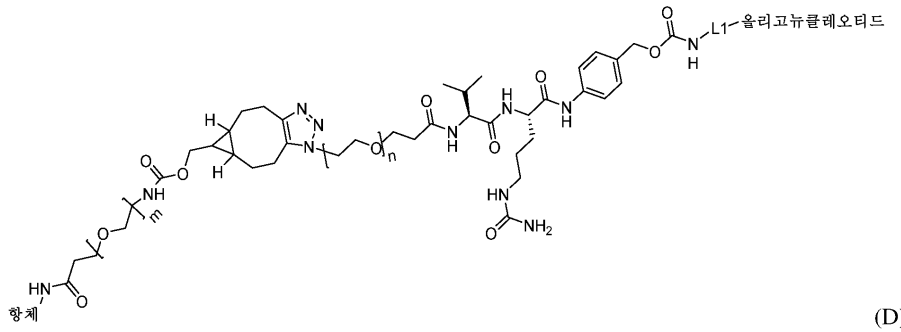
[0569] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0570] 

(D)

[0571] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0572] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

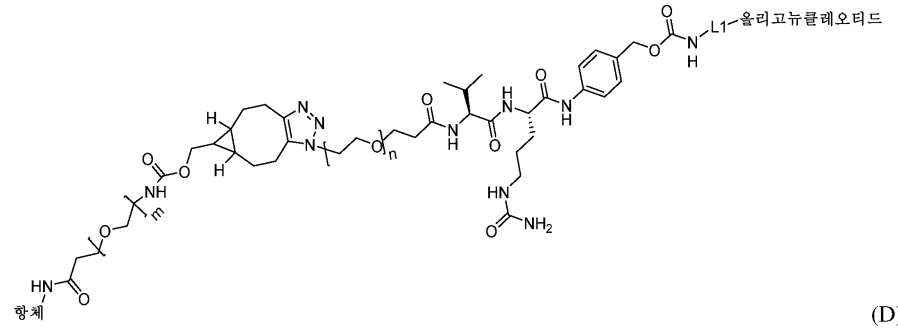


(D)

[0573]

[0574] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0575] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

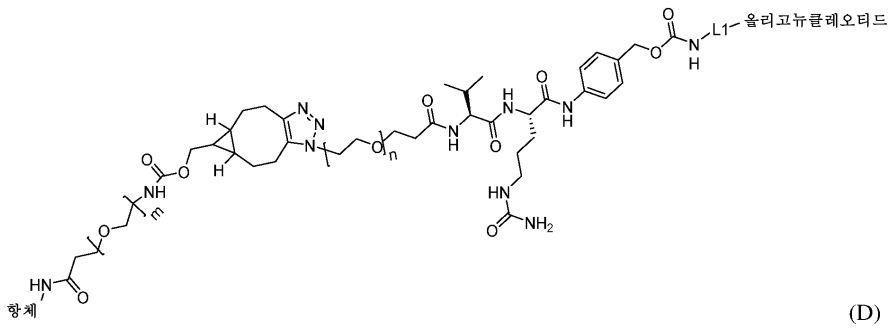


(D)

[0576]

[0577] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0578] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:



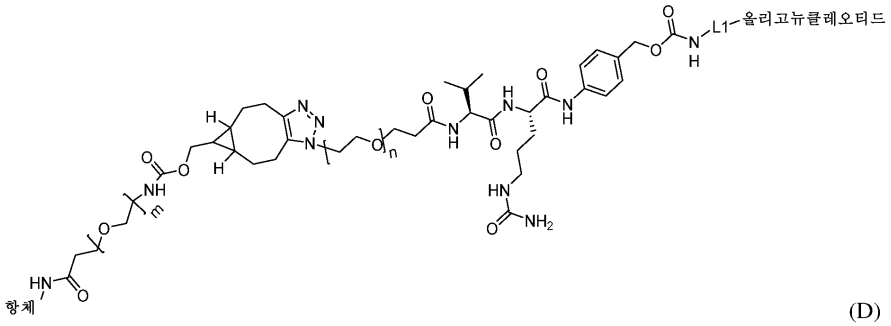
(D)

[0579]

[0580] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182,

188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

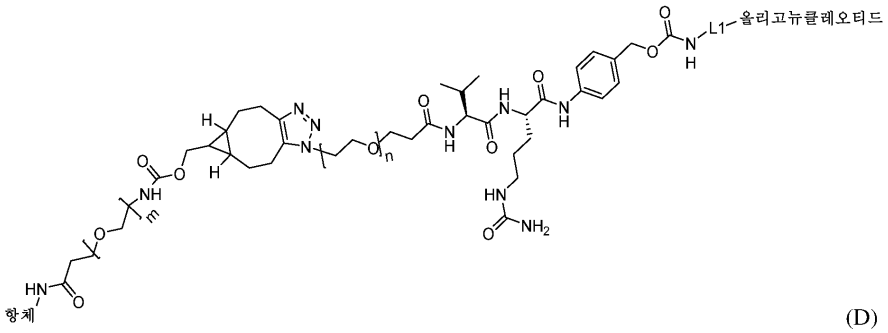
[0581] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0582] 

(D)

[0583] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

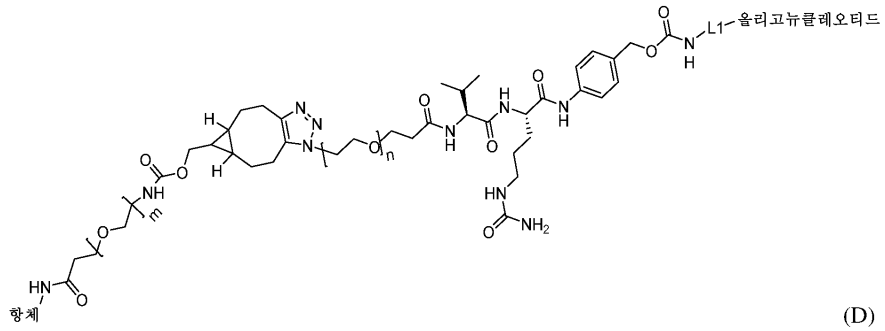
[0584] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0585] 

(D)

[0586] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0587] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

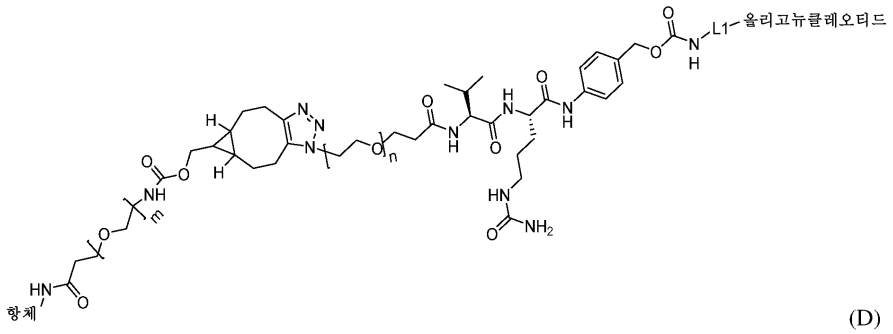


(D)

[0588]

[0589] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0590] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

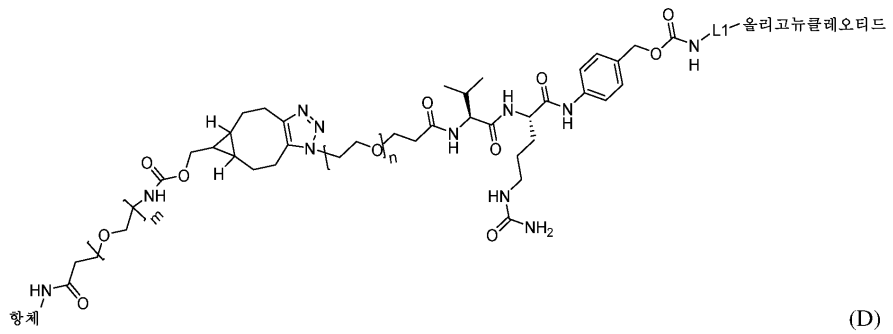


(D)

[0591]

[0592] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0593] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:



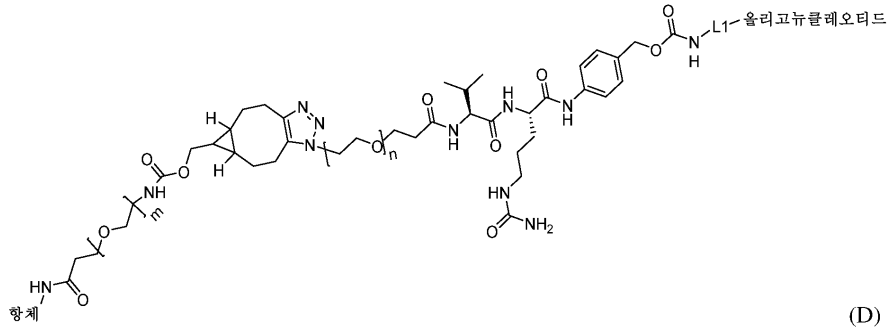
(D)

[0594]

[0595] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는

표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0596] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

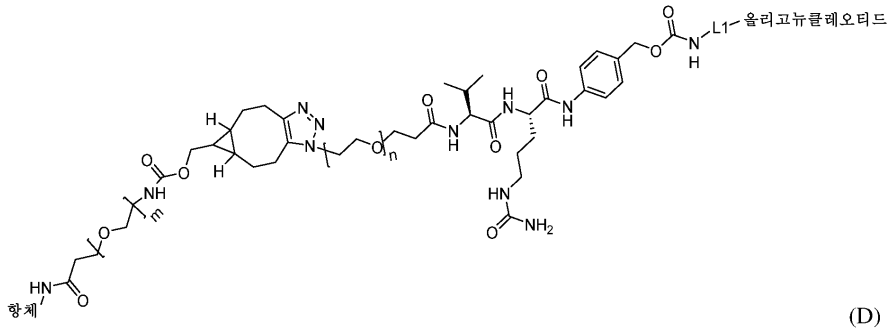


(D)

[0597]

[0598] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0599] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

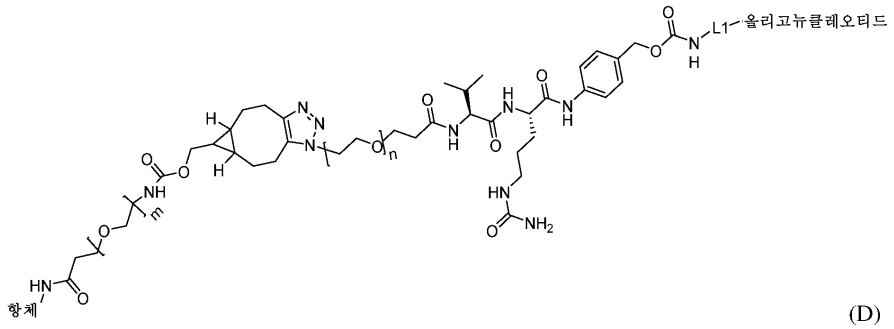


(D)

[0600]

[0601] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0602] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

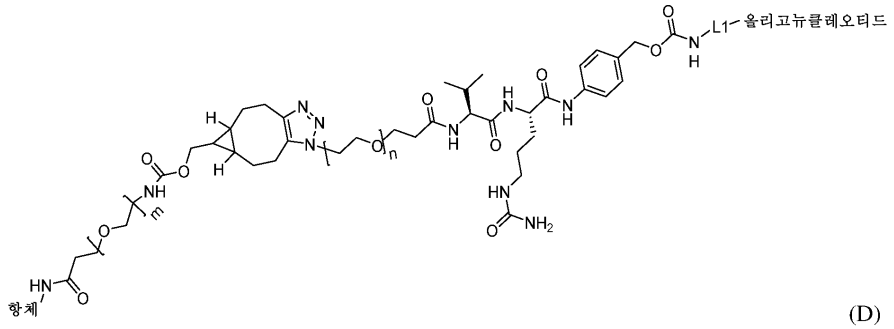


(D)

[0603]

[0604] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0605] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

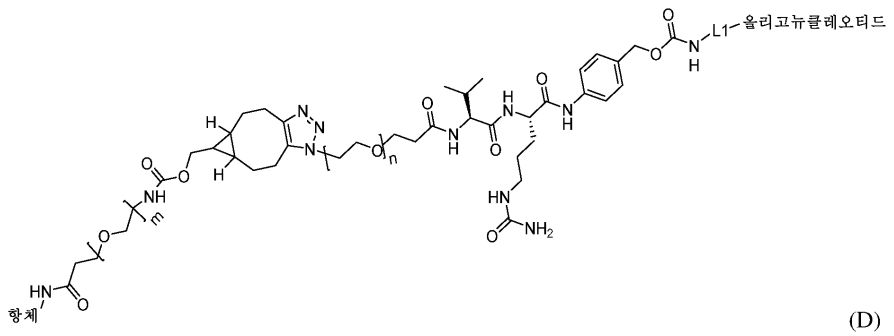


(D)

[0606]

[0607] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0608] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:



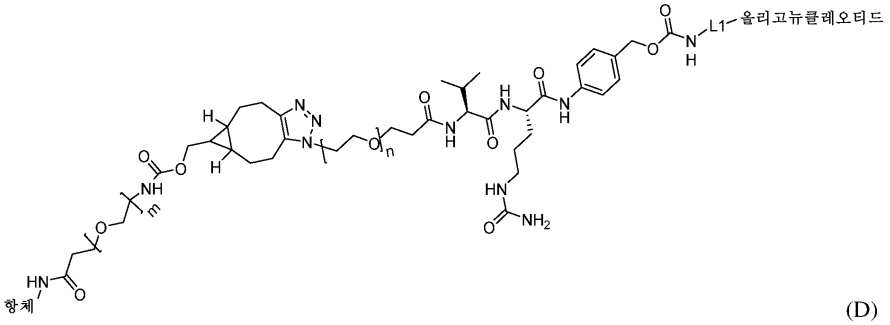
(D)

[0609]

[0610] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는

표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

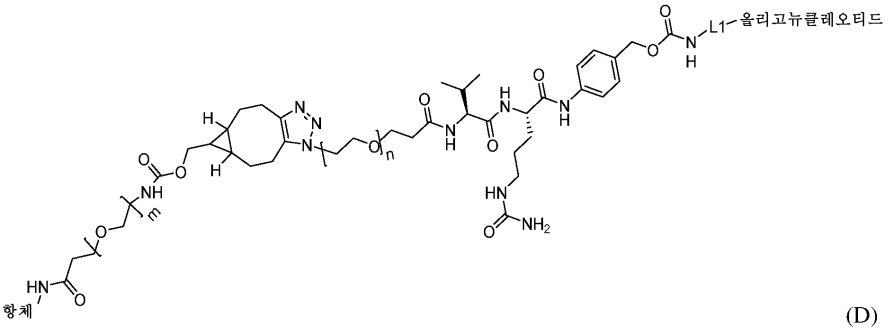
[0611] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0612] 

(D)

[0613] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

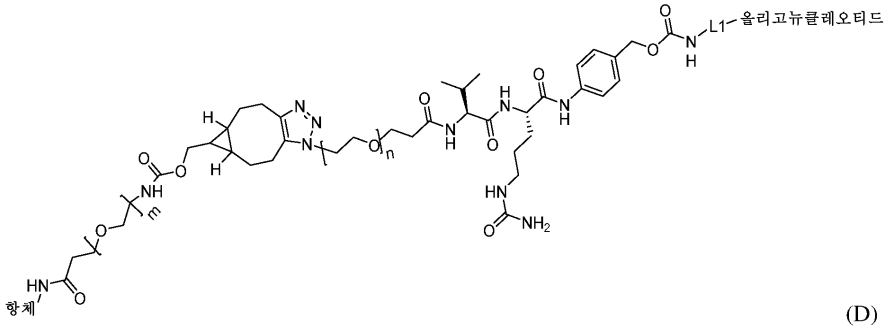
[0614] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0615] 

(D)

[0616] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0617] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

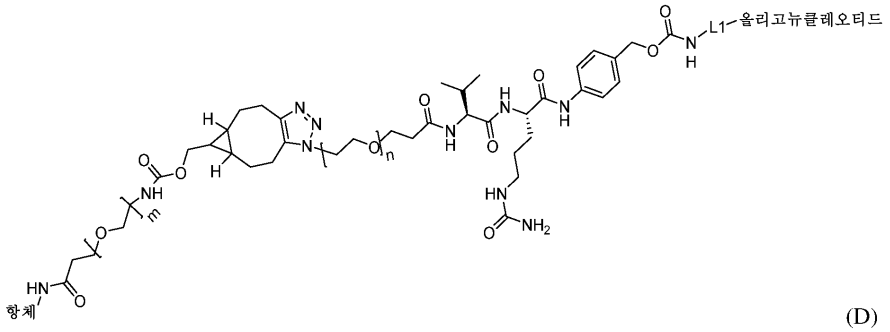


(D)

[0618]

[0619] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0620] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

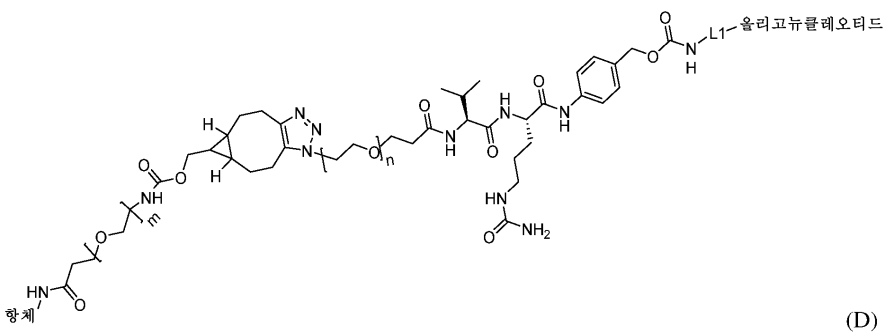


(D)

[0621]

[0622] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0623] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:



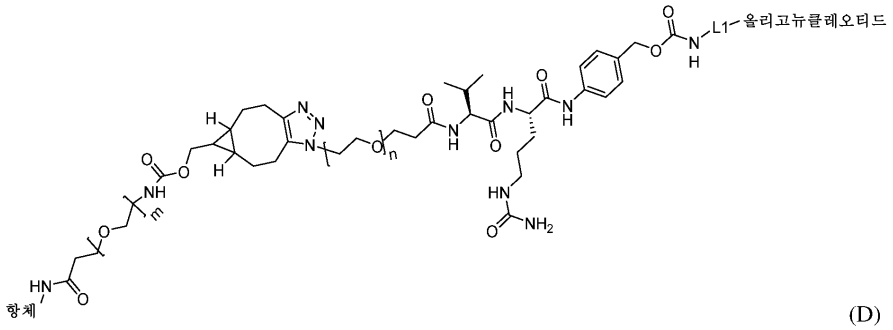
(D)

[0624]

[0625] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는

표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0626] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

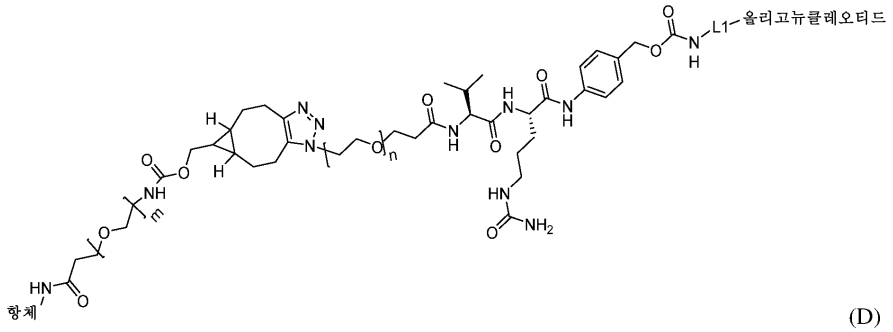


(D)

[0627]

[0628] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0629] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

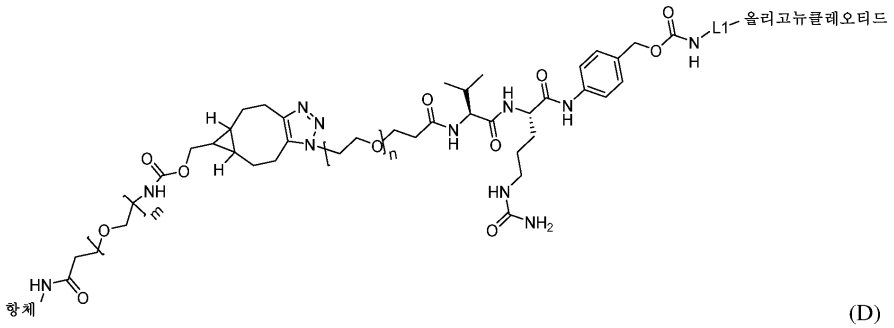


(D)

[0630]

[0631] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

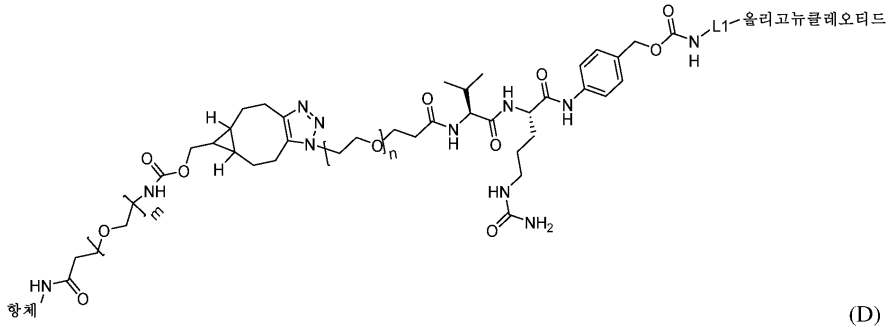
[0632] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0633] 

(D)

[0634] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

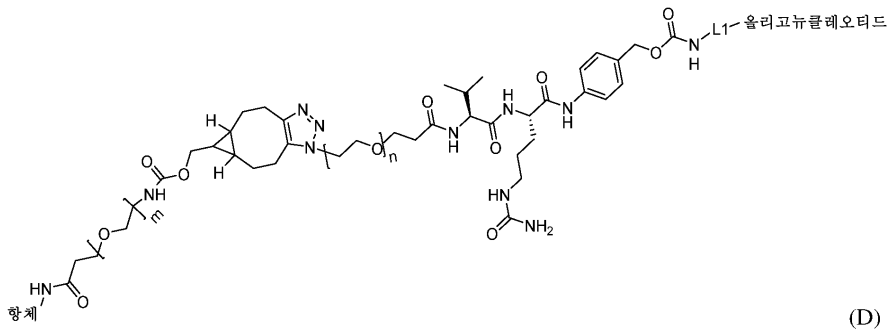
[0635] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0636] 

(D)

[0637] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0638] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

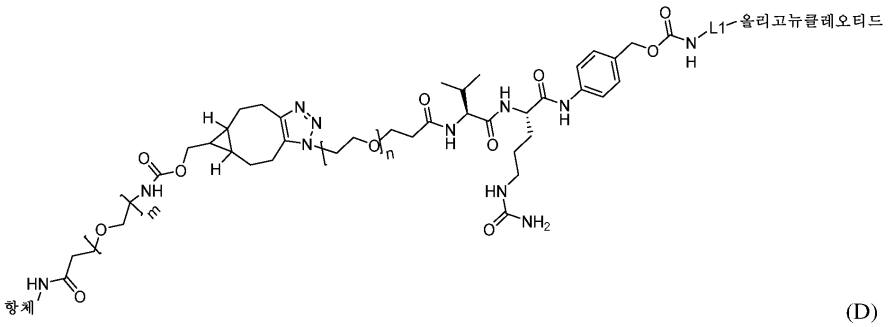
[0639] 

(D)

[0640] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182,

188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

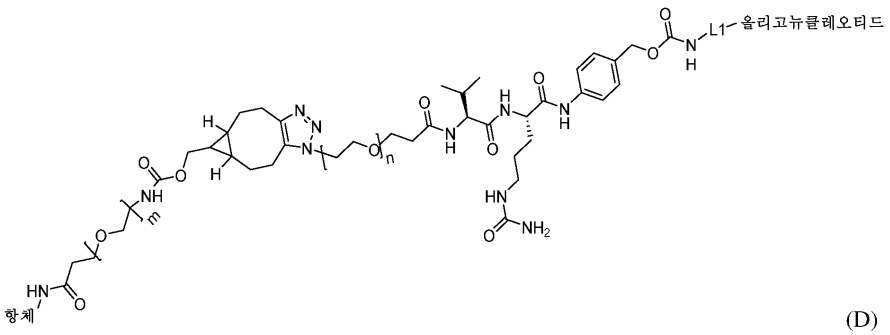
[0641] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0642] 

(D)

[0643] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

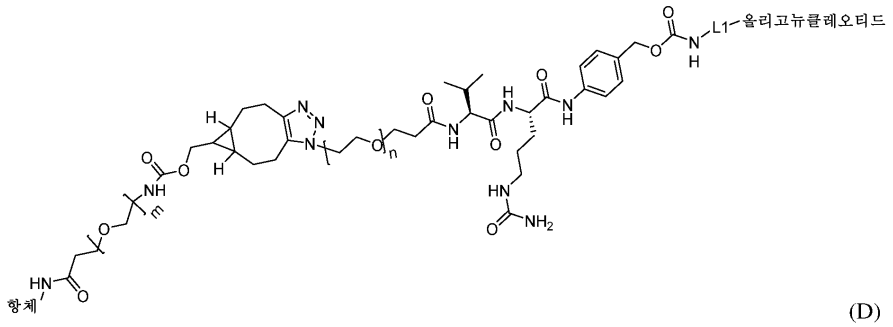
[0644] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

[0645] 

(D)

[0646] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0647] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

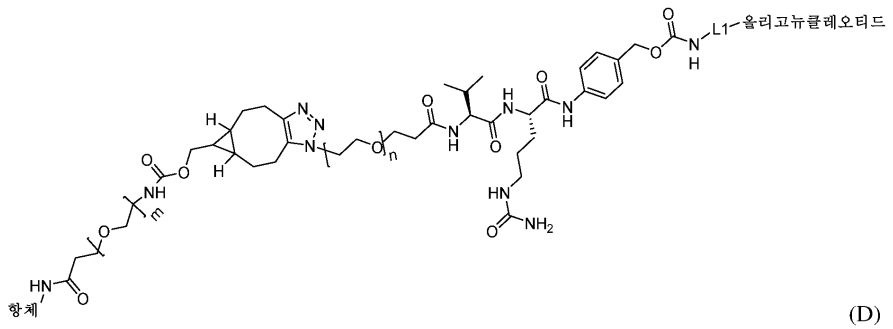


(D)

[0648]

[0649] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0650] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

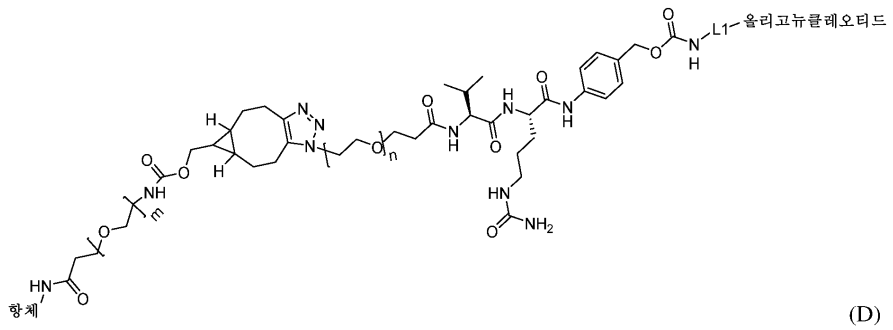


(D)

[0651]

[0652] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0653] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:



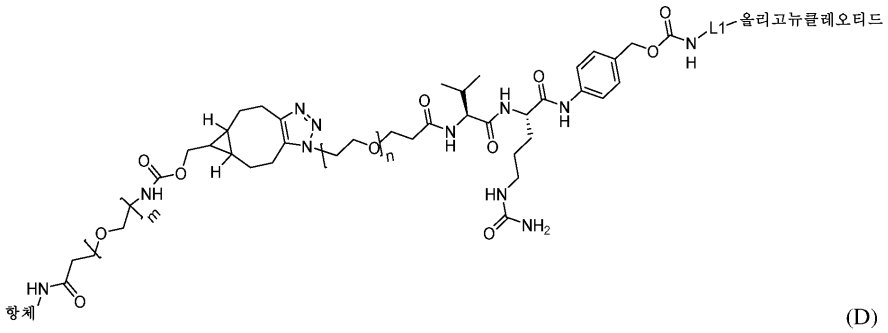
(D)

[0654]

[0655] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182,

188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0656] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드)의 5' 말단에 리신을 통해 공유 연결된 항-TfR Fab를 포함하며, 여기서 항-TfR Fab는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고; 여기서 복합체는 하기 구조를 갖고:

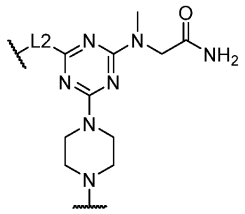
[0657] 

(D)

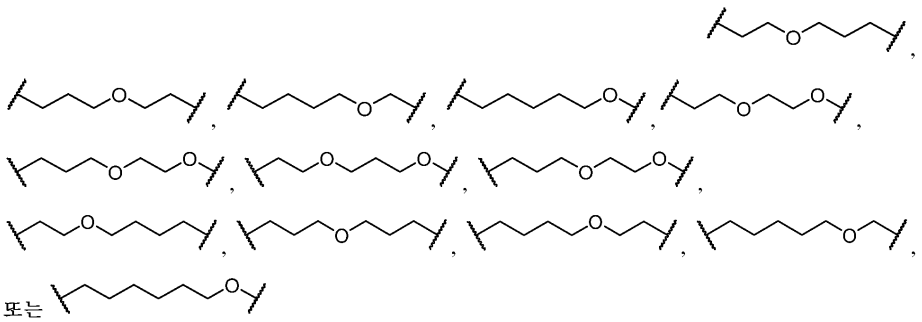
[0658] 여기서 n은 3이고, m은 4이고, 임의로 여기서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 갭머)는 표 8 또는 표 17에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나)의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드)를 포함한다.

[0659] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체의 예 중 어느 하나에서, L1은 본원에 기재된 스페이서 중 어느 하나이다.

[0660] 일부 실시양태에서, L1은 하기이고:

[0661] 

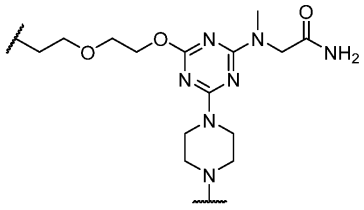
[0662] 여기서 피페라진 모이어티는 올리고뉴클레오티드에 연결되고, 여기서 L2는



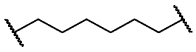
또는

이다.

[0663] 일부 실시양태에서, L1은 하기이고:

[0664] 
,

[0665] 여기서 피페라진 모이어티는 올리고뉴클레오티드에 연결된다.

[0666] 일부 실시양태에서, L1은  이다.

[0667] 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트에 연결된다.

[0668] 일부 실시양태에서, L1은 임의적이다 (예를 들어, 반드시 존재할 필요는 없음).

[0669] III. 제제

[0670] 본원에 제공된 복합체는 임의의 적합한 방식으로 제제화될 수 있다. 일반적으로, 본원에 제공된 복합체는 제약 용도에 적합한 방식으로 제제화된다. 예를 들어, 복합체는 분해를 최소화하거나, 전달 및/또는 (예를 들어, 및) 흡수를 용이하게 하거나, 또는 제제 내의 복합체에 또 다른 유익한 특성을 제공하는 제제를 사용하여 대상체에게 전달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 이러한 조성물은 대상체에게 투여되는 경우에 표적 세포의 바로 옆 환경으로 또는 전신으로, 충분한 양의 복합체가 표적 근육 세포에 진입하도록 적합하게 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체는 완충제 용액, 예컨대 포스페이트-완충 염수 용액, 리포솜, 미셀 구조 및 캡시드 중에 제제화된다.

[0671] 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 제공된 복합체의 1종 이상의 성분 (예를 들어, 근육-표적화제, 링커, 분자 페이로드 또는 이들 중 어느 하나의 전구체 분자)을 개별적으로 포함할 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0672] 일부 실시양태에서, 복합체는 물 또는 수용액 (예를 들어, pH 조정이 동반된 물) 중에 제제화된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 염기성 완충 수용액 (예를 들어, PBS) 중에 제제화된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 제제는 부형제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 조성물에 활성 성분의 개선된 안정성, 개선된 흡수, 개선된 용해도 및/또는 (예를 들어, 및) 치료 증진을 부여한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 완충제 (예를 들어, 시트르산나트륨, 인산나트륨, 트리스 염기 또는 수산화나트륨) 또는 비히클 (예를 들어, 완충 용액, 페트롤라툼, 디메틸 술폭시드 또는 미네랄 오일)이다.

[0673] 일부 실시양태에서, 복합체 또는 그의 성분 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 또는 항체)은 그의 보관 수명을 연장시키기 위해 동결건조된 다음, 사용 (예를 들어, 대상체에 대한 투여) 전에 용액으로 만들어진다. 따라서, 본원에 기재된 복합체 또는 그의 성분을 포함하는 조성물 중 부형제는 동결건조보호제 (예를 들어, 만니톨, 락토스, 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리비닐 피롤리돈) 또는 붕괴 온도 조절제 (예를 들어, 덱스트란, 피콜 또는 젤라틴)일 수 있다.

[0674] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 의도된 투여 경로에 적합하도록 제제화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어 정맥내, 피내, 피하 투여를 포함한다. 전형적으로, 투여 경로는 정맥내 또는 피하이다.

[0675] 주사가능한 용도에 적합한 제약 조성물은 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제제는 조성물 중에 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨 및 염화나트륨을 포함한다. 멸균 주사가능한 용액은 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합과 함께 선택된 용매 중에 요구되는 양의 복합체를 혼입시킨 후 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다.

[0676] 일부 실시양태에서, 조성물은 적어도 약 0.1% 또는 그 초과의 복합체 또는 그의 성분을 함유할 수 있으며, 활성 성분(들)의 백분율은 총 조성물의 중량 또는 부피의 약 1% 내지 약 80% 또는 그 초과일 수 있다. 용해도, 생체이용률, 생물학적 반감기, 투여 경로, 생성물 보관 수명, 뿐만 아니라 다른 약리학적 고려사항과 같은 인자가 이러한 제약 제제를 제조하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 고려될 것이고, 따라서 다양한 투여량 및 치료 요법이 바람직할 수 있다.

[0677] IV. 사용 / 치료 방법

[0678] 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체는 근긴장성 이영양증을 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, 복합체는 근긴장성 이영양증 1형 (DM1)을 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, DM1은 DMPK의 3' 비-코딩 영역 내의 CTG 트리뉴클레오티드 반복부의 확장과 연관된다. 일부 실시양태에서, 뉴클레오티드 확장은 중요한 세포내 단백질, 예를 들어 머슬블라인드-유사 단백질에 고친화도로 결합하는 헤어핀 구조를 형성할 수 있는 독성 RNA 반복부를 유도한다.

[0679] 일부 실시양태에서, 대상체는 인간 대상체, 비-인간 영장류 대상체, 설치류 대상체 또는 임의의 적합한 포유동물 대상체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 근긴장성 이영양증을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 임의로 질환-연관 반복부를 함유할 수 있는 DMPK 대립유전자를 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 약 2-10개의 반복 단위, 약 2-50개의 반복 단위, 약 2-100개의 반복 단위, 약 50-1,000개의 반복 단위, 약 50-500개의 반복 단위, 약 50-250개의 반복 단위, 약 50-100개의 반복 단위, 약 500-10,000개의 반복 단위, 약 500-5,000개의 반복 단위, 약 500-2,500개의 반복 단위, 약 500-1,000개의 반복 단위 또는 약 1,000-10,000개의 반복 단위를 포함하는 확장된 질환-연관-반복부를 갖는 DMPK 대립유전자를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 DM1의 증상, 예를 들어 근육 위축 또는 근육 손실을 앓고 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 DM1의 증상을 앓고 있지 않다. 일부 실시양태에서, 대상체는 선천성 근긴장성 이영양증을 갖는다.

[0680] 본 개시내용의 한 측면은 대상체에게 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 복합체를 투여하는 것을 포함하는 방법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 유효량이 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 복합체를 포함하는 제약 조성물은 정맥내 투여를 포함할 수 있는 적합한 경로에 의해, 예를 들어 볼루스로서 또는 일정 기간에 걸친 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 정맥내 투여는 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활막내 또는 척수강내 경로에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 고체 형태, 수성 형태 또는 액체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 수성 또는 액체 형태는 네뷸라이징되거나 동결건조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 네뷸라이징 또는 동결건조 형태는 수성 또는 액체 용액으로 재구성될 수 있다.

[0681] 정맥내 투여를 위한 조성물은 다양한 담체, 예컨대 식물성 오일, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 에틸 락테이트, 에틸 카르보네이트, 이소프로필 미리스테이트, 에탄올 및 폴리올 (글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등)을 함유할 수 있다. 정맥내 주사의 경우, 수용성 항체가 점적 방법에 의해 투여될 수 있고, 이에 의해 항체 및 생리학상 허용되는 부형제를 함유하는 제약 제제가 주입된다. 생리학상 허용되는 부형제는, 예를 들어 5% 덱스트로스, 0.9% 염수, 링거액 또는 다른 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 근육내 제제, 예를 들어 항체의 적합한 가용성 염 형태의 멸균 제제는 제약 부형제, 예컨대 주사용수, 0.9% 염수 또는 5% 글루코스 용액 중에 용해되어 투여될 수 있다.

[0682] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 부위-특이적 또는 국부 전달 기술을 통해 투여된다. 이들 기술의 예는 복합체의 이식가능한 데포 공급원, 국부 전달 카테터, 부위 특이적 담체, 직접 주사 또는 직접 적용을 포함한다.

[0683] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에 대해 치료 효과를 부여하는 유효 농도로 투여된다. 유효량은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인식되는 바와 같이, 질환의 중증도, 치료될 대상체의 고유한 특징, 예를 들어 연령, 신체 상태, 건강 또는 체중, 치료 지속기간, 임의의 공동 요법의 성질, 투여 경로 및 관련 인자에 따라 달라진다. 이들 관련 인자는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 단지 상용에 지나지 않는 실험으로 다루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 유효 농도는 환자에게 안전한 것으로 간주되는 최대 용량이다. 일부 실시양태에서, 유효 농도는 최대 효능을 제공하는 최저 가능한 농도일 것이다.

[0684] 경험적 고려사항, 예를 들어 대상체에서의 복합체의 반감기는 일반적으로 치료에 사용되는 제약 조성물의 농도의 결정에 기여할 것이다. 투여 빈도는 치료 효능을 최대화하기 위해 실험적으로 결정되고 조정될 수 있다.

[0685] 일반적으로, 본원에 기재된 임의의 복합체의 투여를 위해, 초기 후보 투여량은 상기 기재된 인자, 예를 들어 안전성 또는 효능에 따라 약 1 내지 100 mg/kg 또는 그 초과일 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료는 1회 투여될 것이다. 일부 실시양태에서, 치료는 매일, 격주, 매주, 격월, 매월 또는 대상체에 대한 안전성 위험을 최소화하면서 최대 효능을 제공하는 임의의 시간 간격으로 투여될 것이다. 일반적으로, 효능 및 치료 및 안전성 위험

은 치료 과정 전반에 걸쳐 모니터링될 수 있다.

[0686] 일부 실시양태에서, 초기 후보 투여량은 약 1-50, 1-25, 1-10, 1-5, 5-100, 5-50, 5-25, 5-10, 10-100, 10-75, 10-50, 10-25, 10-20, 25-100, 25-75 또는 25-50 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 초기 후보 투여량은 약 1-20, 1-15, 1-10, 1-5, 1-3, 1-2, 5-20, 5-15 또는 5-10 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 초기 후보 투여량은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 또는 20 mg/kg이다.

[0687] 치료 효능은 임의의 적합한 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료 효능은 DM1과 연관된 증상, 예를 들어 근육 위축 또는 근육 약화의 관찰의 평가에 의해, 대상체의 자기-보고된 결과, 예를 들어 이동성, 자기-관리, 통상의 활동, 통증/불편감 및 불안/우울증의 척도를 통해, 또는 삶의 질 지표, 예를 들어 수명에 의해 평가될 수 있다.

[0688] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 표적 유전자의 활성 또는 발현을 대조군, 예를 들어 치료 전의 유전자 발현의 기준선 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%에 대해 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%만큼 억제하는 데 충분한 유효 농도로 대상체에게 투여된다.

[0689] 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1-5, 1-10, 5-15, 10-20, 15-30, 20-40, 25-50일 또는 그 초과 동안 억제하는 데 충분하다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20 또는 24주 동안 억제하는 데 충분하다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1-5, 1-10, 2-5, 2-10, 4-8, 4-12, 5-10, 5-12, 5-15, 8-12, 8-15, 10-12, 10-15, 10-20, 12-15, 12-20, 15-20, 또는 15-25주 동안 억제하는 데 충분하다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개월 동안 억제하는 데 충분하다.

[0690] 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 대상체에서 적어도 1-5, 1-10, 5-15, 10-20, 15-30, 20-40, 25-50일 또는 그 초과 동안 지속되거나 또는 유지된다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 대상체에서 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20 또는 24주 동안 지속되거나 또는 유지된다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 대상체에서 적어도 1-5, 1-10, 2-5, 2-10, 4-8, 4-12, 5-10, 5-12, 5-15, 8-12, 8-15, 10-12, 10-15, 10-20, 12-15, 12-20, 15-20 또는 15-25주 동안 지속되거나 또는 유지된다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 대상체에서 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개월 동안 지속되거나 또는 유지된다.

[0691] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 다중 용량 또는 투여가 대상체에게 전달된다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물의 다중 용량은 대상체에게 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 용량을 전달하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물의 다중 용량은 대상체에게 용량을 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16주마다 전달하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물의 다중 용량은 대상체에게 용량을 4주마다 1회 전달하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물의 다중 용량은 대상체에게 용량을 1-10, 2-5, 2-10, 4-8, 4-12, 5-10, 5-12, 5-15, 8-12, 8-16, 10-12, 10-15, 10-20, 12-15, 12-20, 15-20 또는 15-25주마다 1회 전달하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물의 다중 용량은 대상체에게 용량을 격주로 (즉, 2주마다), 격월로 (즉, 2개월마다) 또는 분기별 스케줄로 (즉, 12주마다) 전달하는 것을 포함한다.

[0692] 일부 실시양태에서, 단일 용량 또는 투여는 약 1-50, 1-25, 1-10, 1-15, 1-5, 5-100, 5-50, 5-25, 5-10, 10-100, 10-75, 10-50, 10-25, 10-20, 25-100, 25-75 또는 25-50 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 단일 용량 또는 투여는 약 1-20, 1-15, 1-10, 1-5, 1-3, 1-2, 5-20, 5-15 또는 5-10 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 단일 용량 또는 투여는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 20 mg/kg이다.

[0693] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에게 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16주마다 전달된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에게 1-10, 2-5, 2-10, 4-8, 4-12, 5-10, 5-12, 5-15, 8-12, 8-16, 9-15, 10-12, 10-14, 10-15, 10-20, 11-13, 11-15, 12-15, 12-16, 12-20, 15-20 또는 15-25주마다 전달된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에게 격주로 (즉, 2주마다), 격월로 (즉, 2개월마다) 또는 분기별 스케줄로 (즉, 12주마다) 전달된다.

[0694] 일부 실시양태에서, 1-15 mg/kg의 RNA의 농도로 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에게 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16주마다 전달된다. 일부 실시양태에서, 1-15 mg/kg의 RNA의 농도로 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에게 1-10, 2-5, 2-10, 4-8, 4-12, 5-10, 5-12, 5-15, 8-12, 8-16, 9-15, 10-12, 10-14, 10-15, 10-20, 11-13, 11-15, 12-15, 12-16, 12-20, 15-20 또는 15-25주마다 전달된다. 일부 실시양태에서, 1-15 mg/kg의 RNA의 농도로 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에게 격주로 (즉, 2주마다), 격월로 (즉, 2개월마다) 또는 분기별 스케줄로 (즉, 12주마다) 전달된다.

[0695] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 1종 초과의 복합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 DM1을 갖는 대상체, 예를 들어 인간 대상체의 치료를 위한 임의의 다른 적합한 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 다른 치료제는 본원에 기재된 복합체의 유효성을 증진 또는 보충할 수 있다. 일부 실시양태에서, 다른 치료제는 본원에 기재된 복합체와 상이한 증상 또는 질환을 치료하는 기능을 할 수 있다.

[0696] 실시예

[0697] 실시예 1: 형질감염된 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 DMPK 표적화

[0698] DMPK의 야생형 및 돌연변이 대립유전자 둘 다를 표적화하는 갭머 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO300)를 불멸화 세포주에서 DMPK의 발현 수준을 감소시키는 그의 능력에 대해 시험관내 시험하였다. 간략하게, Hepa 1-6 세포를 리포펙타민 2000과 함께 제제화된 ASO300 (100 nM)으로 형질감염시켰다. 형질감염 72시간 후에 DMPK 발현 수준을 평가하였다. 비히클 (포스페이트-완충 염수)을 배양물 중 Hepa 1-6 세포에 전달하고 세포를 72시간 동안 유지하는 대조군 실험을 또한 수행하였다. 도 1에 제시된 바와 같이, ASO300은 DMPK 발현 수준을 대조군과 비교하여 ~90%만큼 감소시킨 것으로 밝혀졌다.

[0699] 실시예 2: 근육-표적화 복합체에 의한 DMPK 표적화

[0700] 항-트랜스페린 수용체 항체인 DTX-A-002 (RI7 217 (Fab))에 카텝신 절단가능한 링커를 통해 공유 연결된 실시예 1에서 사용된 DMPK ASO (ASO300)를 포함하는 근육-표적화 복합체를 생성하였다.

[0701] 간략하게, 아미드 커플링 반응을 사용하여 말레이미도카프로일-L-발린-L-시트룰린-p-아미노벤질 알콜 p-니트로페닐 카르보네이트 (MC-Val-Cit-PABC-PNP) 링커 분자를 NH_2-C_6-ASO300에 커플링시켰다. 과량의 링커 및 유기 용매를 겔 투과 크로마토그래피에 의해 제거하였다. 이어서, 정제된 Val-Cit-링커-ASO300을 항-트랜스페린 수용체 항체 (DTX-A-002) 상의 티올에 커플링시켰다.

[0702] 이어서, 항체 커플링 반응의 생성물을 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 적용하였다. 도 2a는 생성된 HIC-HPLC 크로마토그램을 보여주며, 여기서 크로마토그램의 분획 B7-C2 (수직선으로 표시됨)는 SDS-PAGE에 의해 결정 시, DTX-A-002에 공유 부착된 1 또는 2개의 DMPK ASO 분자를 포함하는 항체-올리고뉴클레오티드 복합체 (DTX-C-008로 지칭됨)를 함유하였다. 이들 HIC-HPLC 분획을 합하였으며, 추가의 정제 후 밀도측정법은 이러한 DTX-C-008 복합체 샘플이 1.48의 평균 ASO 대 항체 비 (DAR)를 갖는다는 것을 확인시켜 주었다. SDS-PAGE 분석은 이러한 DTX-C-008 복합체 샘플의 86.4%가 1 또는 2개의 DMPK ASO 분자에 연결된 DTX-A-002를 포함한다는 것을 입증하였다 (도 2b).

[0703] 상기 기재된 것과 동일한 방법을 사용하여, IgG2a (Fab) 항체에 Val-Cit 링커를 통해 공유 연결된 실시예 1에서 사용된 DMPK ASO (ASO300)를 포함하는 대조군 복합체 (DTX-C-007)를 생성하였다.

[0704] 이어서, 정제된 RI7 217 Fab 항체-ASO 복합체 (DTX-C-008)를 세포 내재화 및 DMPK의 억제에 대해 시험하였다. 비교적 높은 발현 수준의 트랜스페린 수용체를 갖는 Hepa 1-6 세포를 비히클 대조군, DTX-C-008 (100 nM) 또는

DTX-C-007 (100 nM)의 존재 하에 72시간 동안 인큐베이션하였다. 72시간 인큐베이션 후에, 세포를 단리하고, DMPK의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 3). DTX-C-008로 처리된 세포는 비히클 대조군으로 처리된 세포에 비해 ~65%만큼 DMPK 발현의 감소를 나타냈다. 한편, DTX-C-007로 처리된 세포는 비히클 대조군 (DMPK 발현의 감소 없음)과 대등한 DMPK 발현 수준을 가졌다. 이들 데이터는 DTX-C-008의 항-트랜스페린 수용체 항체가 복합체의 세포 내재화를 가능하게 함으로써 DMPK ASO가 DMPK의 발현을 억제하도록 한다는 것을 나타낸다.

[0705] 실시예 3: 근육-표적화 복합체를 사용한 마우스 근육 조직에서의 DMPK의 표적화

[0706] 실시예 2에 기재된 근육-표적화 복합체인 RI7 217 Fab 항체-ASO 복합체 DTX-C-008을 마우스 조직에서의 DMPK의 억제에 대해 시험하였다. C57BL/6 야생형 마우스에게 단일 용량의 비히클 대조군, 네이키드 ASO300 (3 mg/kg의 ASO), DTX-C-008 (3 mg/kg의 ASO, 20 mg/kg 항체 접합체에 상응함) 또는 DTX-C-007 IgG2a Fab 항체-ASO 복합체 (3 mg/kg의 ASO, 20 mg/kg 항체 접합체에 상응함)를 정맥내로 주사하였다. 실시예 1에 기재된 바와 같은 DMPK ASO인 네이키드 ASO300을 대조군으로서 사용하였다. 각각의 실험 조건을 3마리의 개별 C57BL/6 야생형 마우스에서 반복하였다. 주사 후 7-일 기간 후에, 마우스를 안락사시키고, 단리된 조직 유형으로 절편화하였다. 개별 조직 샘플을 후속적으로 DMPK의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 4a-4e 및 5a-5b).

[0707] DTX-C-008 복합체로 처리된 마우스는 다양한 골격근, 심장근 및 평활근 조직에서의 DMPK 발현의 감소를 나타냈다. 예를 들어, 도 4a-4e에 제시된 바와 같이, DMPK 발현 수준은 비히클 대조군으로 처리된 마우스에 비해 비복근 (50% 감소), 심장 (30% 감소), 식도 (45% 감소), 전경골근 (47% 감소) 및 가자미근 (31% 감소) 조직에서 유의하게 감소하였다. 한편, DTX-C-007 복합체로 처리된 마우스는 모든 검정된 근육 조직 유형에 대해 비히클 대조군 마우스 및 네이키드 ASO300으로 처리된 마우스 (DMPK 발현의 감소 없음)와 대등한 DMPK 발현 수준을 가졌다.

[0708] DTX-C-008 복합체로 처리된 마우스는 비-근육 조직, 예컨대 비장 및 뇌 조직에서의 DMPK 발현의 변화를 나타내지 않았다 (도 5a 및 5b).

[0709] 이들 데이터는 DTX-C-008의 항-트랜스페린 수용체 항체가 생체내 마우스 모델에서 근육-특이적 조직 내로의 복합체의 세포 내재화를 가능하게 함으로써 DMPK ASO가 DMPK의 발현을 억제하도록 한다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 DTX-C-008 복합체가 근육 조직을 특이적으로 표적화할 수 있다는 것을 추가로 입증한다.

[0710] 실시예 4: 근육-표적화 복합체에 의한 마우스 근육 조직에서의 DMPK 표적화

[0711] 실시예 2에 기재된 근육-표적화 복합체인 RI7 217 Fab 항체-ASO 복합체 DTX-C-008을 마우스 조직에서의 DMPK의 용량-의존성 억제에 대해 시험하였다. C57BL/6 야생형 마우스에게 단일 용량의 비히클 대조군 (포스페이트-완충 염수, PBS), 네이키드 ASO300 (10 mg/kg의 ASO), DTX-C-008 (3 mg/kg 또는 10 mg/kg의 ASO, 여기서 3 mg/kg은 20 mg/kg 항체 접합체에 상응함) 또는 DTX-C-007 IgG2a Fab 항체-ASO 복합체 (3 mg/kg 또는 10 mg/kg의 ASO, 여기서 3 mg/kg은 20 mg/kg 항체 접합체에 상응함)를 정맥내로 주사하였다. 실시예 1에 기재된 바와 같은 DMPK ASO인 네이키드 ASO300을 대조군으로서 사용하였다. 각각의 실험 조건을 5마리의 개별 C57BL/6 야생형 마우스에서 반복하였다. 주사 후 7-일 기간 후에, 마우스를 안락사시키고, 단리된 조직 유형으로 절편화하였다. 개별 조직 샘플을 후속적으로 DMPK의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 6a-6f).

[0712] DTX-C-008 복합체로 처리된 마우스는 다양한 골격근 조직에서의 DMPK 발현의 감소를 나타냈다. 도 6a-6f에 제시된 바와 같이, DMPK 발현 수준은 비히클 대조군으로 처리된 마우스에 비해 전경골근 (각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg DTX-C-008에 대해 58% 및 75% 감소), 가자미근 (각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg DTX-C-008에 대해 55% 및 66% 감소), 장지신근 (EDL) (각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg DTX-C-008에 대해 52% 및 72% 감소), 비복근 (각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg DTX-C-008에 대해 55% 및 77% 감소), 심장 (각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg DTX-C-008에 대해 19% 및 35% 감소) 및 횡격막 (각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg DTX-C-008에 대해 53% 및 70% 감소) 조직에서 유의하게 감소하였다. 주목할 만하게, 모든 검정된 근육 조직 유형은 DMPK의 용량-의존성 억제를 겪었으며, 3 mg/kg 항체 접합체에 비해 10 mg/kg 항체 접합체에서 DMPK 수준의 보다 큰 감소를 가졌다.

[0713] 한편, 대조군 DTX-C-007 복합체로 처리된 마우스는 모든 검정된 근육 조직 유형에 대해 비히클 대조군 (DMPK 발현의 감소 없음)과 대등한 DMPK 발현 수준을 가졌다. 이들 데이터는 DTX-C-008의 항-트랜스페린 수용체 항체가 생체내 마우스 모델에서 근육-특이적 조직 내로의 복합체의 세포 내재화를 가능하게 함으로써 DMPK ASO가 DMPK의 발현을 억제하도록 한다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 DTX-C-008 복합체가 DMPK의 용량-의존성 억제를 위해 근육 조직을 특이적으로 표적화할 수 있다는 것을 추가로 입증한다.

[0714] 실시예 5: 근육-표적화 복합체에 의한 시노몰구스 원숭이 근육 조직에서의 DMPK 표적화

[0715] 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 대조군 ASO300을 포함하는 근육-표적화 복합체 (DTX-C-012)를 생성하고 정제하였다. DTX-C-012는 ASO300에 카텝신 절단가능한 Val-Cit 링커를 통해 공유 연결된 인간 항-트랜스페린 수용체 항체를 포함하는 복합체이다. DTX-C-012에서 사용된 항-TfR 항체는 시노몰구스 및 인간 TfR1과 교차-반응성이다. HIC-HPLC 정제 및 추가의 정제 후, 밀도측정법은 DTX-C-012가 1.32의 평균 ASO 대 항체 비를 가졌다는 것을 확인시켜 주었고, SDS-PAGE는 92.3%의 순도를 나타냈다.

[0716] DTX-C-012를 수컷 시노몰구스 원숭이 조직에서의 DMPK의 억제에 대해 시험하였다. 수컷 시노몰구스 원숭이 (19-31개월; 2-3 kg)에게 제0일에 단일 용량의 염수 대조군, 네이키드 ASO300 (10 mg/kg의 ASO) 또는 DTX-C-012 (10 mg/kg의 ASO)를 정맥내로 주사하였다. 각각의 실험 조건을 3마리의 개별 수컷 시노몰구스 원숭이에서 반복하였다. 주사 후 제7일에, 조직 생검 (근육 조직 포함)을 수집하였다. DMPK mRNA 발현 수준, ASO 검출 검정, 혈청 임상 화학, 조직 조직학, 임상 관찰 및 체중을 분석하였다. 원숭이를 제14일에 안락사시켰다.

[0717] DTX-C-012를 사용한 DMPK mRNA 발현의 유의한 녹다운 (KD)이 염수 대조군에 비해 가자미근, 심부 굴곡근 및 교근에서 각각 39% KD, 62% KD 및 41% KD로 관찰되었다 (도 7a-7c). DTX-C-012에 의한 DMPK mRNA 발현의 강건한 녹다운이 비복근 (62% KD; 도 7d), EDL (29% KD; 도 7e), 전경골근 (23% KD; 도 7f), 횡격막 (54% KD; 도 7g), 혀 (43% KD; 도 7h), 심장 근육 (36% KD; 도 7i), 사두근 (58% KD; 도 7j), 이두근 (51% KD; 도 7k) 및 삼각근 (47% KD; 도 71)에서 추가로 관찰되었다. 또한, 평활근에서의 DTX-C-012에 의한 DMPK mRNA 발현의 녹다운이 장에서도 관찰되었으며, 공장-십이지장 말단에서는 63% KD (도 8a) 및 회장에서는 70% KD (도 8b)가 관찰되었다. 주목할 만하게, 네이키드 DMPK ASO300 (즉, 근육-표적화제에 연결되지 않음)은 대부분의 검정된 근육 조직 유형에 대해 비히클 대조군 (즉, DMPK 발현의 감소가 거의 또는 전혀 없음)에 비해 DMPK 발현 수준에 대한 최소의 효과를 가졌다. DTX-C-012 복합체로 처리된 원숭이는 대부분의 비-근육 조직, 예컨대 신장, 뇌 및 비장 조직에서의 DMPK 발현의 변화를 나타내지 않았다 (도 9a-9d). 추가의 조직을 도 10에 도시된 바와 같이 검사하였으며, 이는 시노몰구스 원숭이에서의 여러 조직 유형에 걸친 정규화된 DMPK mRNA 조직 발현 수준을 보여준다. (N=3마리 수컷 시노몰구스 원숭이)

[0718] 안락사 전에, 모든 원숭이를 투여 후 제2일, 제7일 및 제14일에 망상적혈구 수준, 혈소판 수준, 헤모글로빈 발현, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 발현, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 발현 및 혈액 우레아 질소 (BUN) 수준에 대해 시험하였다. 도 12에 제시된 바와 같이, 항체-올리고뉴클레오티드 복합체가 투여된 원숭이는 실험 기간 전반에 걸쳐 정상 망상적혈구 수준, 혈소판 수준 및 헤모글로빈 발현을 가졌다. DTX-C-012가 투여된 원숭이는 또한 실험 기간 전반에 걸쳐 정상 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 발현, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 발현 및 혈액 우레아 질소 (BUN) 수준을 가졌다. 이들 데이터는 ASO300을 포함하는 복합체의 단일 용량이 시노몰구스 원숭이에서 안전하고 허용된다는 것을 보여준다.

[0719] 이들 데이터는 DTX-C-012 복합체의 항-트랜스페린 수용체 항체가 생체내 시노몰구스 원숭이 모델에서 근육-특이적 조직 내로의 복합체의 세포 내재화를 가능하게 함으로써 DMPK ASO (ASO300)가 DMPK의 발현을 억제하도록 한다는 것을 입증한다. 이들 데이터는 DTX-C-012 복합체가 비-근육 조직에 실질적으로 영향을 미치지 않으면서 DMPK의 용량-의존성 억제를 위해 근육 조직을 특이적으로 표적화할 수 있다는 것을 추가로 입증한다. 이는 네이키드 DMPK ASO300 (근육-표적화제에 연결되지 않음)이 생체내 시노몰구스 원숭이 모델의 근육 조직에서 DMPK의 발현을 억제하는 제한적 능력을 갖는 것과 직접적으로 대조된다.

[0720] 실시예 6: 근육-표적화 복합체에 의한 마우스 근육 조직에서의 DMPK 표적화

[0721] 실시예 2에 기재된 RI7 217 Fab 항체-ASO 근육-표적화 복합체인 DTX-C-008를 마우스 조직에서의 DMPK의 시간-의존성 억제에 대해 시험하였다. C57BL/6 야생형 마우스에게 단일 용량의 비히클 대조군 (염수), 네이키드 ASO300 (10 mg/kg의 ASO) 또는 DTX-C-008 (10 mg/kg의 ASO)을 정맥내로 주사하고, 표 13에 기재된 바와 같이 규정된 기간 후에 안락사시켰다. 안락사 후에, 마우스를 단리된 조직 유형으로 절편화하고, 조직 샘플을 후속적으로 DMPK의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 11a-11b).

[0722] 표 13. 실험 조건

군	투여	주사 후 안락사 전 일수	마우스의 수
1	비히클 (염수)	3일	3
2	비히클 (염수)	7일	3
3	비히클 (염수)	14일	3
4	비히클 (염수)	28일	3
5	ASO300	3일	3
6	ASO300	7일	3
7	ASO300	14일	3
8	ASO300	28일	3
9	DTX-C-008	3일	3
10	DTX-C-008	7일	3
11	DTX-C-008	14일	3
12	DTX-C-008	28일	3

[0723]

[0724] DTX-C-008 복합체로 처리된 마우스는 비히클에 비해 군 9-12 모두 (주사와 안락사 사이 3-28일)에 대해 비복근 (도 11a) 및 전경골근 (도 11b) 근육에서 DMPK 발현의 대략 50% 감소를 나타냈다. 네이키드 ASO300 올리고뉴클레오티드로 처리된 마우스는 DMPK 발현의 유의한 감소를 나타내지 않았다.

[0725] 이들 데이터는 DTX-C-008 복합체가 상기 DTX-C-008 복합체의 마우스 투여 후 최대 28일 동안 DMPK 발현의 지속적인 감소를 제공할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0726] 실시예 7: 불멸화 근모세포 내의 DMPK를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 평가

[0727] 인 실리코 분석을 사용하여 DMPK를 표적화하기 위한 236개의 올리고뉴클레오티드를 생성하였다. 각각의 개별 올리고뉴클레오티드를 2가지 용량 - 0.5 nM (저용량) 및 50 nM (고용량)에서 세포 내의 DMPK를 표적화하는 그의 능력에 대해 평가하였다.

[0728] 간략하게, DM1 C15 불멸화 근모세포를 T-75 플라스크에서 거의 전면생장률 (~80% 전면생장)까지 배양하였다. 이어서, 근육모세포를 트립신으로 파괴하고, 96-웰 마이크로플레이트에 50,000개 세포/웰의 밀도로 시딩하였다. 세포를 밤새 회복시킨 후, 성장 배지를 세척하고, 무혈청 배지로 교체하여 근관으로의 분화를 유도하였다. DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드에 의한 처리 전 7일 동안 분화를 진행하였다.

[0729] 분화의 유도 후 제7일에, DM1 C15 근관을 웰당 0.3 μL의 리포펙타민 메신저맥스를 사용하여 개별 올리고뉴클레오티드로 형질감염시켰다. 모든 올리고뉴클레오티드를 생물학적 삼중으로 0.5 nM 및 50 nM 최종 농도 둘 다에서 시험하였다. 올리고뉴클레오티드에 의한 처리 후에, 세포를 72시간 동안 인큐베이션한 다음 총 RNA를 위해 수거하였다. cDNA를 총 RNA 추출물로부터 합성하고, qPCR을 수행하여 기술적 사중으로 DMPK의 발현 수준을 결정하였다. 모든 qPCR 데이터를 전통적인 ΔΔCT 방법을 사용하여 분석하고, 비히클 대조군 (어떠한 올리고뉴클레오티드도 없는 0.3 μL/웰 리포펙타민 메신저맥스)으로 처리된 세포를 포함하는 플레이트-기반 음성 대조군에 대해 정규화하였다. 이들 실험으로부터의 결과가 표 8에 제시된다. 표 8에서 각각의 안티센스 올리고뉴클레오티드에 대한 '정규화된 나머지 DMPK'는 비히클 대조군으로 처리된 세포를 포함하는 음성 대조군에 비해 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드로 처리된 세포 내의 DMPK의 발현 수준을 지칭한다 (여기서 음성 대조군의 발현 수준은 1.00과 동일하게 정규화되었음).

[0730] 대다수의 시험된 DMPK-표적화 안티센스 올리고뉴클레오티드는 저용량 및 고용량 농도 (각각 0.5 nM 및 50 nM) 둘 다에서 분화된 근관 내의 DMPK 발현의 감소를 나타냈다. 이들 데이터는 표 8에 제시된 안티센스 올리고뉴클레오티드가 세포 내의 DMPK를 표적화할 수 있다는 것을 입증하며, 이는 이들 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 근육-표적화 복합체가 생체내 근육 조직에서의 DMPK를 표적화할 수 있을 것임을 시사한다.

[0731] 표 8. 세포 내 DMPK의 발현을 감소시키는 DMPK-표적화 안티센스 올리고뉴클레오티드의 능력

안티센스 올리고뉴클레오티드 서열	SEQ ID NO:	DMPK 표적 서열	SEQ ID NO:	0.5 nM		50 nM	
				정규화된 나머지 DMPK	퍼센트 DMPK 감소	정규화된 나머지 DMPK	퍼센트 DMPK 감소
GGACGGCCCG GCUUGCUGCC	148	GGCAGCAAGC CGGGCCGTCC	384	0.42	58.25	0.31	69.30
GGGCCCGGAU CACAGGACUG	149	CAGTCCTGTG ATCCGGGCCC	385	0.42	57.97	0.38	61.96
CAAACUUGCU CAGCAGUGUC	150	GACACTGCTG AGCAAGTTTG	386	0.69	31.45	0.46	53.93
AAACUUGCUC AGCAGUGUCA	151	TGACACTGCT GAGCAAGTTT	387	0.69	30.85	0.49	50.69
CGGAUGGCCU CCAUCUCCCG	152	CGGGAGATGG AGGCCATCCG	388	0.71	28.92	0.44	55.57
CUCGGCCGGA AUCCGCUCCC	153	GGGAGCGGAT TCCGGCCGAG	389	0.71	28.64	0.35	64.75
UCUCGGCCGG AAUCCGCUCC	154	GGAGCGGATT CCGGCCGAGA	390	0.72	27.88	0.33	67.46
UGCUCAGCAG UGUCAGCAGG	155	CCTGCTGACA CTGCTGAGCA	391	0.73	27.08	0.34	65.78
UUGUCGGGUU UGAUGUCCCU	156	AGGGACATCA AACCCGACAA	392	0.66	34.16	0.44	55.56
GUUGCGGGUU UGAUGUCCC	157	GGGACATCAA ACCCGACAAC	393	0.67	33.31	0.39	61.07
UCCGCCAGGU AGAAGCGCGC	158	GCGCGCTTCT ACCTGGCGGA	394	0.72	27.99	0.20	80.06
CAUGGCAUAC ACCUGGCCCG	159	CGGGCCAGGT GTATGCCATG	395	0.68	31.63	0.26	74.03
AACUUGCUCA GCAGUGUCAG	160	CTGACACTGC TGAGCAAGTT	396	0.80	19.81	0.47	52.64
CAGCUGCGUG AUCCACCGCC	161	GGCGGTGGAT CACGCAGCTG	397	0.81	19.03	0.32	68.34
CGAAUGUCCG ACAGUGUCUC	162	GAGACACTGT CGGACATTCG	398	0.60	40.21	0.36	64.42
GAAGUCGGCC AGGCGGAUGU	163	ACATCCGCCT GGCCGACTTC	399	0.82	18.36	0.56	44.04
UGUCGGGUUU GAUGUCCCUG	164	CAGGGACATC AAACCCGACA	400	0.70	30.09	0.32	68.14
GGAUGGCCUC CAUCUCCCGG	165	CCGGGAGATG GAGGCCATCC	401	0.75	24.93	0.39	60.77
AGGAUGUUGU CGGGUUUGAU	166	ATCAAACCCG ACAACATCCT	402	0.76	24.19	0.61	39.48
GUCGGGUUUG AUGUCCCUGU	167	ACAGGGACAT CAAACCCGAC	403	0.71	28.89	0.36	64.15
AAUACUCCAU GACCAGGUAC	168	GTACCTGGTC ATGGAGTATT	404	0.71	28.86	0.48	52.07
CUUGUUCAUG AUCUUCAUGG	169	CCATGAAGAT CATGAACAAG	405	0.84	16.06	0.51	49.47
UCAGUGCAUC CAAAACGUGG	170	CCACGTTTTGG ATGCACTGA	406	0.84	15.76	0.58	42.06
CUGUCCCGGA GACCAUCCCA	171	TGGGATGGTC TCCGGGACAG	407	0.64	35.85	0.49	50.78
GGGCCUGGGA CCUCACUGUC	172	GACAGTGAGG TCCCAGGCCC	408	0.63	37.19	0.23	76.81
CCCACGUAAU ACUCCAUGAC	173	GTCATGGAGT ATTACGTGGG	409	0.72	28.21	0.54	45.94
CUCUGCCGCA GGGACAGCCG	174	CGGCTGTCCCT GCGGCAGAG	410	0.63	37.09	0.06	93.59

[0732]

CUGUGCACGU AGCCAAGCCG	175	CGGCTTGGCT ACGTGCACAG	411	0.74	25.67	0.30	70.10
UGCCCAUCCA CGUCAGGGCC	176	GGCCCTGACG TGGATGGGCA	412	0.86	13.63	0.67	33.09
AGCGCCUCCG AUAGGCCAGG	177	CCTGGCCTATC GGAGGCGCT	413	0.79	21.19	0.38	61.91
UGUGCACGUA GCCAAGCCGG	178	CCGGCTTGGC TACGTGCACA	414	0.75	24.74	0.25	75.09
GACCAGGUAC AGGUAGUUCU	179	AGAACTACCT GTACCTGGTC	415	0.57	42.85	0.29	70.95
CCAUCUCGGC CGGAAUCCGC	180	GCGGATTCCG GCCGAGATGG	416	0.79	20.50	0.40	59.76
CAUCUCGGCC GGAAUCCGCU	181	AGCGGATTCC GGCCGAGATG	417	0.80	20.21	0.41	59.40
UUGCCAUAGG UCUCCGCCGU	182	ACGGCGGAGA CCTATGGCAA	418	0.64	36.30	0.40	60.12
ACAGCGGUCC AGCAGGAUGU	183	ACATCCTGCT GGACCGCTGT	419	0.80	19.94	0.45	55.14
AAAGCGCCUC CGAUAGGCCA	184	TGGCCTATCG GAGGCGCTTT	420	0.80	19.89	0.38	62.04
GCCAAAGAAG AAGGGAUGUG	185	CACATCCCTTC TTCTTTGGC	421	0.75	24.87	0.44	56.19
CACGUAAUAC UCCAUGACCA	186	TGGTCATGGA GTATTACGTG	422	0.76	24.40	0.54	46.50
AUCUCGGCCG GAAUCCGCUC	187	GAGCGGATTC CGGCCGAGAT	423	0.88	11.61	0.34	65.98
GCUUCAUCUU CACUACCGCU	188	AGCGGTAGTG AAGATGAAGC	424	0.69	31.44	0.48	51.78
GCCAUCUCGG CCGGAAUCCG	189	CGGATTCCGG CCGAGATGGC	425	0.81	18.56	0.14	86.39
CAGGGACAGC CGCUGGAACU	190	AGTTCCAGCG GCTGTCCCTG	426	0.68	32.09	0.41	58.84
AUGACAAUCU CCGCCAGGUA	191	TACCTGGCGG AGATTGTCAT	427	0.58	42.38	0.40	60.47
GGCCAUGACA AUCUCCGCCA	192	TGGCGGAGAT TGTCATGGCC	428	0.58	42.38	0.25	75.00
AUACUCCAUG ACCAGGUACA	193	TGTACCTGGTC ATGGAGTAT	429	0.77	23.07	0.43	56.84
GCCUCUGCCU CGCGUAGUUG	194	CAACTACGCG AGGCAGAGGC	430	0.65	35.38	0.19	81.18
GAAUGUCCGA CAGUGUCUCC	195	GGAGACACTG TCGGACATTC	431	0.70	30.09	0.37	63.41
CGUUCCAUCU GCCCGCAGCU	196	AGCTGCGGGC AGATGGAACG	432	0.66	33.74	0.31	68.72
CCUUGUAGUG GACGAUCUUG	197	CAAGATCGTC CACTACAAGG	433	0.83	17.20	0.34	65.91
AUCUCCGCCA GGUAGAAGCG	198	CGCTTCTACCT GGCGGAGAT	434	0.58	42.37	0.35	65.50
CUCAGGCUCU GCCGGGUGAG	199	CTCACCCGGC AGAGCCTGAG	435	0.70	30.13	0.37	63.07
UGCUUCAUCU UCACUACCGC	200	GCGGTAGTGA AGATGAAGCA	436	0.71	28.82	0.40	60.24
GCAGGAUGUU GUCGGGUUUG	201	CAAACCCGAC AACATCCTGC	437	0.56	44.39	0.22	78.03
GGCCUCAGCC UCUGCCGCAG	202	CTGCGGCAGA GGCTGAGGCC	438	0.80	20.12	0.29	71.28
UGUUGUCGGG UUUGAUGUCC	203	GGACATCAAA CCCGACAACA	439	0.79	21.00	0.58	42.19
CCACGUAAUA CUCCAUGACC	204	GGTCATGGAG TATTACGTGG	440	0.79	20.84	0.50	50.06

[0733]

[0734]

CCGUUCCAUC UGCCCGCAGC	205	GCTGCGGGCA GATGGAACGG	441	0.68	31.74	0.23	77.46
UUCCCGAGUA AGCAGGCAGA	206	TCTGCCTGCTT ACTCGGGAA	442	0.69	31.49	0.50	49.81
UGAUCUUCAU GGCAUACACC	207	GGTGTATGCC ATGAAGATCA	443	0.72	27.70	0.10	89.68
AGGGACAGCC GCUGGAACTG	208	CAGTTCCAGC GGCTGTCCCT	444	0.71	28.72	0.55	45.34
GGGUUUGAUG UCCCUGUGCA	209	TGCACAGGGA CATCAAACCC	445	0.60	40.12	0.37	62.61
UGACAAUCUC CGCCAGGUAG	210	CTACCTGGCG GAGATTGTCA	446	0.61	38.86	0.33	66.56
CACAGCGGUC CAGCAGGAUG	211	CATCCTGCTG GACCGCTGTG	447	0.93	6.62	0.40	59.58
GCGUAGAAGG GCGUCUGCCC	212	GGGCAGACGC CCTTCTACGC	448	0.60	39.53	0.22	77.91
CUCAGCCUCU GCCGCAGGGA	213	TCCCTGCGGC AGAGGCTGAG	449	0.82	17.86	0.20	79.58
GUCUCAGUGC AUCCAAAACG	214	CGTTTTGGATG CACTGAGAC	450	0.81	18.85	0.54	46.13
GGACGAUCUU GCCAUAGGUC	215	GACCTATGGC AAGATCGTCC	451	0.70	29.82	0.51	48.97
UCAGCAGUGU CAGCAGGUCC	216	GGACCTGCTG ACACTGCTGA	452	0.67	33.46	0.39	61.11
GCUCCUGGGC GGCGCCAGAC	217	GTCTGGCGCC GCCCAGGAGC	453	0.91	8.52	0.21	78.79
AGCAGGAUGU UGUCGGGUUU	218	AAACCCGACA ACATCCTGCT	454	0.59	41.05	0.26	74.02
AUCCGCUCCU GCAACUGCCG	219	CGGCAGTTGC AGGAGCGGAT	455	0.87	12.80	0.60	40.06
AGGAGCAGGG AAAGCGCCUC	220	GAGGCGCTTT CCCTGCTCCT	456	0.67	33.24	0.38	62.37
ACACCUGGCC CGUCUGCUUC	221	GAAGCAGACG GGCCAGGTGT	457	0.67	33.00	0.45	55.40
CCCAGCGCCC ACCAGUCACA	222	TGTGACTGGT GGGCGCTGGG	458	0.62	37.93	0.32	67.82
GCUCCCUCUG CCUGCAGCAA	223	TTGCTGCAGG CAGAGGGAGC	459	0.74	26.41	0.30	70.15
GCUCAGGCUC UGCCGGGUGA	224	TCACCCGGCA GAGCCTGAGC	460	0.74	25.69	0.39	60.71
UUGAUGUCCC UGUGCACGUA	225	TACGTGCACA GGGACATCAA	461	0.74	25.67	0.45	55.13
GCCUCAGCCU CUGCCGCAGG	226	CCTGCGGCAG AGGCTGAGGC	462	0.84	16.37	0.54	46.42
GGUAGUUCUC AUCCUGGAAG	227	CTTCCAGGAT GAGAACTACC	463	0.75	25.48	0.44	56.15
CAGCGCCCAC CAGUCACACU	228	AGTGTGACTG GTGGGCGCTG	464	0.63	37.28	0.35	64.93
CCCAAACUUG CUCAGCAGUG	229	CACTGCTGAG CAAGTTTGGG	465	0.63	37.02	0.38	61.78
CUUGCCAUAG GUCUCCGCCG	230	CGGCGGAGAC CTATGGCAAG	466	0.73	27.04	0.29	71.05
UACACCUGGC CCGUCUGCUU	231	AAGCAGACGG GCCAGGTGTA	467	0.69	31.10	0.43	57.43
CCAGCGCCCA CCAGUCACAC	232	GTGTGACTGG TGGGCGCTGG	468	0.64	36.17	0.29	70.96
GGCCUCAGCC UGGCCGAAAG	233	CTTTCGGCCA GGCTGAGGCC	469	0.86	14.49	0.35	64.80
AAUCUCCGCC AGGUAGAAGC	234	GCTTCTACCTG GCGGAGATT	470	0.64	35.85	0.35	65.27

[0735]

AUGGCAUACA CCUGGCCCGU	235	ACGGGCCAGG TGTATGCCAT	471	0.86	14.31	0.50	49.63
CCAUGACAAU CUCCGCCAGG	236	CCTGGCGGAG ATTGTCATGG	472	0.65	34.53	0.24	76.46
UCCCCAAACU UGCUCAGCAG	237	CTGCTGAGCA AGTTTGGGGA	473	0.94	5.73	0.55	44.67
GAUGUUGUCG GGUUUGAUGU	238	ACATCAAACC CGACAACATC	474	0.90	10.06	0.58	42.42
GUUUGCCCAU CCACGUCAGG	239	CCTGACGTGG ATGGGCAAAC	475	0.66	34.36	0.46	54.49
CGGACGGCCC GGCUUGCUGC	240	GCAGCAAGCC GGGCCGTCCG	476	0.95	5.42	0.70	30.41
CUCCGCCAGG UAGAAGCGCG	241	CGCGCTTCTAC CTGGCGGAG	477	0.70	30.22	0.22	78.14
GUACAGGUAG UUCUCAUCCU	242	AGGATGAGAA CTACCTGTAC	478	0.68	31.52	0.34	65.57
AGGGCGUCUG CCCAUAGAAC	243	GTTCTATGGG CAGACGCCCT	479	0.87	13.23	0.41	58.98
UGGCCACAGC GGUCCAGCAG	244	CTGCTGGACC GCTGTGGCCA	480	0.70	29.59	0.31	69.44
CGUAGUUGAC UGGCGAAGUU	245	AACTTCGCCA GTCAACTACG	481	0.75	25.26	0.38	61.52
UCUGCCGCAG GGACAGCCGC	246	GCGGCTGTCC CTGCGGCAGA	482	0.77	22.97	0.18	82.10
AAGCGCCUCC GAUAGGCCAG	247	CTGGCCTATC GGAGGCGCTT	483	0.91	8.91	0.56	43.93
GACAGAACAA CGGCGAACAG	248	CTGTTCGCCGT TGTTCTGTC	484	0.79	21.41	0.30	70.49
GCUCAGCAGU GUCAGCAGGU	249	ACCTGCTGAC ACTGCTGAGC	485	0.71	29.18	0.27	73.46
AUGAUCUUCA UGGCAUACAC	250	GTGTATGCCA TGAAGATCAT	486	0.87	12.76	0.60	39.97
UUUGCCCAUC CACGUCAGGG	251	CCCTGACGTG GATGGGCAAA	487	0.67	32.79	0.41	59.36
ACUUGCUCAG CAGUGUCAGC	252	GCTGACACTG CTGAGCAAGT	488	0.72	27.84	0.39	60.71
UGAUGUCCCU GUGCACGUAG	253	CTACGTGCAC AGGGACATCA	489	0.79	20.58	0.41	59.00
AAAUACCGAG GAAUGUCGGG	254	CCCGACATTC CTCGGTATTT	490	0.89	11.25	0.49	50.91
GGCGAAUACA CCCAGCGCCC	255	GGGCGCTGGG TGTATTCGCC	491	0.80	19.77	0.31	68.72
AGACAAUAAA UACCGAGGAA	256	TTCCTCGGTAT TTATTGTCT	492	0.71	29.37	0.52	48.20
CCCGUCUGCU UCAUCUUCAC	257	GTGAAGATGA AGCAGACGGG	493	0.80	20.31	0.56	43.97
CUGCCUGCAG CAACUCCAUC	258	GATGGAGTTG CTGCAGGCAG	494	0.77	23.10	0.53	46.69
CCUCAGCCUC UGCCGCAGGG	259	CCCTGCGGCA GAGGCTGAGG	495	0.89	10.87	0.45	55.22
GUGUCCGGAA GUCGCCUGCU	260	AGCAGGCGAC TTCCGGACAC	496	0.77	22.99	0.26	73.65
UGCACGUGUG GCUCAAGCAG	261	CTGCTTGAGC CACACGTGCA	497	0.89	10.81	0.36	64.18
GACAAUAAAU ACCGAGGAAU	262	ATTCCTCGGTA TTTATTGTC	498	0.71	28.97	0.52	47.51
GCCAUGACAA UCUCCGCCAG	263	CTGGCGGAGA TTGTCATGGC	499	0.69	30.96	0.19	81.00
GCUGUCCCGG AGACCAUCCC	264	GGGATGGTCT CCGGGACAGC	500	0.77	22.57	0.34	66.27

CAUGACCAGG UACAGGUAGU	265	ACTACCTGTA CCTGGTCATG	501	0.81	19.39	0.41	59.09
AGCGCCCACC AGUCACACUC	266	GAGTGTGACT GGTGGGCGCT	502	0.70	30.36	0.36	63.67
UCUCAGUGCA UCCAAAACGU	267	ACGTTTTGGAT GCACTGAGA	503	0.89	10.88	0.49	51.34
UUUGGGCAGA UGGAGGGCCU	268	AGGCCCTCCA TCTGCCCAAA	504	0.65	35.14	0.30	70.00
GAUGUCCCUG UGCACGUAGC	269	GCTACGTGCA CAGGGACATC	505	0.81	18.99	0.38	62.46
CAGCAGUGUC AGCAGGUCCC	270	GGGACCTGCT GACACTGCTG	506	0.74	25.67	0.48	51.97
CAUGACAAUC UCCGCCAGGU	271	ACCTGGCGGA GATTGTCATG	507	0.71	29.45	0.29	70.52
ACUUGUUCAU GAUCUUCAUG	272	CATGAAGATC ATGAACAAGT	508	0.75	25.47	0.47	52.89
GUGGAAUCCG CGUAGAAGGG	273	CCCTTCTACGC GGATTCCAC	509	0.69	30.55	0.51	49.34
UGGCCAUGAC AAUCUCCGCC	274	GGCGGAGATT GTCATGGCCA	510	0.70	30.46	0.27	72.55
GGGACAGACA AUAAAUACCG	275	CGGTATTTATT GTCTGTCCC	511	0.73	27.19	0.49	50.50
CCGCUCCCCA AACUUGCUCA	276	TGAGCAAGTT TGGGGAGCGG	512	1.00	0.28	0.43	56.82
CGGCUCAGGC UCUGCCGGGU	277	ACCCGGCAGA GCCTGAGCCG	513	0.82	17.97	0.31	69.03
GGCUCCUGGG CGGCGCCAGA	278	TCTGGCGCCG CCCAGGAGCC	514	1.00	0.05	0.04	96.23
UUUCCCGAGU AAGCAGGCAG	279	CTGCCTGCTTA CTCGGGAAA	515	0.79	20.69	0.55	44.89
GGAUGUUGUC GGGUUUGAUG	280	CATCAAACCC GACAACATCC	516	0.96	4.26	0.59	40.81
CAGGUAGUUC UCAUCCUGGA	281	TCCAGGATGA GAACTACCTG	517	0.74	25.92	0.23	76.71
UGCCCAUAGA ACAUUUCAUA	282	TATGAAATGT TCTATGGGCA	518	0.92	7.67	0.65	34.56
UAGUUCUCAU CCUGGAAGGC	283	GCCTTCCAGG ATGAGAACTA	519	0.83	16.83	0.56	43.88
AUGUCCCUGU GCACGUAGCC	284	GGCTACGTGC ACAGGGACAT	520	0.83	16.78	0.51	49.29
CGGGCCCGGA UCACAGGACU	285	AGTCCTGTGA TCCGGGCCCG	521	0.83	17.45	0.33	67.11
UGGACGAUCU UGCCAUAGGU	286	ACCTATGGCA AGATCGTCCA	522	0.81	19.20	0.57	42.52
GUUGGCCGGC GUGGGCCACC	287	GGTGGCCCAC GCCGGCCAAC	523	1.02	-1.82	0.56	43.57
CUCAGUGCAU CCAAAACGUG	288	CACGTTTTGG ATGCACTGAG	524	0.92	7.65	0.46	54.26
UCGAAGUUGC AUGUGUCGGU	289	ACCGACACAT GCAACTTCGA	525	0.77	22.96	0.42	58.15
UGGAACACGG ACGGCCCGGC	290	GCCGGGCCGT CCGTGTTCCA	526	1.02	-1.90	0.39	60.96
CCGAGAGCAG CGCAAGUGAG	291	CTCACTTGCGC TGCTCTCGG	527	0.84	16.13	0.59	40.93
UCCUGCAACU GCCGGACGUG	292	CACGTCCGGC AGTTGCAGGA	528	0.84	16.06	0.55	44.61
UCACCAACAC GUCCCUCUCC	293	GGAGAGGGAC GTGTTGGTGA	529	0.53	47.12	0.16	84.09
UGCCUGCAGC AACUCCAUCC	294	GGATGGAGTT GCTGCAGGCA	530	0.86	13.99	0.50	49.75

[0736]

[0737]

UUGGCCGGCG UGGGCCACCA	295	TGGTGGCCCA CGCCGGCCAA	531	1.03	-3.19	0.56	44.37
GAGCCUCUGC CUCGCGUAGU	296	ACTACGCGAG GCAGAGGCTC	532	0.81	18.77	0.22	77.78
AAGGGCGUCU GCCCAUAGAA	297	TTCTATGGGC AGACGCCCTT	533	0.87	13.15	0.65	34.56
ACAGACAAUA AAUACCGAGG	298	CCTCGGTATTT ATTGTCTGT	534	1.04	-3.95	0.26	74.02
GGACAGACAA UAAAUACCGA	299	TCGGTATTTAT TGTCTGTCC	535	0.77	22.57	0.47	52.51
ACGUGUGCCU CUAGGUCCCG	300	CGGGACCTAG AGGCACACGT	536	0.84	16.47	0.22	77.73
GGCACGAGAC AGAACAACGG	301	CCGTTGTTCTG TCTCGTGCC	537	0.84	16.10	0.32	68.01
UGACCAGGUA CAGGUAGUUC	302	GAACTACCTG TACCTGGTCA	538	0.78	22.00	0.36	63.73
CUCUGCCGGG UGAGCACCUC	303	GAGGTGCTCA CCCGGCAGAG	539	0.75	25.25	0.26	74.36
GACAAUCUCC GCCAGGUAGA	304	TCTACCTGGC GGAGATTGTC	540	0.76	23.70	0.50	49.82
UCUCCGCCAG GUAGAAGCGC	305	GCGCTTCTACC TGGCGGAGA	541	0.80	19.59	0.33	66.52
CUCUGCCUCG CGUAGUUGAC	306	GTCAACTACG CGAGGCAGAG	542	0.83	16.61	0.09	91.21
CUUUGGGCAG AUGGAGGGCC	307	GGCCCTCCAT CTGCCCAAAG	543	0.72	28.06	0.33	67.50
ACAGGUAGUU CUCAUCCUGG	308	CCAGGATGAG AACTACCTGT	544	0.79	20.51	0.15	85.36
CCAAACUUGC TCAGCAGUGU	309	ACACTGCTGA GCAAGTTTGG	545	0.76	23.64	0.42	57.70
UCGGGUUUGA UGUCCCUGUG	310	CACAGGGACA TCAAACCCGA	546	0.78	22.49	0.43	57.16
GGCUUGCUGC CUUCCCAGGC	311	GCCTGGGAAG GCAGCAAGCC	547	1.06	-6.32	0.52	48.15
UACAGGUAGU UCUCAUCCUG	312	CAGGATGAGA ACTACCTGTA	548	0.80	19.83	0.27	72.51
UUGCCCAUCC ACGUCAGGGC	313	GCCCTGACGT GGATGGGCAA	549	0.78	22.23	0.33	67.15
AGGUACAGGU AGUUCUCAUC	314	GATGAGAACT ACCTGTACCT	550	0.81	18.68	0.41	58.92
GACAGACAAU AAAUACCGAG	315	CTCGGTATTTA TTGTCTGTC	551	0.82	18.26	0.62	38.07
UAGAACAUUU CAUAGGCGAA	316	TTCGCCTATGA AATGTTCTA	552	0.80	20.23	0.56	43.67
AGGGCCUUUU AUUCGCGAGG	317	CCTCGCGAAT AAAAGGCCCT	553	0.86	13.63	0.34	66.43
GCCUCGCGUA GUUGACUGGC	318	GCCAGTCAAC TACGCGAGGC	554	0.87	12.98	0.09	91.10
CCAGCAGGAU GUUGUCGGGU	319	ACCCGACAAC ATCCTGCTGG	555	0.60	40.29	0.10	89.59
GUAGUUGACU GGCGAAGUUC	320	GAACTTCGCC AGTCAACTAC	556	0.93	7.50	0.55	45.33
UGCGGAUGGC CUCCAUCUCC	321	GGAGATGGAG GCCATCCGCA	557	0.60	40.15	0.16	84.43
ACAAUCUCCG CCAGGUAGAA	322	TTCTACCTGGC GGAGATTGT	558	0.81	19.09	0.50	49.75
GCGAAUACAC CCAGCGCCCA	323	TGGGCGCTGG GTGTATTCGC	559	0.93	6.94	0.30	69.72
GUAGUUCUCA UCCUGGAAGG	324	CCTTCCAGGA TGAGAACTAC	560	0.93	7.43	0.45	55.09

GGCUCAGGCU CUGCCGGGUG	325	CACCCGGCAG AGCCTGAGCC	561	0.93	7.38	0.34	65.82
CCAUUCACCA ACACGUCCCU	326	AGGGACGTGT TGGTGAATGG	562	0.61	39.26	0.13	86.83
ACCAGGUACA GGUAGUUCUC	327	GAGAACTACC TGTACCTGGT	563	0.84	16.09	0.23	76.96
CTGCAGUUUG CCCAUCCACG	328	CGTGGATGGG CAAACTGCAG	564	1.11	-10.69	0.40	60.08
UUGUUCAUGA UCUUCAUGGC	329	GCCATGAAGA TCATGAACAA	565	0.86	14.13	0.55	45.23
UUGAUGUCCC UGUGCACGU	330	ACGTGCACAG GGACATCAAA	566	0.93	6.92	0.57	43.07
GCGGUCCAGC AGGAUGUUGU	331	ACAACATCCT GCTGGACCGC	567	0.61	38.84	0.16	83.64
GUCUAUGGCC AUGACAAUCU	332	AGATTGTCAT GGCCATAGAC	568	1.11	-11.00	0.27	73.11
GGAGCAGGGA AAGCGCCUCC	333	GGAGGCGCTT TCCCTGCTCC	569	0.79	21.46	0.12	88.35
UGCCUCGCGU AGUUGACUGG	334	CCAGTCAACT ACGCGAGGCA	570	0.89	11.03	0.12	88.02
GCGGAUGGCC UCCAUCUCCC	335	GGGAGATGGA GGCCATCCGC	571	0.79	21.25	0.28	71.77
UUUCAUAGGC GAAUACACCC	336	GGGTGTATTC GCCTATGAAA	572	0.94	5.56	0.47	53.28
GCCUGUCAGC GAGUCGGAGG	337	CCTCCGACTC GCTGACAGGC	573	0.89	10.81	0.24	75.67
CCACUUCAGC UGUUUCAUCC	338	GGATGAAACA GCTGAAGTGG	574	0.78	22.40	0.36	64.20
CAUCCGCUCC UGCAACUGCC	339	GGCAGTTGCA GGAGCGGATG	575	0.79	21.04	0.23	76.81
UCUAGGGUUC AGGGAGCGCG	340	CGCGCTCCCT GAACCCTAGA	576	0.78	21.81	0.17	83.22
CACCAACACG UCCCUCUCCU	341	AGGAGAGGGA CGTGTTGGTG	577	0.62	37.51	0.18	81.57
CAGGAGCAGG GAAAGCGCCU	342	AGGCGCTTTC CCTGCTCCTG	578	0.88	12.48	0.48	51.82
CAAUCUCCGC CAGGUAGAAG	343	CTTCTACCTGG CGGAGATTG	579	0.84	15.95	0.51	49.25
AUGUUGUCGG GUUUGAUGUC	344	GACATCAAAC CCGACAACAT	580	0.83	16.93	0.47	52.83
CCAUCCGCUC CUGCAACUGC	345	GCAGTTGCAG GAGCGGATGG	581	0.80	19.53	0.28	71.62
GCGUCACCUC GGCCUCAGCC	346	GGCTGAGGCC GAGGTGACGC	582	0.80	20.02	0.19	81.27
GAGGGCCUUU UAUUCGCGAG	347	CTCGCGAATA AAAGGCCCTC	583	0.92	8.23	0.38	62.21
AGCGGCAGAG AGAGGUGCUC	348	GAGCACCTCT CTCTGCCGCT	584	0.80	19.75	0.09	90.71
CAUCCAAAAC GUGGAUUGGG	349	CCCAATCCAC GTTTTGGATG	585	0.81	19.12	0.22	77.98
UUGGGCAGAU GGAGGGCCUU	350	AAGGCCCTCC ATCTGCCCAA	586	0.81	19.08	0.22	78.39
CCUCUGCCUC GCGUAGUUGA	351	TCAACTACGC GAGGCAGAGG	587	0.93	7.39	0.15	85.33
ACAGAACAAC GGCGAACAGG	352	CCTGTTCGCCG TTGTTCTGT	588	0.98	2.07	0.44	55.96
CAGGAUGUUG UCGGGUUUGA	353	TCAAACCCGA CAACATCCTG	589	0.83	17.17	0.21	79.31
CGGCCUCAGC CUCUGCCGCA	354	TGCGGCAGAG GCTGAGGCCG	590	0.93	6.71	0.40	60.06

[0738]

CAGCAGGAUG UUGUCGGGUU	355	AACCCGACAA CATCCTGCTG	591	0.66	34.18	0.15	84.54
GCAGAGAGAG GUGCUCCUUG	356	CAAGGAGCAC CTCTCTCTGC	592	0.83	17.29	0.14	85.95
UCCAGUUCCA UGGGUGUGGG	357	CCCACACCCA TGGAACTGGA	593	0.84	15.66	0.22	78.48
CCUCAGCCUG GCCGAAAGAA	358	TTCTTTCGGCC AGGCTGAGG	594	0.83	16.83	0.36	63.99
GGGCCUUUUA UUCGCGAGGG	359	CCCTCGCGAA TAAAAGGCCC	595	0.95	5.11	0.49	50.65
GUCGGCCAGG CGGAUGUGGC	360	GCCACATCCG CCTGGCCGAC	596	0.85	15.35	0.25	74.59
GCUUGCUGCC UUCCCAGGCC	361	GGCCTGGGAA GGCAGCAAGC	597	0.99	1.14	0.19	81.01
GGUCCAGCAG GAUGUUGUCG	362	CGACAACATC CTGCTGGACC	598	0.68	31.78	0.20	79.93
CGGAGACCAU CCCAGUCGAG	363	CTCGACTGGG ATGGTCTCCG	599	0.86	14.08	0.20	79.93
UCUGCCUCGC GUAGUGACU	364	AGTCAACTAC GCGAGGCAGA	600	0.96	3.53	0.13	86.86
AGGUAGUUCU CAUCCUGGAA	365	TTCCAGGATG AGAACTACCT	601	0.93	7.36	0.37	62.62
UCCUUGUAGU GGACGAUCUU	366	AAGATCGTCC ACTACAAGGA	602	0.87	12.96	0.15	84.87
GCAUCCAAAA CGUGGAUUGG	367	CCAATCCACG TTTTGGATGC	603	0.97	2.54	0.27	72.69
GUCCAGCAGG AUGUGUCGG	368	CCGACAACAT CCTGCTGGAC	604	0.70	30.00	0.17	82.64
AGCUCCCGCA GCGUCACCUC	369	GAGGTGACGC TGCGGGAGCT	605	0.86	13.72	0.20	80.40
CGAGAGCAGC GCAAGUGAGG	370	CCTCACTTGCG CTGCTCTCG	606	1.02	-2.19	0.63	37.11
CAGGGAAAGC GCCUCCGAUA	371	TATCGGAGGC GCTTTCCCTG	607	0.89	11.10	0.08	91.59
AUUUCAUAGG CGAAUACACC	372	GGTGTATTCG CCTATGAAAT	608	1.05	-4.54	0.56	44.15
UCGGCCAGGC GGAUGUGGCC	373	GGCCACATCC GCCTGGCCGA	609	0.73	26.53	0.17	83.04
AAGGGAUGUG UCCGGAAGUC	374	GACTTCCGGA CACATCCCTT	610	0.90	10.37	0.26	73.52
CUUGUAGUGG ACGAUCUUGC	375	GCAAGATCGT CCACTACAAG	611	0.76	24.09	0.11	89.16
AGUCGGCCAG GCGGAUGUGG	376	CCACATCCGC CTGGCCGACT	612	0.94	6.15	0.33	67.44
GCCUCAGCCU GGCCGAAAGA	377	TCTTTCGGCCA GGCTGAGGC	613	1.05	-4.82	0.37	63.11
AGCGUCACCU CGGCCUCAGC	378	GCTGAGGCCG AGGTGACGCT	614	0.78	22.10	0.35	64.70
CAGCGGCAGA GAGAGGUGCT	379	AGCACCTCTCT CTGCCGCTG	615	0.96	4.49	0.14	86.00
CCAGCGGCAG AGAGAGGUGC	380	GCACCTCTCTC TGCCGCTGG	616	0.97	3.23	0.15	84.55
UUGUAGUGGA CGAUCUUGCC	381	GGCAAGATCG TCCACTACAA	617	0.83	17.22	0.19	81.05
AGGGAAAGCG CCUCCGAUAG	382	CTATCGGAGG CGCTTTCCCT	618	1.01	-1.12	0.25	75.50
GGGAAAGCGC CUCCGAUAGG	383	CCTATCGGAG GCGCTTTCCC	619	0.90	10.02	0.23	76.79

[0739]

[0740] 실시예 8: 선택된 안티센스 올리고뉴클레오티드는 불멸화 근모세포에서 DMPK 발현의 용량-의존성 감소를 제공하였다

[0741] 실시예 7로부터의 18종의 올리고뉴클레오티드를, DMPK 발현을 용량-반응성 방식으로 감소시키는 그의 능력에 대해 평가하기 위해 선택하였다. DM1 C15 근모세포를 실시예 7에서와 같이 준비하여 96-웰 마이크로플레이트에서 분화된 근관을 수득하였다. 분화 7일 후에, 세포를 리포펙타민 메신저맥스를 사용하여 개별 올리고뉴클레오티드로 형질감염시켰다. 각각의 올리고뉴클레오티드를 삼중으로 웰당 0.3 μL의 리포펙타민 메신저맥스를 사용하여 3배 연속 희석에 의해 0.046 nM, 0.137 nM, 0.412 nM, 1.235 nM, 3.704 nM, 11.11 nM, 33.33 nM 및 100 nM의 농도에서 시험하였다.

[0742] 올리고뉴클레오티드의 첨가 후에, 세포를 72시간 동안 인큐베이션한 다음 총 RNA를 위해 수거하였다. cDNA를 총 RNA 추출물로부터 합성하고, 기술적 사중으로 상업적으로 입수가능한 택맨 프로브세트를 사용하여 qPCR을 수행함으로써 DMPK의 발현 수준을 결정하였다. 모든 qPCR 데이터를 전통적인 ΔΔCT 방법을 사용하여 분석하고, 비히클 대조군 (어떠한 올리고뉴클레오티드도 없는 0.3 μL/웰 리포펙타민 메신저맥스)으로 처리된 세포로 구성된 플레이트-기반 음성 대조군에 대해 정규화하였다. 각각의 올리고뉴클레오티드에 대한 데이터를 S자형 곡선에 피팅하여 반수-최대 반응을 제공한 각각의 올리고뉴클레오티드의 유효 농도 (EC-50)를 결정하였다. 이들 실험으로부터의 결과가 표 9에 제시된다.

[0743] 용량-의존성 실험을 위해 선택된 18종의 안티센스 올리고뉴클레오티드 각각은 분화된 근관에서 DMPK를 용량-의

존성으로 감소시킬 수 있었다. 추가로, 각각의 시험된 안티센스 올리고뉴클레오티드는 25 nM 미만의 EC-50 값으로 DMPK를 감소시켰다. 예를 들어, 서열식별번호: 264, 215, 222, 190 및 212를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드는 각각 3.27 nM, 3.59 nM, 5.45 nM, 6.04 nM 및 24.59 nM의 EC-50 값을 생성하였다. 이들 데이터는 표 9에 제시된 안티센스 올리고뉴클레오티드가 세포에서 DMPK를 용량-의존성으로 감소시킬 수 있다는 것을 입증하며, 이는 이들 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 근육-표적화 복합체가 생체내 근육 조직에서의 DMPK를 표적화할 수 있을 것임을 시사한다.

[0744] 표 9. 세포에서 DMPK의 발현을 용량-의존성 방식으로 감소시키는 DMPK-표적화 안티센스 올리고뉴클레오티드의 능력

안티센스 올리고뉴클레오티드 서열	SEQ ID NO:	DMPK 표적 서열	SEQ ID NO:	결과	
				EC-50 (nM)	100 nM에서의 퍼센트 DMPK 감소
GCAGGAUGUUGUCGGGUUUG	201	CAAACCCGACAACATCCTGC	437	0.1679	89.77
AGCAGGAUGUUGUCGGGUUU	218	AAACCCGACAACATCCTGCT	454	0.2266	85.81
GCGUAGAAGGGCGUCUGCCC	212	GGGCAGACGCCCTTCTACGC	448	24.59	95.13
CCCAGCGCCCACCAGUCACA	222	TGTGACTGGTGGGCGCTGGG	458	5.454	63.69
CCAUCUCGGCCGGAAUCCGC	180	GCGGATTCCGGCCGAGATGG	416	0.44	95.42
CGUUCCAUCUGCCCGCAGCU	196	AGCTGCGGGCAGATGGAACG	432	0.19	89.97
CAGGGACAGCCGCUGGAACU	190	AGTTCCAGCGGCTGTCCCTG	426	6.04	90.59
CAUGGCAUACACCUGGCCCG	159	CGGGCCAGGTGTATGCCATG	395	0.42	75.28
GCUUCAUCUUCACUACCGCU	188	AGCGGTAGTGAAGATGAAGC	424	0.03	64.06
GAAUGUCCGACAGUGUCUCC	195	GGAGACACTGTCGGACATTC	431	0.07	97.23
GGACGAUCUUGCCAUAGGUC	215	GACCTATGGCAAGATCGTCC	451	3.59	92.18
GCUGUCCCGGAGACCAUCCC	264	GGGATGGTCTCCGGGACAGC	500	3.27	93.07
GACAGAACAACGGCGAACAG	248	CTGTTCGCCGTTGTTCTGTC	484	0.08	94.32
UGUUGUCGGGUUUGAUGUCC	203	GGACATCAAACCCGACAACA	439	0.21	93.95
CGAAUGUCCGACAGUGUCUC	162	GAGACACTGTCGGACATTCG	398	0.18	95.93
GGGCCUGGGACCUCACUGUC	172	GACAGTGAGGTCCCAGGCCC	408	0.07	90.58
CUCUGCCGCAGGGACAGCCG	174	CGGCTGTCCCTGCGGCAGAG	410	0.42	93.66
UUGCCAUAGGUCUCCGCCGU	182	ACGGCGGAGACCTATGGCAA	418	0.37	93.70

[0745]

[0746] 실시예 9: 근육-표적화 복합체에 의한 마우스 근육 조직에서의 DMPK 표적화

[0747] 실시예 2에 기재된 RI7 217 Fab 항체-ASO 근육-표적화 복합체인 DTX-C-008를 생체내 마우스 조직에서의 DMPK의 시간-의존성 억제에 대해 시험하였다. C57BL/6 야생형 마우스에게 단일 용량의 비히클 대조군 (포스페이트-완충 염수 (PBS)), 네이키드 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO300) (10 mg/kg의 ASO), DTX-C-007 IgG2a Fab 항체-ASO 대조군 복합체 (10 mg/kg의 ASO) 또는 DTX-C-008 (10 mg/kg의 ASO)을 제0일에 정맥내로 주사하고, 표 10에 기재된 바와 같이 규정된 기간 후에 안락사시켰다. 각각의 실험 조건에서 1개의 마우스 군을 4주 (제28일)에 제2 용량 (다중-용량 군)에 적용하였다. 안락사 후에, 마우스를 단리된 조직 유형으로 절편화하고, 전경골근 및 비복근 근육 조직의 샘플을 후속적으로 DMPK의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 13a-13b).

[0748] 표 10. 실험 조건

군	투여	주사 후 안락사 전 주수	마우스의 수
1	단일 용량의 비히클 (PBS)	2	5
2	단일 용량의 비히클 (PBS)	4	5
3	단일 용량의 비히클 (PBS)	8	3
4	다중 용량의 비히클 (PBS)	8	2
5	단일 용량의 비히클 (PBS)	12	5
6	단일 용량의 ASO300	2	5
7	단일 용량의 ASO300	4	5
8	단일 용량의 ASO300	8	5
9	다중 용량의 ASO300	8	5
10	단일 용량의 ASO300	12	5
11	단일 용량의 DTX-C-007 대조군	2	5
12	단일 용량의 DTX-C-007 대조군	4	5
13	단일 용량의 DTX-C-007 대조군	8	5
14	다중 용량의 DTX-C-007 대조군	8	5
15	단일 용량의 DTX-C-007 대조군	12	5
16	단일 용량의 DTX-C-008	2	5
17	단일 용량의 DTX-C-008	4	5
18	단일 용량의 DTX-C-008	8	5
19	다중 용량의 DTX-C-008	8	5
20	단일 용량의 DTX-C-008	12	5

[0749]

[0750] RI7 217 Fab 항체-ASO DTX-C-008 복합체로 처리된 마우스는 비히클에 비해 군 16-20 모두 (주사와 안락사 사이 2-12주)에 대해 전경골근에서 DMPK 발현의 약 50-60% 감소 (도 13a) 및 비복근에서 DMPK 발현의 약 30-50% 감소 (도 13b)를 나타냈다. 이들 데이터는 단일 용량의 근육-표적화 복합체 DTX-C-008이 복합체의 투여 후 적어도 12주 동안 DMPK의 발현을 억제한다는 것을 보여준다.

[0751] 대조적으로, 네이키드 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 대조군 복합체로 처리된 마우스는 모든 실험군 및 조직에 걸쳐 DMPK 발현의 유의한 억제를 나타내지 않았다.

[0752] 이들 데이터는 본원에 기재된 바와 같은 근육-표적화 복합체가 상기 근육 표적화 복합체의 단일 용량 또는 투여 후 최대 12주 동안 생체내 DMPK 발현의 지속적인 억제를 제공할 수 있다는 것을 입증한다.

[0753] 실시예 10: 근육-표적화 복합체는 핵에서의 유전자 발현을 표적화할 수 있다

[0754] 실시예 2에 기재된 바와 같은 RI7 217 Fab 항체-ASO 근육-표적화 복합체인 DTX-C-008을 마우스 근육 조직에서의 핵-보유 DMPK RNA의 억제에 대해 시험하였다. 이 실시예에 사용된 마우스는 인간 돌연변이체 DMPK 유전자 (도 14a에 제시된 개략도) - 350개의 CTG 반복 영역 및 하류 C를 G로의(G-for-C) 단일-뉴클레오티드 다형성을 갖는 DMPK를 발현하도록 조작되었다. 도 14a에 제시된 바와 같이, 인간 돌연변이 DMPK RNA는 핵에 보유되는 반면, 마우스 야생형 DMPK RNA는 세포질 및 핵에 위치한다.

[0755] 마우스에게 단일 용량의 비히클 대조군 (염수), IgG2a Fab-ASO 대조군 복합체 DTX-C-007 (10 mg/kg의 ASO), 네이키드 ASO300 (10 mg/kg의 ASO) 또는 DTX-C-008 (10 mg/kg의 ASO)을 정맥내로 주사하고, 14일 후에 안락사시켰다. 6마리의 마우스를 각각의 실험 조건에서 처리하였다. 안락사 후에, 마우스를 단리된 조직 유형으로 절편화하고, 조직 샘플을 후속적으로 돌연변이 및 야생형 DMPK의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 14b).

[0756] RI7 217 Fab 항체-ASO 근육-표적화 복합체 DTX-C-008로 처리된 마우스는 핵-보유된 돌연변이 DMPK 및 야생형 DMPK 둘 다에서 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다. (p-값 <0.05). 이들 데이터는 본원에 기재된 바와 같은 근육-표적화 복합체가 핵에서 DMPK를 표적화할 수 있다는 것을 입증한다.

[0757] 실시예 11: 근육-표적화 복합체는 HSA^{LR} 마우스 모델에서 근긴장증을 역전시킨다

[0758] 항-트랜스페린 수용체 항체인 DTX-A-002 (RI7 217 (Fab))에 공유 연결된 액틴을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO)를 포함하는 근육-표적화 복합체 (DTX-액틴)를 생성하였다.

[0759] 액틴-표적화 ASO는 5'-NH_2-$(CH_2)_6$-dA*oC*oC*oA*oT*oT*dT*dT*dC*dT*dT*dC*dC*dA*dC*dA*oG*oG*oG*oC*oT-3 (서열식별번호: 620)을 포함하는 MOE 5-10-5 갭머이며; 여기서 '*'는 PS 연결을 나타내고; 'd'는 데옥시핵산을 나타내고; 'o'는 2'-MOE를 나타낸다.

[0760] 이어서, DTX-액틴을, 인간 DM1 환자에서 관찰된 것과 유사한 기능적 근긴장증 표현형을 갖는 마우스 모델인 HSA^{LR} 마우스에서 표적 유전자 발현 (hACTA1)을 감소시키고 근긴장증을 감소시키는 그의 능력에 대해 시험하였다. HSA^{LR} 마우스 모델의 세부사항은 문헌 [Mankodi, A. et al. Science. 289:1769, 2000]에 기재된 바와 같다. HSA^{LR} 마우스에게 단일 용량의 PBS 또는 DTX-액틴 (10 mg/kg 또는 20 mg/kg ASO 등가량)을 정맥내로 주사하였다. 이들 3가지 실험 조건 각각을 2마리의 개별 마우스에서 반복하였다. 주사 후 제14일에, 마우스를 안락사시키고, 특정 근육을 수집하였다 - 사두근 (quad), 비복근 (gastroc) 및 전경골근 (TA). 근육 조직을 hACTA1의 발현에 대해 분석하였다. DTX-액틴은 비히클 대조군에 비해 모든 3개의 근육 조직에서 hACTA1 발현의 감소를 나타냈다 (도 15a).

[0761] 주사 후 제14일에 및 상기 기재된 안락사 및 조직 수집 전에, 근전도검사 (EMG)를 특정 근육에 대해 수행하였다. EMG 근긴장성 방전을 맹검 검사자가 4-점 척도로 등급화하였다: 0, 근긴장증 없음; 1, 바늘 삽입의 50% 미만에서의 가끔의 근긴장성 방전; 2, 바늘 삽입의 50% 초과에서의 근긴장성 방전; 및 3: 거의 모든 삽입에서의 근긴장성 방전. DTX-액틴은 비히클 대조군에 비해 모든 3개의 근육 조직에서 등급화된 근긴장증의 감소를 나타냈다 (도 15b). 20 mg/kg ASO 등가 용량의 DTX-액틴으로 처리된 마우스는 사두근 및 비복근에서 근긴장증을 거의 내지 전혀 나타내지 않았다.

[0762] 이들 데이터는 단일 용량의 근육-표적화 복합체가 인간 DM1 환자에서 관찰된 것과 유사한 기능적 근긴장증 표현형을 갖는 마우스 모델인 HSA^{LR} 마우스에서 유전자-특이적 표적화 및 기능적 근긴장증의 감소를 가능하게 한다는 것을 입증한다.

[0763] 실시예 12: 근육-표적화 복합체는 DM1 마우스 모델에서 부정맥을 기능적으로 교정할 수 있다

[0764] 실시예 2에 기재된 바와 같은 RI7 217 Fab 항체-ASO 근육-표적화 복합체인 DTX-C-008을 DM1 마우스 모델에서 부정맥을 기능적으로 교정하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 이 실시예에 사용된 마우스는 미오신 중쇄 역 tet 전사활성인자 (MHCrtTA)를 발현하는 마우스 및 돌연변이 형태의 인간 DMPK (CUG_{960})를 발현하는 마우스의 자손이다. 도 16a는 돌연변이 트랜스진의 게놈 구조를 보여준다.

[0765] 독시시클린 함유 사료 (2 g 독시시클린/kg 사료, 바이오-서브(Bio-Serv))를 마우스에게 생후 제1일에 시작하여, 초기에 수유 어미를 통해 및 후속적으로 이유 후 사료를 통해 제공함으로써, 심장에서 돌연변이 DMPK의 선택적 발현을 유도하였다. "오프 독스(off Dox) 대조군" 군을 제외하고, 모든 마우스에 대해 연구의 전체 과정 전반에 걸쳐 독시시클린을 함유하는 사료를 유지하였다. 12주령에서, 모든 마우스는 기준선 투여전 ECG 평가를 받았다. 이어서, 마우스를 단일 용량의 비히클 (염수), 네이키드 ASO300 (10 mg/kg), DTX-C-008 (10 mg/kg ASO 등가량) 또는 DTX-C-008 (20 mg/kg ASO 등가량)로 정맥내로 처리하였다. 기준선 투여전 ECG 평가 후에, "오프 독스 대조군" 군의 마우스를 독시시클린이 없는 사료로 전환하였다. 투여후 ECG 평가를 모든 마우스에서 처리 7일 및 14일 후에 또는 "오프 독스 대조군" 군의 경우에는 독시시클린이 없는 사료로의 복귀 7일 및 14일 후에 수행하였다. 각각의 ECG 스펙트럼에 대해, QRS 및 QTc 간격을 측정하였다.

[0766] 이 모델에서, 독시시클린으로 처리된 마우스는 DM1 환자에서 보고된 것과 유사하게 심장에서 돌연변이 DMPK의 발현에 의해 구동된 QRS 및 QTC 간격의 연장을 나타내며, 이는 심장 부정맥에 대한 증가된 성향과 일치한다. "오프 독스 대조군" 군에서의 식이에 독시시클린을 제거한 것은 돌연변이 DMPK의 발현을 턴오프하여, QRS (도 16b) 및 QTC (도 16c) 간격의 정상화를 유발한다. 독시시클린이 유지되고 20 mg/kg의 근육-표적화 복합체 DTX-C-008로 처리된 마우스는 심장에서 돌연변이 DMPK의 계속된 발현에도 불구하고 14일 후에 그의 QTc 간격의 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다 (도 16c). 이러한 QTc 간격의 감소는 DM1 마우스 모델에서 심장 부정맥의 교정을 나타낸다. 이들 데이터는 본원에 기재된 바와 같은 근육-표적화 복합체가 DM1 모델에서 표현형 및 치료 이익을 제공할 수 있다는 것을 입증한다.

[0767] 실시예 13: 근육-표적화 복합체는 DMPK를 표적화하고 DM1-관련 유전자 스플라이싱을 교정할 수 있다

[0768] 인간 DM1 환자로부터 유래된 단리된 근육 세포에서, 실시예 5에 기재된 바와 같은 근육-표적화 복합체 DTX-C-012를 DMPK 발현의 감소 및 DMPK의 하류 유전자인 Bin1에서의 스플라이싱 결함의 후속 교정에 대해 시험하였다.

[0769] 간략하게, 환자 세포를 10k 세포/웰의 밀도로 시딩한 후, 밤새 회복되도록 하였다. 이어서, 세포를 PBS (비히클 대조군), 네이키드 ASO300 또는 DTX-C-012 (500 nM; 55.5 nM ASO와 등가임)로 처리하였다. 세포를 14일 동안 분화되도록 하였다. DMPK의 발현 수준 및 %Bin1 엑손-11 포함을 분화 후 제10일, 제11일, 제12일, 제13일

및 제14일에 결정하였다.

[0770] DTX-C-012 복합체에 의한 DM1 환자 세포의 처리는 이르게는 분화 후 제10일에 DMPK 수준의 감소를 유도한다 (도 17a). DTX-C-012 복합체에 의한 DM1 환자 세포의 처리는 또한 Bin1 스플라이싱의 통계적으로 유의한 시간-의존성 변화를 유도한다 (도 17b). (**p<0.01, ***p<0.001). 이들 데이터는 본원에 기재된 바와 같은 근육-표적화 복합체가 DM1 모델에서 표현형 및 치료 이익 (DM1 유전자-특이적 스플라이싱의 증가된 교정)을 제공할 수 있다는 것을 입증한다.

[0771] 실시예 14: 선택된 안티센스 올리고뉴클레오티드는 DM1 및 NHP 근관에서 DMPK 발현의 용량-의존성 감소를 제공하였다

[0772] 표 9에 열거된 안티센스 올리고뉴클레오티드를 추가로 평가하여 생체내에서 안전한 (예를 들어, 시토카인 유도에 의해 측정 시 낮은 면역원성에 의해 나타내어진 바와 같음) 올리고를 확인하고, 추가로 제조성 및 2차 구조 고려사항에 기초하여 평가하였다. 표 9로부터의 3개의 안티센스 올리고뉴클레오티드 (서열식별번호: 212, DMPK-ASO-1), (서열식별번호: 222, DMPK-ASO-2) 및 (서열식별번호: 180, DMPK-ASO-3)를 선택하였다. 이어서, 이들 올리고뉴클레오티드를 DM1 근관 및 NHP 근관에서 DMPK 발현을 용량-반응성 방식으로 감소시키는 그의 능력에 대해 추가로 평가하였다. 네이키드 ASO300을 대조군으로서 사용하였다. 각각의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 DM1 및 NHP 근관에서 DMPK를 용량-의존성으로 감소시킬 수 있었다 (각각 도 18a-18c 및 도 19a-19b 참조).

[0773] 이들 데이터는 이들 안티센스 올리고뉴클레오티드가 생체내에서 안전하고, 세포에서 DMPK를 용량-의존성으로 감소시킬 수 있다는 것을 입증하며, 이는 이들 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 근육-표적화 복합체가 생체내 근육 조직에서의 DMPK를 표적화할 수 있다는 것을 시사한다.

[0774] 실시예 15: 인간 TfR1에 대한 선택된 항-TfR1 항체의 결합 친화도

[0775] 선택된 항-TfR1 항체를 Ka (회합률 상수), Kd (해리율 상수) 및 K_D (친화도)의 측정으로 인간 TfR1에 대한 그의 결합 친화도에 대해 시험하였다. 2종의 공지된 항-TfR1 항체인 15G11 및 OKT9를 대조군으로서 사용하였다. 결합 실험을 25℃에서 카테라 LSA 상에서 수행하였다. 항-마우스 IgG 및 항-인간 IgG 항체 "론"을 HC30M 칩 상에 아민 커플링에 의해 제조하였다. 59개의 IgG (58개의 마우스 mAb 및 1개의 인간 mAb)를 칩 상에 포획하였다. hTfR1, cyTfR1 및 hTfR2의 일련의 희석물을 결합을 위해 칩에 주입하였다 (1000 nM에서 시작하여, 1:3 희석, 8개의 농도).

[0776] 완충제 분석물 주입으로부터의 반응을 차감하고, 카테라™ 키네틱스 소프트웨어를 사용하여 Ka (회합률 상수), Kd (해리율 상수) 및 K_D (친화도)의 추정을 위해 1:1 랭뮤어 결합 모델에 전반적으로 피팅함으로써 결합 데이터를 참조하였다. 5-6개의 농도를 곡선 피팅에 사용하였다.

[0777] 결과는 마우스 mAb가 13 pM 내지 50 nM 범위의 K_D 값으로 hTfR1에 대한 결합을 나타냈다는 것을 보여주었다. 대다수의 마우스 mAb는 한 자릿수 나노몰 내지 서브-나노몰 범위의 K_D 값을 가졌다. 시험된 마우스 mAb는 16 pM 내지 22 nM 범위의 K_D 값으로 cyTfR1에 대한 교차-반응성 결합을 나타냈다.

[0778] 항-TfR1 항체의 Ka, Kd 및 K_D 값이 표 11에 제공된다.

[0779] 표 11. 항-TfR1 항체의 Ka, Kd 및 K_D 값

[0780]

명칭	K_D (M)	Ka (M)	Kd (M)
ctrl-15G11	2.83E-10	3.70E+05	1.04E-04
ctrl-OKT9 mIgG	5.36E-10	7.74E+05	4.15E-04
3-A04	4.36E-10	4.47E+05	1.95E-04
3-M12	7.68E-10	1.66E+05	1.27E-04
5-H12	2.08E-07	6.67E+04	1.39E-02

[0781] 실시예 16: 항-TfR1 항체와 올리고뉴클레오티드의 접합

[0782] ASO300에 공유 접합된 항-TfR1 항체를 함유하는 복합체를 생성하였다. 먼저, 항-TfR 항체 클론 3-A4, 3-M12 및 5-H12의 Fab 단편을, 마우스 모노클로날 항체를 완전 IgG의 힌지 영역 내에서 또는 그 아래에서 효소로 절단한 후 부분 환원시킴으로써 제조하였다. Fab는 결합력 또는 친화도에 있어서 mAb와 대등한 것으로 확인되었다.

[0783] 항-TfR mAb를 카텝신 절단가능한 링커를 통해 ASO300에 공유 연결시킴으로써 근육-표적화 복합체를 생성하였다. 간략하게, 비시클로[6.1.0]노닌-PEG3-L-발린-L-시트룰린-펜타플루오로페닐 에스테르 (BCN-PEG3-Val-Cit-PFP) 링커 분자를 카르바메이트 결합을 통해 ASO300에 커플링시켰다. 과량의 링커 및 유기 용매를 접선 흐름 여과 (TFF)에 의해 제거하였다. 이어서, 정제된 Val-Cit-링커-ASO를, 리신 상의 ε-아민을 아지드-PEG4-PFP로 변형시킴으로써 생성된 아지드 관능화 항-트랜스페린 수용체 항체에 커플링시켰다. 또한 15G11을 사용하여 양성 대조군 근육-표적화 복합체를 생성하였다.

[0784] 이어서, 항체 커플링 반응의 생성물을 2가지 정제 방법에 적용하여 유리 항체 및 유리 페이로드를 제거하였다: 1) 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC-HPLC) 및 2) 크기 배제 크로마토그래피 (SEC). HIC 칼럼은 유리 항체를 접합체로부터 분리하기 위해 감소하는 염 구배를 이용하였다. SEC 동안, A260/A280 트레이스에 기초하여 분획화를 수행함으로써 접합된 물질을 특이적으로 수집하였다. 접합체의 농도를 나노드롭 A280 또는 BCA 단백질 검정 (항체의 경우) 및 퀀트-잇 리보그린 검정 (페이로드의 경우)에 의해 결정하였다. 상응하는 약물-항체 비 (DAR)를 계산하였다. DAR은 0.8 내지 2.0의 범위였으며, 모든 샘플이 동일한 양의 페이로드를 받도록 이를 표준화하였다.

[0785] 이어서, 정제된 복합체를 표적 유전자인 DMPK의 세포 내재화 및 억제에 대해 시험하였다. 비-인간 영장류 (NHP) 또는 DM1 (DM1 환자가 공여함) 세포를 96-웰 플레이트에서 성장시키고, 7일 동안 근관으로 분화시켰다. 이어서, 세포를 상승하는 농도 (0.5 nM, 5 nM, 50 nM)의 각각의 복합체로 72시간 동안 처리하였다. 세포를 수거하고, RNA를 단리하고, 역전사를 수행하여 cDNA를 생성하였다. 퀀트스튜디오 7 상에서 Ppib (대조군) 및 DMPK에 특이적인 택맨 키트를 사용하여 qPCR을 수행하였다. 비-처리 세포에 비해 처리 세포에 남아있는 DMPK 전사체의 상대량을 계산하였으며, 결과가 표 12에 제시된다.

[0786] 결과는 항-TfR1 항체가 근육 세포를 표적화할 수 있고, 분자 페이로드 (ASO300)와 함께 근육 세포에 의해 내재화될 수 있으며, 분자 페이로드가 표적 유전자 (DMPK)를 표적화하고 녹다운시킬 수 있다는 것을 입증하였다.

[0787] 표 12. 항-TfR1 항체의 결합 친화도 및 접합체의 효능

클론 명칭	huTfR1 Avg K_D (M) (항체 단독)	cyTfR1 Avg K_D (M) (항체 단독)	항체-DMPK ASO 접합체 사용 시 NHP 세포에서의 DMPK의 % 녹다운	항체-DMPK ASO 접합체 사용 시 인간 DM1 환자 세포에서의 DMPK의 % 녹다운
15G11 (대조군)	8.0E-10	1.0E-09	36	46
3-A4	4.36E-10	2.32E-09	77	70
3-M12	7.68E-10	5.18E-09	77	52
5-H12	2.02316E-07	1.20E-08	88	57

[0788]

[0789] 흥미롭게도, DMPK 녹다운 결과는 트랜스페린 수용체에 대한 항-TfR의 결합 친화도와 DMPK 녹다운을 위해 DMPK-표적화 ASO를 세포에 전달하는 데 있어서의 효능 사이의 상관관계의 결여를 보여주었다. 놀랍게도, 본원에 제공된 항-TfR 항체 (예를 들어, 적어도 3-A4, 3-M12 및 5-H12)는, 대조군 항체 15G11과 비교하여, 이들 항체와 대조군 항체 15G11 사이의 인간 또는 시노 트랜스페린 수용체에 대한 대등한 결합 친화도 (또는 특정 경우, 예컨대 5-H12의 경우, 더 낮은 결합 친화도)에도 불구하고, 페이로드 (예를 들어, DMPK ASO)를 표적 세포에 전달하고 시노 세포 또는 인간 DM1 환자 세포에서 분자 페이로드의 생물학적 효과 (예를 들어, DMPK 녹다운)를 달성하는 데 있어서 우수한 활성을 입증하였다.

[0790] 인간화를 위한 상위 3종의 클론 3-A4, 3-M12 및 5-H12의 선택에 있어서, 높은 huTfR1 친화도, NHP 및 DM1 환자 세포주에서의 DMPK의 >50% 녹다운, 3종의 고유한 서열과의 확인된 에피토프 결합, 낮은/부재하는 예측 PTM 부위, 및 우수한 발현 및 접합 효율과 같은 상위 속성을 고려하였다.

[0791] 실시예 17: 인간화 항-TfR1 항체

[0792] 표 2에 제시된 항-TfR 항체를 제조성 문제를 줄이기 위해 인간화 및 돌연변이유발에 적용하였다. 인간화 변이체를 그의 결합 특성 및 생물학적 활성에 대해 스크리닝하고 시험하였다. 항-TfR1 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 인간화 변이체 (각각 5종의 변이체)를 복합 인간 기술을 사용하여 설계하였다. 이들 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 Fab를 코딩하는 유전자를 합성하고, 각각의 인간화 중쇄 및 경쇄 변이체를 발현시키도록 벡터를 구축하였다. 후속적으로, 각각의 벡터를 소규모로 발현시키고, 생성된 인간화 항-TfR1 Fab를 분석하였다. 표적 항원에 대한 항체 친화도의 비아코어 검정, 상대 발현, 인간 배선 서열에 대한 퍼센트 상동성 및 MHC 부류 II 예측된 T

세포 에피토프의 수 (iTope™ MCH 부류 II 인 실리코 분석을 사용하여 결정됨)를 포함한 여러 기준에 기초한 추가의 시험을 위해 인간화 Fab를 선택하였다.

[0793] 중쇄 및 경쇄 가변 영역에 아미노산 치환을 도입함으로써 일부 항체의 모 서열 내에서 잠재적 문제를 확인하였다. 이들 치환은 상대 발현 수준, iTope™ 점수 및 비아코어 단일 주기 동역학 분석으로부터의 상대 K_D에 기초하여 선택하였다. 인간화 변이체를 시험하였으며, 변이체는 초기에 표적 항원에 대한 친화도에 기초하여 선택하였다. 후속적으로, 선택된 인간화 Fab를 표 14 및 표 15에 제시된, 각각의 분석된 변이체의 안정성 및 응집 및 분해에 대한 감수성의 일련의 생물물리학적 평가에 기초하여 추가로 스크리닝하였다. 선택된 Fab를 동역학 분석에 의해 TfR1에 결합하는 그의 특성에 대해 분석하였다. 이들 분석의 결과가 표 16에 제시된다. 표 14 및 표 15에 제시된 접합체의 경우, 선택된 인간화 Fab를 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 ASO300에 접합시켰다. 선택된 Fab는 노출 전과 비교하여 9일 동안 고온 (40℃)에 노출된 후 인간 및 시노 TfR1에 대한 대등한 결합 친화도에 의해 나타난 바와 같이 열적으로 안정하다 (표 16 참조).

[0794] 표 14. 인간화 항-TfR Fab에 대한 생물물리학적 평가 데이터

기준 \ 변이체	3M12 (VH3/Vk2)	3M12 (VH3/Vk3)	3M12 (VH4/Vk2)	3M12 (VH4/Vk3)	3A4 (VH3-N54T/Vk4)
결합 친화도 (비아코어 d0)	395 pM	345 pM	396 pM	341 pM	3.09 nM
결합 친화도 (비아코어 d25)	567 pM	515 pM	510 pM	486 pM	3.01 nM
Fab 결합 친화도 ELISA (인간/시노 TfR1)	0.8 nM/9.9 nM	0.6 nM/4.7 nM	0.4 nM/1.4 nM	0.5 nM/2.2 nM	2.6 nM/156 nM*
접합체 결합 친화도 ELISA (인간/시노 TfR1)	2.2 nM/2.9 nM	N/A	N/A	1.7 nM/2.1 nM	2.8 nM/4.7 nM
...					
기준 \ 변이체	3A4 (VH3-N54S/Vk4)	3A4 (VH3/Vk4)	5H12 (VH5-C33Y/Vk3)	5H12 (VH5-C33D/Vk4)	5H12 (VH4-C33Y/Vk4)
결합 친화도 (비아코어 d0)	1.34 nM	1.5 nM	627 pM	991 pM	626 pM
결합 친화도 (비아코어 d25)	1.39 nM	1.35 nM	1.07 nM	3.01 nM	1.33 nM
Fab 결합 친화도 ELISA (인간/시노 TfR1)	1.6 nM/398 nM*	1.5 nM/122 nM*	6.3 nM/2.1 nM	6.0 nM/3.5 nM	2.8 nM/3.3 nM
접합체 결합 친화도 ELISA (인간/시노 TfR1)	2.9 nM/7.8 nM	2.8 nM/7.6 nM	33.4 nM/2.3 nM	110 nM/10.2 nM	23.7 nM/3.3 nM

[0795]

[0796] *접합 후에 시노 결합을 회복함;

[0797] 표 15. 인간화 항-TfR Fab 및 접합체에 대한 열 안정성

변이체 / 기준	3M12 (VH3/Vk2)	3M12 (VH3/Vk3)	3M12 (VH4/Vk2)	3M12 (VH4/Vk3)	3A4 (VH3-N54T/Vk4)
결합 친화도 hTfR1 d0 (nM)	0.8	0.6	0.4	0.5	2.6
결합 친화도 hTfR1 d9 (nM)	0.98	1.49	0.50	0.28	0.40
결합 친화도 시노 TfR1 d0 (nM)	9.9	4.7	1.4	2.2	156
결합 친화도 시노 TfR1 d9 (nM)	19.51	15.58	5.01	16.40	127.50
hTfR1에 대한 DMPK 올리고 접합체 결합 (nM)	1.14	N/A	N/A	1.18	2.22
시노 TfR1에 대한 DMPK 올리고 접합체 결합 (nM)	2.26	N/A	N/A	1.85	5.12
...					
변이체 / 기준	3A4 (VH3-N54S/Vk4)	3A4 (VH3/Vk4)	5H12 (VH5-C33Y/Vk3)	5H12 (VH5-C33D/Vk4)	5H12 (VH4-C33Y/Vk4)
결합 친화도 hTfR1 d0 (nM)	1.6	1.5	6.3	6	2.8
결합 친화도 hTfR1 d9 (nM)	0.65	0.46	71.90	92.34	1731.00
결합 친화도 시노 TfR1 d0 (nM)	398	122	2.1	3.5	3.3
결합 친화도 시노 TfR1 d9 (nM)	248.30	878.40	0.69	0.63	0.26
hTfR1에 대한 DMPK 올리고 접합체 결합 (nM)	2.71	2.837	N/A	110.5	13.9
시노 TfR1에 대한 DMPK 올리고 접합체 결합 (nM)	4.1	7.594	N/A	10.18	13.9

[0798]

[0799] 표 16. TfR1에 대한 인간화 항-TfR Fab 결합의 동역학 분석

인간화 항-TfR Fab	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	R_{MAX}	카이² (RU²)
3A4 (VH3/Vk4)	7.65E+10	1.15E+02	1.50E-09	48.0	0.776
3A4 (VH3-N54S/Vk4)	4.90E+10	6.56E+01	1.34E-09	49.4	0.622
3A4 (VH3-N54T/Vk4)	2.28E+05	7.05E-04	3.09E-09	61.1	1.650
3M12 (VH3/Vk2)	2.64E+05	1.04E-04	3.95E-10	78.4	0.037
3M12 (VH3/Vk3)	2.42E+05	8.34E-05	3.45E-10	91.1	0.025
3M12 (VH4/Vk2)	2.52E+05	9.98E-05	3.96E-10	74.8	0.024
3M12 (VH4/Vk3)	2.52E+05	8.61E-05	3.41E-10	82.4	0.030
5H12 (VH5-C33D/Vk4)	6.78E+05	6.72E-04	9.91E-10	49.3	0.093
5H12 (VH5-C33Y/Vk3)	1.95E+05	1.22E-04	6.27E-10	68.5	0.021
5H12 (VH5-C33Y/Vk4)	1.86E+05	1.17E-04	6.26E-10	75.2	0.026

[0800]

[0801] TfR1에 대한 인간화 항-TfR1 Fab의 결합 (ELISA)

[0802] TfR1에 대한 인간화 항-TfR 항체의 결합을 측정하기 위해, ELISA를 수행하였다. 고결합, 흑색, 편평 바닥, 96 웰 플레이트 (코닝(Corning)# 3925)를 먼저 PBS 중 1 μg/mL의 재조합 huTfR1 100 μL/웰로 코팅하고, 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 웰을 비우고, 잔류 액체를 제거하였다. 200 μL의 PBS 중 1%BSA (w/w)를 각각의 웰에 첨가함으로써 차단을 수행하였다. 진탕기 상에서 300 rpm으로 실온에서 2시간 동안 차단이 진행되도록 하였다. 차단 후, 액체를 제거하고, 웰을 300 μL의 TBST로 3회 세척하였다. 이어서, 항-TfR1 항체를 0.5% BSA/TBST 중에 8 포인트 연속 희석 (희석 범위 5 μg/mL - 5 ng/mL)으로 삼중으로 첨가하였다. 양성 대조군 및 이소형 대조군을 또한 ELISA 플레이트 상에 포함시켰다. 플레이트를 오비탈 진탕기 상에서 300 rpm으로 실온에서 60분 동안 인큐베이션하고, 플레이트를 300 μL의 TBST로 3회 세척하였다. 항-(H+L)IgG-A488 (1:500) (인비트로젠 #A11013)을 TBST 중 0.5% BSA 중에 희석하고, 100 μL를 각각의 웰에 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 오비탈 진탕기 상에서 300 rpm으로 실온에서 60분 동안 인큐베이션되도록 하였다. 액체를 제거하고, 플레이트를 300 μL의 TBST로 4회 세척하였다. 이어서, 플레이트 판독기 상에서 495 nm 여기 및 50 nm 방출 (15 nm 대역폭)에서 흡광도를 측정하였다. 데이터를 기록하고, EC_{50}에 대해 분석하였다. 인간화 3M12, 3A4 및 5H12 Fab에 대한 인간 TfR1 (hTfR1)에의 결합에 관한 데이터가 각각 도 21a, 21c 및 21e에 제시된다. hTfR1에 대해 상기 기재된

것과 동일한 프로토콜에 따라 시노몰구스 원숭이 (마카카 파시쿨라리스) TfR1 (cTfR1)을 사용하여 ELISA 측정을 수행하였으며, 결과가 도 21b, 21d 및 21f에 제시된다.

[0803] hTfR1 및 cTfR1에의 인간화 항-TfR Fab의 결합에 대한 이들 2 세트의 ELISA 분석의 결과는 인간화 3M12 Fab가 hTfR1 및 cTfR1 둘 다에 대해 일관된 결합을 나타내고, 인간화 3A4 Fab가 hTfR1에 비해 cTfR1에 대해 감소된 결합을 나타낸다는 것을 입증한다.

[0804] 각각 DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드 ASO300에 접합된 6종의 인간화 항-TfR Fab를 사용하여 항체-올리고뉴클레오티드 접합체를 제조하였다. 접합 효율 및 하류 정제를 특징화하고, 생성물 접합체의 다양한 특성을 측정하였다. 결과는 접합 효율이 시험된 10종의 모든 변이체에 걸쳐 강건하고, 정제 공정 (소수성 상호작용 크로마토그래피에 이어서 히드록시아파타이트 수지 크로마토그래피)이 효과적이라는 것을 입증한다. 정제된 접합체는 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분석 시에 >97% 순도를 나타냈다.

[0805] 여러 인간화 Fab를 세포 흡수 실험에서 TfR1-매개 내재화를 평가하기 위해 시험하였다. 항체에 의해 매개되는 이러한 세포 흡수를 측정하기 위해, 인간화 항-TfR Fab 접합체를 pH-감수성 염료인 사이퍼5e로 표지하였다. 횡문근육종 (RD) 세포를 4시간 동안 100 nM의 접합체로 처리하고, 트립신처리하고, 2회 세척하고, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 애튠 NxT 소프트웨어를 사용하여 평균 사이퍼5e 형광 (흡수를 나타냄)을 계산하였다. 도 22에 제시된 바와 같이, 인간화 항-TfR Fab는 양성 대조군 항-TfR1 Fab와 비교하여 유사하거나 더 큰 엔도솜 흡수를 나타낸다. 유사한 내재화 효율이 상이한 올리고뉴클레오티드 페이로드에 대해 관찰되었다. 항-마우스 TfR 항체를 음성 대조군으로서 사용하였다. 저온 (비-내재화) 조건은 양성 대조군 항체-접합체의 형광 신호를 제거하였으며 (데이터는 제시되지 않음), 이는 양성 대조군 및 인간화 항-TfR Fab-접합체에서의 양성 신호가 Fab-접합체의 내재화로 인한 것임을 나타낸다.

[0806] 6종의 인간화 항-TfR Fab의 접합체를 또한 ELISA에 의해 hTfR1 및 cTfR1에의 결합에 대해 시험하고, 비접합된 형태의 인간화 Fab와 비교하였다. 결과는 인간화 3M12 및 5H12 Fab가 그의 비접합된 형태에 비해 접합 후에 유사한 수준의 hTfR1 및 cTfR1 결합을 유지한다는 것을 입증한다 (3M12, 도 23a 및 23b; 5H12, 도 23e 및 23f). 흥미롭게도, 3A4 클론은 그의 비접합된 형태에 비해 접합 후에 cTfR1에 대한 개선된 결합을 나타낸다 (도 23c 및 23d).

[0807] 이 실시예에 사용된 용어 '비접합된'은 항체가 올리고뉴클레오티드에 접합되지 않았다는 것을 나타낸다.

[0808] 실시예 18. 시험관내 올리고뉴클레오티드 접합체에 의해 용이해진 DMPK mRNA 수준의 녹다운

[0809] DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, ASO)를 횡문근육종 (RD) 세포에서 DMPK 전사체 발현의 녹다운에 대해 시험하였다. RD 세포를 10% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신으로 보충된, 글루타민 함유 DMEM의 성장 배지에서 거의 전면생장까지 배양하였다. 이어서, 세포를 96 웰 플레이트에 웰당 20K 세포로 시딩하고, 24시간 동안 회복되도록 하였다. 이어서, 세포를 유리 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드로 처리하거나 또는 웰당 0.3 μL의 리포펙타민 메신저맥스 형질감염 시약을 사용하는 올리고뉴클레오티드의 형질감염에 의해 처리하였다. 3일 후, 세포로부터 총 RNA를 수집하고, cDNA를 합성하고, qPCR에 의해 DMPK 발현을 측정하였다.

[0810] 도 24의 결과는 PBS-처리 세포에서의 발현에 비해 각각의 주어진 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드로 처리된 세포에서 DMPK 발현 수준이 감소되었다는 것을 보여준다. 여러 DMPK-올리고뉴클레오티드는 DMPK 발현 수준의 용량-의존성 감소를 나타냈다. 도 24에서, DMPK-ASO-1은 서열 GCGUAGAAGGGCGUCUGCCC (서열식별번호: 212)를 갖는다. DMPK-ASO-2는 서열 CCCAGCGCCCACCAGUCACA (서열식별번호: 222)를 갖는다. DMPK-ASO-3은 서열 CCAUCUCGGCCGGAAUCCGC (서열식별번호: 180)를 갖는다. ASO300을 또한 이 실험에 사용하였다.

[0811] 실시예 19. 시험관내 항체-올리고뉴클레오티드 접합체에 의해 용이해진 DMPK mRNA 수준의 녹다운

[0812] 인간화 항-TfR Fab 3M12 (VH3/Vk2), 3M-12 (VH4/Vk3) 및 3A4 (VH3-N54S/Vk4)를 함유하는 접합체를 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (ASO300)에 접합시키고, 횡문근육종 (RD) 세포에서 DMPK 전사체 발현의 녹다운에 대해 시험하였다. 항체를 화학식 (C)에 제시된 링커를 통해 ASO300에 접합시켰다.

[0813] RD 세포를 10% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신으로 보충된, 글루타민 함유 DMEM의 성장 배지에서 거의 전면생장까지 배양하였다. 이어서, 세포를 96 웰 플레이트에 웰당 20K 세포로 시딩하고, 24시간 동안 회복되도록 하였다. 이어서, 세포를 접합체로 3일 동안 처리하였다. 세포로부터 총 RNA를 수집하고, cDNA를 합성하고, qPCR에 의해 DMPK 발현을 측정하였다.

[0814] 도 25의 결과는 DMPK 발현 수준이 PBS-처리된 세포에서의 발현에 비해 각각의 나타낸 접합체로 처리된 세포에서

감소되었다는 것을 보여주며, 이는 인간화 항-TfR Fab가 RD 세포에 의한 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드의 흡수를 매개할 수 있고 내재화된 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드가 DMPK mRNA 수준을 녹다운시키는 데 효과적이라는 것을 나타낸다.

[0815] 실시예 20. DM1의 HSA-LR 마우스 모델에서의 스플라이싱 교정 및 기능적 효능

[0816] DM1의 HSA-LR 마우스 모델에서의 스플라이싱의 교정은 올리고뉴클레오티드에 접합된 항-TfR 항체를 함유하는 접합체가 인간 골격 액틴 (ACTA1)을 표적화한다는 것을 입증하였다. 이 연구에 사용된 항-TfR1 항체는 RI7 217이었다. ACTA1을 표적화하는 올리고뉴클레오티드는 5'-NH_2-$(CH_2)_6$-dA*oC*oC*oA*oT*oT*dT*dT*dC*dT*dT*dC*dC*dA*dC*dA*oG*oG*oG*oC*oT-3 (서열식별번호: 620)을 포함하는 MOE 5-10-5 갭머이며; 여기서 '*'는 PS 연결을 나타내고; 'd'는 데옥시핵산을 나타내고; 'o'는 2'-MOE를 나타낸다.

[0817] HSA-LR DM1 마우스 모델은 인간 DM1 환자와 매우 유사한 병리상태를 나타내는 DM1의 잘 검증된 모델이다. HSA-LR 모델은 CUG 긴 반복부 (LR)의 발현을 유도하기 위해 인간 골격 액틴 (ACTA1) 프로모터를 사용한다. 이 모델에서, 독성 DMPK RNA가 핵 내에 축적되고, 스플라이싱을 담당하는 단백질, 예컨대 머슬블라인드-유사 단백질 (MBNL)을 격리시켜, CLCN1 (클로라이드 채널), ATP2a1 (칼슘 채널) 등을 포함한 다수의 RNA의 미스-스플라이싱을 유발한다. 이러한 미스-스플라이싱은 마우스가 인간에서의 DM1 임상 제시의 특징인 근긴장증을 또한 나타내게 한다.

[0818] 정맥내로 전달된 항-TfR-올리고뉴클레오티드 접합체는 다수의 RNA 및 다수의 근육에서 스플라이싱의 용량-의존성 교정에 활성을 갖는 것으로 밝혀졌고, HSA-LR 마우스에 의해 잘 허용되었다. 이 연구에서, 30종 초과의 상이한 RNA에서 스플라이싱을 교정하는 접합체의 능력을 평가하였다. DM1에서, 이들 RNA의 유의한 RNA 미스-스플라이싱은 다수의 근육이 기능하는 능력을 감소시킨다. 모니터링된 RNA는 HSA-LR 마우스에서 근육의 수축 및 이완에 중요하다. 스플라이싱의 용량-의존성 교정이 관찰되었다.

[0819] 도 26은 칼슘 채널을 코딩하고 근육 수축 및 이완에 기여하는 Atp2a1에 대한 결과를 보여준다. X-축은 스플라이스 결함을 나타내며, 1.00은 심한 미스-스플라이싱을 나타내고, 0.00은 야생형 (WT) 스플라이스 패턴을 나타낸다. 도면에서 우측에서 좌측으로의 진행은 스플라이싱의 교정을 나타낸다. Y-축은 스플라이싱된 유전자의 퍼센트 (PSI)를 나타낸다. ATP2a1의 심한 미스-스플라이싱은 ATP2a1 RNA에서 엑손 22의 배제에 의해 유발된다. WT 스플라이싱은 엑손 22의 거의 완전한 포함을 반영한다. 결과는 접합체가 비복근에서 ATP2a1의 스플라이싱을 용량-의존성 방식으로 교정하였다는 것을 입증한다.

[0820] 이 연구에서 시험된 30종 초과의 상이한 RNA에 대한 데이터가 도 27, 35a 및 35b에 제시된다. 비복근 (도 27), 전경골근 (도 35a) 및 사두근 (도 35b)에서 모든 시험된 RNA에 대해 스플라이싱의 유사한 용량-의존성 교정이 달성되었다. 이들 중 일부 RNA의 경우, 스플라이싱의 교정은 도 26에서와 같이 PSI의 감소에 의해 반영되고, 다른 RNA의 경우, 교정은 PSI의 증가에 의해 반영된다.

[0821] 사두근 및 전경골근에서 접합체에 의한 처리 후 RNA 세트 내의 스플라이싱에서의 유사한 용량-의존성 개선이 관찰되었다. 도 28은 각각의 근육 유형에서 시험된 30종 초과의 RNA에 걸쳐 염수 및 상이한 용량의 Ab-ASO에 대해 스플라이싱 결함의 복합 수준이 관찰되었다는 것을 보여준다. 이 연구에서 10mg/kg 및 20mg/kg의 용량을 투여하였다.

[0822] HSA-LR 모델에서 여러 근육에서의 다중 유전자에 걸친 스플라이싱 결함의 감소에 추가로, HSA-LR 모델에서 질환 변형이 관찰되었다. 도 29의 결과는 접합체의 단일 용량 후에 근긴장증의 거의 완전한 역전이 달성되었다는 것을 보여준다. 염수 (PBS), 네이키드 올리고뉴클레오티드 또는 접합체를 투여한지 14일 후에 4-점 척도로 근긴장증의 중증도를 평가하였다. 등급 0은 근긴장증이 관찰되지 않았다는 것을 나타내고, 근전도검사 (EMG)에 의해 등급 1은 근긴장성 방전이 바늘 삽입의 50% 미만에서 측정되었다는 것을 나타내고, 등급 2는 근긴장성 방전이 바늘 삽입의 50% 초과에서 측정되었다는 것을 나타내고, 등급 3은 근긴장성 방전이 거의 모든 바늘 삽입에서 측정되었다는 것을 나타낸다.

[0823] 실시예 21. DMPK-표적화 PMO

[0824] 추가의 DMPK 표적화 올리고뉴클레오티드 (PMO)를 설계하고, 1차 인간 근관에서 DMPK 발현을 감소시키는데 있어서의 그의 활성에 대해 시험하였다. 야생형 1차 근모세포를 5% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신 함유 프로모셀 골격근 성장 배지에서 거의 전면생장까지 배양하였다. 이어서, 세포를 96 웰 플레이트에 웰당 50K 세포로 시딩하고, 24시간 동안 회복되도록 하였다. 이어서, 세포를 글루타민 및 페니실린/스트렙토마이신 함유 DMEM의 분

화 배지에서 7일 동안 분화시켰다. 이어서, 세포를 비접합된 PMO로 3일 동안 처리하였다. 세포로부터 총 RNA를 수집하고, cDNA를 합성하고, qPCR에 의해 DMPK 발현을 측정하였다. PMO의 서열 및 시험관내 DMPK를 녹다운시키는 데 있어서의 그의 활성이 표 17에 제시된다.

[0825] 이 실시예에 사용된 용어 '비접합된'은 올리고뉴클레오티드가 항체에 접합되지 않았다는 것을 나타낸다.

[0826] 표 17. DMPK-표적화 PMO 및 시험관내 DMPK의 녹다운에서의 활성

PMO 서열	SEQ ID NO	표적 영역	1차 인간 근관에서의 % DMPK 녹다운
CAGGTGACAGTTCAGGTGCAG	624	인트론 1-2	59%
TCCACCCTGACTCCAGGTGAC	625	인트론 1-2	16%
GAGAAGGAAATAAGACCCAGTT	626	인트론 1-2	14%
CCTTCTCTCTGCCTCTCAGCTT	627	인트론 1-2	58%
CCACCCTCTGTCTGTCTCC	628	인트론 1-2	64%
TCCGCTGGGTGGTGGGAAAAGAA	629	엑손 2	9%
ATGGGCTCCGCTGGGTGGTGG	630	엑손 2	11%
ACGATGGGCTCCGCTGGG	631	엑손 2	60%
CCATCCTTGGGCAGAGACCT	632	인트론 4-5	41%
ATGACCAGGTACTGAGAAGGG	633	엑손 5	33%
AGGTACTGAGAAGGGTTCGTC	634	엑손 5	40%
TAGGGACCTGCGGAGAGGGCGA	635	엑손 15	35%
GCCTAGGGACCTGCGGGAGAG	636	엑손 15	62%
GCCTTTTATTCGCGAGGGTCGG	637	폴리A	73%
TGGAGGGCCTTTTATTCGCGAGG	638	폴리A	66%
TAGGCACTCACCCACTGCAAGA	621	엑손 1	69%
CGGAGCTCACCAGGTAGTTCT	622	인트론 4-5	73%
AGGGCAGTGCTTACCTGAGGG	623	인트론 9-10	57%

[0827]

[0828] 실시예 22. 항-TfR 항체와 분자 페이로드를 연결하는 링커의 혈청 안정성

[0829] 실시예에서 항체에 연결된 올리고뉴클레오티드를 화학식 (C)에 제시된 절단가능한 링커를 통해 접합시켰다. 링커가 혈청에서 안정성을 유지하고 표적화된 근육 세포에서 충분한 페이로드 축적에 유리한 방출 동역학을 제공하는 것이 중요하다. 이러한 혈청 안정성은 전신 정맥내 투여, 혈류 중 접합된 올리고뉴클레오티드의 안정성, 근육 조직으로의 전달 및 근육 세포에의 치료 페이로드의 내재화에 중요하다. 링커는 Fab에 대한 다중 유형의 페이로드 (ASO, siRNA 및 PMO 포함)의 정확한 접합을 용이하게 하는 것으로 확인되었다. 이러한 유연성은 각각의 근육 질환의 유전적 기초를 다루기 위한 적절한 유형의 페이로드의 합리적인 선택을 가능하게 하였다. 추가적으로, 링커 및 접합 화학은 각각의 유형의 페이로드에 대한 각각의 Fab에 부착된 페이로드 분자의 비의 최적화를 가능하게 하였고, 다양한 근육 질환 적용에서 사용할 수 있도록 분자의 신속한 설계, 생산 및 스크리닝을 가능하게 하였다.

[0830] 도 20은 생체내 링커의 혈청 안정성을 보여주며, 이는 정맥내 투여 후 72시간의 과정에 걸쳐 다수의 종에 걸쳐 대등하였다. 각각의 경우에 투여 72시간 후에 적어도 75% 안정성이 측정되었다.

[0831] 실시예 23. hTfR1 마우스에서의 항-TfR 접합체의 생체내 활성

[0832] DM1에서, 정상보다 더 많은 수의 CUG 반복부는 큰 헤어핀 루프를 형성하여 핵에 포획된 채 남아, 핵 병소를 형성하며, 이는 스플라이싱 단백질에 결합하고 스플라이싱 단백질이 그의 정상 기능을 수행하는 능력을 억제한다. 독성 핵 DMPK 수준이 감소되는 경우에, 핵 병소는 감소되어, 스플라이싱 단백질을 방출하고, 정상 mRNA 프로세싱의 회복을 허용하며, 잠재적으로 질환 진행을 정지 또는 역전시킨다.

[0833] 마우스에 전신 정맥내 투여 후 다수의 근육 조직에서의 DMPK mRNA 수준을 감소시키는 데 있어서 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (ASO300)에 접합된 항-TfR Fab (대조군, 3M12 VH3/VK2, 3M12 VH4/VK3, 3A4 VH3 N54S/VK4)를 함유하는 접합체의 생체내 활성을 평가하였다.

[0834] 하나의 TfR1 대립유전자가 인간 TFR1 대립유전자로 대체된 수컷 및 암컷 C57BL/6 마우스를 5 내지 15주령에 표 18 및 도 30a에 약술된 투여 스케줄에 따라 투여하였다. 마우스를 제1 주사 14일 후에 희생시키고, 선택된 근육을 표 19에 나타낸 바와 같이 수집하였다.

[0835]

표 18							
군	동물 수	처리 항체	처리 올리고	용량 수준 (mg/kg)	용량 부피 (mL/kg)	투여 요법	종결 시점
1	4	비히클	NA	0	10	제0일 및 제7일 IV로	제14일
2	4	NA	ASO300	10	5.0		
3	4	대조군 항-TfR Fab	ASO300		10.2		
4	4	3M12 VH3/VK2	ASO300		11.5		
5	4	3M12 VH4/VK3	ASO300		10.1		
6	4	3A4 VH3 N54S/VK4	ASO300		10.7		

[0836]

표 19	
조직	저장
비복근	각각의 동물의 우측 다리를 -80 °C에서 RNA레이터에 저장함
전경골근	각각의 동물의 한쪽 다리 (R)를 -80 °C에서 RNA레이터에 저장함
심장	가로로 해부하여 심첨을 -80 °C에서 RNA레이터에 저장함
횡격막	절반 분할하여 한쪽 절반을 -80 °C에서 RNA레이터에 저장함

[0837] 제조업체 (프로메가(Promega))에 의해 제공된 키트를 사용하여 맥스웰 급속 샘플 농축기 (RSC) 기기 상에서 총 RNA를 추출하였다. 정제된 RNA를 역전사시키고, 특이적 택맨 검정을 사용한 qRT-PCR (써모피셔(ThermoFIsher))에 의해 Dmpk 및 Ppib 전사체의 수준을 결정하였다. 참조 유전자로서 Ppib를 사용하고 대조군으로서 비히클을 주사한 마우스를 사용하여 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법에 따라 Dmpk 발현의 로그 배수 변화를 계산하였다. 다중 비교를 위한 던넷 보정과 함께 일원 ANOVA에 의해 대조군 마우스와 접합체가 투여된 마우스 사이의 Dmpk 발현 차이의 통계적 유의성을 결정하였다. 도 30b-30e에 제시된 바와 같이, 시험된 접합체는 다양한 근육 조직에서 생체내 DMPK mRNA 수준을 감소시키는 데 있어서 강건한 활성을 나타냈다.

[0838] 실시예 24. 환자-유래 세포에서의 항-TfR 접합체의 시험관내 활성

[0839] 380개의 CUG 반복부를 함유하는 돌연변이 DMPK mRNA를 발현하는 CM-DM1-32F 1차 세포에서 DMPK mRNA 발현을 감소시키고 BIN1 스플라이싱을 교정하며 핵 병소를 감소시키는 데 있어서의 항-TfR 접합체의 활성을 결정하기 위한 시험관내 실험을 수행하였다. CM-DM1-32F 1차 세포는 DM1 환자로부터 단리된 불멸화 근모세포 세포주이다 (CL5 세포; 문헌 [Arandel et al., Dis Model Mech. 2017 Apr 1; 10(4): 487-497]에 기재됨). 접합체 1은 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (ASO300)에 접합된 항-TfR mAb를 함유한다. 접합체 2는 DMPK ASO-1 (GCGUAGAAGGGCGUCUGCCC; 서열식별번호: 212)에 접합된 항-TfR Fab를 함유한다.

[0840] CL5 세포를 156,000개 세포/cm^2의 밀도로 시딩하고, 24시간 동안 회복되도록 하고, 문헌 [Arandel et al. Dis Model Mech. (2017) 10(4):487-497]에 기재된 바와 같이 분화 배지로 옮겨 근관 형성을 유도하고, 후속적으로 500 nM의 페이로드 농도의 접합체 1 및 접합체 2에 노출시켰다. 비히클 PBS에 노출된 병행 배양물은 대조군으로서의 역할을 하였다. 배양 10일 후에 세포를 수거하였다.

[0841] 유전자 발현의 분석을 위해, 퀴아젠(Qiagen) miRNAeasy 키트를 사용한 총 RNA 추출을 위해 퀴아졸로 세포를 수집하였다. 정제된 RNA를 역전사시키고, 특이적 택맨 검정 (써모피셔)으로 qRT-PCR에 의해 DMPK, PPIB, BIN1 전사체 및 엑손 11을 함유하는 BIN1 mRNA 이소형의 수준을 결정하였다. 참조 유전자로서 PPIB를 사용하고 대조군으로서 비히클에 노출된 세포를 사용하여 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법에 따라 DMPK 발현의 로그 배수 변화를 계산하였다. 참조 유전자로서 BIN1을 사용하고 대조군으로서 비히클에 노출된 세포를 사용하여 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법에 따라 엑손 11을 함유하는 BIN1 이소형 수준의 로그 배수 변화를 계산하였다.

[0842] 돌연변이 DMPK 핵 병소의 면적을 측정하기 위해, 세포를 4% 포르말린에 고정시키고, 0.1% 트리톤 X-100으로 투과화시키고, 70℃에서 Cy5 형광단에 접합된 CAG 펩티드-핵산 프로브와 혼성화시켰다. 혼성화 완충제 및 2xSSC 용액에서의 다수의 세척 후, 핵을 DAPI로 대조염색하였다. 영상을 공초점 현미경검사에 의해 400x 배율로 수집하고, 병소 면적을 DAPI 신호의 면적 내에 함유된 Cy5 신호의 면적으로서 측정하였다. 데이터를 핵 면적에 대해 보정된 병소 면적으로서 표현하였다.

[0843] 결과는 DMPK-표적화 올리고뉴클레오티드 (ASO300 또는 DMPK ASO-1 (서열식별번호: 212))에 접합된 항-TfR (IgG 또는 Fab)을 함유하는 접합체의 단일 용량이 돌연변이 DMPK 발현을 감소시키고 (도 31a), BIN1 스플라이싱을 교정시켰으며 (도 31b), 핵 병소를 대략 40%만큼 감소시켰다는 것 (도 31c)을 나타낸다.

[0844] 실시예 25. 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 결합 활성의 특징화

[0845] 인간 및 시노몰구스 원숭이 TfR1 결합에 대한 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 특이성을 시험하고 인간 TfR1 대 TfR2에 대한 그의 선택성을 확인하기 위해 시험관내 연구를 수행하였다. 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하여 다양한 종으로부터의 TfR1에 대한 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 결합 친화도를 결정하였다. 재조합 인간, 시노몰구스 원숭이, 마우스 또는 래트 TfR1로 사전코팅된 플레이트에 Fab의 연속 희석물을 첨가하였다. 짧은 인큐베이션 후에, 형광 태그부착된 항-(H+L) IgG 2차 항체의 첨가 및 495nm 여기 및 520nm 방출에서의 형광 강도의 측정에 의해 Fab의 결합을 정량화하였다. Fab는 인간 및 시노몰구스 원숭이 TfR1에 대한 강한 결합 친화도를 나타냈고, 마우스 또는 래트 TfR1의 검출가능한 결합은 관찰되지 않았다 (도 32). 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 측정을 또한 수행하였으며, 결과가 표 20에 제시된다. 인간 TfR1 수용체에 대한 Fab의 K_d는 $7.68x10^{-10}$ M인 것으로 계산되었고, 시노몰구스 원숭이 TfR1 수용체에 대해서는 5.18x10-9 M인 것으로 계산되었다.

[0846] 표 20. 표면 플라즈몬 공명을 사용하여 측정된, 인간 및 시노몰구스 원숭이 TfR1 또는 인간 TfR2에 대한 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3 결합의 동역학 분석

[0847]

	항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3				
표적	K_d (M)	k_a (M^{-1} s^{-1})	k_d (s^{-1})	R_{max}	R_{es} SD
인간 TfR1	7.68E-10	1.66E+05	1.27E-04	1.11E+02	3.45E+00
시노 TfR1	5.18E-09	9.19E+04	4.76E-04	1.87E+02	6.24E+00
인간 TfR2	ND	ND	ND	ND	ND

[0848] ND = SPR에 의한 검출가능한 결합 없음 (10pM - 100 uM)

[0849] 인간 TfR2에 대한 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 교차-반응성을 시험하기 위해, ELISA를 수행하였다. 재조합 인간 TfR2 단백질을 2 μg/mL로 밤새 플레이팅하고, PBS 중 1% 소 혈청 알부민 (BSA)으로 1시간 동안 차단하였다. 0.5% BSA/TBST 중 Fab 또는 양성 대조군 항-TfR2 항체의 연속 희석물을 1시간 동안 첨가하였다. 세척 후에, 항-(H+L) IgG-A488 (인비트로젠 #MA5-25932) 형광 2차 항체를 0.5% BSA/TBST 중 1:500 희석물로 첨가하고, 플레이트를 1시간 동안 인큐베이션하였다. 바이오텍 시너지(Biotek Synergy) 플레이트 판독기를 사용하여 495nm 여기 및 520nm 방출에서 상대 형광을 측정하였다. hTfR2에 대한 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vk3의 결합은 관찰되지 않았다 (도 33).

[0850] 실시예 26. 항-TfR Fab-ASO 접합체의 혈청 안정성

[0851] 항-TfR Fab VH4/Vk3을 화학식 (C)에 제시된 바와 같은 링커를 통해 대조군 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO)에 접합시키고, 생성된 접합체를, Fab를 ASO에 접합시키는 링커의 안정성에 대해 시험하였다. PBS에서 또는 래트, 마우스, 시노몰구스 원숭이 또는 인간 혈청에서 형광 표지된 접합체를 인큐베이션하고 시간 경과에 따른 상대 형광 강도를 측정함으로써 혈청 안정성을 측정하였으며, 여기서 보다 높은 형광은 보다 많은 접합체가 무손상으로 남아있다는 것을 나타낸다. 도 34는 혈청 안정성이 다수의 종에 걸쳐 유사하였고, 72시간 후에 높게 유지되었다는 것을 보여준다.

[0852] 실시예 27. DM1의 모델인 HSA^{LR} 마우스에서 인간 ACTA1 mRNA에 대한 올리고뉴클레오티드 (ASO)에 접합된 항-마우스 TfR Fab의 단일 용량의 효과.

[0853] 6- 내지 8-주령 동형접합성 HSA^{LR} 마우스를 5개의 처리군 중 1개에 무작위로 할당하고, 비히클, 10 mg/kg 또는 20 mg/kg의 용량의 인간 ACTA1 mRNA 표적화 네이키드 올리고뉴클레오티드 (ASO) 또는 10 mg/kg 또는 20 mg/kg의 ASO에 등가인 용량의 ASO에 접합된 항-TfR RI7217 Fab를 함유하는 접합체 (Ab-ASO)로 처리하였다.

[0854] 비히클, ASO 또는 Ab-ASO의 정맥내 주사 28일 후에, 사두근 (도 36a), 비복근 (도 36b) 및 전경골근 (도 36c)에서의 EMG 근긴장성 방전을 맹검 검사자에 의해 4-점 척도로 등급화하였으며, 여기서 0은 근긴장증 없음을 나타내고; 1은 바늘 삽입의 50% 미만에서의 가끔의 근긴장성 방전을 나타내고; 2는 바늘 삽입의 50% 초과에서의 근긴장성 방전을 나타내고; 3은 거의 모든 삽입에서의 근긴장성 방전을 나타냈다. 네이키드 ASO가 아닌 접합체

의 단일 용량은 HSA^{LR} DM1 모델에서 근긴장증을 용량-의존성으로 역전시켰다.

[0855] 던 다중 비교 검정과 함께 크루스칼-왈리스 검정에 의해 비히클-처리군과 각각의 실험 부문 사이의 차이의 통계적 유의성을 결정하였다. 데이터는 평균 ± S.E.M.으로 보고된다; *p < 0.05, **p < 0.01.

[0856] 추가적으로, 처리 14일 및 28일 후에, 마우스를 희생시키고, 사두근 (quad), 비복근 (gastroc) 및 전경골근 (TA) 근육을 수집하고, ACTA1의 발현에 대해 분석하였다. PBS 대조군에 비해 Ab-ASO 접합체를 사용하였을 때 단일 투여된 용량 14일 후에 사두근 (quad), 비복근 (gastroc) 및 전경골근 (TA) 근육에서 ACTA1 발현의 녹다운 (KD)이 관찰된 반면, 네이키드 ASO는 동일한 타임프레임에서 ACTA1 억제를 용이하게 하지 않았다 (도 37). 처리 28일 후 근육에서의 ACTA1의 측정은 Ab-ASO 접합체가 둘 다의 시험된 용량 (10 mg/kg ASO 등가량 및 20 mg/kg ASO 등가량)에서 비히클 대조군에 비해 ACTA1 발현을 감소시킨 반면, 동일한 용량의 네이키드 ASO는 ACTA1 억제를 용이하게 하지 않았다는 것을 보여주었다 (도 38a-38c; *p < 0.05, **p < 0.01).

[0857] 추가의 실시양태

[0858] 1. 질환-연관-반복부를 포함하는 DMPK 대립유전자의 발현 또는 활성을 억제하도록 구성된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체로서, 여기서 근육-표적화제는 근육 세포 상의 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합하고,

[0859] 여기서 근육 표적화제는 트랜스페린 수용체에 결합하는 인간화 항체이고, 여기서 항체는 하기를 포함하는 것인 복합체:

[0860] (i) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0861] (ii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0862] (iii) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0863] (iv) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0864] (v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0865] (vi) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0866] (vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0867] (viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0868] (ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

[0869] (x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL).

[0870] 2. 실시양태 1에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

[0871] (i) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0872] (ii) 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0873] (iii) 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0874] (iv) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0875] (v) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0876] (vi) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0877] (vii) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0878] (viii) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0879] (ix) 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0880] (x) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL.

[0881] 3. 실시양태 1 또는 실시양태 2에 있어서, 항체가 전장 IgG, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, scFv 및 Fv로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 복합체.

[0882] 4. 실시양태 3에 있어서, 항체가 전장 IgG이고, 여기서 임의로 전장 IgG가 이소형 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4의 중쇄 불변 영역을 포함하는 것인 복합체.

[0883] 5. 실시양태 4에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

[0884] (i) 서열식별번호: 84에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0885] (ii) 서열식별번호: 86에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0886] (iii) 서열식별번호: 87에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0887] (iv) 서열식별번호: 88에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0888] (v) 서열식별번호: 88에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0889] (vi) 서열식별번호: 91에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0890] (vii) 서열식별번호: 91에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0891] (viii) 서열식별번호: 92에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 93에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0892] (ix) 서열식별번호: 94에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

[0893] (x) 서열식별번호: 92에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

[0894] 6. 실시양태 3에 있어서, 항체가 Fab 단편인 복합체.

[0895] 7. 실시양태 6에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

[0896] (i) 서열식별번호: 97에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0897] (ii) 서열식별번호: 98에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0898] (iii) 서열식별번호: 99에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0899] (iv) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89

에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0900] (v) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0901] (vi) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0902] (vii) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0903] (viii) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 93에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0904] (ix) 서열식별번호: 103에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

[0905] (x) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

[0906] 8. 실시양태 6 또는 실시양태 7에 있어서, 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

[0907] (i) 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0908] (ii) 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0909] (iii) 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0910] (iv) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0911] (v) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0912] (vi) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0913] (vii) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0914] (viii) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0915] (ix) 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는

[0916] (x) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

[0917] 9. 실시양태 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 트랜스페린 수용체에 대한 항체의 결합의 평형 해리 상수 (K_D)가 10^{-11} M 내지 10^{-6} M의 범위인 복합체.

[0918] 10. 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 항체가 트랜스페린 수용체의 트랜스페린 결합 부위에 특이적으로 결합하지 않고/거나 항체가 트랜스페린 수용체에 대한 트랜스페린의 결합을 억제하지 않는 것인 복합체.

[0919] 11. 실시양태 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 항체가 인간, 비-인간 영장류 및 설치류 트랜스페린 수용체 중 2종 이상의 세포외 에피토프와 교차-반응성인 복합체.

[0920] 12. 실시양태 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 근육 세포 내로의 분자 페이로드의 트랜스페린 수용체 매개

내재화를 촉진하도록 구성된 복합체.

[0921] 13. 실시양태 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 항체가 키메라 항체이고, 임의로 여기서 키메라 항체는 인간화 모노클로날 항체인 복합체.

[0922] 14. 실시양태 1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 항체가 ScFv, Fab 단편, Fab' 단편, $F(ab')_2$ 단편 또는 Fv 단편의 형태인 복합체.

[0923] 15. 실시양태 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오티드인 복합체.

[0924] 16. 실시양태 15에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 148-383 및 621-638 중 어느 하나를 포함하는 서열의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 것인 복합체.

[0925] 17. 실시양태 16에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 148-383 및 621-638 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0926] 18. 실시양태 17에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 159, 162, 172, 174, 180, 182, 188, 190, 195, 196, 201, 203, 212, 215, 218, 222, 248 및 264 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0927] 18.1. 실시양태 18에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 180, 212 및 222 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0928] 19. 실시양태 1-14 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.

[0929] 20. 실시양태 19에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 서열식별번호: 384-619 중 어느 하나의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.

[0930] 21. 실시양태 15 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 질환-연관-반복부 확장을 포함하는 DMPK 대립유전자에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.

[0931] 22. 실시양태 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 분자 페이로드가 폴리펩티드인 복합체.

[0932] 23. 실시양태 22에 있어서, 폴리펩티드가 머슬블라인드-유사 (MBNL) 폴리펩티드인 복합체.

[0933] 24. 실시양태 15 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 세포에서 대립유전자에 의해 코딩되는 야생형 DMPK mRNA 전사체와 혼성화하는 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 DMPK mRNA 전사체는 CUG 트리뉴클레오티드 서열의 반복 단위를 포함하는 것인 복합체.

[0934] 25. 실시양태 15 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 세포에서 대립유전자에 의해 코딩되는 돌연변이체 DMPK mRNA 전사체와 혼성화하는 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 DMPK mRNA 전사체는 CUG 트리뉴클레오티드 서열의 반복 단위를 포함하는 것인 복합체.

[0935] 26. 실시양태 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 질환-연관-반복부가 38 내지 200개의 반복 단위 길이인 복합체.

[0936] 27. 실시양태 26에 있어서, 질환-연관-반복부가 후기 발병 근긴장성 이영양증과 연관된 것인 복합체.

[0937] 28. 실시양태 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 질환-연관-반복부가 100 내지 10,000개의 반복 단위 길이인 복합체.

[0938] 29. 실시양태 28에 있어서, 질환-연관-반복부가 선천성 근긴장성 이영양증과 연관된 것인 복합체.

[0939] 30. 실시양태 15 내지 21 및 24 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 적어도 1개의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함하는 것인 복합체.

[0940] 31. 실시양태 30에 있어서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오티드간 연결이 포스포로티오에이트 연결인 복합체.

[0941] 32. 실시양태 31에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 Rp 입체화학적 입체형태 및/또는 Sp 입체화학적 입체형태의 포스포로티오에이트 연결을 포함하는 것인 복합체.

[0942] 33. 실시양태 32에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 모두 Rp 입체화학적 입체형태 또는 모두 Sp 입체화학적 입체형태인 포스포로티오에이트 연결을 포함하는 것인 복합체.

[0943] 34. 실시양태 15 내지 21 및 24 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 복합체.

[0944] 35. 실시양태 34에 있어서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드가 2'-변형된 뉴클레오티드인 복합체.

[0945] 36. 실시양태 15 내지 21 및 24 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 세포에서 DMPK mRNA 전사체의 RNAse H-매개 절단을 지시하는 갭머 올리고뉴클레오티드인 복합체.

[0946] 37. 실시양태 36에 있어서, 갭머 올리고뉴클레오티드가 2 내지 8개의 변형된 뉴클레오티드의 윙이 플랭킹된 5 내지 15개의 데옥시리보뉴클레오티드의 중심 부분을 포함하는 것인 복합체.

[0947] 38. 실시양태 37에 있어서, 윙의 변형된 뉴클레오티드가 2'-변형된 뉴클레오티드인 복합체.

[0948] 39. 실시양태 15 내지 21 및 24 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 믹스머 올리고뉴클레오티드인 복합체.

[0949] 40. 실시양태 39에 있어서, 믹스머 올리고뉴클레오티드가 DMPK mRNA 전사체에 대한 머슬블라인드-유사 단백질 1, 머슬블라인드-유사 단백질 2 또는 머슬블라인드-유사 단백질 3의 결합을 억제하는 것인 복합체.

[0950] 41. 실시양태 39 또는 40에 있어서, 믹스머 올리고뉴클레오티드가 2개 이상의 상이한 2' 변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 복합체.

[0951] 42. 실시양태 15 또는 21 및 24 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 DMPK mRNA 전사체의 RNAi-매개 절단을 촉진하는 RNAi 올리고뉴클레오티드인 복합체.

[0952] 43. 실시양태 42에 있어서, RNAi 올리고뉴클레오티드가 19 내지 25개의 뉴클레오티드 길이의 이중 가닥 올리고뉴클레오티드인 복합체.

[0953] 44. 실시양태 42 또는 43에 있어서, RNAi 올리고뉴클레오티드가 적어도 1개의 2' 변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 복합체.

[0954] 45. 실시양태 35, 38, 41 및 44 중 어느 하나에 있어서, 각각의 2' 변형된 뉴클레오티드가 2'-O-메틸, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE) 및 2',4'-가교된 뉴클레오티드로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 복합체.

[0955] 46. 실시양태 34에 있어서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드가 가교 뉴클레오티드인 복합체.

[0956] 47. 실시양태 35, 38, 41 또는 44 중 어느 하나에 있어서, 적어도 1개의 2' 변형된 뉴클레오티드가 2',4'-구속성 2'-O-에틸 (cEt) 및 잠금 핵산 (LNA) 뉴클레오티드로부터 선택된 2',4'-가교 뉴클레오티드인 복합체.

[0957] 48. 실시양태 15 내지 21 및 24 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 게놈 편집 뉴클레아제에 대한 가이드 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0958] 49. 실시양태 15 내지 21 및 24 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 포스포로디아미다이트 모르폴리노 올리고머인 복합체.

[0959] 50. 실시양태 1 내지 49 중 어느 하나에 있어서, 근육-표적화제가 절단가능한 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 것인 복합체.

[0960] 51. 실시양태 50에 있어서, 절단가능한 링커가 프로테아제-감수성 링커, pH-감수성 링커 및 글루타티온-감수성 링커로부터 선택된 것인 복합체.

[0961] 52. 실시양태 51에 있어서, 절단가능한 링커가 프로테아제-감수성 링커인 복합체.

[0962] 53. 실시양태 52에 있어서, 프로테아제-감수성 링커가 리소솜 프로테아제 및/또는 엔도솜 프로테아제에 의해 절단가능한 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0963] 54. 실시양태 52에 있어서, 프로테아제-감수성 링커가 발린-시트룰린 디펩티드 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0964] 55. 실시양태 51에 있어서, 링커가 4 내지 6의 범위의 pH에서 절단되는 pH-감수성 링커인 복합체.

[0965] 56. 실시양태 1-49 중 어느 하나에 있어서, 근육-표적화제가 비-절단가능한 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 것인 복합체.

[0966] 57. 실시양태 56에 있어서, 비-절단가능한 링커가 알칸 링커인 복합체.

[0967] 58. 실시양태 2 내지 57 중 어느 하나에 있어서, 항체가, 올리고뉴클레오티드가 공유 연결된 비-천연 아미노산을 포함하는 것인 복합체.

[0968] 59. 실시양태 2 내지 57 중 어느 하나에 있어서, 항체가 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에의 접합을 통해 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 것인 복합체.

[0969] 60. 실시양태 59에 있어서, 항체가 말레이미드-함유 링커를 통해 시스테인에 접합되고, 임의로 여기서 말레이미드-함유 링커는 말레이미도카프로일 또는 말레이미도메틸 시클로헥산-1-카르복실레이트 기를 포함하는 것인 복합체.

[0970] 61. 실시양태 2 내지 60 중 어느 하나에 있어서, 항체가, 올리고뉴클레오티드가 공유 연결되는 적어도 1개의 당 모이어티를 포함하는 글리코실화 항체인 복합체.

[0971] 62. 실시양태 61에 있어서, 당 모이어티가 분지형 만노스인 복합체.

[0972] 63. 실시양태 61 또는 62에 있어서, 항체가 각각 별개의 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 1 내지 4개의 당 모이어티를 포함하는 글리코실화 항체인 복합체.

[0973] 64. 실시양태 61에 있어서, 항체가 완전-글리코실화 항체인 복합체.

[0974] 65. 실시양태 61에 있어서, 항체가 부분-글리코실화 항체인 복합체.

[0975] 66. 실시양태 65에 있어서, 부분-글리코실화 항체가 화학적 또는 효소적 수단을 통해 생산된 것인 복합체.

[0976] 67. 실시양태 65에 있어서, 부분-글리코실화 항체가 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소가 결핍된 세포인 세포에서 생산된 것인 복합체.

[0977] 68. 트랜스페린 수용체를 발현하는 세포를 실시양태 1 내지 67 중 어느 하나의 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는, 트랜스페린 수용체를 발현하는 세포에 분자 페이로드를 전달하는 방법.

[0978] 69. 실시양태 1 내지 67 중 어느 하나의 복합체를 세포에 대한 분자 페이로드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 DMPK의 활성을 억제하는 방법.

[0979] 70. 실시양태 69에 있어서, 세포가 시험관내 세포인 방법.

[0980] 71. 실시양태 69에 있어서, 세포가 대상체 내의 세포인 방법.

[0981] 72. 실시양태 71에 있어서, 대상체가 인간인 방법.

[0982] 73. 실시양태 69 내지 72 중 어느 하나에 있어서, 복합체가 DMPK의 발현을 억제하는 것인 방법.

[0983] 74. 실시양태 69 내지 73 중 어느 하나에 있어서, 세포가 단일 용량의 복합체와 접촉되는 것인 방법.

[0984] 75. 실시양태 74에 있어서, 단일 용량의 복합체가 적어도 2, 4, 8 또는 12주 동안 DMPK의 발현을 억제하는 것인 방법.

[0985] 76. 실시양태 75에 있어서, 복합체가 DMPK의 발현을 대조군에 비해 적어도 30%, 40%, 50% 또는 60%만큼 억제하는 것인 방법.

[0986] 77. 실시양태 75 또는 76에 있어서, 복합체가 단일 용량의 투여 후 적어도 12주 동안 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 대조군에 비해 40-60%만큼 억제하는 것인 방법.

[0987] 78. 근긴장성 이영양증과 연관된 DMPK 대립유전자의 질환-연관-반복부의 확장을 갖는 대상체에게 유효량의 실시양태 1 내지 67 중 어느 하나의 복합체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법.

[0988] 79. 실시양태 78에 있어서, 질환-연관-반복부가 트리뉴클레오티드 서열의 반복 단위를 포함하는 것인 방법.

[0989] 80. 실시양태 78에 있어서, 트리뉴클레오티드 서열이 CTG 트리뉴클레오티드 서열인 방법.

[0990] 81. 실시양태 78 내지 80 중 어느 하나에 있어서, 질환-연관-반복부가 38 내지 200개의 반복 단위 길이인 방법.

[0991] 82. 제81항에 있어서, 질환-연관-반복부가 후기 발병 근긴장성 이영양증과 연관된 것인 방법.

[0992] 83. 실시양태 78 내지 80 중 어느 하나에 있어서, 질환-연관-반복부가 100 내지 10,000개의 반복 단위 길이인 방법.

[0993] 84. 제83항에 있어서, 질환-연관-반복부가 선천성 근긴장성 이영양증과 연관된 것인 방법.

[0994] 85. 실시양태 78 내지 84 중 어느 하나에 있어서, 복합체의 투여가 근육 조직에서 DMPK의 발현을 억제하는 것인 방법.

[0995] 86. 실시양태 78 내지 85 중 어느 하나에 있어서, 복합체가 대상체에게 정맥내로 투여되는 것인 방법.

[0996] 87. 실시양태 78 내지 86 중 어느 하나에 있어서, 복합체의 유효량이 1-15 mg/kg의 RNA를 포함하는 것인 방법.

[0997] 88. 실시양태 78 내지 87 중 어느 하나에 있어서, 복합체가 대상체에게 단일 용량으로 투여되는 것인 방법.

[0998] 89. 실시양태 88에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 적어도 2, 4, 8 또는 12주 동안 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 억제하는 것인 방법.

[0999] 90. 실시양태 89에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 대조군에 비해 적어도 30%, 40%, 50% 또는 60%만큼 억제하는 것인 방법.

[1000] 91. 실시양태 89 또는 90에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 단일 용량의 투여 후 적어도 12주 동안 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 억제하는 것인 방법.

[1001] 92. 실시양태 91에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 단일 용량의 투여 후 적어도 12주 동안 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 대조군에 비해 40-60%만큼 억제하는 것인 방법.

[1002] 93. 실시양태 89 또는 90에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 단일 용량의 투여 후 4-8, 5-10, 8-12, 10-14 또는 8-16주의 범위의 지속기간 동안 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 억제하는 것인 방법.

[1003] 94. 실시양태 93에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 단일 용량의 투여 후 4-8, 5-10, 8-12, 10-14 또는 8-16주의 범위의 지속기간 동안 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 대조군에 비해 40-60%만큼 억제하는 것인 방법.

[1004] 95. 실시양태 89 또는 90에 있어서, 단일 용량의 복합체의 투여가 단일 용량의 투여 12주 후에 근육 조직에서의 DMPK의 발현을 대조군에 비해 40-60%만큼 억제하는 것인 방법.

[1005] 96. 실시양태 78 내지 87 중 어느 하나에 있어서, 복합체가 단일 용량으로 4-8, 5-10, 8-12 또는 8-16주마다 1회 대상체에게 투여되는 것인 방법.

[1006] 97. 실시양태 96에 있어서, 복합체가 단일 용량으로 12주마다 1회 대상체에게 투여되는 것인 방법.

[1007] 98. 실시양태 88 내지 97 중 어느 하나에 있어서, 단일 용량이 복합체를 1-15 mg/kg의 RNA 농도로 포함하는 것인 방법.

[1008] 99. 실시양태 98에 있어서, 단일 용량이 복합체를 10 mg/kg의 RNA 농도로 포함하는 것인 방법.

[1009] 100. 근긴장성 이영양증과 연관된 DMPK 대립유전자의 질환-연관-반복부의 확장을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 대상체에게 실시양태 1 내지 67 중 어느 하나의 복합체를 투여하는 것을 포함하며,

[1010] 여기서 투여는 복합체의 투여 후 4-8, 5-10, 8-12, 10-14 또는 8-16주의 범위의 지속기간 동안 근육 조직에서의 DMPK 발현을 대조군에 비해 40-60%만큼 억제하는 것인 방법.

[1011] 101. 대상체에서 DMPK 발현을 억제하는 방법으로서,

[1012] 실시양태 1-67 중 어느 하나의 복합체를 투여하는 것을 포함하며,

[1013] 여기서 투여는 복합체의 투여 후 4-8, 5-10, 8-12, 10-14 또는 8-16주의 범위의 지속기간 동안 근육 조직에서의 DMPK 발현을 대조군에 비해 40-60%만큼 억제하는 것인 방법.

[1014] 102. 실시양태 100 또는 101에 있어서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오티드인 방법.

[1015] 103. 실시양태 102에 있어서, 복합체의 농도가 1-15 mg/kg RNA인 방법.

[1016] 104. DMPK의 발현 또는 활성을 감소시키도록 구성된 분자 페이로드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 (TfR) 항체를 포함하는 복합체로서,

[1017] 여기서 항-TfR 항체는 하기를 포함하는 것인 복합체:

[1018] (i) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1019] (ii) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1020] (iii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1021] (iv) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1022] (v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1023] (vi) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1024] (vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1025] (viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[1026] (ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

[1027] (x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL).

[1028] 105. DMPK의 발현 또는 활성을 감소시키도록 구성된 분자 페이로드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 (TfR) 항체를 포함하는 복합체로서, 여기서 항-TfR 항체는 번역후 변형으로부터 생성된 피로글루타메이트 형성을 겪은 것인 복합체.

[1029] 등가물 및 용어

[1030] 본원에 예시적으로 기재된 본 개시내용은 본원에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소 또는 요소들, 제한 또는 제한들의 부재 하에 적합하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어 본원의 각각의 예에서, 용어 "포함하는", "로 본질적으로 이루어진" 및 "로 이루어진" 중 임의의 용어는 다른 두 용어 중 어느 하나로 대체될 수 있다. 사용된 용어 및 표현은 제한이 아닌 설명의 용어로서 사용되었으며, 이러한 용어 및 표현의 사용에 있어서 제시 및 기재된 특색 또는 그의 부분의 임의의 등가물을 배제하려는 의도는 없지만, 본 개시내용의 범주 내에서 다양한 변형이 가능한 것으로 인식된다. 따라서, 본 개시내용이 바람직한 실시양태에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본원에 개시된 개념의 임의적인 특색, 변형 및 변경이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 재분류될 수 있고, 이러한 변형 및 변경이 본 개시내용의 범주 내에 있는 것으로 간주된다고 이해될 것이다.

[1031] 추가로, 본 개시내용의 특색 또는 측면이 마쿠쉬 군 또는 다른 대안적 군의 면에서 기재되는 경우에, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용이 또한 마쿠쉬 군 또는 다른 군의 임의의 개별 구성원 또는 구성원의 하위군의 면에서 기재된다는 것을 인식할 것이다.

[1032] 일부 실시양태에서, 서열 목록에 제시된 서열은 올리고뉴클레오티드 또는 다른 핵산의 구조를 기재하는 데 언급될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 이러한 실시양태에서, 실제 올리고뉴클레오티드 또는 다른 핵산은 명시된 서열과 본질적으로 동일하거나 유사한 상보적 특성을 보유하면서 명시된 서열과 비교하여 1개 이상의 대안적 뉴클레오티드 (예를 들어, DNA 뉴클레오티드의 RNA 대응부 또는 RNA 뉴클레오티드의 DNA 대응부) 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 다른 변형을 가질 수 있다.

[1033] 본 발명을 기재하는 문맥에서 (특히 하기 청구범위의 문맥에서) 단수 용어 및 유사한 지시대상의 사용은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 명확하게 모순되지 않는 한, 단수 및 복수 둘 다를 포괄하는 것으로

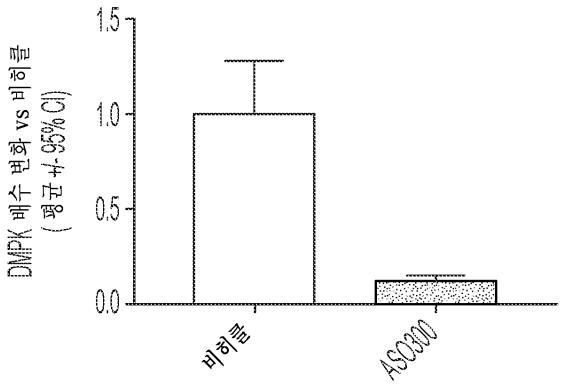
해석될 것이다. 용어 "포함하는", "갖는", "포함한" 및 "함유하는"은 달리 나타내지 않는 한 개방형 용어 (즉, "포함하나 이에 제한되지는 않음"을 의미함)로서 해석될 것이다. 본원에서 값의 범위에 대한 언급은 본원에 달리 나타내지 않는 한, 단지 상기 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 지칭하는 약칭 방법으로서 제공되는 것으로 의도되고, 각각의 개별 값은 본원에 개별적으로 열거된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본원에 기재된 모든 방법은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예 또는 예시적인 어휘 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 보다 잘 예시하는 것으로 의도되며, 달리 청구되지 않는 한 본 발명의 범주에 대한 제한을 부과하지 않는다. 본 명세서의 어떠한 어휘도 임의의 청구되지 않은 요소가 본 발명의 실시에 필수적인 것임을 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[1034] 본 발명의 실시양태가 본원에 기재된다. 이들 실시양태의 변경은 상기 설명을 읽으면 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명해질 수 있다.

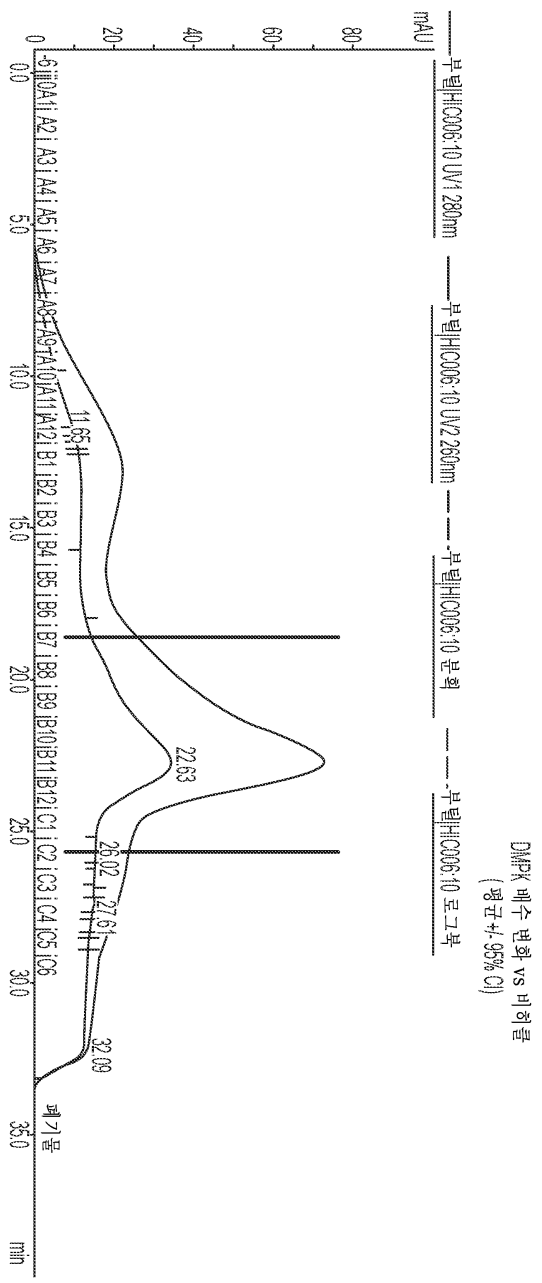
[1035] 본 발명자들은 통상의 기술자가 이러한 변경을 적절하게 사용할 것으로 예상하고, 본 발명자들은 본 발명이 본원에 구체적으로 기재된 것과 달리 실시되는 것을 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법에 의해 허용되는 바와 같은 본원에 첨부된 청구범위에 언급된 대상의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 더욱이, 모든 가능한 변경에서 상기 기재된 요소들의 임의의 조합은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한 본 발명에 의해 포괄된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 단지 상용에 지나지 않는 실험을 사용하여, 본원에 기재된 본 발명의 구체적 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

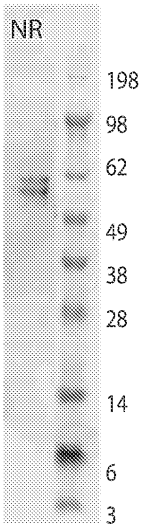
도면1



도면2a

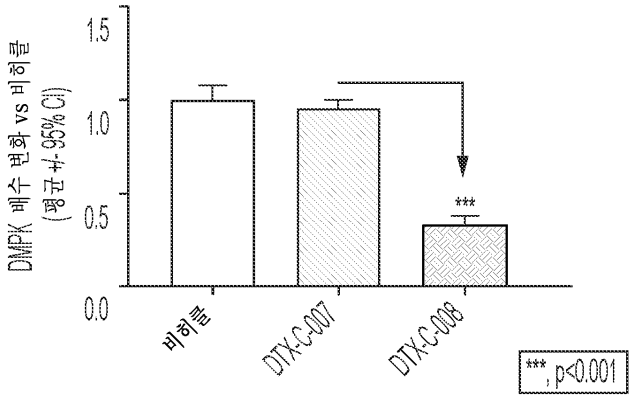

mAU
min
부틸HC006:10 UV1 280nm
부틸HC006:10 UV2 260nm
부틸HC006:10 분획
부틸HC006:10 로그북
DMPK 베수 변화 vs 비히클
(평균+/-95% CI)
11.65
22.63
26.02
27.61
32.09
폐기물

도면2b

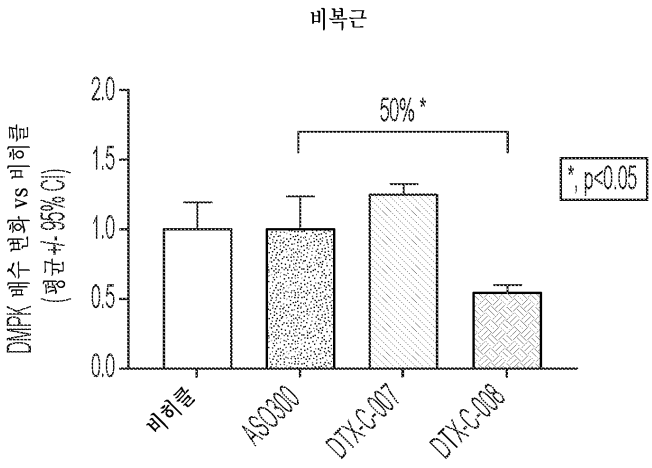


누페이지 4-12% 1mm SDS-PAGE
MES 구동 완충제, 150v 50min

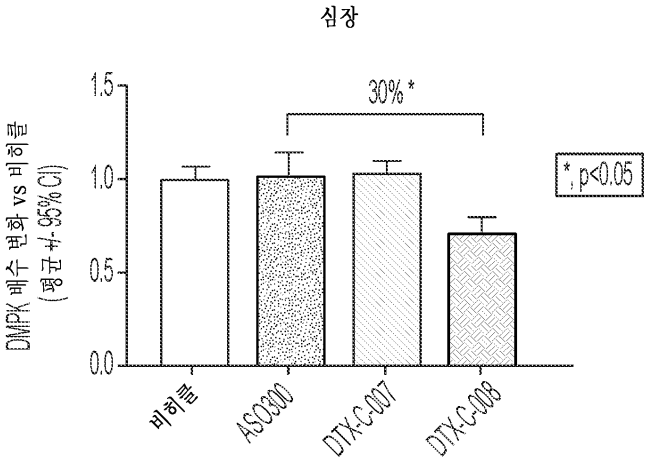
도면3



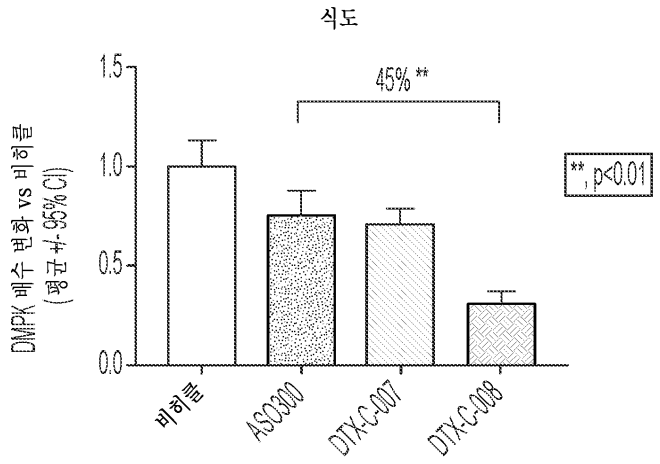
도면4a



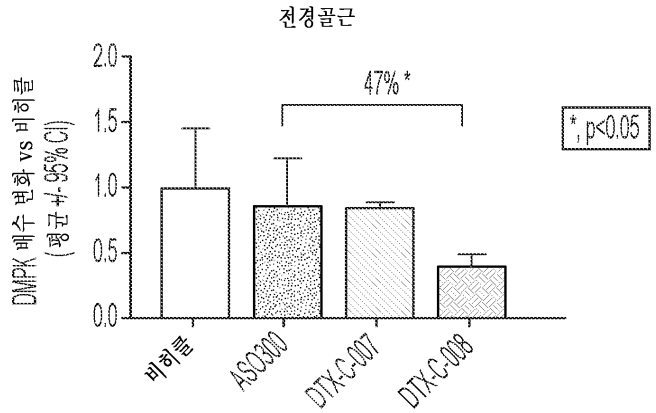
도면4b



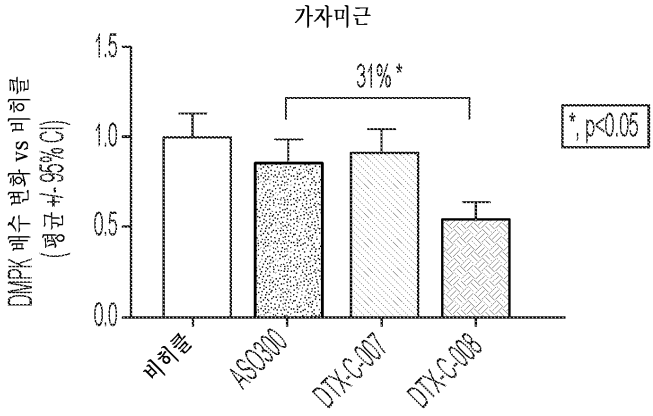
도면4c



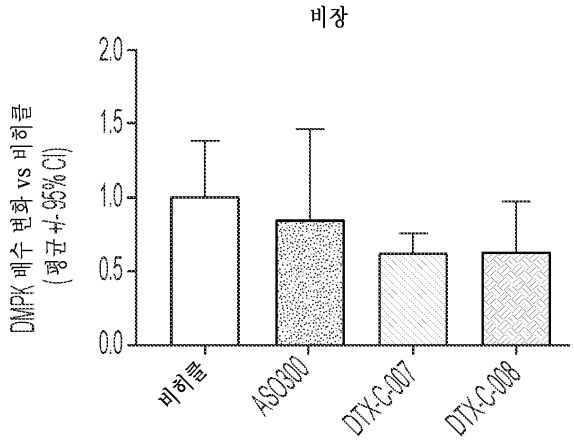
도면4d



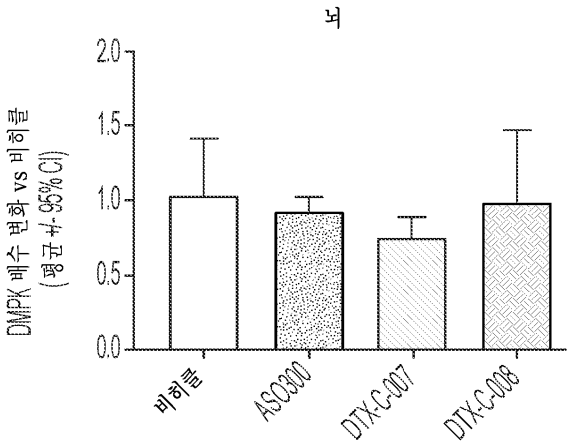
도면4e



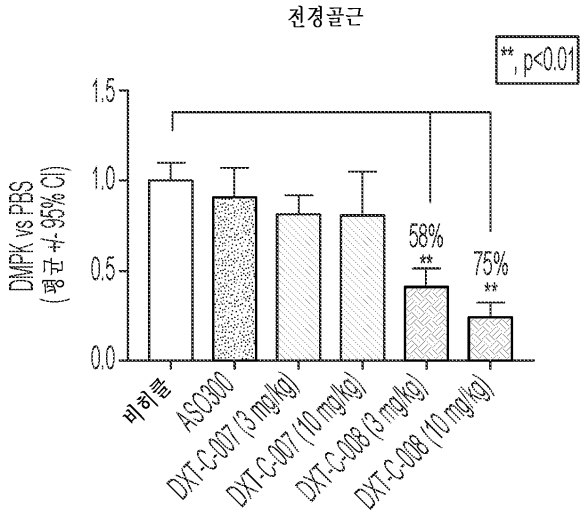
도면5a



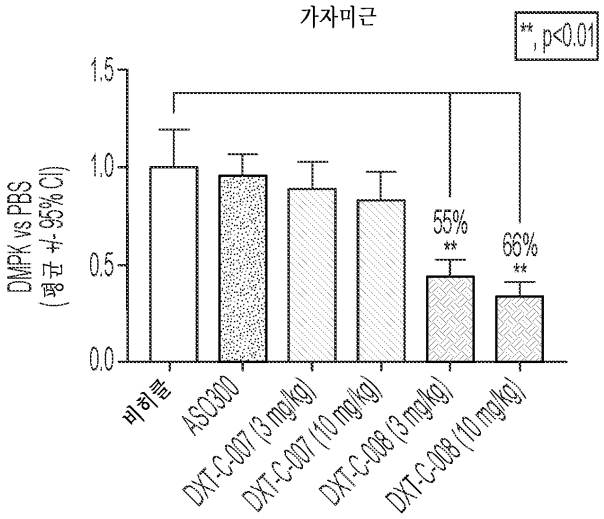
도면5b



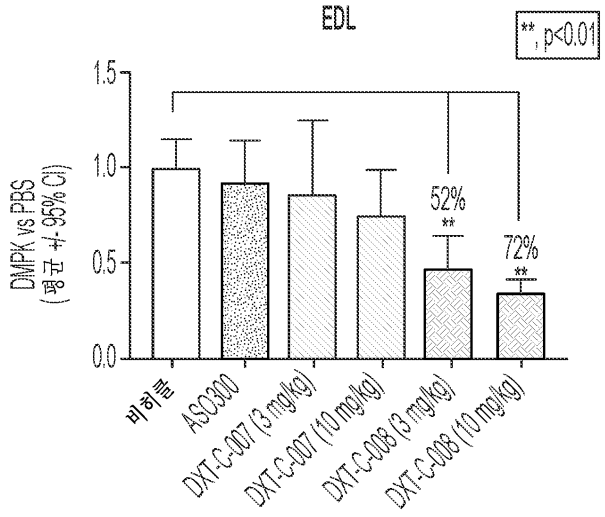
도면6a


전경골근
**, p<0.01
DMPK vs PBS
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
58%
**
75%
**
비히클
ASO300
DXT-C-007 (3 mg/kg)
DXT-C-007 (10 mg/kg)
DXT-C-008 (3 mg/kg)
DXT-C-008 (10 mg/kg)

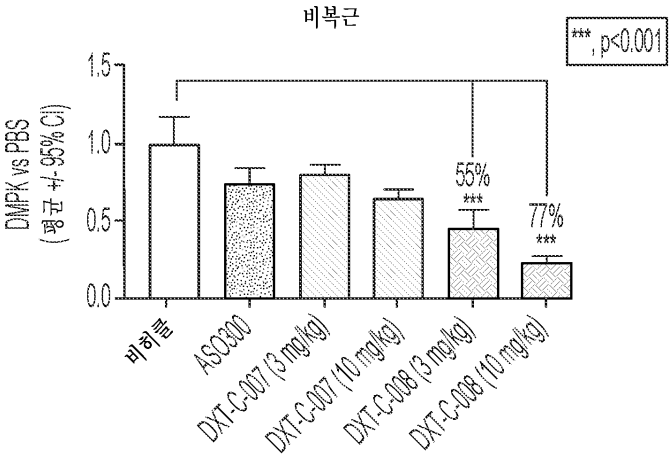
도면6b


가자미근
**, p<0.01
DMPK vs PBS
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
55%
**
66%
**
비히클
ASO300
DXT-C-007 (3 mg/kg)
DXT-C-007 (10 mg/kg)
DXT-C-008 (3 mg/kg)
DXT-C-008 (10 mg/kg)

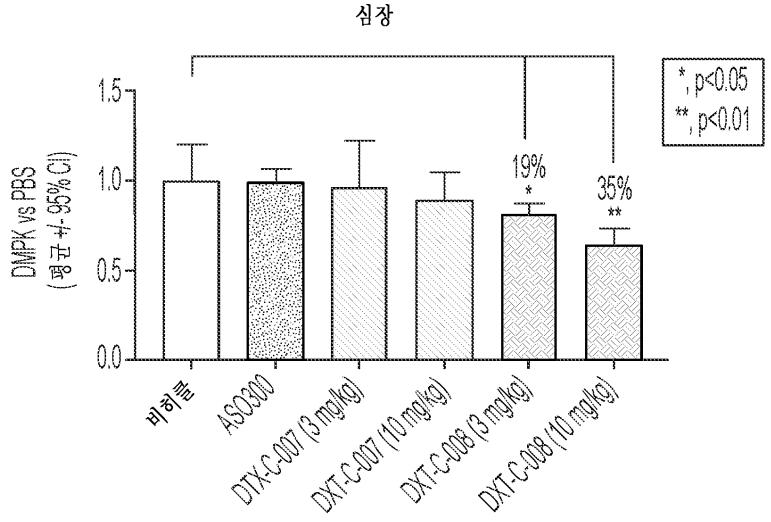
도면6c



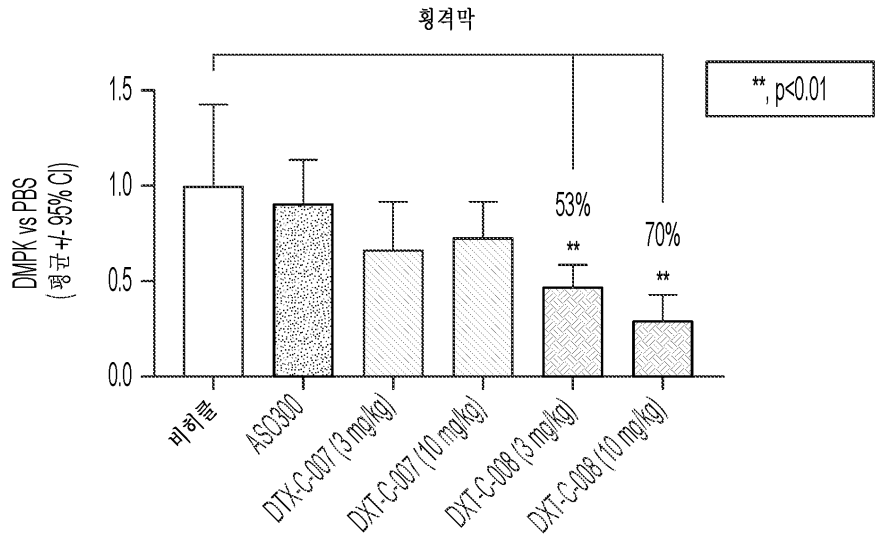
도면6d



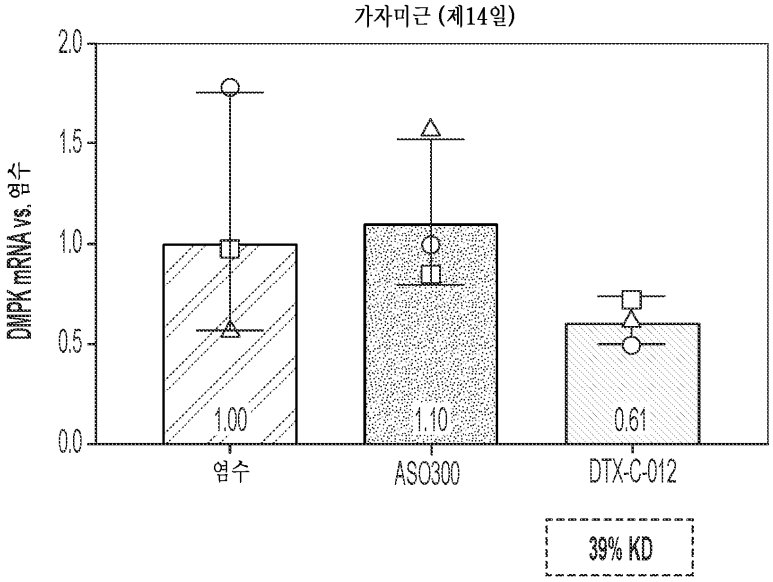
도면6e



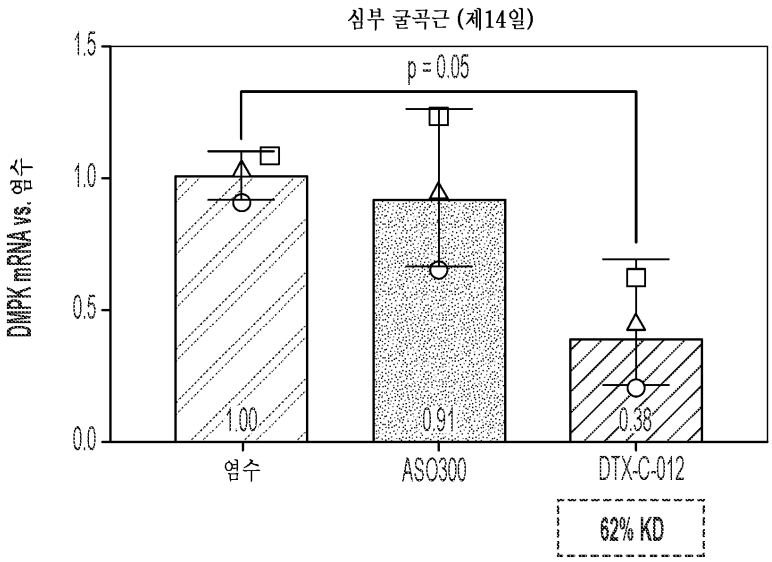
도면6f


횡격막
**, p<0.01
DMPK vs PBS
(평균+/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
53%
**
70%
**
비히클
ASO300
DTX-C-007 (3 mg/kg)
DXT-C-007 (10 mg/kg)
DXT-C-008 (3 mg/kg)
DXT-C-008 (10 mg/kg)

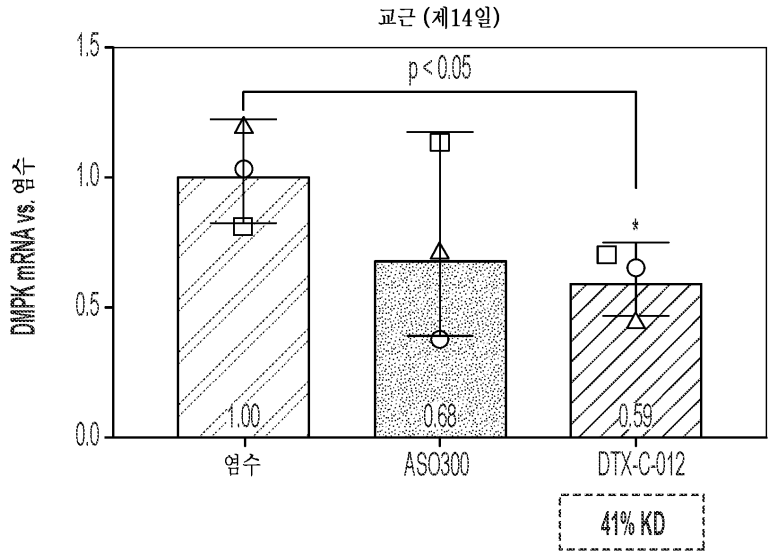
도면7a


가자미근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
1.10
0.61
염수
ASO300
DTX-C-012
39% KD

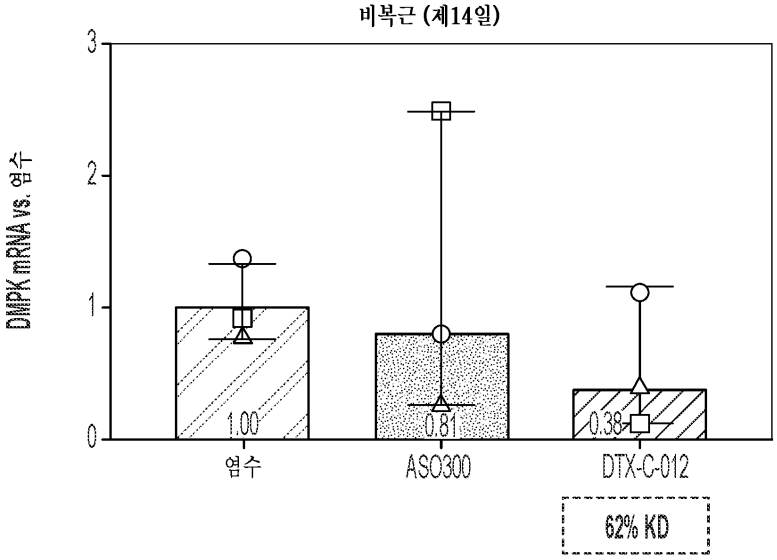
도면7b


심부 굴곡근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
1.5
1.0
0.5
0.0
p = 0.05
1.00
0.91
0.38
염수
ASO300
DTX-C-012
62% KD

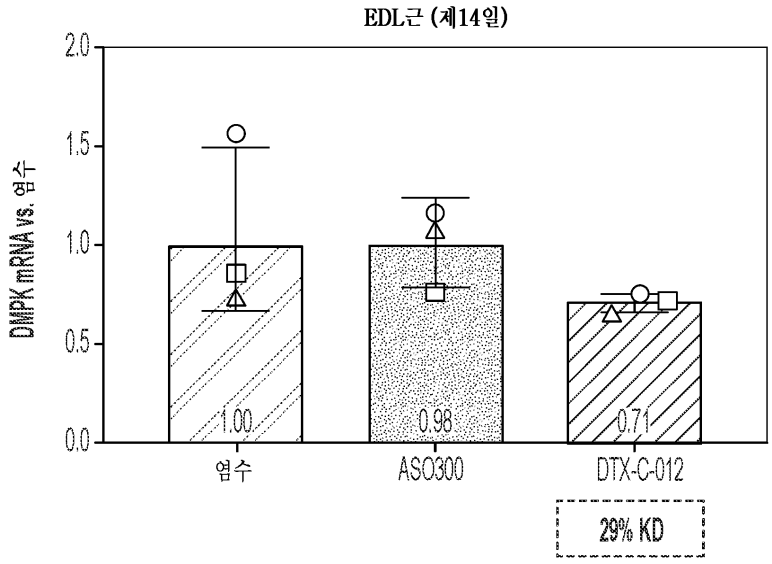
도면7c


교근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
1.5
1.0
0.5
0.0
p < 0.05
*
1.00
0.68
0.59
염수
ASO300
DTX-C-012
41% KD

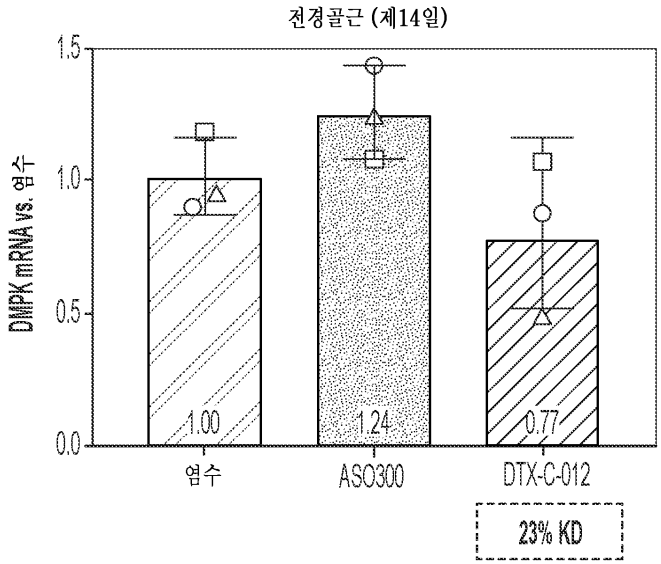
도면7d


비복근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
3
2
1
0
1.00
0.81
0.38
염수
ASO300
DTX-C-012
62% KD

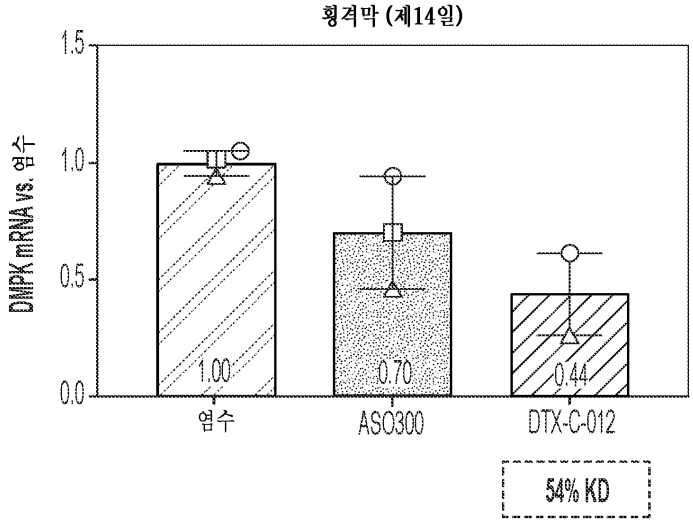
도면7e


EDL근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
0.98
0.71
염수
ASO300
DTX-C-012
29% KD

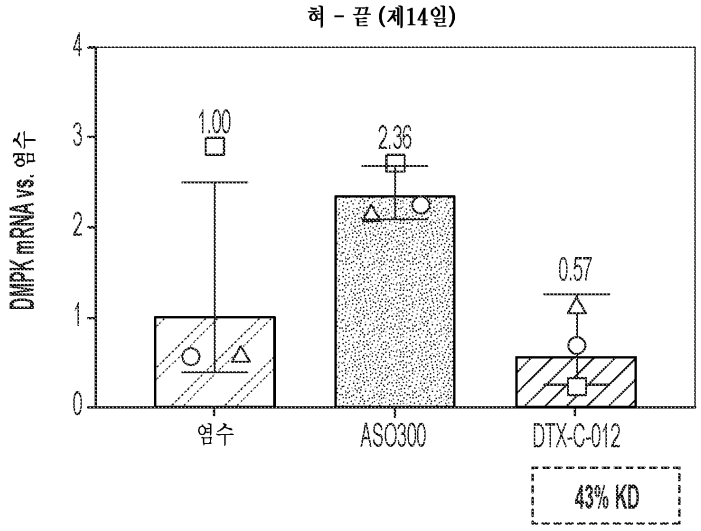
도면7f


전경골근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
1.24
0.77
염수
ASO300
DTX-C-012
23% KD

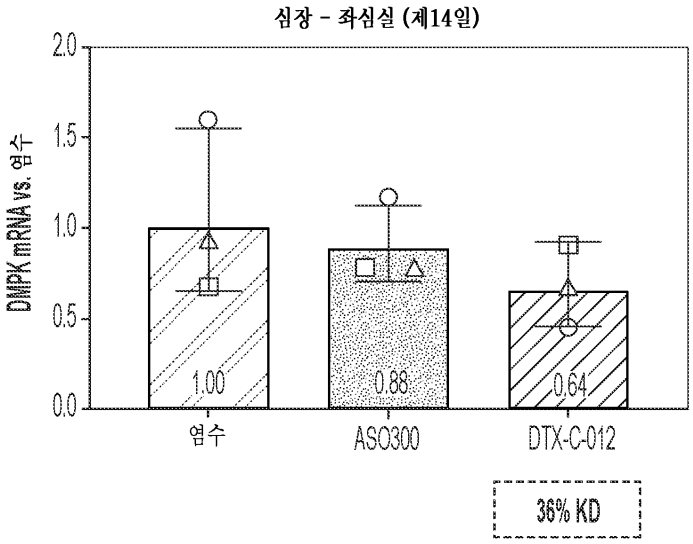
도면7g


횡격막 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
0.70
0.44
염수
ASO300
DTX-C-012
54% KD

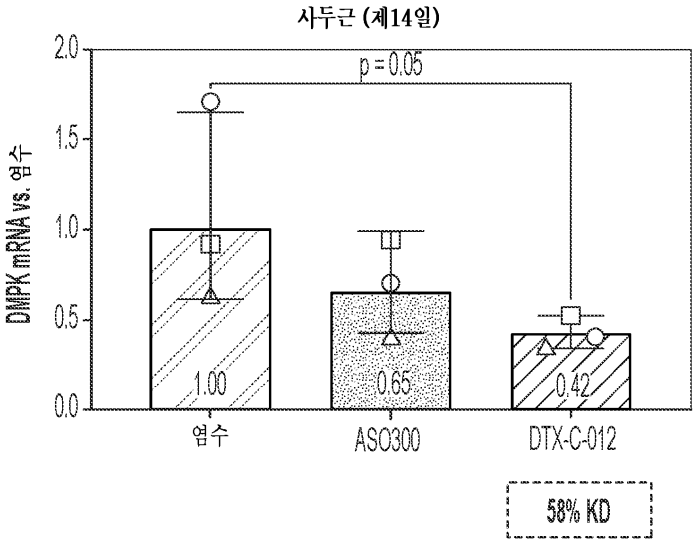
도면7h


혀 - 끝 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
4
3
2
1
0
1.00
2.36
0.57
염수
ASO300
DTX-C-012
43% KD

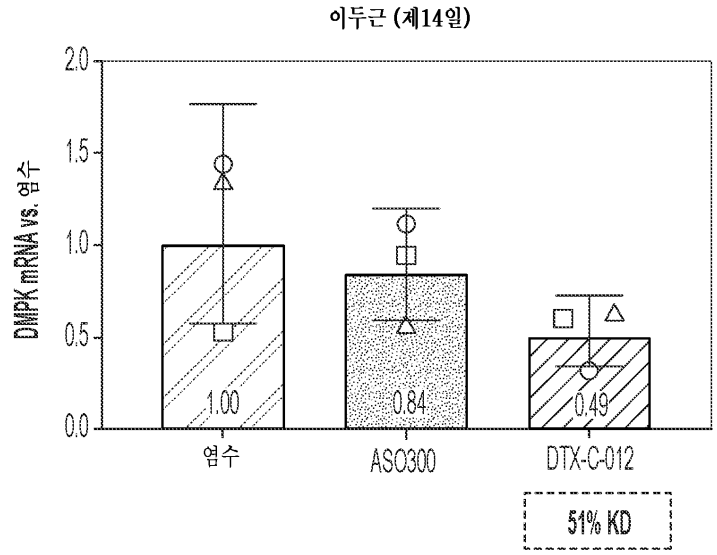
도면7i


심장 - 좌심실 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
0.88
0.64
염수
ASO300
DTX-C-012
36% KD

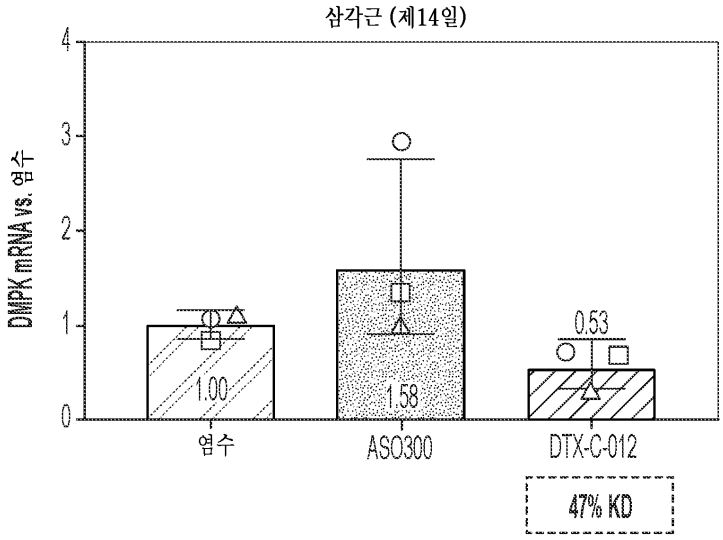
도면7j


사두근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
p = 0.05
1.00
0.65
0.42
염수
ASO300
DTX-C-012
58% KD

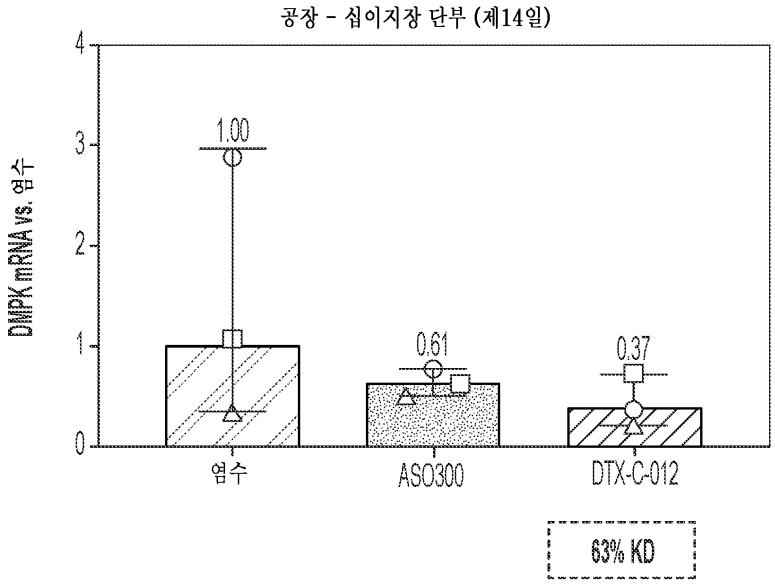
도면7k


이두근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
0.84
0.49
염수
ASO300
DTX-C-012
51% KD

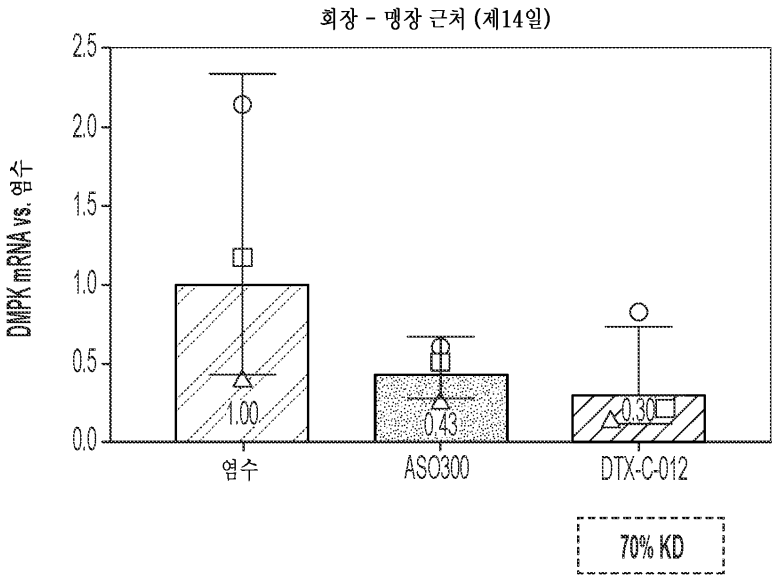
도면7I


삼각근 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
4
3
2
1
0
1.00
1.58
0.53
염수
ASO300
DTX-C-012
47% KD

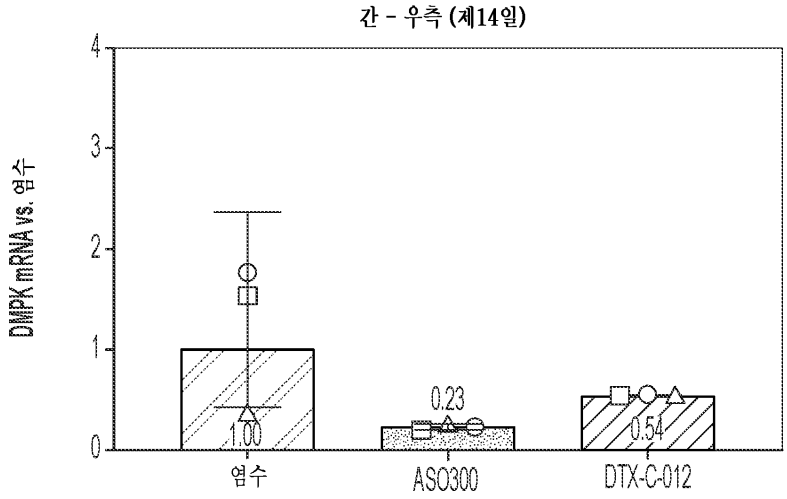
도면8a


공장 - 십이지장 단부 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
4
3
2
1
0
1.00
0.61
0.37
염수
ASO300
DTX-C-012
63% KD

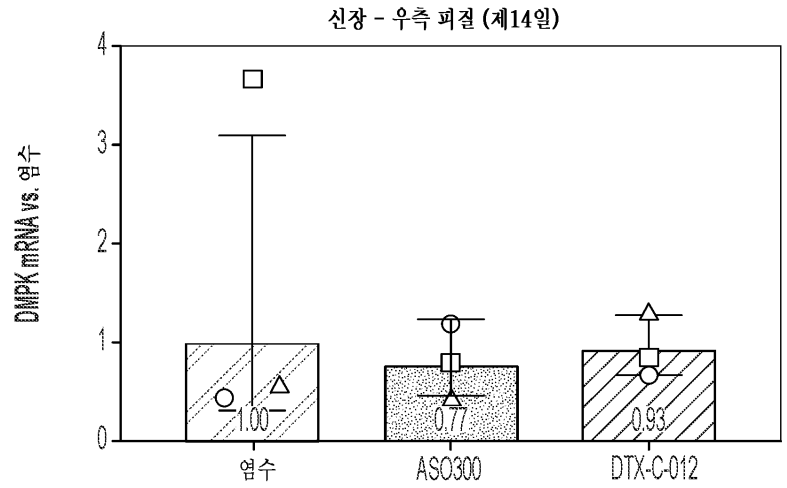
도면8b


회장 - 맹장 근처 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
0.43
0.30
염수
ASO300
DTX-C-012
70% KD

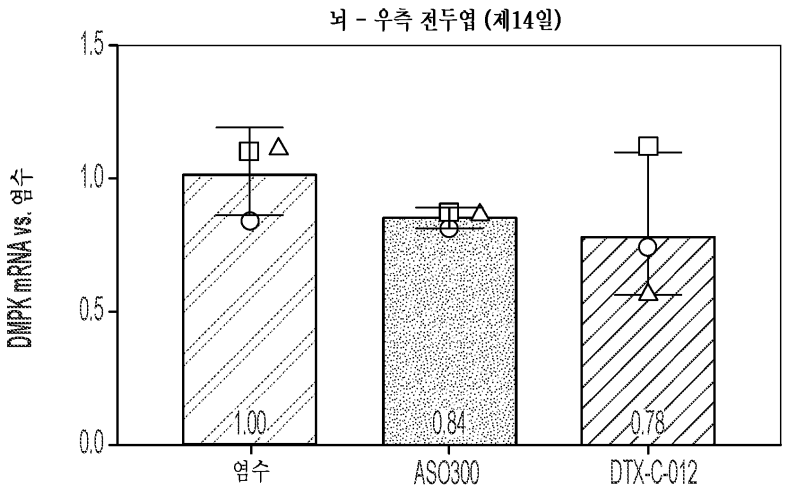
도면9a


간 - 우측 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
4
3
2
1
0
1.00
0.23
0.54
염수
ASO300
DTX-C-012

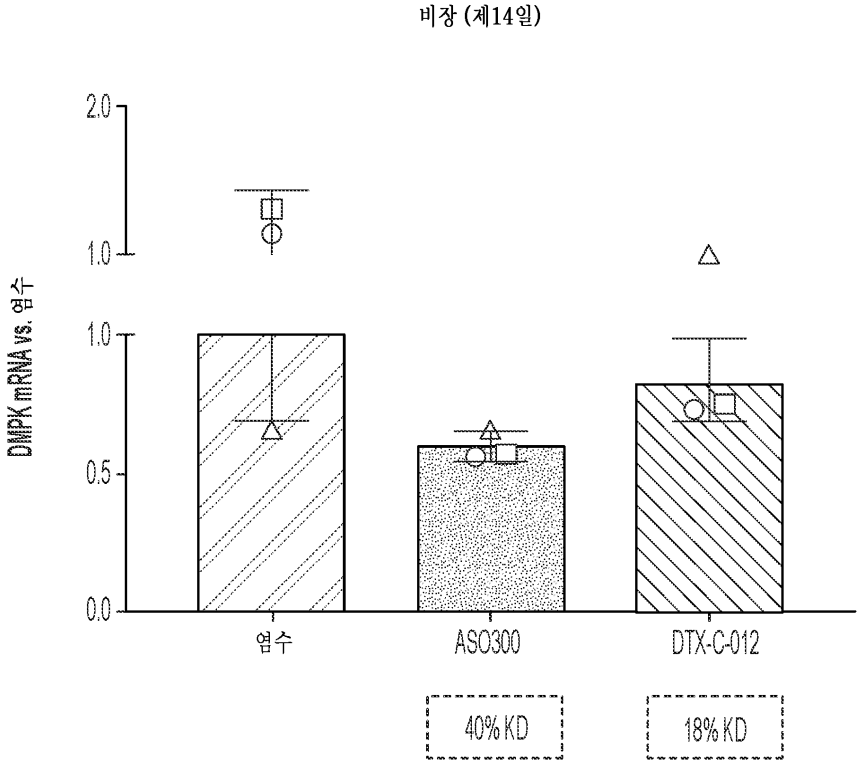
도면9b


신장 - 우측 피질 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
4
3
2
1
0
1.00
0.77
0.93
염수
ASO300
DTX-C-012

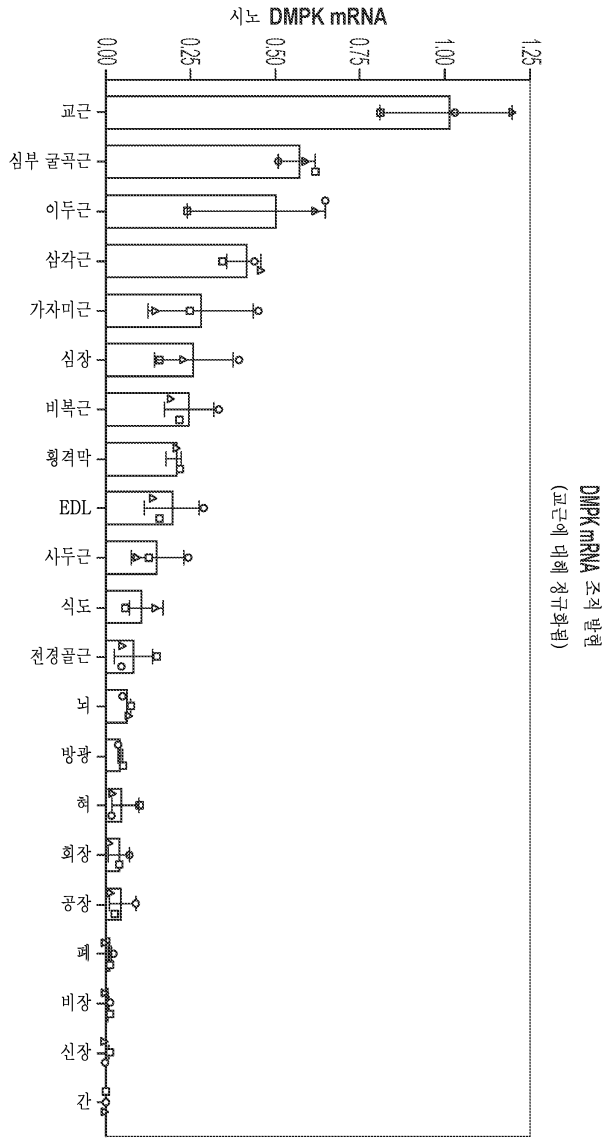
도면9c


뇌 - 우측 전두엽 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
1.5
1.0
0.5
0.0
1.00
0.84
0.78
염수
ASO300
DTX-C-012

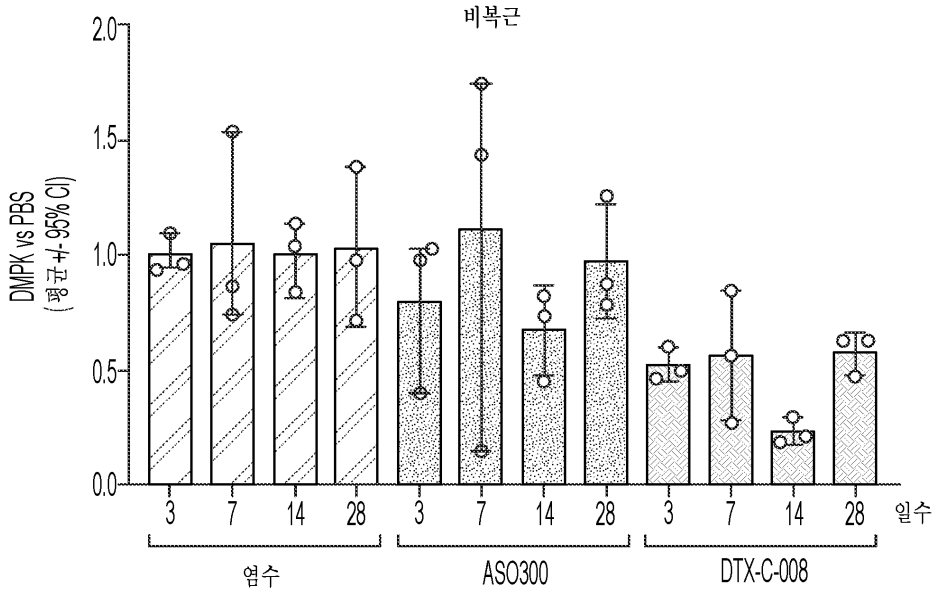
도면9d


비장 (제14일)
DMPK mRNA vs. 염수
2.0
1.0
1.0
0.5
0.0
염수
ASO300
DTX-C-012
40% KD
18% KD

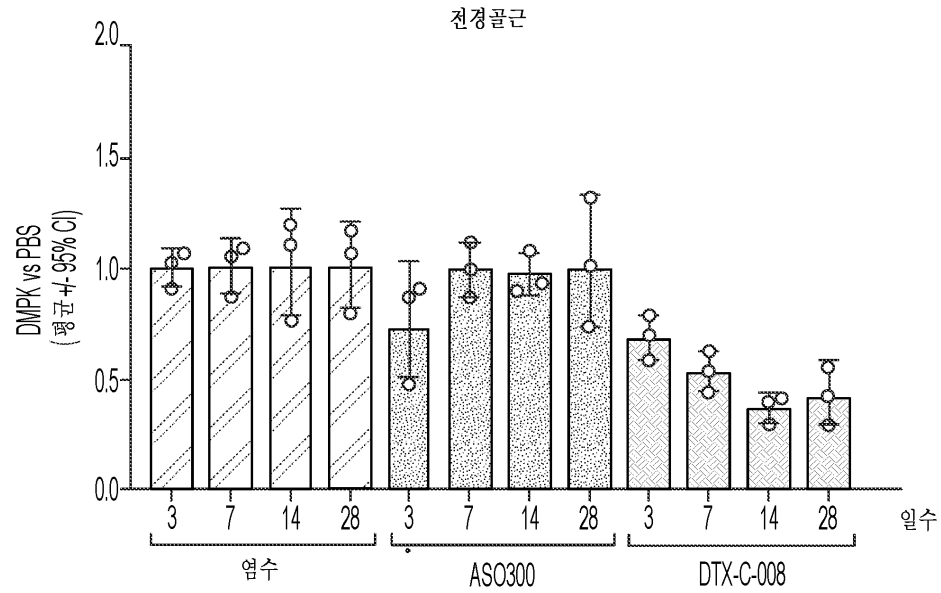
도면10


시노 DMPK mRNA
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
1.25
교근
심부 굴곡근
이두근
삼각근
가자미근
심장
비복근
횡격막
EDL
사두근
식도
전경골근
뇌
방광
허
회장
공장
폐
비장
신장
간
DMPK mRNA 조직 발현
(교근에 대해 정규화됨)

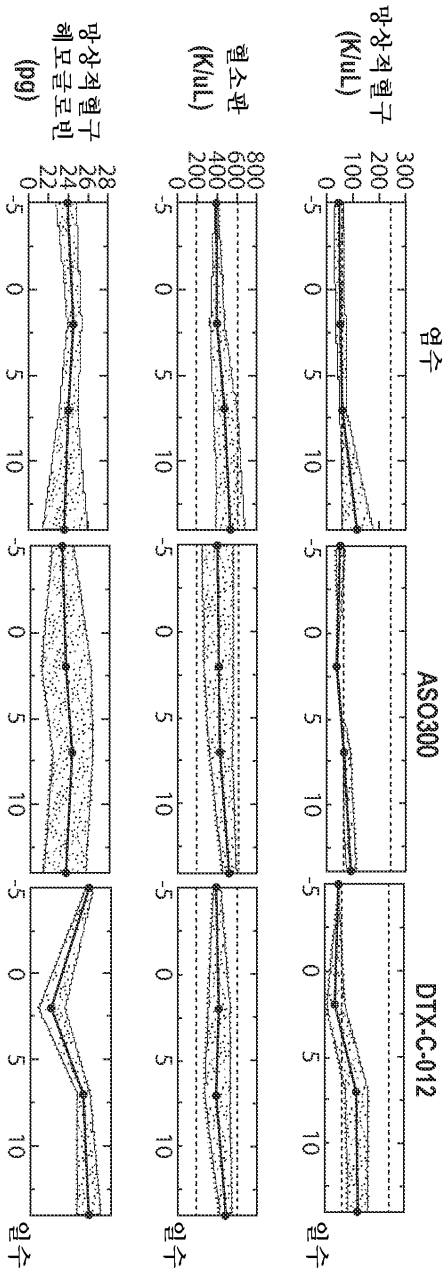
도면11a


비복근
DMPK vs PBS
(평균+/-95% CI)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
3
7
14
28
3
7
14
28
3
7
14
28
일수
염수
ASO300
DTX-C-008

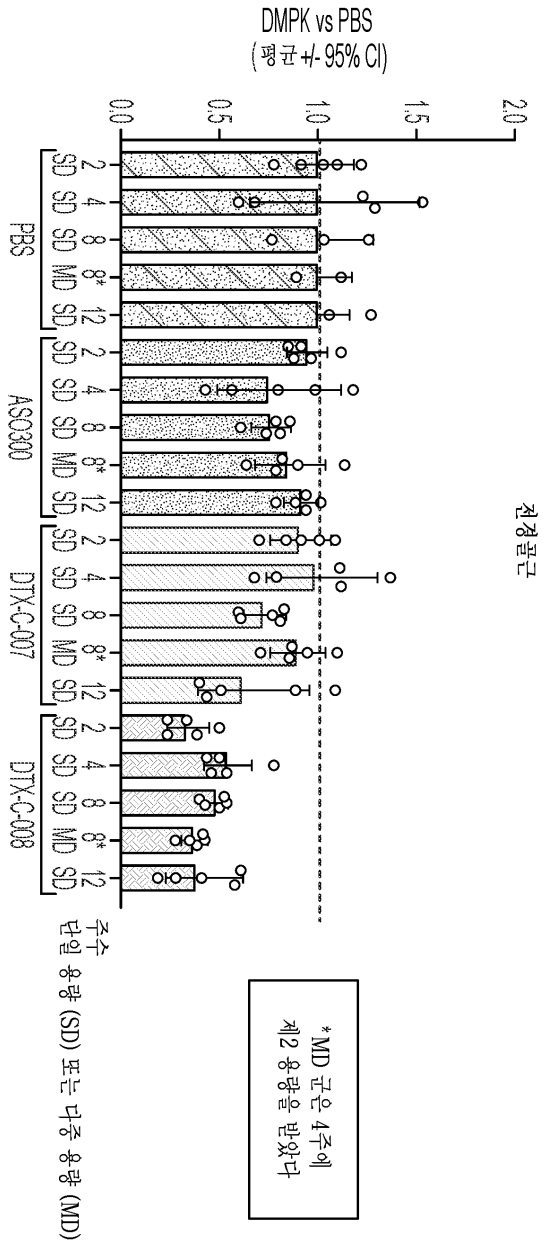
도면11b


전경골근
DMPK vs PBS
(평균+/-95% CI)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
3
7
14
28
3
7
14
28
3
7
14
28
일수
염수
ASO300
DTX-C-008

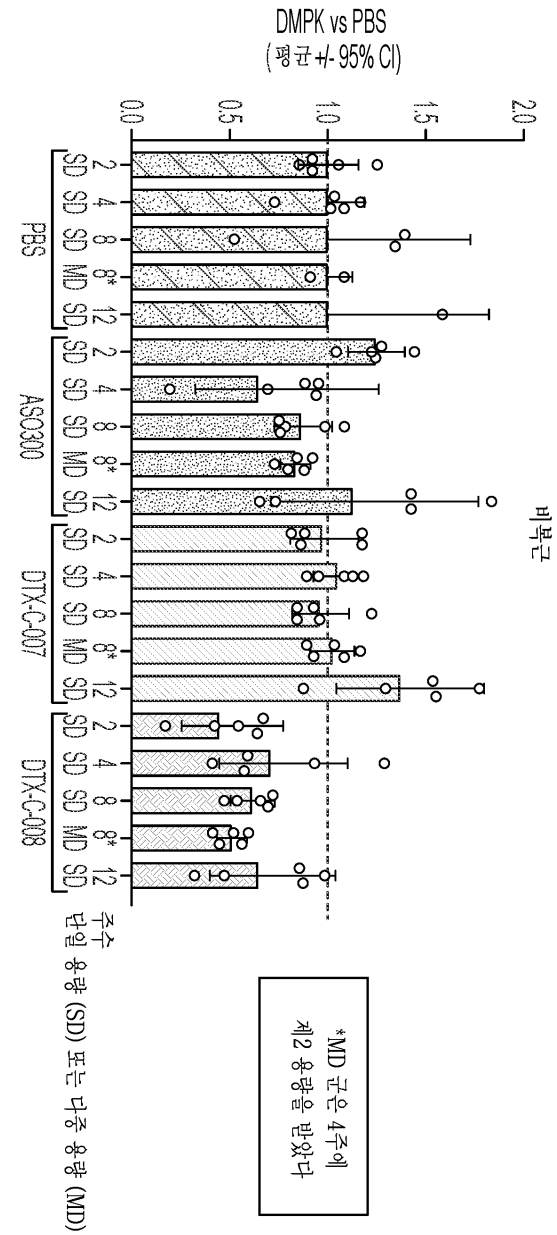
도면12



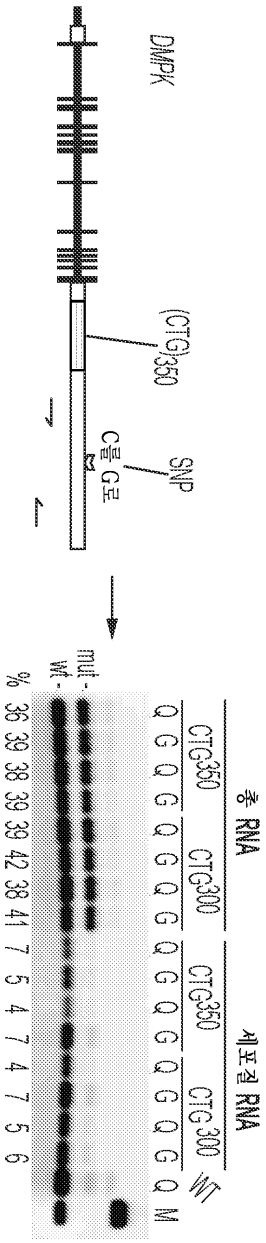
도면13a


DMPK vs PBS
(평균+/- 95% CI)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
전경골근
PBS
ASO300
DTX-C-007
DTX-C-008
SD 2
SD 4
SD 8
MD 8*
SD 12
주수
단일 용량 (SD) 또는 다중 용량 (MD)
*MD 군은 4주에
제2 용량을 받았다

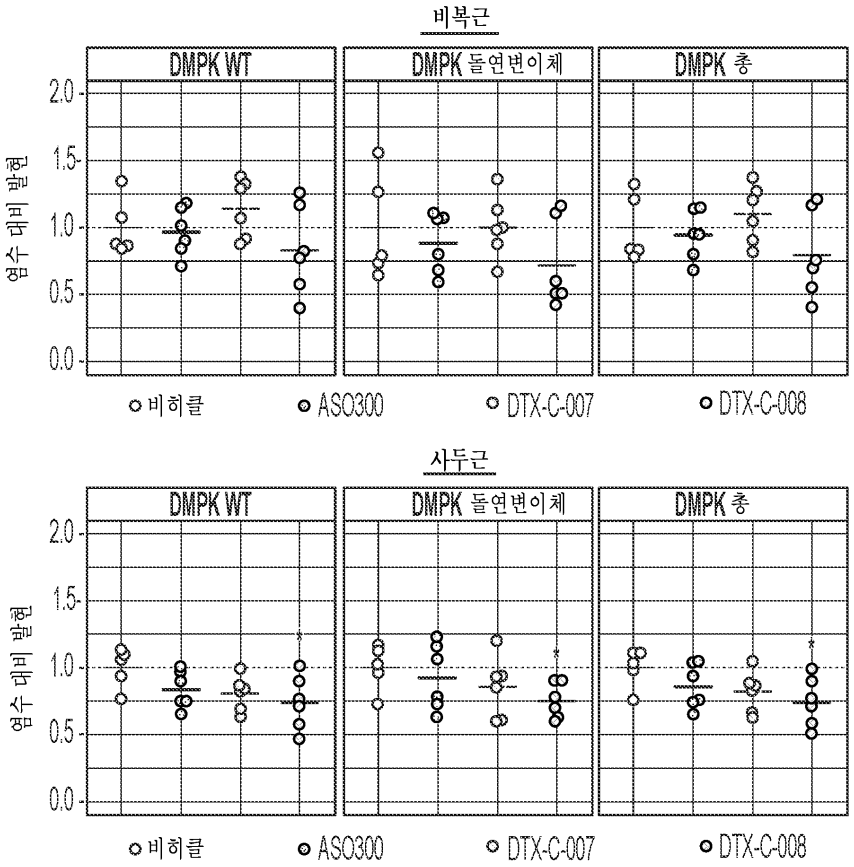
도면13b


DMPK vs PBS
(평균 +/- 95% CI)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
비복근
PBS
ASO300
DTX-C-007
DTX-C-008
SD 2
SD 4
SD 8
MD 8*
SD 12
*MD 군은 4주에
제2 용량을 받았다
주수
단일 용량 (SD) 또는 다중 용량 (MD)

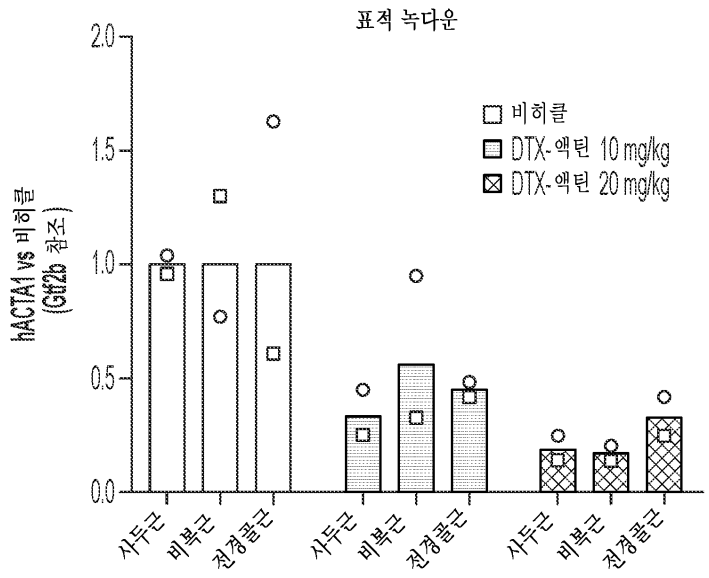
도면14a


DMPK
(CTG)350
SNP
C를 G로
mut-
wt-
%
36 39 38 39 39 42 38 41 7 5 4 7 4 7 5 6
Q G Q G Q G Q G Q G Q G Q G Q G
CTG350
CTG300
CTG350
CTG 300
총 RNA
세포질 RNA
WT
M

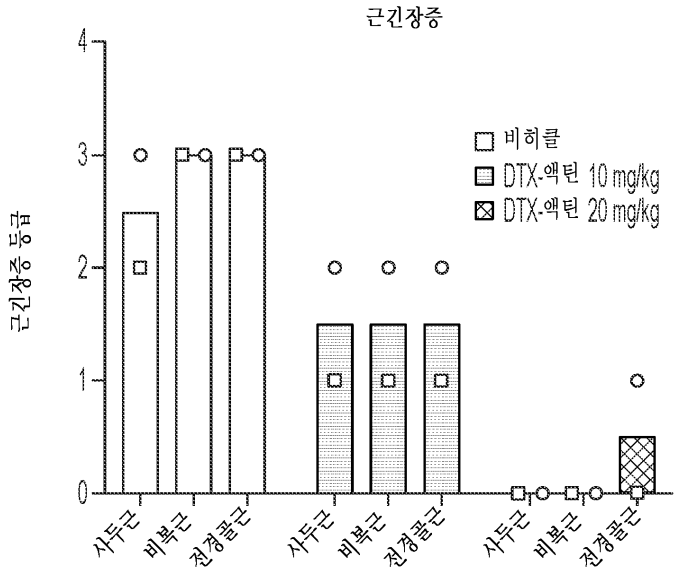
도면14b


비복근
DMPK WT
DMPK 돌연변이체
DMPK 총
염수 대비 발현
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
ASO300
DTX-C-007
DTX-C-008
사두근
DMPK WT
DMPK 돌연변이체
DMPK 총
염수 대비 발현
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
ASO300
DTX-C-007
DTX-C-008

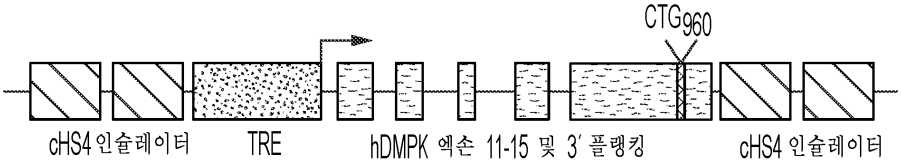
도면15a


표적 녹다운
hACTA1 vs 비히클
(Gtf2b 참조)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
DTX-액틴 10 mg/kg
DTX-액틴 20 mg/kg
사두근
비복근
전경골근
사두근
비복근
전경골근
사두근
비복근
전경골근

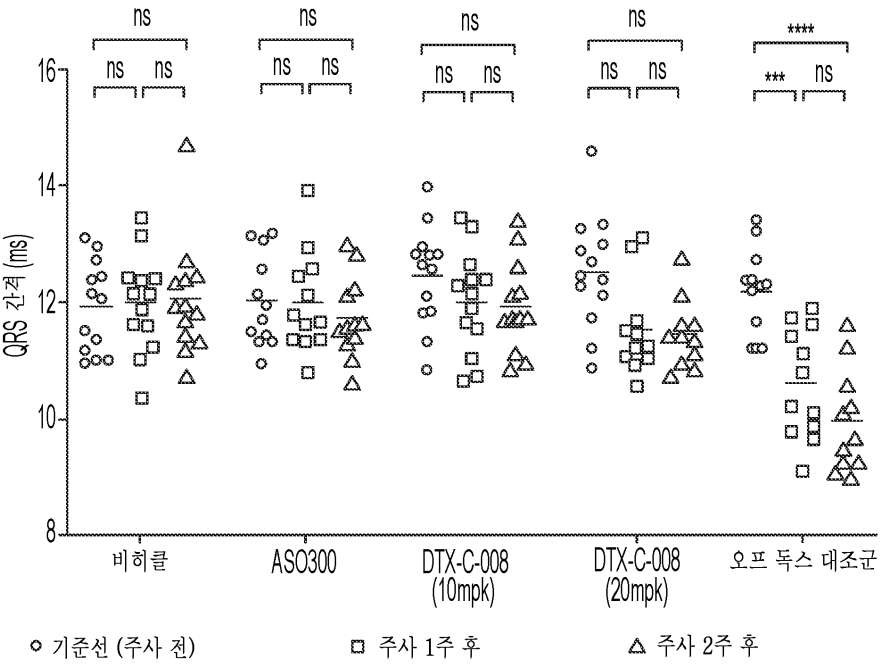
도면15b



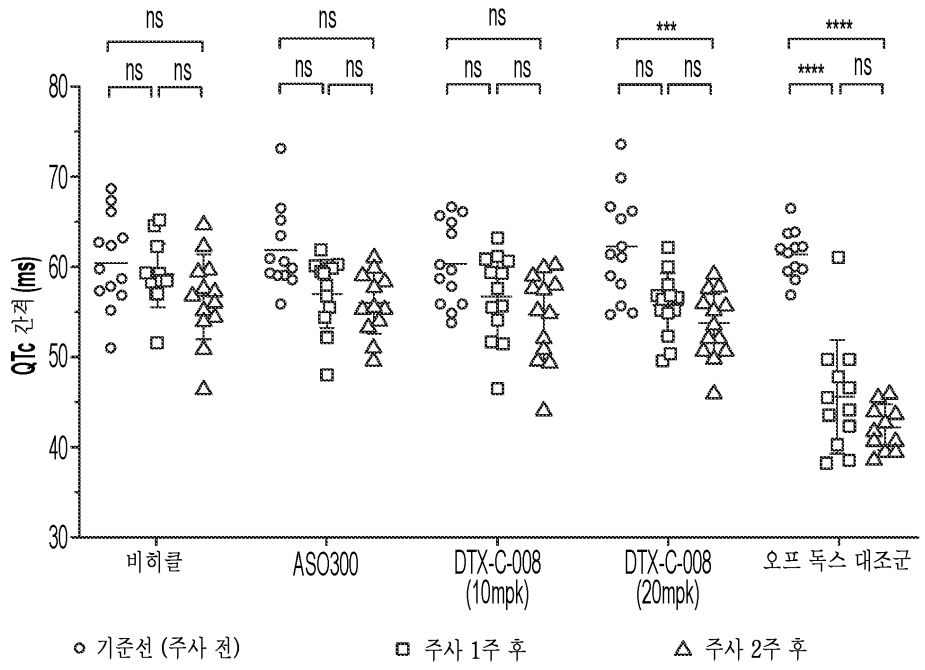
도면16a



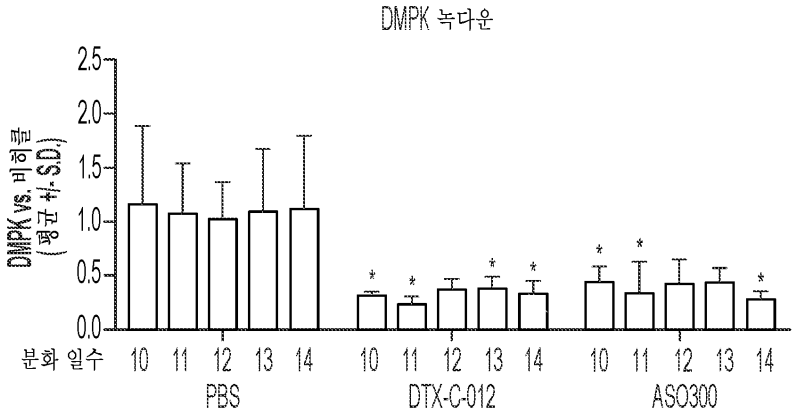
도면16b



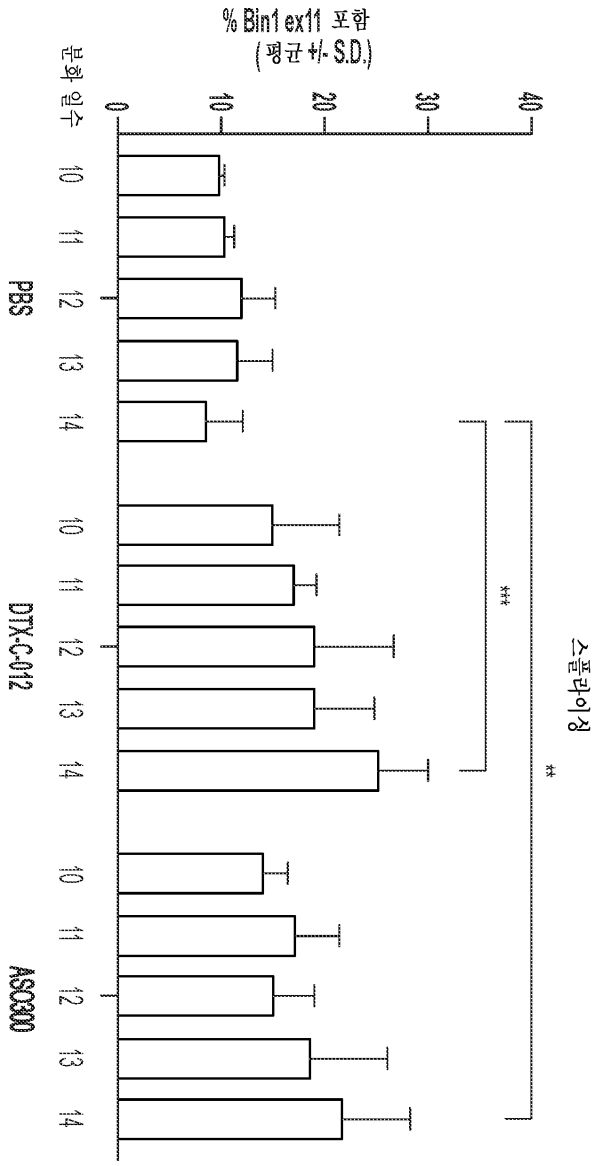
도면16c


ns
***
****
80
70
60
50
40
30
QTc 간격 (ms)
비히클
ASO300
DTX-C-008 (10mpk)
DTX-C-008 (20mpk)
오프 독스 대조군
기준선 (주사 전)
주사 1주 후
주사 2주 후

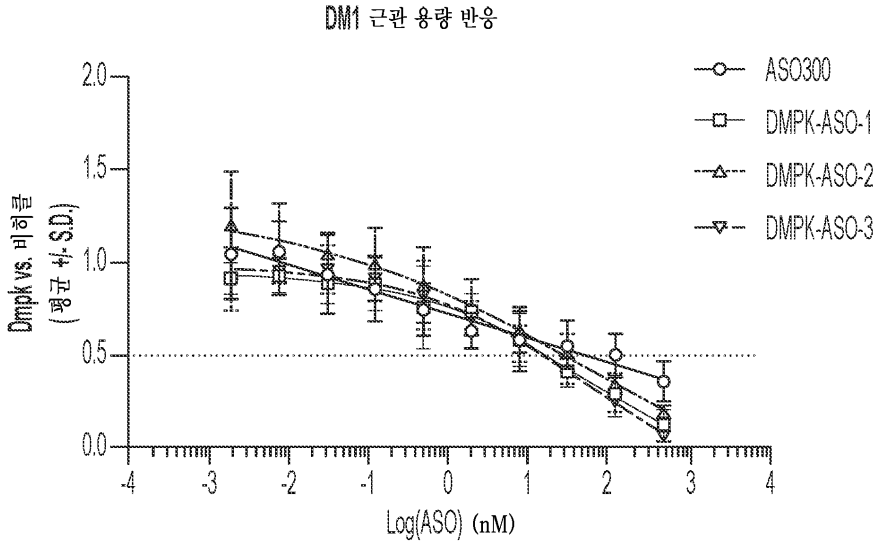
도면17a


DMPK 녹다운
DMPK vs. 비히클 (평균 +/- S.D.)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
분화 일수
10 11 12 13 14
PBS
DTX-C-012
ASO300

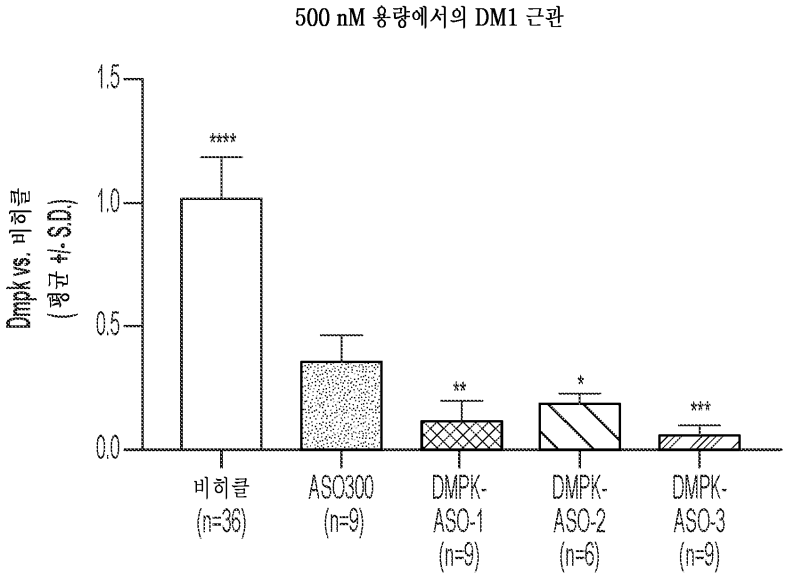
도면17b


% Bin1 ex11 포함
(평균 +/- S.D.)
0
10
20
30
40
분화일수
10
11
12
13
14
PBS
DTX-C-012
ASO300
***
**
스플라이싱

도면18a



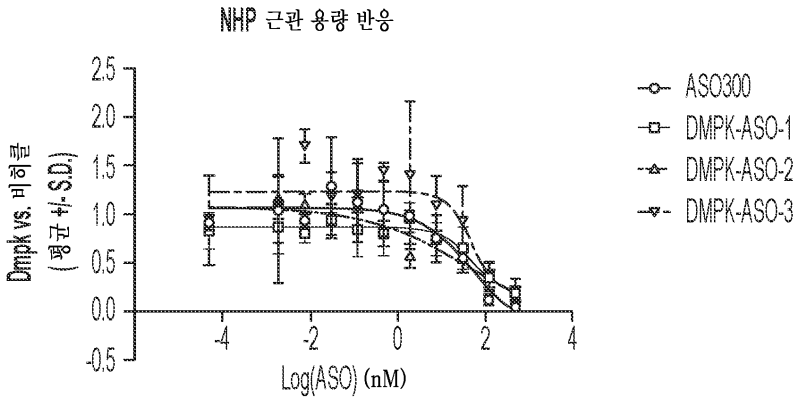
도면18b



도면18c

올리고	50% DMPK KD (nM)	80% DMPK KD (nM)
DMPK-ASO-1	17.23	230.3
DMPK-ASO-2	28.34	522.04
DMPK-ASO-3	15.66	169.89
ASO300(도구)	52.6	~10324 (외삽)

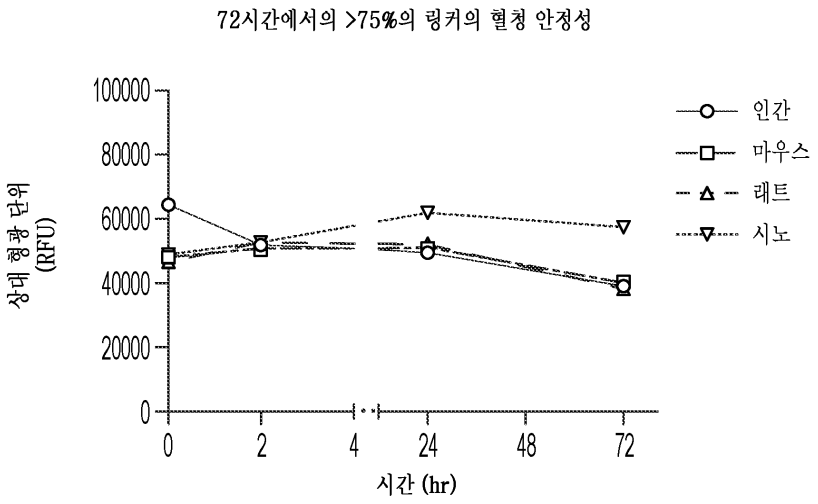
도면19a



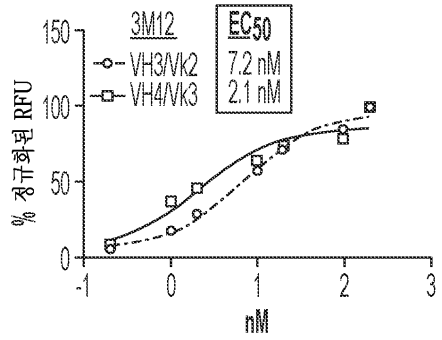
도면19b

올리고	50% DMPK KD (nM)	80% DMPK KD (nM)
DMPK-ASO-1	54	709
DMPK-ASO-2	31	461
DMPK-ASO-3	83	558
ASO300 (도구)	37	141

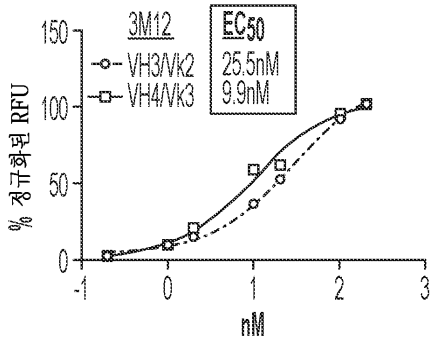
도면20



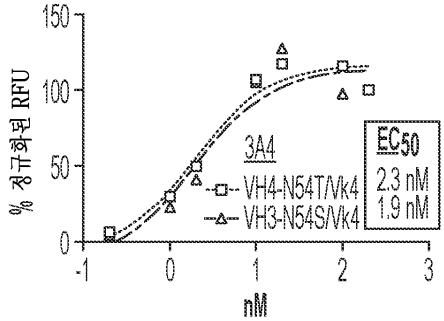
도면21a



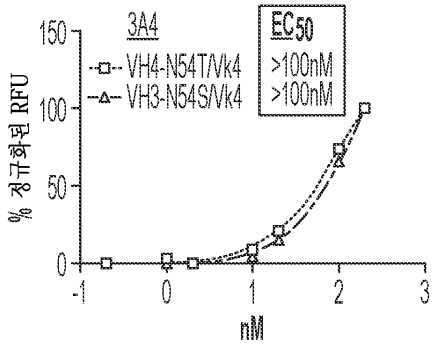
도면21b



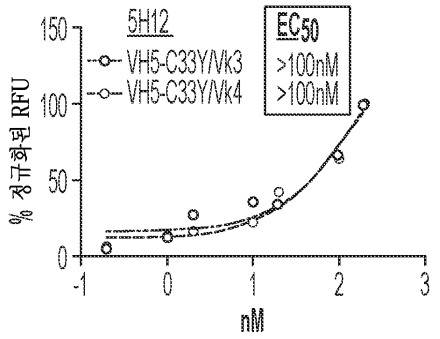
도면21c



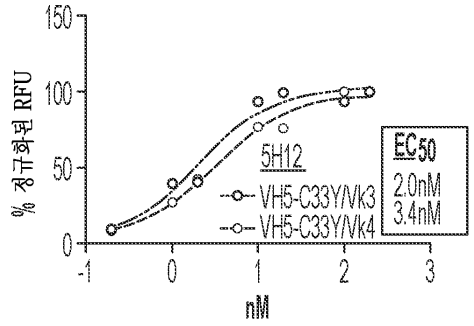
도면21d



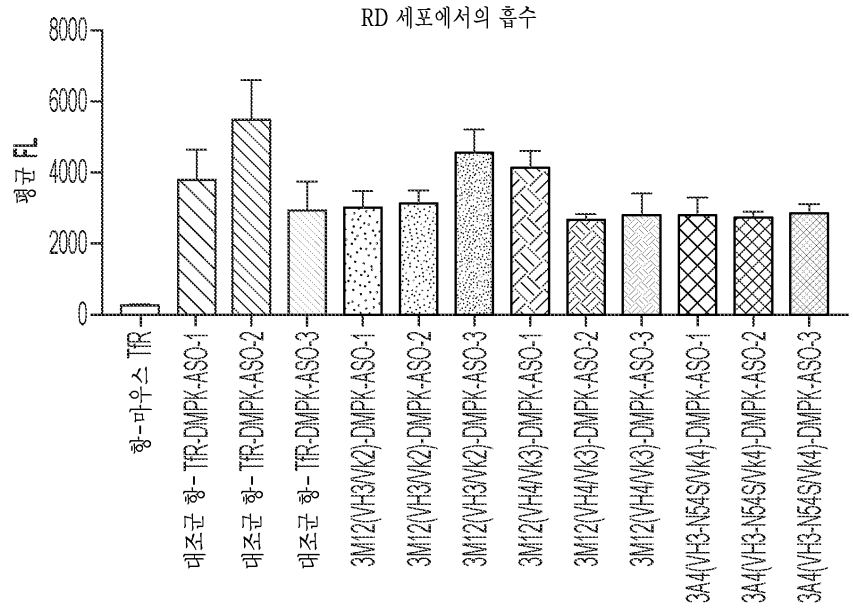
도면21e



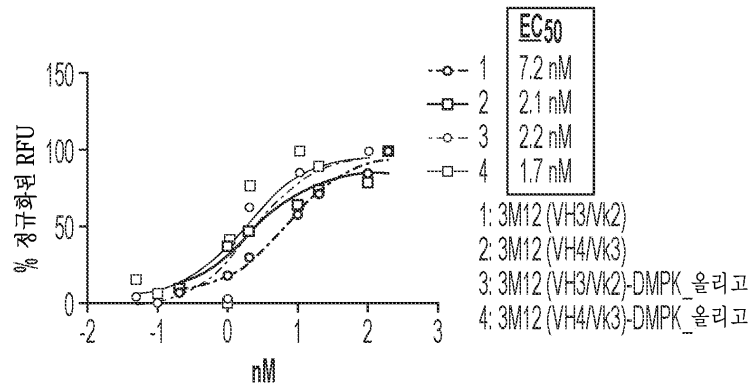
도면21f



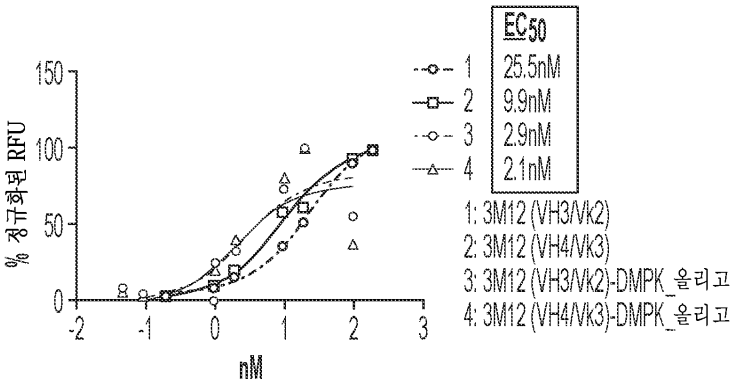
도면22



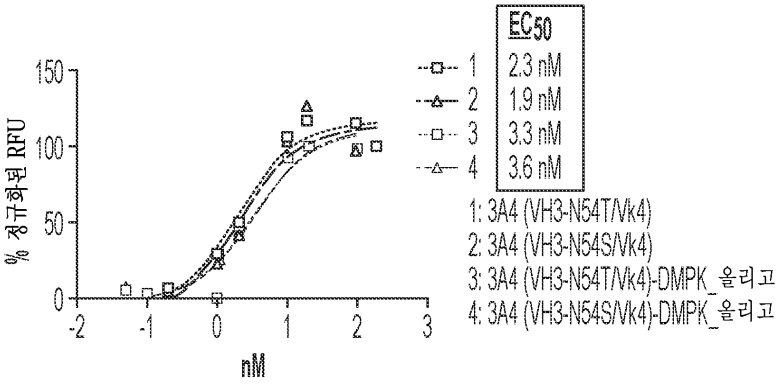
도면23a



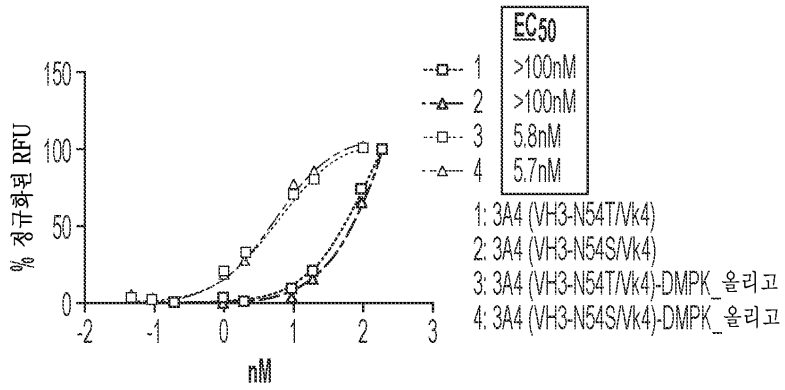
도면23b



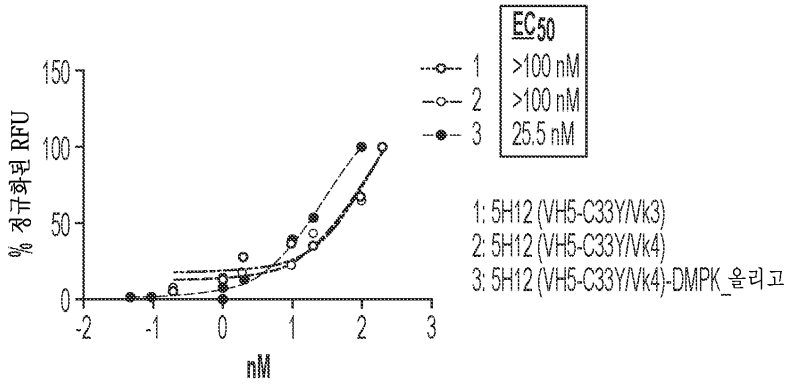
도면23c



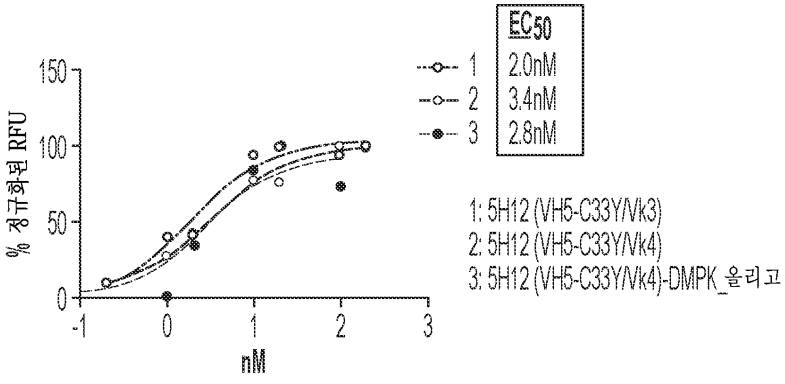
도면23d



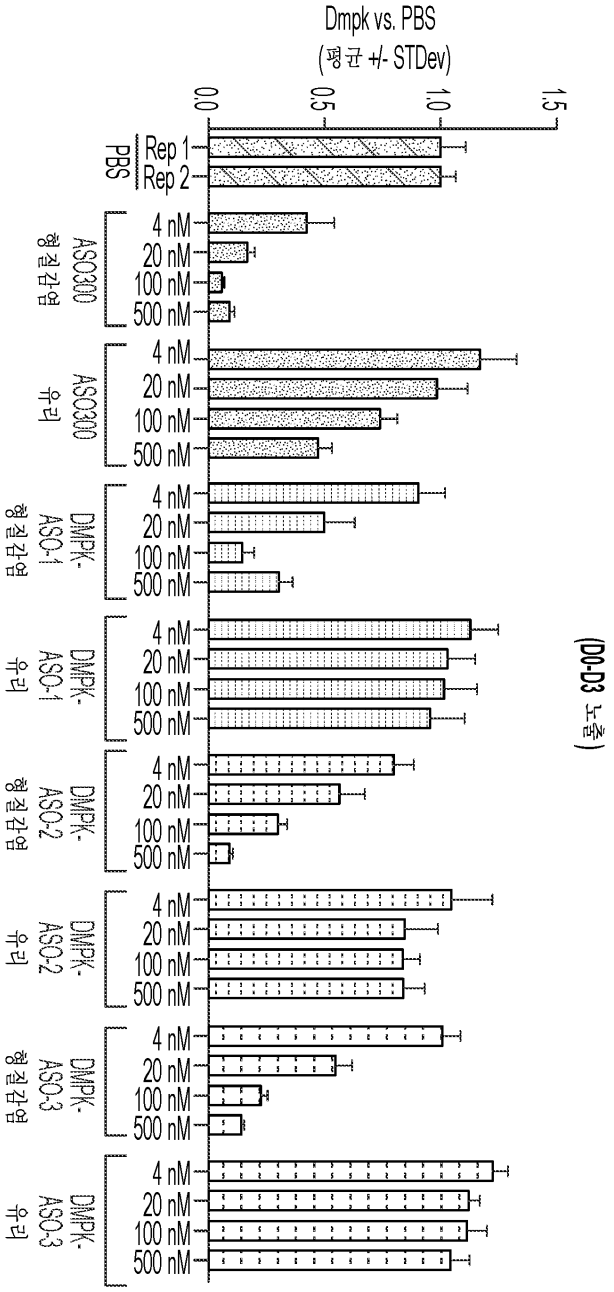
도면23e



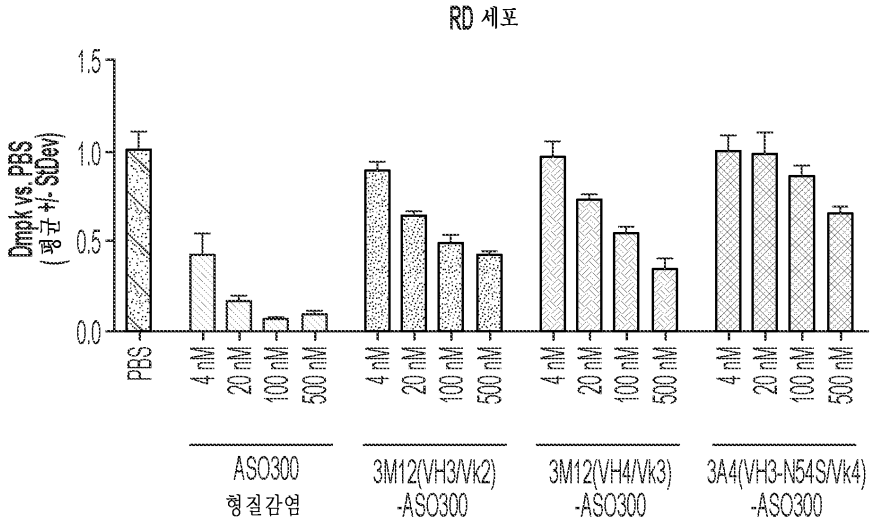
도면23f



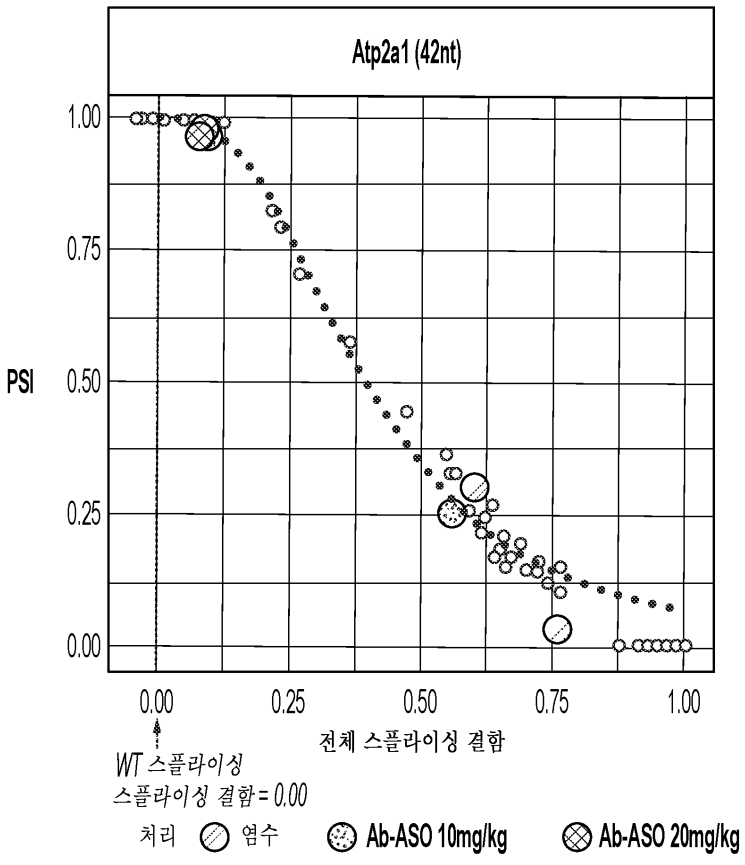
도면24


Dmpk vs. PBS
(평균 +/- STDev)
0.0
0.5
1.0
1.5
PBS
Rep 1
Rep 2
ASO300 형질감염
ASO300 유리
DMPK-ASO-1 형질감염
DMPK-ASO-1 유리
DMPK-ASO-2 형질감염
DMPK-ASO-2 유리
DMPK-ASO-3 형질감염
DMPK-ASO-3 유리
4 nM
20 nM
100 nM
500 nM
(D0-D3 노출)

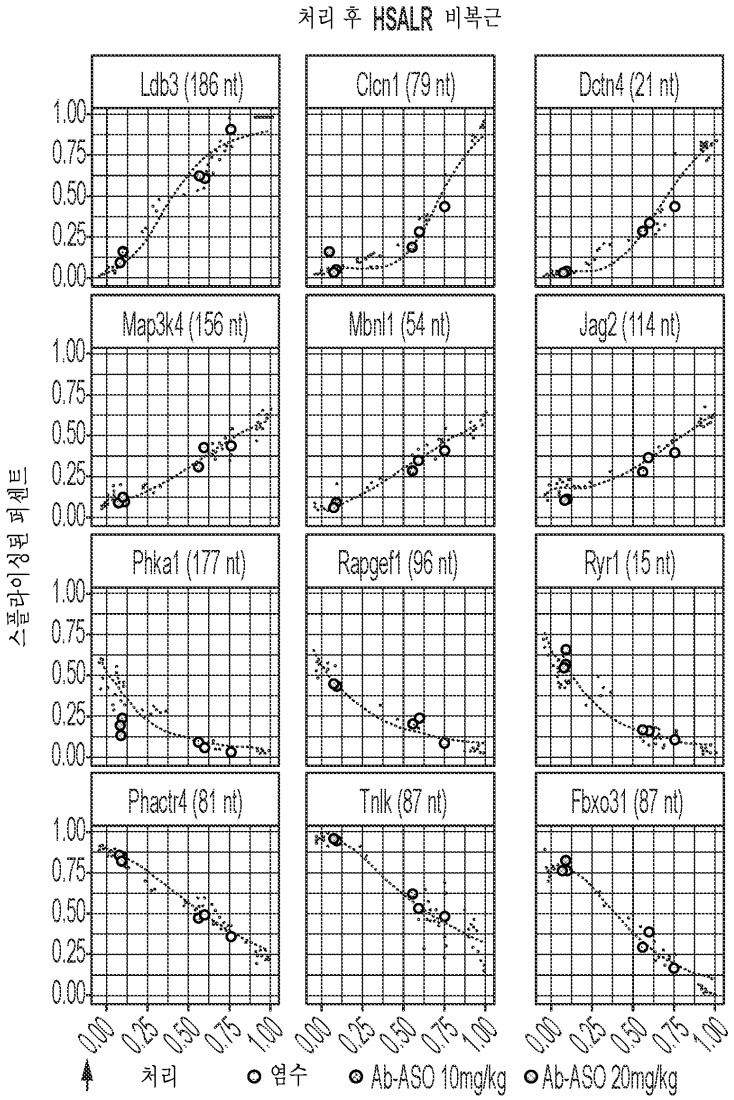
도면25


RD 세포
Dmpk vs. PBS
(평균 +/- SDev)
1.5
1.0
0.5
0.0
PBS
4 nM
20 nM
100 nM
500 nM
ASO300
형질감염
3M12(VH3/Vk2)
-ASO300
3M12(VH4/Vk3)
-ASO300
3A4(VH3-N54S/Vk4)
-ASO300

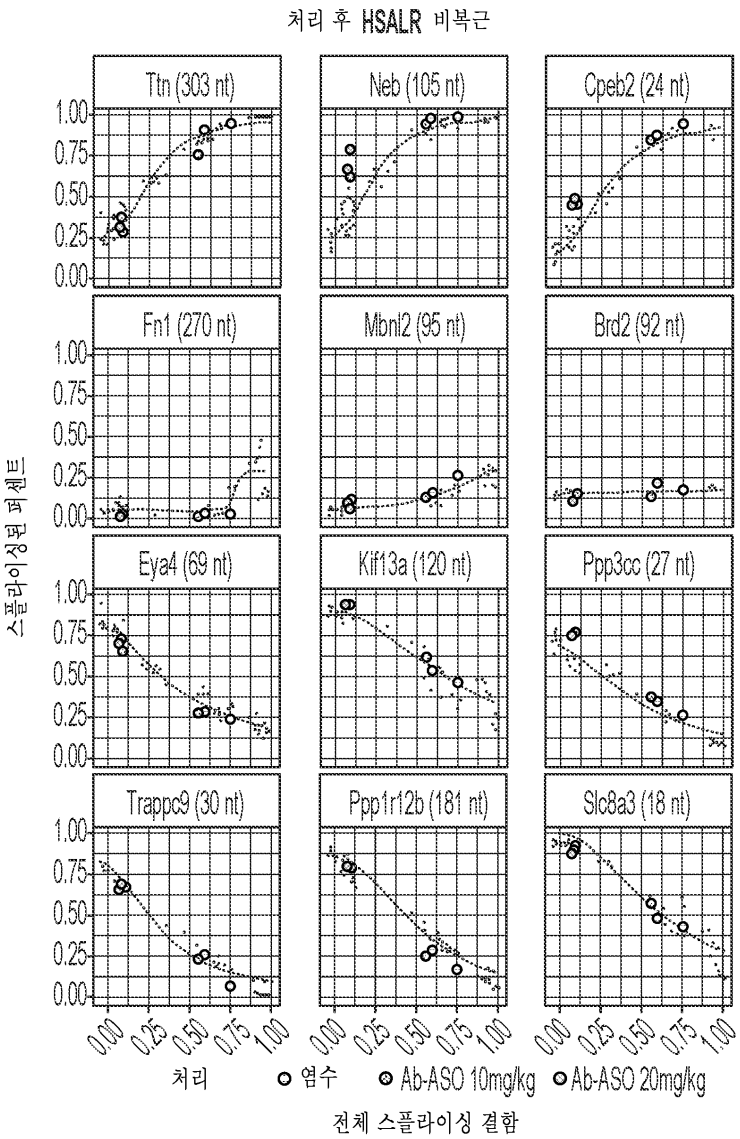
도면26


Atp2a1 (42nt)
PSI
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
WT 스플라이싱
스플라이싱 결함 = 0.00
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg

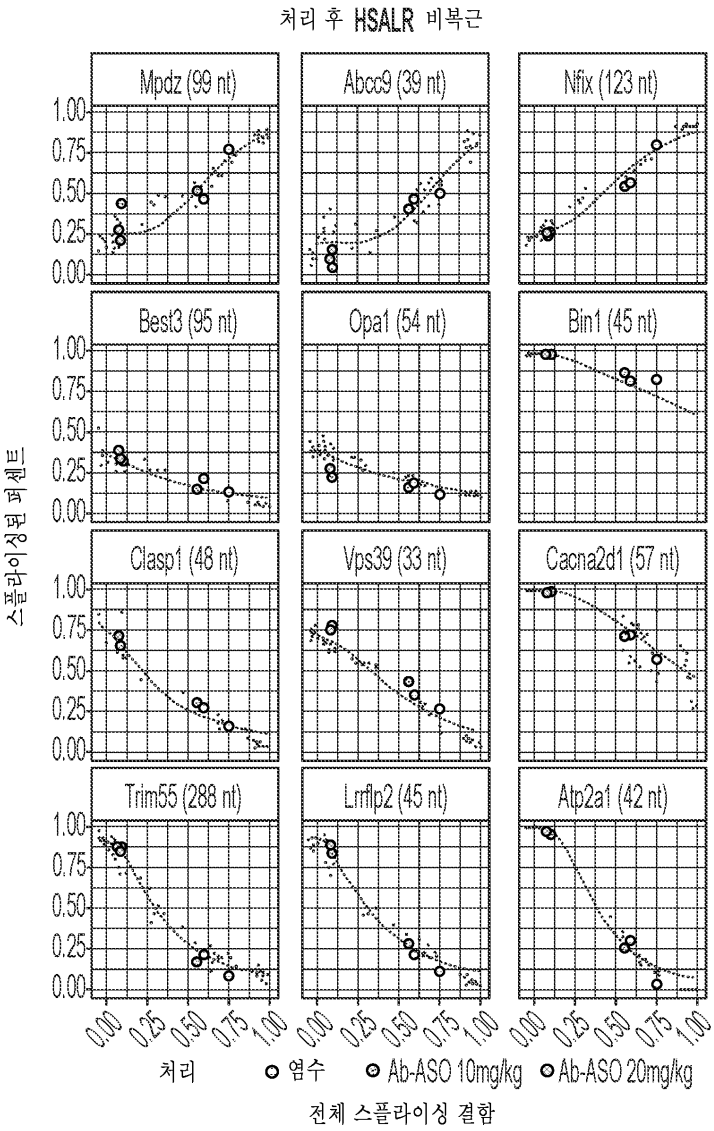
도면27a


처리 후 HSALR 비복근
Ldb3 (186 nt)
Clcn1 (79 nt)
Dctn4 (21 nt)
Map3k4 (156 nt)
Mbnl1 (54 nt)
Jag2 (114 nt)
Phka1 (177 nt)
Rapgef1 (96 nt)
Ryr1 (15 nt)
Phactr4 (81 nt)
Tnik (87 nt)
Fbxo31 (87 nt)
스플라이싱된 퍼센트
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg
WT 스플라이싱: 스플라이싱 결함 = 0.00
전체 스플라이싱 결함

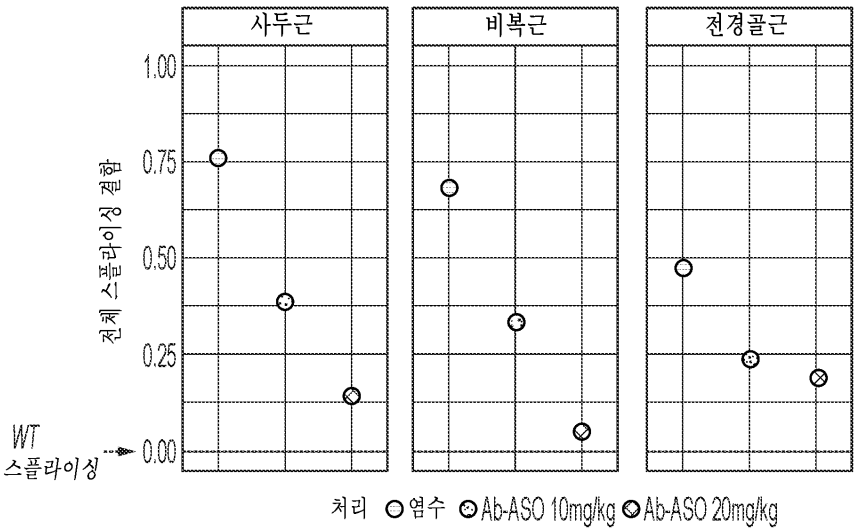
도면27b


처리 후 HSALR 비복근
Ttn (303 nt)
Neb (105 nt)
Cpeb2 (24 nt)
Fn1 (270 nt)
Mbnl2 (95 nt)
Brd2 (92 nt)
Eya4 (69 nt)
Kif13a (120 nt)
Ppp3cc (27 nt)
Trappc9 (30 nt)
Ppp1r12b (181 nt)
Slc8a3 (18 nt)
스플라이싱된 퍼센트
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg
전체 스플라이싱 결함

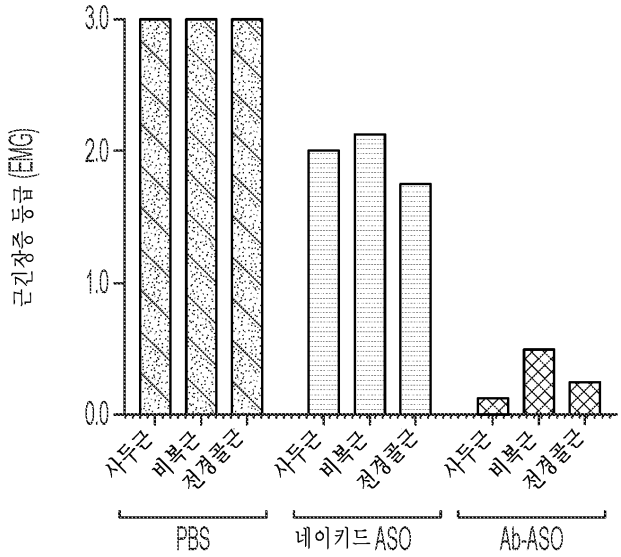
도면27c


처리 후 HSALR 비복근
Mpdz (99 nt)
Abcc9 (39 nt)
Nfix (123 nt)
Best3 (95 nt)
Opa1 (54 nt)
Bin1 (45 nt)
Clasp1 (48 nt)
Vps39 (33 nt)
Cacna2d1 (57 nt)
Trim55 (288 nt)
Lrrflp2 (45 nt)
Atp2a1 (42 nt)
스플라이싱된 퍼센트
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg
전체 스플라이싱 결함

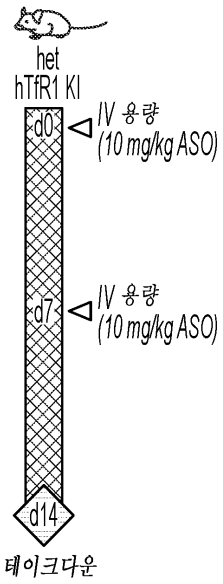
도면28


사두근
비복근
전경골근
전체 스플라이싱 결함
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
WT
스플라이싱
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg

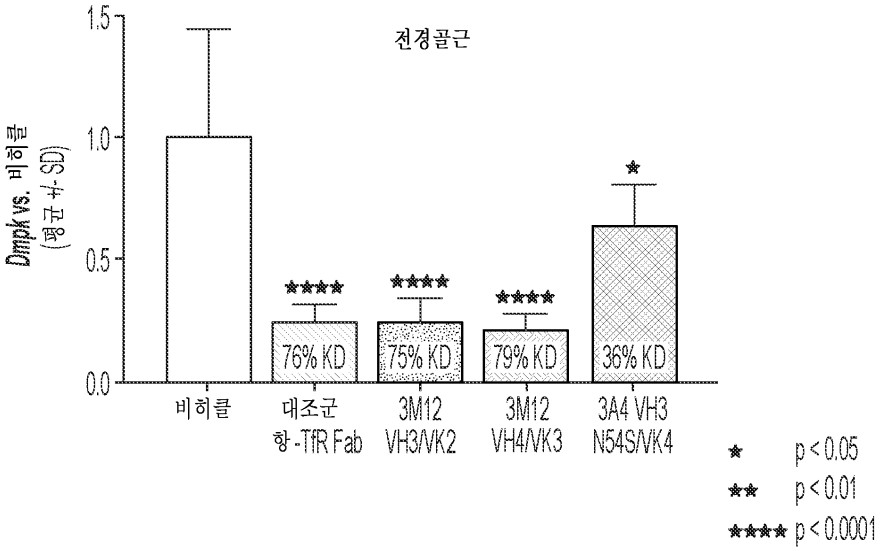
도면29


근긴장증 등급 (EMG)
3.0
2.0
1.0
0.0
사두근
비복근
전경골근
사두근
비복근
전경골근
사두근
비복근
전경골근
PBS
네이키드 ASO
Ab-ASO

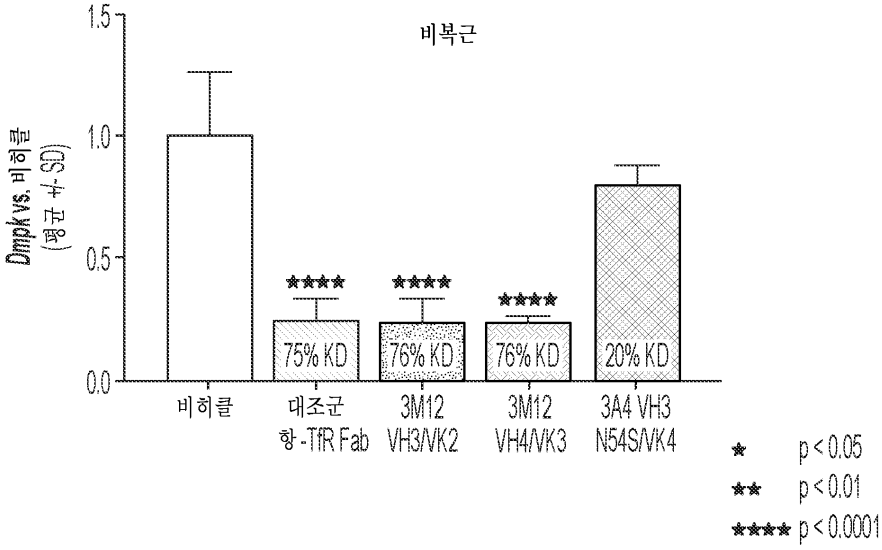
도면30a


het
hTfR1 KI
d0
IV 용량
(10 mg/kg ASO)
d7
IV 용량
(10 mg/kg ASO)
d14
테이크다운

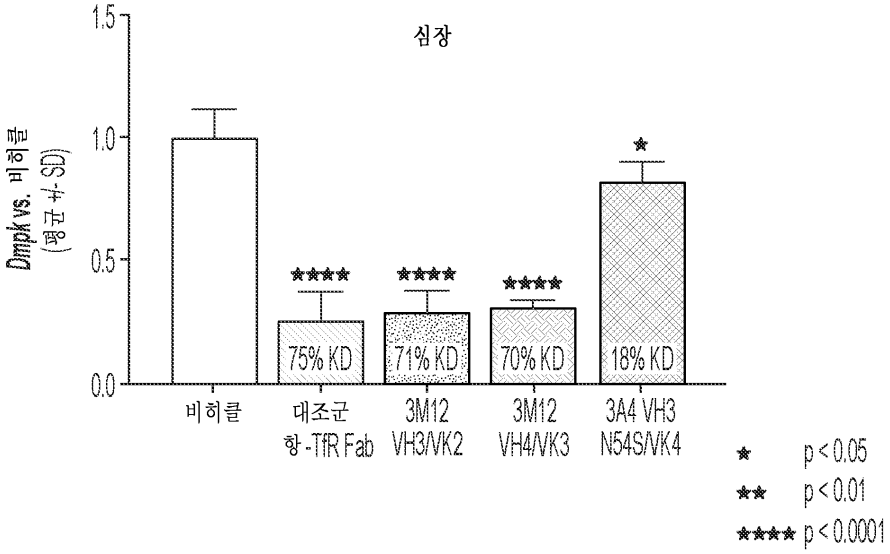
도면30b


전경골근
Dmpk vs. 비히클
(평균 +/- SD)
1.5
1.0
0.5
0.0
76% KD
75% KD
79% KD
36% KD
비히클
대조군
항-TfR Fab
3M12
VH3/VK2
3M12
VH4/VK3
3A4 VH3
N54S/VK4
* p < 0.05
** p < 0.01
**** p < 0.0001

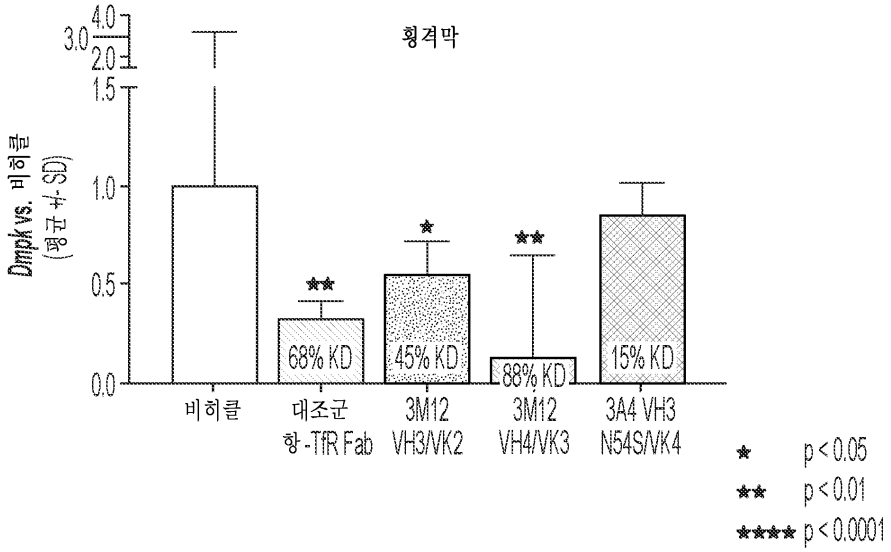
도면30c


비복근
Dmpk vs. 비히클
(평균 +/- SD)
1.5
1.0
0.5
0.0
75% KD
76% KD
76% KD
20% KD
비히클
대조군
항-TfR Fab
3M12
VH3/VK2
3M12
VH4/VK3
3A4 VH3
N54S/VK4
* p < 0.05
** p < 0.01
**** p < 0.0001

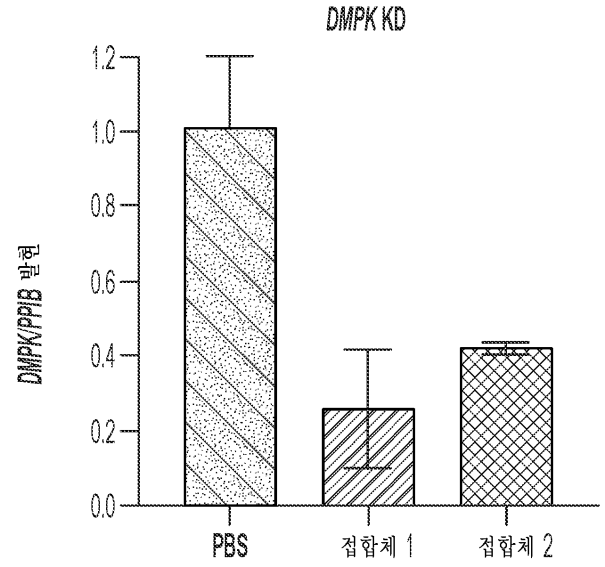
도면30d


심장
Dmpk vs. 비히클 (평균 +/- SD)
1.5
1.0
0.5
0.0
****
****
****
*
75% KD
71% KD
70% KD
18% KD
비히클
대조군 항-TfR Fab
3M12 VH3/VK2
3M12 VH4/VK3
3A4 VH3 N54S/VK4
* p < 0.05
** p < 0.01
**** p < 0.0001

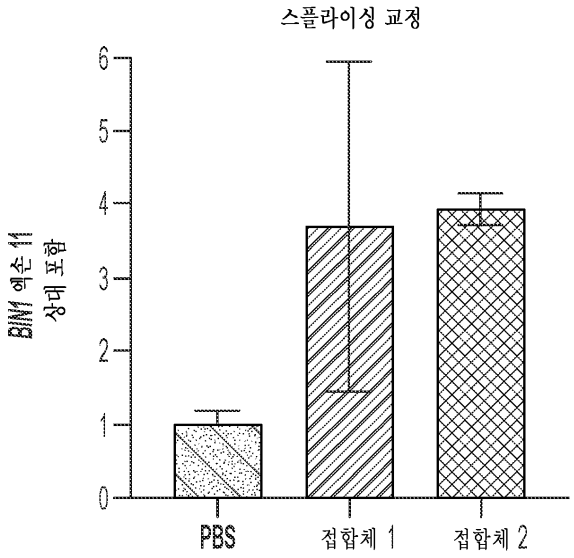
도면30e


횡격막
Dmpk vs. 비히클 (평균 +/- SD)
4.0
3.0
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
*
**
68% KD
45% KD
88% KD
15% KD
비히클
대조군 항-TfR Fab
3M12 VH3/VK2
3M12 VH4/VK3
3A4 VH3 N54S/VK4
* p < 0.05
** p < 0.01
**** p < 0.0001

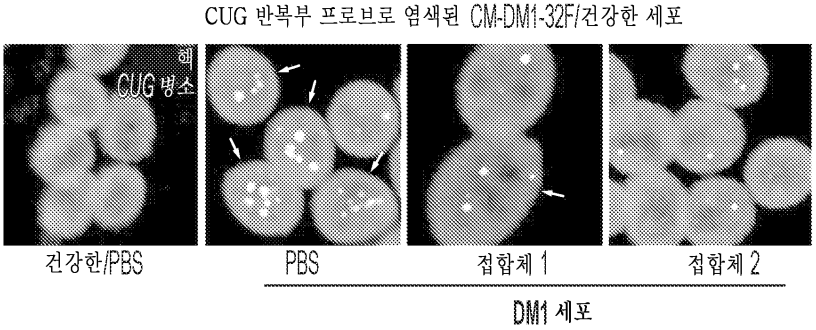
도면31a

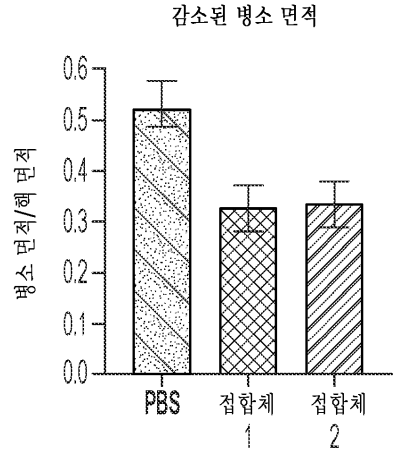

DMPK KD
DMPK/PPIB 발현
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
PBS
접합체 1
접합체 2

도면31b

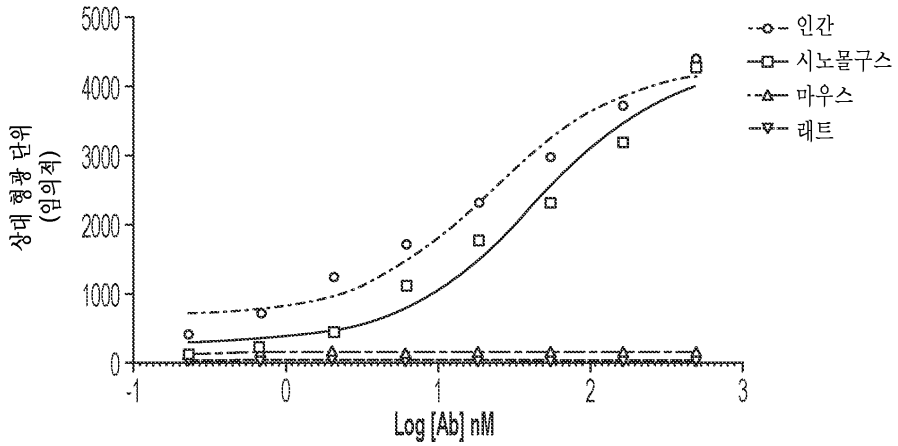

스플라이싱 교정
BIN1 엑손 11
상대 포함
6
5
4
3
2
1
0
PBS
접합체 1
접합체 2

도면31c

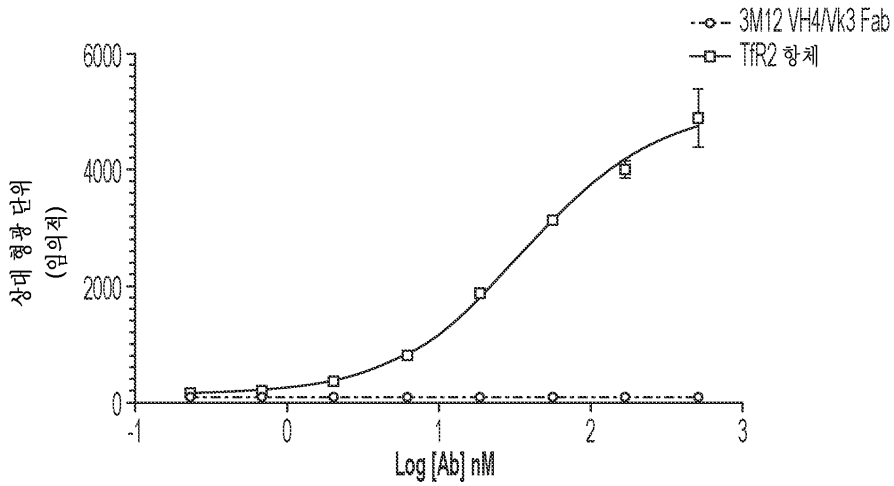

CUG 반복부 프로브로 염색된 CM-DM1-32F/건강한 세포
핵
CUG 병소
건강한/PBS
PBS
접합체 1
접합체 2
DM1 세포


감소된 병소 면적
병소 면적/핵 면적
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
PBS
접합체 1
접합체 2

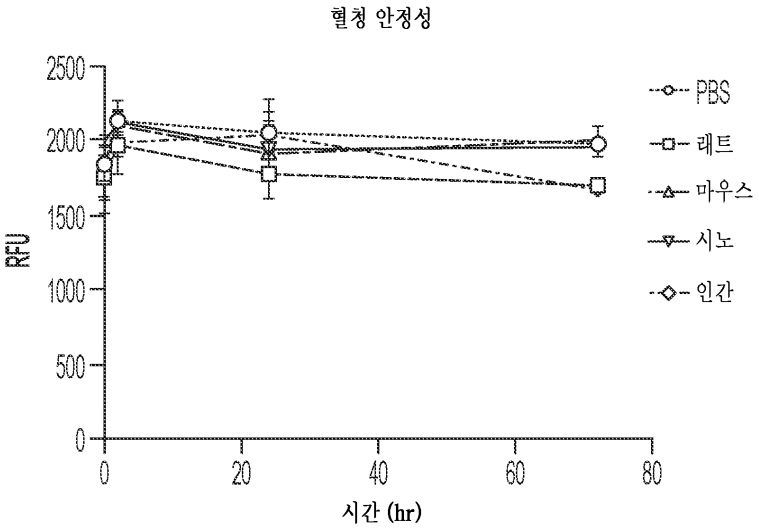
도면32


상대 형광 단위 (임의적)
5000
4000
3000
2000
1000
0
-1
0
1
2
3
Log [Ab] nM
인간
시노몰구스
마우스
래트

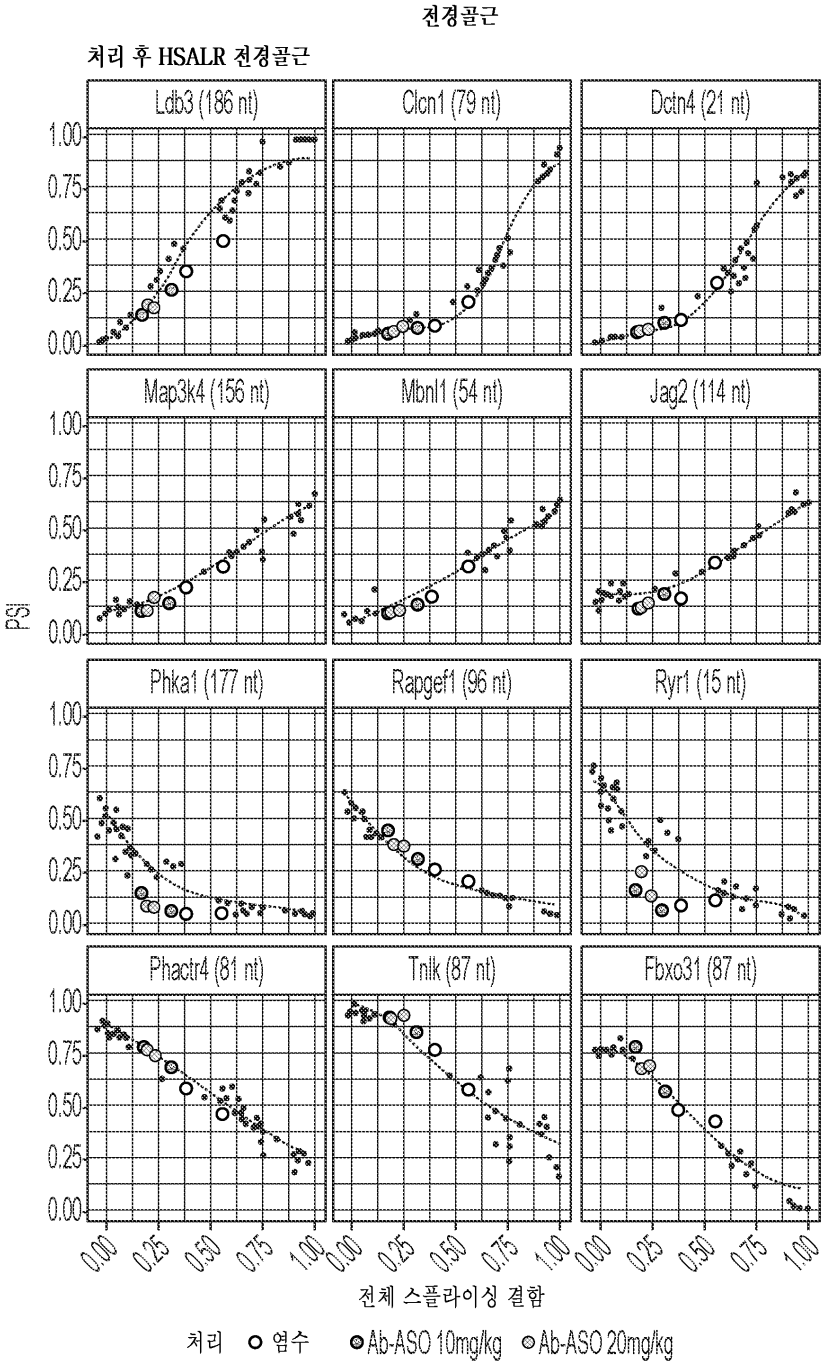
도면33


3M12 VH4/Vk3 Fab
TfR2 항체
상대 형광 단위
(임의적)
6000
4000
2000
0
-1
0
1
2
3
Log [Ab] nM

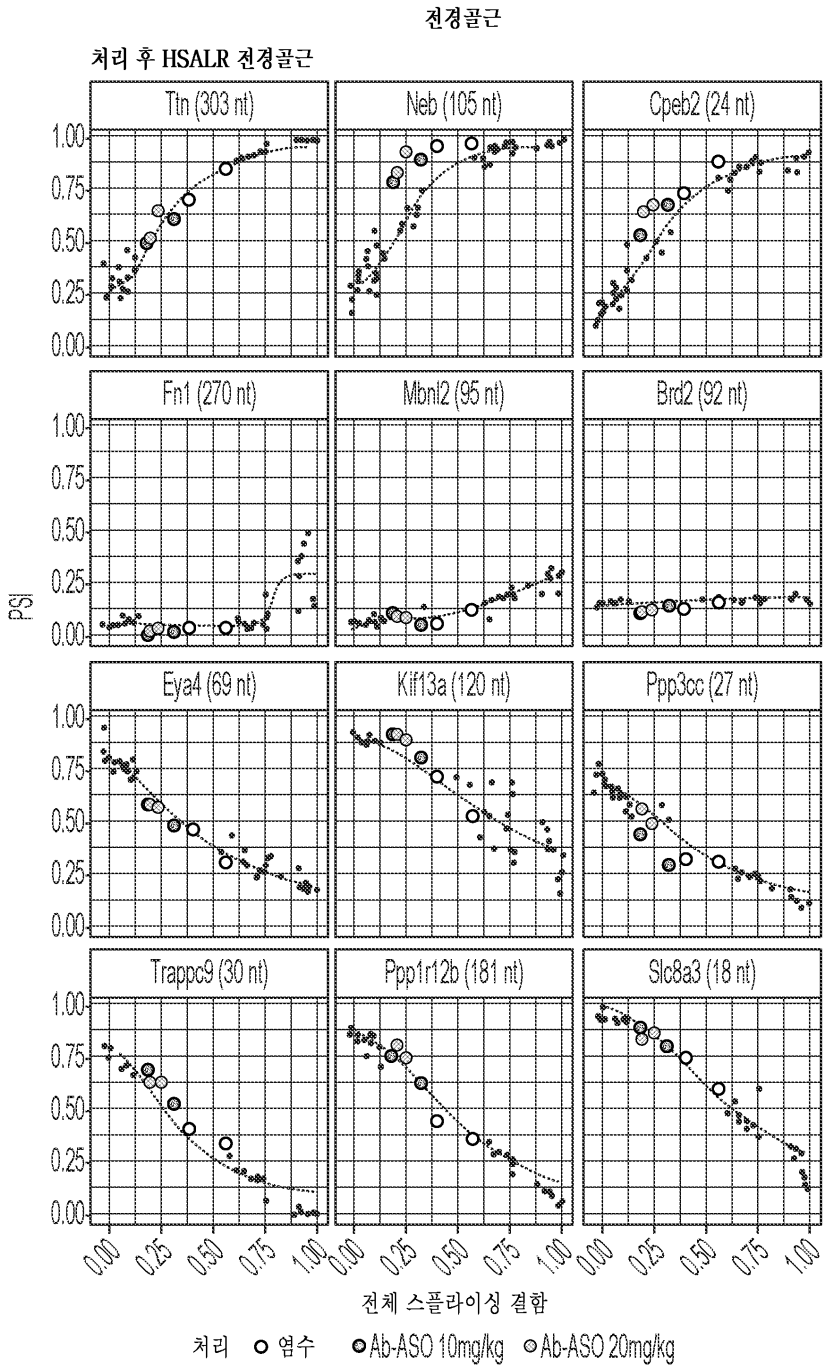
도면34


혈청 안정성
RFU
2500
2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
시간 (hr)
PBS
래트
마우스
시노
인간

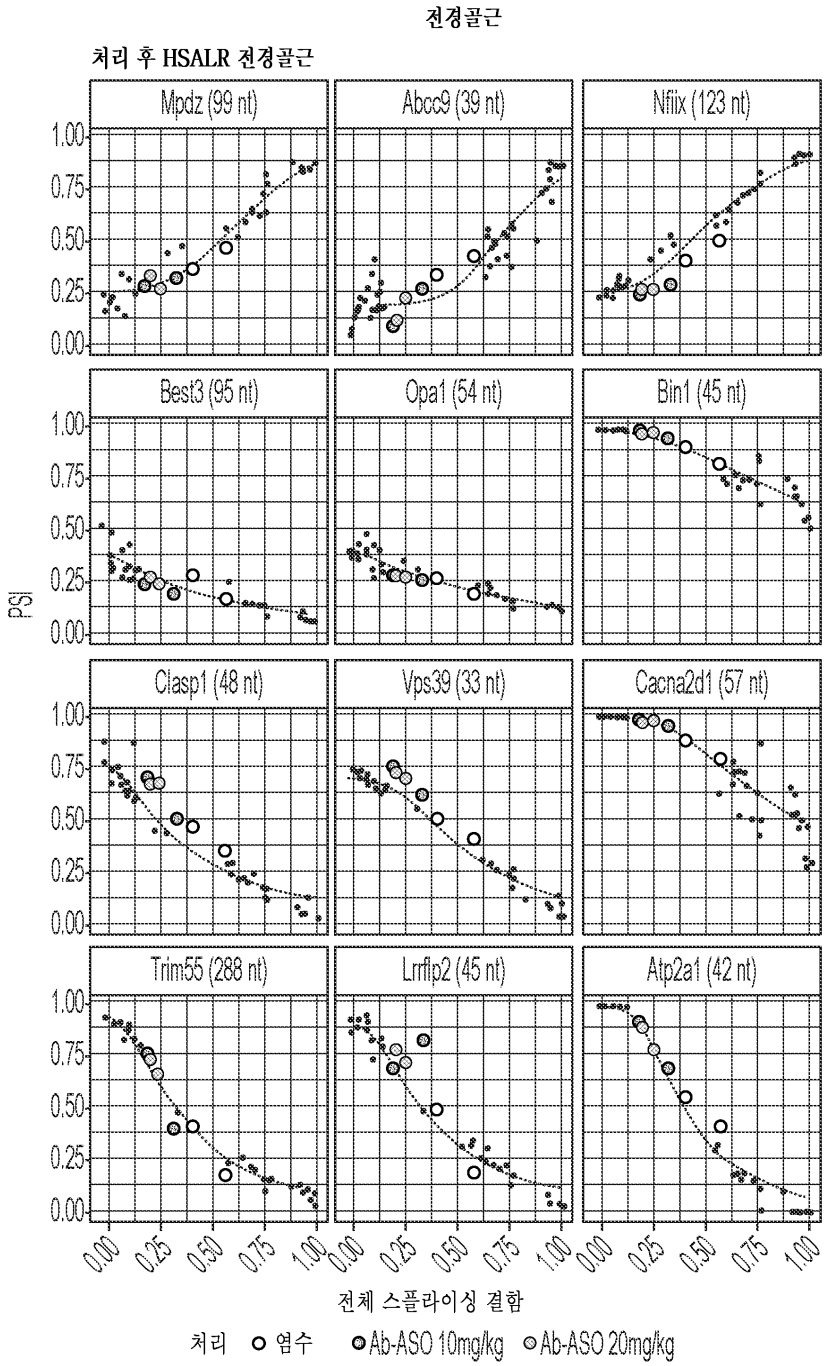
도면35aa


전경골근
처리 후 HSALR 전경골근
Ldb3 (186 nt)
Clcn1 (79 nt)
Dctn4 (21 nt)
Map3k4 (156 nt)
Mbnl1 (54 nt)
Jag2 (114 nt)
Phka1 (177 nt)
Rapgef1 (96 nt)
Ryr1 (15 nt)
Phactr4 (81 nt)
Tnik (87 nt)
Fbxo31 (87 nt)
PSI
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg

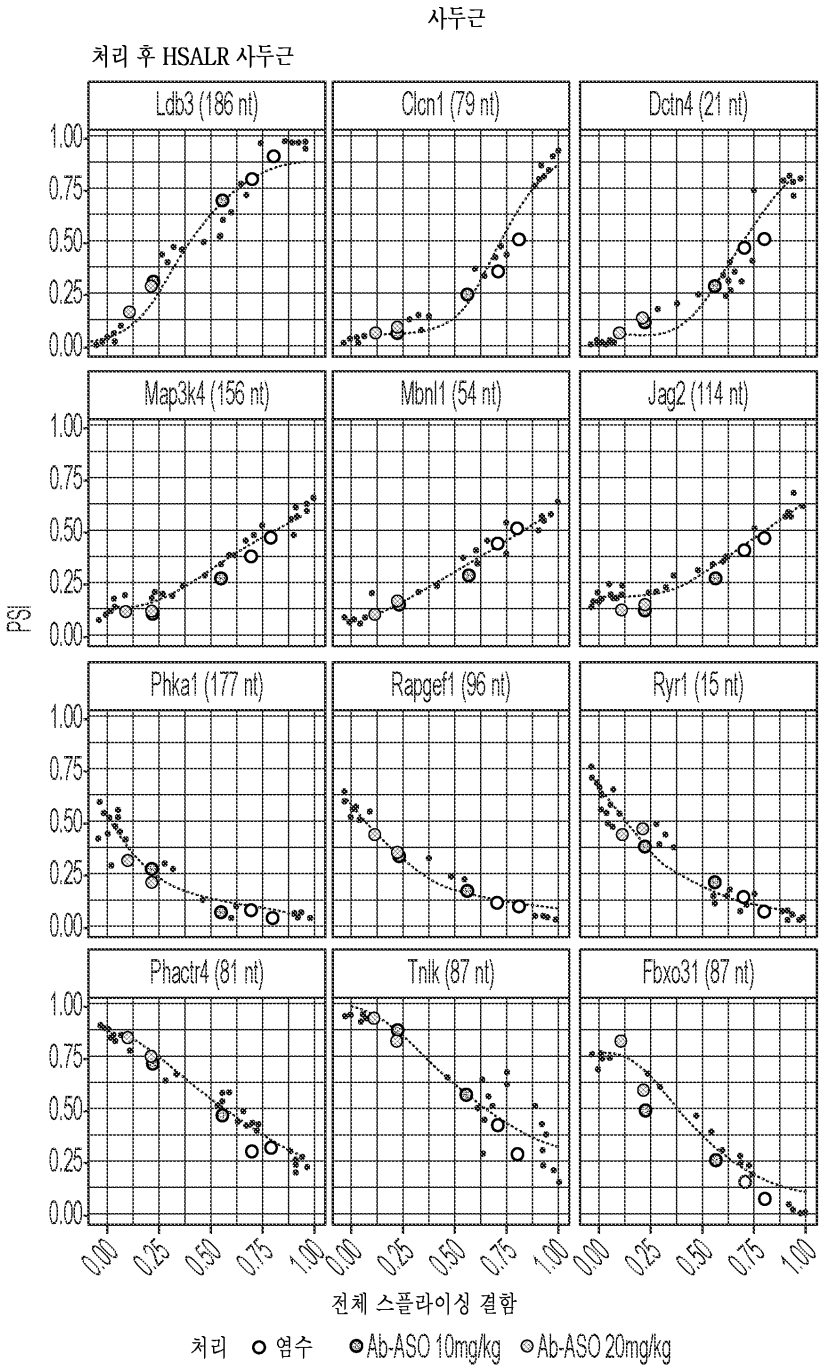
도면35ab


전경골근
처리 후 HSALR 전경골근
Ttn (303 nt)
Neb (105 nt)
Cpeb2 (24 nt)
Fn1 (270 nt)
Mbnl2 (95 nt)
Brd2 (92 nt)
Eya4 (69 nt)
Kif13a (120 nt)
Ppp3cc (27 nt)
Trappc9 (30 nt)
Ppp1r12b (181 nt)
Slc8a3 (18 nt)
PSI
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
처리 염수 Ab-ASO 10mg/kg Ab-ASO 20mg/kg

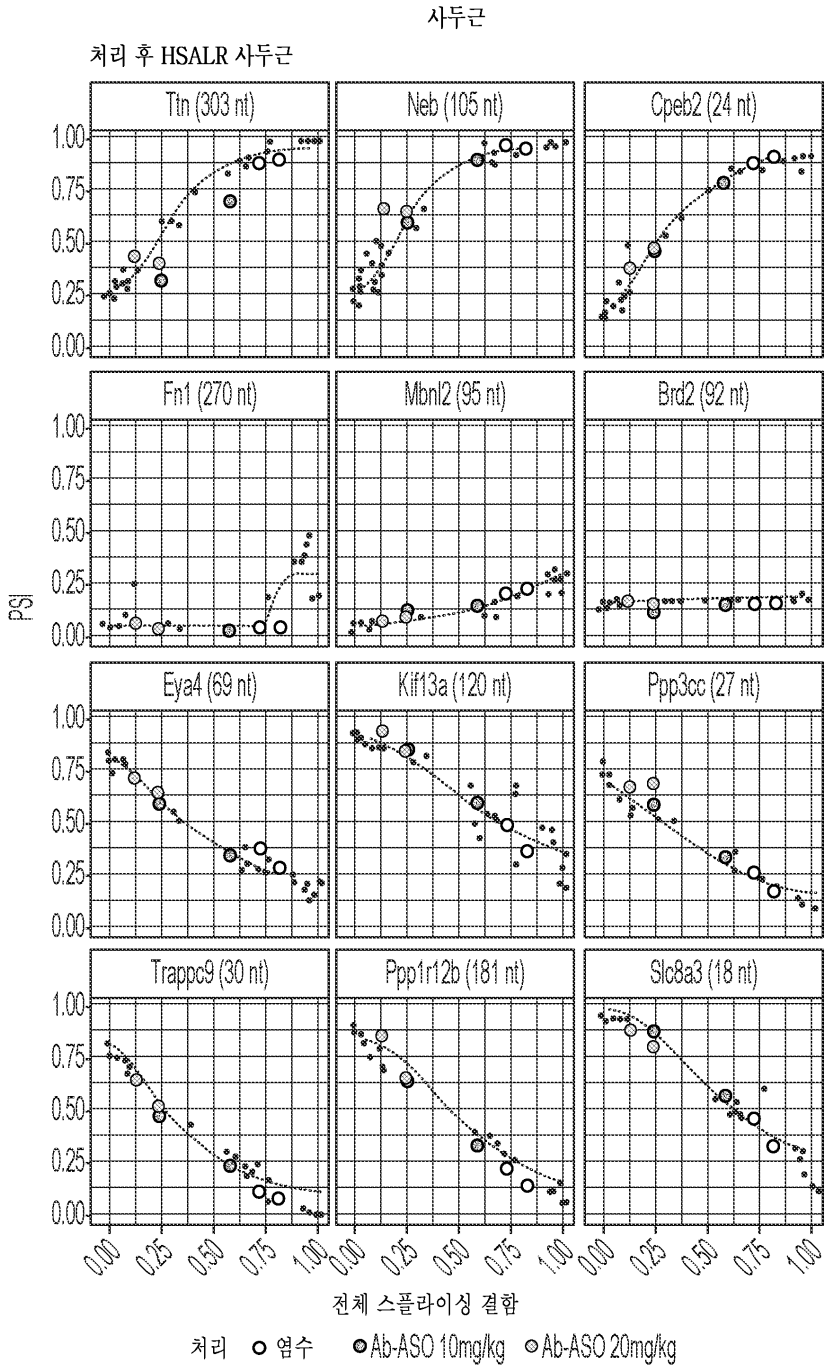
도면35ac


전경골근
처리 후 HSALR 전경골근
Mpdz (99 nt)
Abcc9 (39 nt)
Nfiix (123 nt)
Best3 (95 nt)
Opa1 (54 nt)
Bin1 (45 nt)
Clasp1 (48 nt)
Vps39 (33 nt)
Cacna2d1 (57 nt)
Trim55 (288 nt)
Lrrflp2 (45 nt)
Atp2a1 (42 nt)
PSI
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg

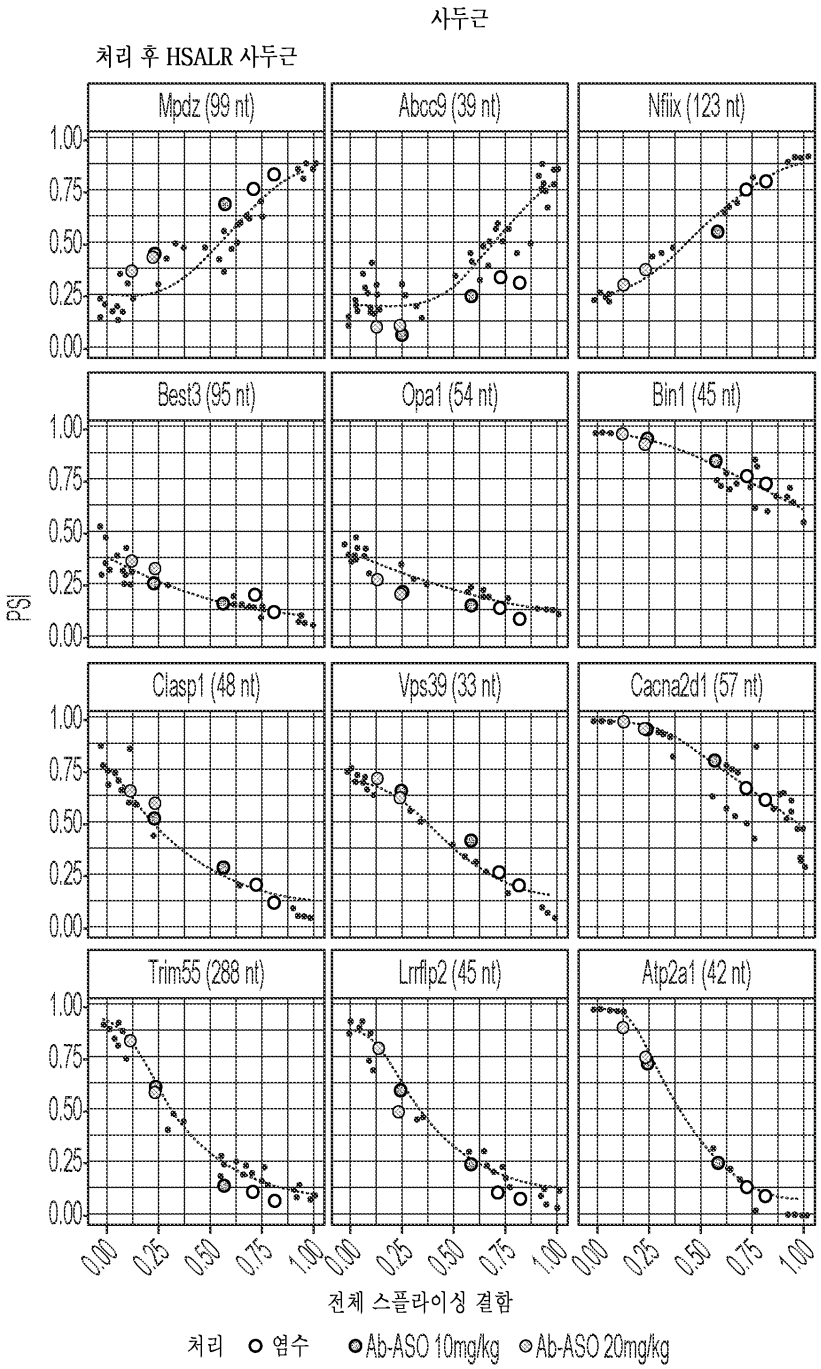
도면35ba


사두근
처리 후 HSALR 사두근
Ldb3 (186 nt)
Clcn1 (79 nt)
Dctn4 (21 nt)
Map3k4 (156 nt)
Mbnl1 (54 nt)
Jag2 (114 nt)
Phka1 (177 nt)
Rapgef1 (96 nt)
Ryr1 (15 nt)
Phactr4 (81 nt)
Tnik (87 nt)
Fbxo31 (87 nt)
PSI
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
처리 염수 Ab-ASO 10mg/kg Ab-ASO 20mg/kg

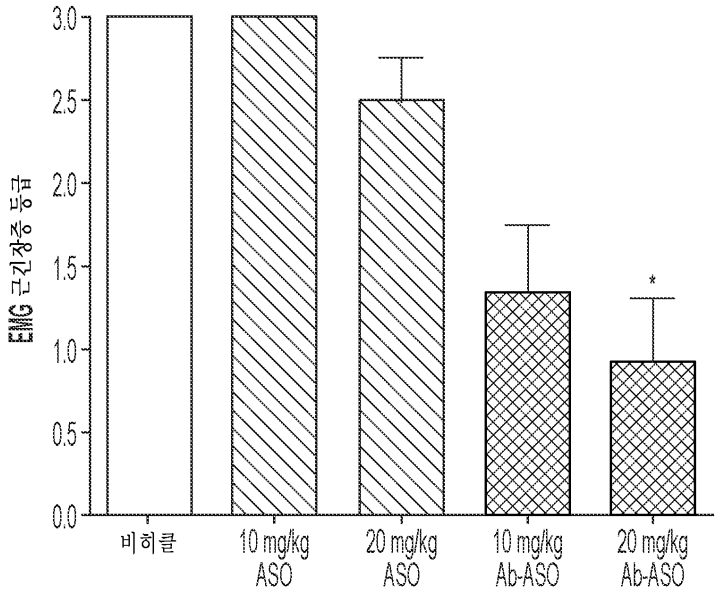
도면35bb


사두근
처리 후 HSALR 사두근
Ttn (303 nt)
Neb (105 nt)
Cpeb2 (24 nt)
Fn1 (270 nt)
Mbnl2 (95 nt)
Brd2 (92 nt)
Eya4 (69 nt)
Kif13a (120 nt)
Ppp3cc (27 nt)
Trappc9 (30 nt)
Ppp1r12b (181 nt)
Slc8a3 (18 nt)
PSI
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
처리 염수 Ab-ASO 10mg/kg Ab-ASO 20mg/kg

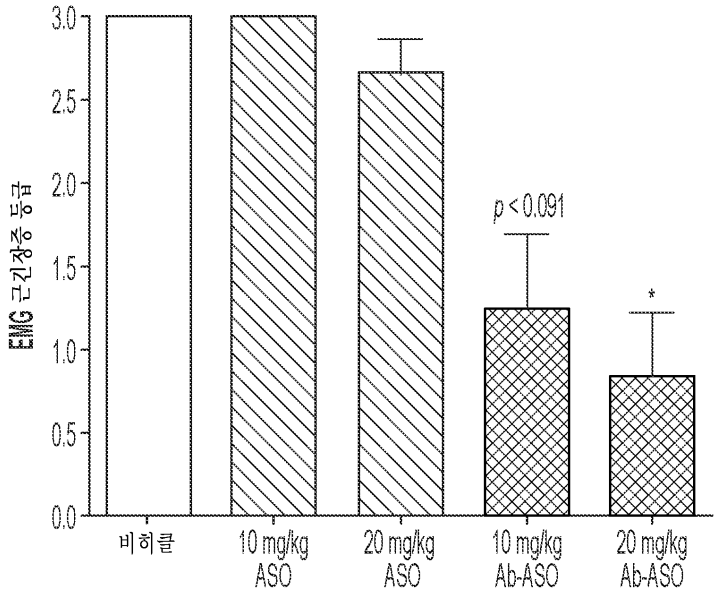
도면35bc


사두근
처리 후 HSALR 사두근
Mpdz (99 nt)
Abcc9 (39 nt)
Nfilx (123 nt)
Best3 (95 nt)
Opa1 (54 nt)
Bin1 (45 nt)
Clasp1 (48 nt)
Vps39 (33 nt)
Cacna2d1 (57 nt)
Trim55 (288 nt)
Lrrflp2 (45 nt)
Atp2a1 (42 nt)
PSI
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
전체 스플라이싱 결함
처리
염수
Ab-ASO 10mg/kg
Ab-ASO 20mg/kg

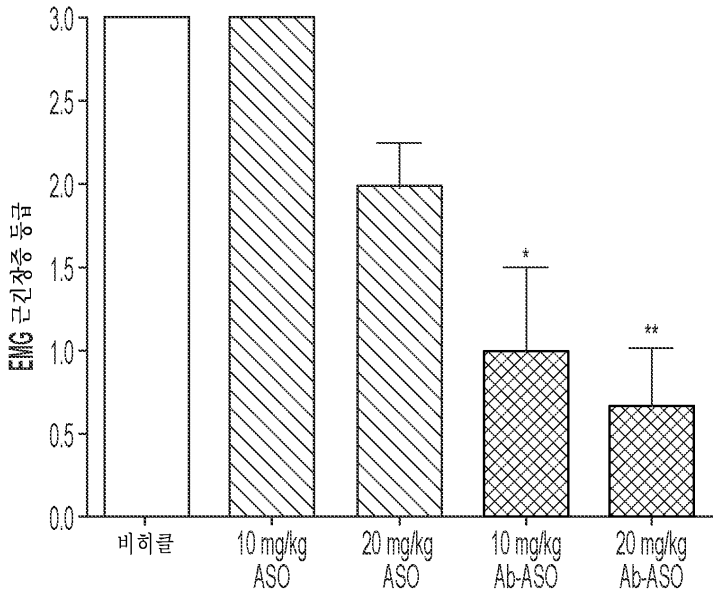
도면36a


EMG 근긴장증 등급
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
비히클
10 mg/kg ASO
20 mg/kg ASO
10 mg/kg Ab-ASO
20 mg/kg Ab-ASO

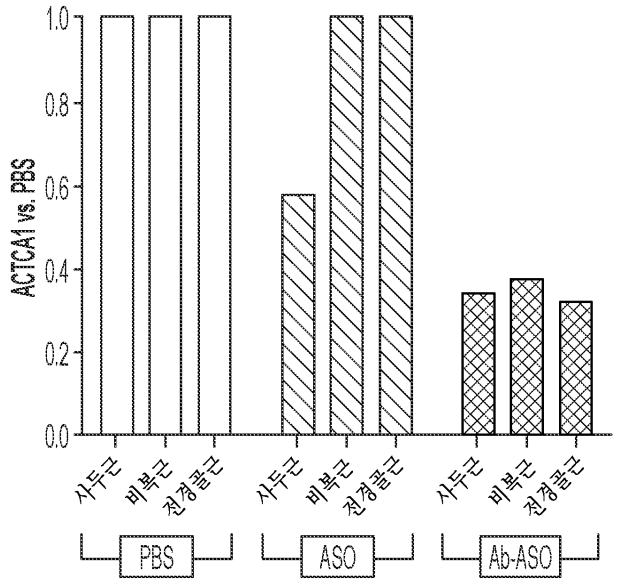
도면36b


EMG 근긴장증 등급
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
p < 0.091
*
비히클
10 mg/kg ASO
20 mg/kg ASO
10 mg/kg Ab-ASO
20 mg/kg Ab-ASO

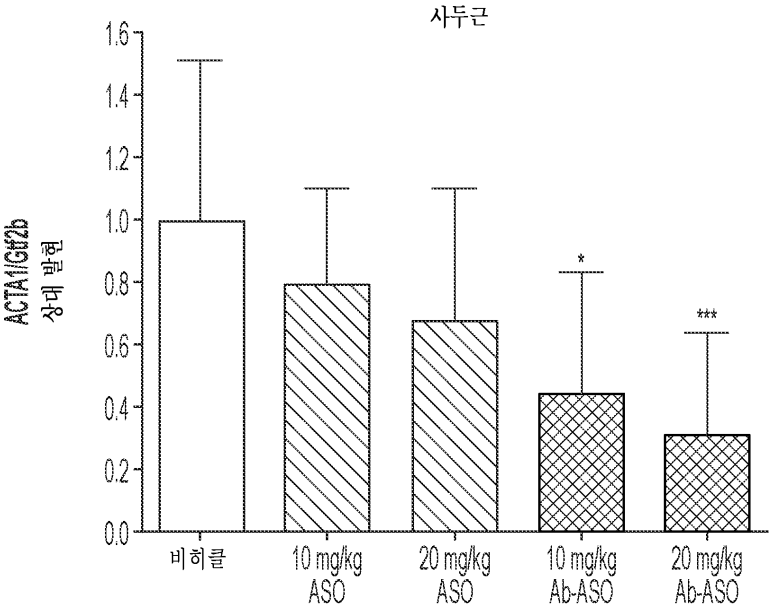
도면36c


EMG 근긴장증 등급
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
**
비히클
10 mg/kg ASO
20 mg/kg ASO
10 mg/kg Ab-ASO
20 mg/kg Ab-ASO

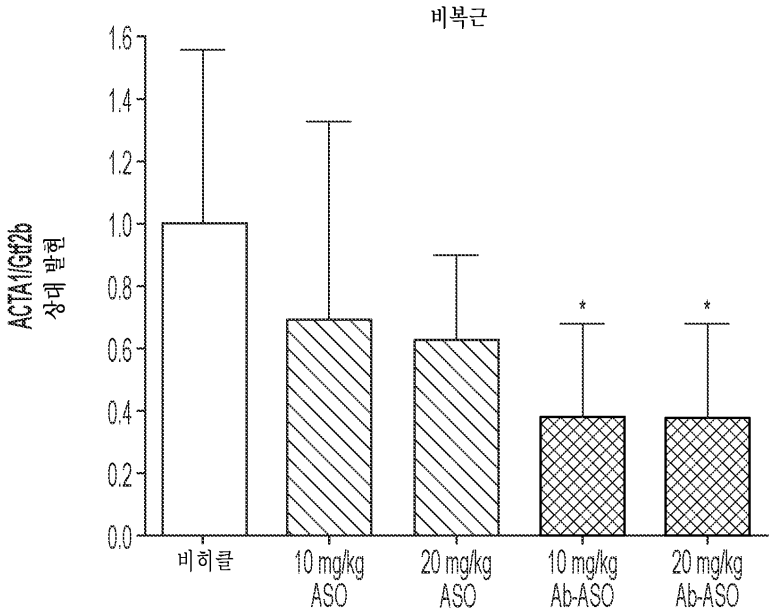
도면37


ACTCA1 vs. PBS
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
사두근
비복근
전경골근
사두근
비복근
전경골근
사두근
비복근
전경골근
PBS
ASO
Ab-ASO

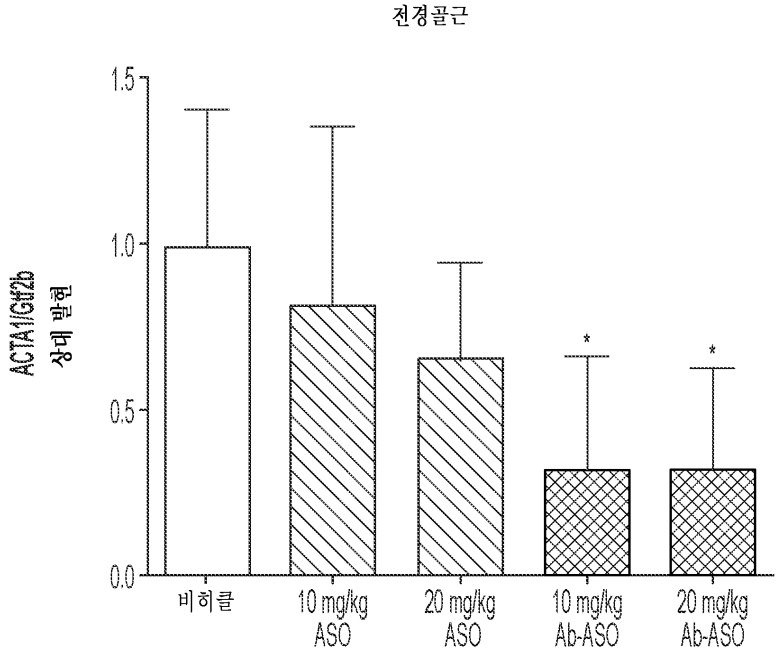
도면38a


사두근
ACTA1/Gtf2b
상대 발현
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
***
비히클
10 mg/kg ASO
20 mg/kg ASO
10 mg/kg Ab-ASO
20 mg/kg Ab-ASO

도면38b


비복근
ACTA1/Gtf2b
상대 발현
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
*
비히클
10 mg/kg ASO
20 mg/kg ASO
10 mg/kg Ab-ASO
20 mg/kg Ab-ASO

도면38c



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Dyne Therapeutics, Inc.

<120> MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY

<130> D0824.70038WO00

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 63/055,749

<151> 2020-07-23

<150> US 63/069,075

<151> 2020-08-23

<150> US 63/069,075

<151> 2020-08-23

<160> 638

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp Tyr

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr

1 5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr

1 5 10

<210> 5

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

Arg Met Ser

1

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

Asp Asp Tyr Met Tyr

1 5

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr

1 5

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe

1 5 10 15

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 12

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp

1 5

<210> 13

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 13

Glu Asn Gly

1

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 14

Leu Arg Arg Gly Leu Asp

1 5

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 15

Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

His Leu Glu Tyr Pro Phe

1 5

<210

> 17

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 17

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210

> 18

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His

85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr

1 5

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 20

Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 21

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 21

Glu Thr Gly

1

<210> 22

<211> 117

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

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

50 55 60
Gln Asp Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210

> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr
1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 25

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

Glu Ser Gly

1

<210> 26

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn

1 5

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 30

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

Gln Asp Ile Ser Asn Phe

1 5

<210> 31

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31

Tyr Thr Ser

1

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 32

Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 33

Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn

1 5

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 34

Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn

1 5 10 15

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 36

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 37

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr

1 5

<210> 39

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

Phe Asp Gly

1

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp

1 5

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe

1 5

<210> 42

<211

> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

Gly His Thr Leu Pro Tyr

1 5

<210> 43

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp

35 40 45

Met Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Val Ser Asn Leu Glu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Cys

1 5

<210> 46

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 47

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Glu Ser Val Asp Gly Tyr Asp Asn Ser Phe

1 5 10

<210> 49

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

Arg Ala Ser

1

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 50

Gln Gln Ser Ser Glu Asp Pro Trp Thr

1 5

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

Asp Tyr Cys Ile Asn

1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr Asp Asn Ser Phe Met His

1 5 10 15

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 57

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

Gly Ser Gly

1

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp

1 5

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr Asp Asn Ser Phe

1 5 10

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Ser Ser Glu Asp Pro Trp

1 5

<210> 61

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Cys Ile Asn Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 62

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr
20 25 30

Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

Asp Tyr Tyr Ile Asn

1 5

<210> 65

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 65

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 66
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
<400> 66
Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asp
1 5

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 67
Asp Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 68
<211> 120
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 68

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 69

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 70

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His

85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 71

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 73
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

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

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 75

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 76
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 76

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 77
<211> 120
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 77

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 78

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr
20 25 30

Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 79

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 80

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 80

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr
20 25 30

Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 81

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 82

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 82

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 83

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 83

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 84
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 84
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

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

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

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

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 85

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 85

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His

85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

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

<210> 86
<211> 447

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 86
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe

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

115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 87

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 87

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 88
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 88

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

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

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

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Lys

<210> 89

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 89

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 90

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 90

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 91

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 92

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 92

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe
50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 93

<211> 218

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

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

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 94

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 95
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400
> 95
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr
20 25 30
Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 96
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 96

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

20 25 30

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

85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
100 105

<210> 97
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 97
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

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

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

Thr
225
<210> 98
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

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

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr
225

<210> 99
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 99

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

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr
225

<210> 100
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 100

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr
225
<210> 101
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 101

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr

225

<210> 102

<211> 228

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 102

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr

225

<210> 103

<211> 228

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr

225

<210> 104

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 104

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

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 105

<211> 760

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 105

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala

35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly

50 55 60

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

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

180 185 190
Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg
195 200 205
Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys
210 215 220
Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys
225 230 235 240
Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile

245 250 255
Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu
260 265 270
Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe
275 280 285
Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly
290 295 300
Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln

305 310 315 320

Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr

325 330 335

Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp

340 345 350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser

355 360 365

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

370 375 380

Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp

385 390 395 400

His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala

405 410 415

Ala Lys Ser Gly Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met

420 425 430

Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile

435 440 445

Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr

450 455 460

Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr

465 470 475 480

Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val

485 490 495

Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn

500 505 510

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

515 520 525

Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe

530 535 540

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

545 550 555 560

Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu

565 570 575

Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu

580 585 590

Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn

595 600 605

Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp

610 615 620

Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln

625 630 635 640

Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu

645 650 655

Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys

660 665 670

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro

675 680 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser

690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys

705 710 715 720

Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala

725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp

740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe

755 760

<210> 106

<211> 760

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<400> 106

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

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

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

180 185 190
Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Gly
195 200 205
Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys
210 215 220
Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys
225 230 235 240
Lys Asp Phe Glu Asp Leu Asp Ser Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile

245 250 255

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

260 265 270

Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe

275 280 285

Pro Ile Val Lys Ala Asp Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly

290 295 300

Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln

305 310 315 320

Phe Pro Pro Ser Gln Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr

325 330 335

Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp

340 345 350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Lys Met Val Thr Ser

355 360 365

Glu Asn Lys Ser Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Thr

370 375 380

Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp

385 390 395 400

His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala

405 410 415

Ala Lys Ser Ser Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met

420 425 430

Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile

435 440 445

Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr

450 455 460

Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr

465 470 475 480

Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val

485 490 495

Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asp

500 505 510

Val Lys His Pro Val Thr Gly Arg Ser Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp

515 520 525

Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe

530 535 540

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

545 550 555 560

Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu

565 570 575

Val Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu

580 585 590

Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Thr Glu Leu Asn

595 600 605

Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Arg Asp

610 615 620

Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Val Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln

625 630 635 640

Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu

645 650 655

Thr Thr Asp Phe Arg Asn Ala Glu Lys Arg Asp Lys Phe Val Met Lys

660 665 670

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr Tyr Phe Leu Ser Pro

675 680 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser

690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Leu Glu Ser Leu Lys Leu Arg Arg

705 710 715 720

Gln Asn Asn Ser Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala

725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp

740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe

755 760

<210> 107

<211> 760

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 107

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Gly Val Asp Glu Glu Glu Asn Thr

35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Gly Thr Lys Pro Lys Arg Cys Gly Gly

50 55 60

Asn Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Ile Phe Phe Leu Ile Gly

65 70 75 80

Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr

85 90 95

Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Ala Arg Glu Glu Pro

100 105 110

Glu Glu Asp Phe Pro Ala Ala Pro Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys

115 120 125

Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Thr Thr Asp Phe Thr Ser Thr Ile

130 135 140

Lys Leu Leu Asn Glu Asn Leu Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln

145 150 155 160

Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Ile Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe

165 170 175

Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val

180 185 190

Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Gly

195 200 205

Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys

210 215 220

Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe

275 280 285

Pro Ile Val Lys Ala Asp Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly

290 295 300

Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln

305 310 315 320

Phe Pro Pro Ser Gln Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr

325 330 335

Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp

340 345 350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Lys Met Val Thr Ser

355 360 365

Glu Asn Lys Ser Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Thr

370 375 380

Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp

385 390 395 400

His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala

405 410 415

Ala Lys Ser Ser Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met

420 425 430

Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile

435 440 445

Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr

450 455 460

Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr

465 470 475 480

Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val

485 490 495

Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asp

500 505 510

Val Lys His Pro Val Thr Gly Arg Ser Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp

515 520 525

Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe

530 535 540

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

545 550 555 560

Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu

565 570 575

Val Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu

580 585 590

Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Thr Glu Leu Asn

595 600 605

Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Arg Asp

610 615 620

Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Val Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln

625 630 635 640

Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu

645 650 655

Thr Thr Asp Phe Arg Asn Ala Glu Lys Arg Asp Lys Phe Val Met Lys

660 665 670

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr Tyr Phe Leu Ser Pro

675 680 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser

690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Leu Glu Ser Leu Lys Leu Arg Arg

705 710 715 720

Gln Asn Asn Ser Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala

725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp

740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe

755 760

<210> 108

<211> 763

<212> PRT

<213> mus musculus

<400> 108

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Ala Asp Glu Glu Glu Asn Ala

35 40 45

Asp Asn Asn Met Lys Ala Ser Val Arg Lys Pro Lys Arg Phe Asn Gly

50 55 60

Arg Leu Cys Phe Ala Ala Ile Ala Leu Val Ile Phe Phe Leu Ile Gly

65 70 75 80

Phe Met Ser Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Arg Val Glu Gln Lys Glu

85 90 95

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

100 105 110

Met Glu Thr Glu Asp Val Pro Thr Ser Ser Arg Leu Tyr Trp Ala Asp

115 120 125

Leu Lys Thr Leu Leu Ser Glu Lys Leu Asn Ser Ile Glu Phe Ala Asp

130 135 140

Thr Ile Lys Gln Leu Ser Gln Asn Thr Tyr Thr Pro Arg Glu Ala Gly

145 150 155 160

Ser Gln Lys Asp Glu Ser Leu Ala Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln Phe His

165 170 175

Glu Phe Lys Phe Ser Lys Val Trp Arg Asp Glu His Tyr Val Lys Ile

180 185 190

Gln Val Lys Ser Ser Ile Gly Gln Asn Met Val Thr Ile Val Gln Ser

195 200 205

Asn Gly Asn Leu Asp Pro Val Glu Ser Pro Glu Gly Tyr Val Ala Phe

210 215 220

Ser Lys Pro Thr Glu Val Ser Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Ala Gln Ser Phe Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Lys Asn

275 280 285

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

290 295 300

Leu Gly Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His

305 310 315 320

Thr Gln Phe Pro Pro Ser Gln Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val

325 330 335

Gln Thr Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Lys Met Glu

340 345 350

Gly Ser Cys Pro Ala Arg Trp Asn Ile Asp Ser Ser Cys Lys Leu Glu

355 360 365

Leu Ser Gln Asn Gln Asn Val Lys Leu Ile Val Lys Asn Val Leu Lys

370 375 380

Glu Arg Arg Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Tyr Glu Glu

385 390 395 400

Pro Asp Arg Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Leu Gly Ala

405 410 415

Gly Val Ala Ala Lys Ser Ser Val Gly Thr Gly Leu Leu Leu Lys Leu

420 425 430

Ala Gln Val Phe Ser Asp Met Ile Ser Lys Asp Gly Phe Arg Pro Ser

435 440 445

Arg Ser Ile Ile Phe Ala Ser Trp Thr Ala Gly Asp Phe Gly Ala Val

450 455 460

Gly Ala Thr Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys

465 470 475 480

Ala Phe Thr Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Val Val Leu Gly Thr Ser Asn

485 490 495

Phe Lys Val Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Met Gly Lys Ile

500 505 510

Met Gln Asp Val Lys His Pro Val Asp Gly Lys Ser Leu Tyr Arg Asp

515 520 525

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

530 535 540

Tyr Pro Phe Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe

545 550 555 560

Cys Glu Asp Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Arg Leu Asp Thr Tyr

565 570 575

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

580 585 590

Ala Ala Glu Val Ala Gly Gln Leu Ile Ile Lys Leu Thr His Asp Val

595 600 605

Glu Leu Asn Leu Asp Tyr Glu Met Tyr Asn Ser Lys Leu Leu Ser Phe

610 615 620

Met Lys Asp Leu Asn Gln Phe Lys Thr Asp Ile Arg Asp Met Gly Leu

625 630 635 640

Ser Leu Gln Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Tyr Phe Arg Ala Thr

645 650 655

Ser Arg Leu Thr Thr Asp Phe His Asn Ala Glu Lys Thr Asn Arg Phe

660 665 670

Val Met Arg Glu Ile Asn Asp Arg Ile Met Lys Val Glu Tyr His Phe

675 680 685

Leu Ser Pro Tyr Val Ser Pro Arg Glu Ser Pro Phe Arg His Ile Phe

690 695 700

Trp Gly Ser Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Val Glu Asn Leu Lys

705 710 715 720

Leu Arg Gln Lys Asn Ile Thr Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn

725 730 735

Gln Leu Ala Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Val Ala Asn Ala Leu

740 745 750

Ser Gly Asp Ile Trp Asn Ile Asp Asn Glu Phe

755 760

<210> 109

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 109

Phe Val Lys Ile Gln Val Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile

1 5 10 15

Val Asp Lys Asn Gly Arg Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly

20 25 30

Tyr Val Ala Tyr Ser Lys Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His

35 40 45

Ala Asn Phe Gly Thr Lys Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Val Ala Asn Ala Glu Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr

85 90 95

Met Asp Gln Thr Lys Phe Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe

100 105 110

Gly His Ala His Leu Gly Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro

115 120 125

Ser Phe Asn His Thr Gln Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro

130 135 140

Asn Ile Pro Val Gln Thr Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe

145 150 155 160

Gly Asn Met Glu Gly Asp Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr

165 170 175

Cys Arg Met Val Thr Ser Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr Val Ser

180 185 190

Asn Val Leu Lys Glu

195

<210> 110

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 110

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 111

Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Ser

<210
> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 112

Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr
1 5

<210> 113

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 113

Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 114

Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 115

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 115

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 116

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 116

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 117

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 117

Asn Pro Thr Asn Gly Arg

1 5

<210> 118

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 118

Thr Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 119

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 119

Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn

1 5 10

<210> 120

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 120

Ala Arg Gly Thr Arg Ala

1 5

<

210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 121

Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr

1 5

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 122

Leu Leu Val Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 123

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu

1 5

<210> 124

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 125

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 125

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

1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 126

Gln His Phe Ala Gly Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 127

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 127

Gln His Phe Ala Gly Thr Pro Leu

1 5

<210> 128

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 129
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 129
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 130

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 131

<211> 2859

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 131

Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Gly

35 40 45

Gly Cys Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Thr Gly

50 55 60

Gly Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Cys Cys Cys Ala Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly

85 90 95

Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly

100 105 110

Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala

115 120 125

Cys Ala Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys

130 135 140

Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Cys Cys

145 150 155 160

Cys Cys Gly Ala Gly Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Gly Thr Gly

180 185 190

Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Thr Gly

195 200 205

Thr Cys Ala Gly Cys Cys Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Gly Gly Cys

210 215 220

Thr Gly Ala Gly Gly Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala

225 230 235 240

Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Thr Thr Gly Gly Ala Cys Cys Cys Gly

245 250 255

Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly

260 265 270

Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Gly Ala Cys Cys Thr

275 280 285

Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Cys

290 295 300

Cys Ala Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Thr
305 310 315 320
Cys Cys Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Cys Cys Ala Gly Gly Ala
325 330 335
Cys Ala Ala Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Ala Cys

340 345 350
Thr Thr Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Gly Cys Gly Gly
355 360 365
Ala Gly Cys Cys Cys Ala Thr Cys Gly Thr Gly Gly Thr Gly Ala Gly
370 375 380
Gly Cys Thr Thr Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Thr Cys Cys Gly Ala
385 390 395 400
Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Gly Ala Cys Thr

405 410 415
Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Thr Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr
420 425 430
Gly Ala Thr Cys Gly Gly Ala Cys Gly Cys Gly Gly Gly Gly Cys Gly
435 440 445
Thr Thr Cys Ala Gly Cys Gly Ala Gly Gly Thr Ala Gly Cys Gly Gly
450 455 460
Thr Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Gly Cys Ala

465 470 475 480
Gly Ala Cys Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Thr
485 490 495
Gly Cys Cys Ala Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Gly Ala
500 505 510
Ala Cys Ala Ala Gly Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Thr Gly Cys Thr
515 520 525
Gly Ala Ala Gly Ala Gly Gly Gly Gly Cys Gly Ala Gly Gly Thr Gly

530 535 540
Thr Cys Gly Thr Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Thr Gly Ala Gly Gly

545 550 555 560

Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Thr Thr Gly Gly Thr

565 570 575

Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Gly Gly Cys Gly Gly

580 585 590

Thr Gly Gly Ala Thr Cys Ala Cys Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys

595 600 605

Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Thr Thr Cys Cys Ala Gly Gly Ala

610 615 620

Thr Gly Ala Gly Ala Ala Cys Thr Ala Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys

625 630 635 640

Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Thr Gly Gly Ala Gly Thr Ala Thr Thr

645 650 655

Ala Cys Gly Thr Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Thr

660 665 670

Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Cys

675 680 685

Ala Ala Gly Thr Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ala Gly Cys Gly Gly Ala

690 695 700

Thr Thr Cys Cys Gly Gly Cys Cys Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly Cys

705 710 715 720

Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly

725 730 735

Gly Ala Gly Ala Thr Thr Gly Thr Cys Ala Thr Gly Gly Cys Cys Ala

740 745 750

Thr Ala Gly Ala Cys Thr Cys Gly Gly Thr Gly Cys Ala Cys Cys Gly

755 760 765

Gly Cys Thr Thr Gly Gly Cys Thr Ala Cys Gly Thr Gly Cys Ala Cys

770 775 780

Ala Gly Gly Gly Ala Cys Ala Thr Cys Ala Ala Ala Cys Cys Cys Gly

785 790 795 800

Ala Cys Ala Ala Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala

805 810 815

Cys Cys Gly Cys Thr Gly Thr Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Thr Cys

820 825 830

Cys Gly Cys Cys Thr Gly Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Thr Cys Gly

835 840 845

Gly Cys Thr Cys Thr Thr Gly Cys Cys Thr Cys Ala Ala Gly Cys Thr

850 855 860

Gly Cys Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ala Ala Cys Gly

865 870 875 880

Gly Thr Gly Cys Gly Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly

885 890 895

Cys Thr Gly Thr Gly Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala

900 905 910

Cys Thr Ala Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly

915 920 925

Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Thr Gly Gly

930 935 940

Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys

945 950 955 960

Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Ala Cys Gly Gly Gly Cys Cys Cys

965 970 975

Gly Ala Gly Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly Gly

980 985 990

Cys Gly Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Cys Gly Cys

995 1000 1005

Cys Thr Ala Thr Gly Ala Ala Ala Thr Gly Thr Thr Cys Thr Ala

1010 1015 1020

Thr Gly Gly Gly Cys Ala Gly Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Thr

1025 1030 1035

Cys Thr Ala Cys Gly Cys Gly Gly Ala Thr Thr Cys Cys Ala Cys

1040 1045 1050

Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Thr Gly Gly

1055 1060 1065

Cys Ala Ala Gly Ala Thr Cys Gly Thr Cys Cys Ala Cys Thr Ala

1070 1075 1080

Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Cys Ala Cys Cys Thr Cys Thr Cys

1085 1090 1095

Thr Cys Thr Gly Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala

1100 1105 1110

Cys Gly Ala Ala Gly Gly Gly Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala

1115 1120 1125

Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys Gly Ala Gly Ala Cys Thr Thr

1130 1135 1140

Cys Ala Thr Thr Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr

1145 1150 1155

Gly Thr Gly Thr Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Cys

1160 1165 1170

Ala Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Cys Cys Gly Gly Gly Gly

1175 1180 1185

Thr Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Gly Cys Gly Ala Cys Thr Thr

1190 1195 1200

Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys Cys Cys Thr Thr

1205 1210 1215

Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Gly Gly Cys Cys Thr Cys Gly Ala

1220 1225 1230

Cys Thr Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Gly

1235 1240 1245

Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys

1250 1255 1260

Cys Thr Thr Thr Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Ala Thr Thr Thr

1265 1270 1275

Cys Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Gly Ala

1280 1285 1290

Cys Ala Cys Ala Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Cys Gly Ala

1295 1300 1305

Cys Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Cys Gly Gly

1310 1315 1320

Gly Cys Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Thr Gly Gly Ala

1325 1330 1335

Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Gly Gly Ala Cys Ala Thr

1340 1345 1350

Thr Cys Gly Gly Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Gly Cys Cys

1355 1360 1365

Gly Cys Thr Ala Gly Gly Gly Gly Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr

1370 1375 1380

Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr Gly Thr Gly Gly Gly Cys Thr Ala

1385 1390 1395

Cys Thr Cys Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Thr

1400 1405 1410

Gly Gly Cys Cys Cys Thr Cys Ala Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly

1415 1420 1425

Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys

1430 1435 1440

Cys Ala Cys Ala Cys Cys Cys Ala Thr Gly Gly Ala Ala Cys Thr

1445 1450 1455

Gly Gly Ala Gly Gly Cys Cys Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Thr

1460 1465 1470

Gly Cys Thr Thr Gly Ala Gly Cys Cys Ala Cys Ala Cys Gly Thr

1475 1480 1485

Gly Cys Ala Ala Gly Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Thr

1490 1495 1500

Gly Gly Ala Gly Cys Cys Cys Thr Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys

1505 1510 1515

Cys Cys Cys Ala Cys Ala Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Ala Cys

1520 1525 1530

Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr

1535 1540 1545

Thr Cys Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys

1550 1555 1560

Thr Gly Cys Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala

1565 1570 1575

Gly Gly Cys Cys Gly Ala Gly Gly Thr Gly Ala Cys Gly Cys Thr

1580 1585 1590

Gly Cys Gly Gly Gly Ala Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Ala

1595 1600 1605

Ala Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala

1610 1615 1620

Gly Gly Thr Gly Cys Thr Cys Ala Cys Cys Cys Gly Gly Cys Ala

1625 1630 1635

Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Cys Gly Gly Gly Ala

1640 1645 1650

Gly Ala Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Gly

1655 1660 1665

Cys Ala Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala

1670 1675 1680

Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Ala Ala Cys Thr

1685 1690 1695

Ala Cys Gly Cys Gly Ala Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys

1700 1705 1710

Thr Cys Gly Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Gly Ala Cys Cys Thr

1715 1720 1725

Ala Gly Ala Gly Gly Cys Ala Cys Ala Cys Gly Thr Cys Cys Gly

1730 1735 1740

Gly Cys Ala Gly Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Ala Gly Cys Gly

1745 1750 1755

Gly Ala Thr Gly Gly Ala Gly Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala

1760 1765 1770

Gly Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Cys Cys Ala Cys

1775 1780 1785

Ala Gly Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Gly Gly Thr

1790 1795 1800

Cys Cys Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys

1805 1810 1815

Cys Ala Cys Gly Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Thr Cys

1820 1825 1830

Cys Cys Ala Thr Cys Thr Ala Gly Ala Thr Gly Gly Cys Cys Cys

1835 1840 1845

Cys Cys Cys Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Thr

1850 1855 1860

Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Cys Thr

1865 1870 1875

Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys

1880 1885 1890

Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Ala

1895 1900 1905

Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys

1910 1915 1920

Cys Ala Gly Gly Gly Thr Cys Cys Cys Thr Ala Gly Gly Cys Cys

1925 1930 1935

Thr Gly Gly Cys Cys Thr Ala Thr Cys Gly Gly Ala Gly Gly Cys

1940 1945 1950

Gly Cys Thr Thr Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Cys Thr

1955 1960 1965

Gly Thr Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Thr Gly Thr Thr Cys Thr

1970 1975 1980

Gly Thr Cys Thr Cys Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys

1985 1990 1995

Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Thr Gly Gly

2000 2005 2010

Gly Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Cys

2015 2020 2025

Cys Gly Gly Cys Cys Ala Ala Cys Thr Cys Ala Cys Cys Gly Cys

2030 2035 2040

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys

2045 2050 2055

Ala Gly Gly Ala Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Gly Cys Gly Cys

2060 2065 2070

Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys Cys Cys Thr Ala Gly Ala

2075 2080 2085

Ala Cys Thr Gly Thr Cys Thr Thr Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys

2090 2095 2100

Gly Gly Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Thr Thr Gly Gly Ala Ala

2105 2110 2115

Gly Ala Cys Thr Gly Ala Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly

2120 2125 2130

Gly Cys Ala Cys Gly Gly Cys Ala Cys Ala Gly Ala Ala Gly Cys

2135 2140 2145

Cys Gly Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Thr Gly

2150 2155 2160

Cys Cys Ala Gly Thr Thr Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Gly Cys

2165 2170 2175

Thr Cys Cys Gly Ala Gly Cys Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys Thr

2180 2185 2190

Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Thr

2195 2200 2205

Cys Cys Thr Gly Thr Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys

2210 2215 2220

Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Thr Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys

2225 2230 2235

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Cys Cys

2240 2245 2250

Gly Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys

2255 2260 2265

Gly Ala Ala Cys Gly Gly Gly Gly Cys Thr Cys Gly Ala Ala Gly

2270 2275 2280

Gly Gly Thr Cys Cys Thr Thr Gly Thr Ala Gly Cys Cys Gly Gly

2285 2290 2295

Gly Ala Ala Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys

2300 2305 2310

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys

2315 2320 2325

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys

2330 2335 2340

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys

2345 2350 2355

Thr Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Thr Cys Ala Cys

2360 2365 2370

Ala Gly Ala Cys Cys Ala Thr Thr Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr

2375 2380 2385

Thr Thr Cys Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala Gly

2390 2395 2400

Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly

2405 2410 2415

Gly Gly Cys Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Cys

2420 2425 2430

Thr Gly Gly Gly Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly

2435 2440 2445

Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys Gly Thr Cys Cys Gly Thr Gly Thr

2450 2455 2460

Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Cys Gly Cys Ala

2465 2470 2475

Cys Cys Cys Cys Cys Ala Cys Cys Thr Ala Thr Cys Gly Thr Thr

2480 2485 2490

Gly Gly Thr Thr Cys Gly Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala

2495 2500 2505

Ala Ala Gly Cys Thr Thr Thr Cys Thr Thr Gly Thr Gly Cys Ala

2510 2515 2520

Thr Gly Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly

2525 2530 2535

Gly Gly Gly Ala Gly Cys Gly Thr Cys Thr Gly Gly Cys Gly Cys

2540 2545 2550

Gly Ala Thr Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Thr

2555 2560 2565

Ala Cys Thr Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala Thr Thr Thr Gly Cys

2570 2575 2580

Thr Thr Thr Thr Gly Cys Cys Ala Ala Ala Cys Cys Cys Gly Cys

2585 2590 2595

Thr Thr Thr Thr Thr Cys Gly Gly Gly Gly Ala Thr Cys Cys Cys

2600 2605 2610

Gly Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala

2615 2620 2625

Cys Thr Thr Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Cys Gly

2630 2635 2640

Gly Ala Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Thr

2645 2650 2655

Cys Cys Gly Cys Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Gly Gly Cys Gly

2660 2665 2670

Gly Thr Thr Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr

2675 2680 2685

Gly Ala Cys Cys Thr Cys Gly Thr Cys Cys Thr Cys Cys Gly Ala

2690 2695 2700

Cys Thr Cys Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Ala

2705 2710 2715

Cys Ala Gly Gly Ala Cys Cys Cys Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala

2720 2725 2730

Cys Cys Cys Cys Ala Ala Thr Cys Cys Ala Cys Gly Thr Thr Thr

2735 2740 2745

Thr Gly Gly Ala Thr Gly Cys Ala Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys

2750 2755 2760

Cys Cys Cys Gly Ala Cys Ala Thr Thr Cys Cys Thr Cys Gly Gly

2765 2770 2775

Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Gly Thr Cys Thr Gly Thr Cys

2780 2785 2790

Cys Cys Cys Ala Cys Cys Thr Ala Gly Gly Ala Cys Cys Cys Cys

2795 2800 2805

Cys Ala Cys Cys Cys Cys Cys Gly Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly

2810 2815 2820

Cys Gly Ala Ala Thr Ala Ala Ala Ala Gly Gly Cys Cys Cys Thr

2825 2830 2835

Cys Cys Ala Thr Cys Thr Gly Cys Cys Cys Ala Ala Ala Gly Cys

2840 2845 2850

Thr Cys Thr Gly Gly Ala

2855

<210> 132

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 132

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

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

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

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

225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

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

435 440 445

<210> 133

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 133

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

1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 134

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 134

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 135
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic

<400> 135

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 136

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 136

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro

225

<210> 137

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro

225

<210> 138

<211> 7

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 138

Ala Ser Ser Leu Asn Ile Ala

1 5

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 139

Ser Lys Thr Phe Asn Thr His Pro Gln Ser Thr Pro

1 5 10

<210> 140

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 140

Thr Ala Arg Gly Glu His Lys Glu Glu Glu Leu Ile

1 5 10

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 141

Cys Gln Ala Gln Gly Gln Leu Val Cys

1 5

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 142

Cys Ser Glu Arg Ser Met Asn Phe Cys

1 5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 143

Cys Pro Lys Thr Arg Arg Val Pro Cys

1 5

<210> 144

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 144

Trp Leu Ser Glu Ala Gly Pro Val Val Thr Val Arg Ala Leu Arg Gly

1 5 10 15

Thr Gly Ser Trp

20

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 145

Cys Met Gln His Ser Met Arg Val Cys

1 5

<210> 146

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 146

Asp Asp Thr Arg His Trp Gly

1 5

<210> 147

<211> 2683

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 147

gaactggcca gagagaccca agggatagtc agggacgggc agacatgcag ctagggttct 60

ggggcctgga caggggcagc caggccctgt gacgggaaga ccccgagctc cggcccgggg 120

aggggccatg gtgttgcctg cccaacatgt cagccgaagt gcggctgagg cagctccagc 180

agctggtgct ggacccaggc ttcctgggac tggagcccct gctcgacctt ctcctgggcg 240

tccaccagga gctgggtgcc tctcacctag cccaggacaa gtatgtggcc gacttcttgc 300

agtgggtgga gcccattgca gcaaggctta aggaggtccg actgcagagg gatgattttg 360

agattttgaa ggtgatcggg cgtggggcgt tcagcgaggt agcggtggtg aagatgaaac 420

agacgggcca agtgtatgcc atgaagatta tgaataagtg ggacatgctg aagagaggcg 480

aggtgtcgtg cttccgggaa gaaagggatg tattagtgaa aggggaccgg cgctggatca 540

cacagctgca ctttgccttc caggatgaga actacctgta cctggtcatg gaatactacg 600

tgggcgggga cctgctaacg ctgctgagca agtttgggga gcggatcccc gccgagatgg 660

ctcgcttcta cctggccgag attgtcatgg ccatagactc cgtgcaccgg ctgggctacg 720

tgcacaggga catcaaacca gataacattc tgctggaccg atgtgggcac attcgcctgg 780

cagacttcgg ctcctgcctc aaactgcagc ctgatggaat ggtgaggtcg ctggtggctg 840

tgggcacccc ggactacctg tctcctgaga ttctgcaggc cgttggtgga gggcctgggg 900

caggcagcta cgggccagag tgtgactggt gggcactggg cgtgttcgcc tatgagatgt 960

tctatgggca gacccccttc tacgcggact ccacagccga gacatatgcc aagattgtgc 1020

actacaggga acacttgtcg ctgccgctgg cagacacagt tgtccccgag gaagctcagg 1080

acctcattcg tgggctgctg tgtcctgctg agataaggct aggtcgaggt ggggcagact 1140

tcgagggtgc cacggacaca tgcaatttcg atgtggtgga ggaccggctc actgccatgg 1200

tgagcggggg cggggagacg ctgtcagaca tgcaggaaga catgcccctt ggggtgcgcc 1260

tgcccttcgt gggctactcc tactgctgca tggccttcag agacaatcag gtcccggacc 1320

ccacccctat ggaactagag gccctgcagt tgcctgtgtc agacttgcaa gggcttgact 1380

tgcagccccc agtgtcccca ccggatcaag tggctgaaga ggctgaccta gtggctgtcc 1440

ctgcccctgt ggctgaggca gagaccacgg taacgctgca gcagctccag gaagccctgg 1500

aagaagaggt tctcacccgg cagagcctga gccgcgagct ggaggccatc cggaccgcca 1560

accagaactt ctccagccaa ctacaggagg ccgaggtccg aaaccgagac ctggaggcgc 1620

atgttcggca gctacaggaa cggatggaga tgctgcaggc cccaggagcc gcagccatca 1680

cgggggtccc cagtccccgg gccacggatc caccttccca tctagatggc cccccggccg 1740

tggctgtggg ccagtgcccg ctggtggggc caggccccat gcaccgccgt cacctgctgc 1800

tccctgccag gatccctagg cctggcctat ccgaggcgcg ttgcctgctc ctgttcgccg 1860

ctgctctggc tgctgccgcc acactgggct gcactgggtt ggtggcctat accggcggtc 1920

tcaccccagt ctggtgtttc ccgggagcca ccttcgcccc ctgaacccta agactccaag 1980

ccatctttca tttaggcctc ctaggaaggt cgagcgacca gggagcgacc caaagcgtct 2040

ctgtgcccat cgcgcccccc ccccccccca accgctccgc tccacacttc tgtgagcctg 2100

ggtccccacc cagctccgct cctgtgatcc aggcctgcca cctggcggcc ggggagggag 2160

gaacagggct cgtgcccagc acccctggtt cctgcagagc tggtagccac cgctgctgca 2220

gcagctgggc attcgccgac cttgctttac tcagccccga cgtggatggg caaactgctc 2280

agctcatccg atttcacttt ttcactctcc cagccatcag ttacaagcca taagcatgag 2340

ccccctattt ccagggacat cccattccca tagtgatgga tcagcaagac ctctgccagc 2400

acacacggag tctttggctt cggacagcct cactcctggg ggttgctgca actccttccc 2460

cgtgtacacg tctgcactct aacaacggag ccacagctgc actccccccc cccccaaagc 2520

agtgtgggta tttattgatc ttgttatctg actcactgac agactccggg acccacgttt 2580

tagatgcatt gagactcgac attcctcggt atttattgtc tgtccccacc tacgacctcc 2640

actcccgacc cttgcgaata aaatacttct ggtctgccct aaa 2683

<210> 148

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 148

ggacggcccg gcuugcugcc 20

<210> 149

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 149

gggcccggau cacaggacug 20

<210> 150

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 150

caaacuugcu cagcaguguc 20

<210> 151

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 151

aaacuugcuc agcaguguca 20

<210> 152

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 152

cggauggccu ccaucucccg 20

<210> 153

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 153

cucggccgga auccgcuccc 20

<210> 154

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 154

ucucggccgg aauccgcucc 20

<210> 155

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 155

ugcucagcag ugucagcagg 20

<210> 156

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 156

uugucggguu ugaugucccu 20

<210> 157

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 157

guugcggguu ugauguccc 19

<210> 158

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 158

uccgccaggu agaagcgcgc 20

<210> 159

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 159

cauggcauac accuggcccg 20

<210> 160

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 160

aacuugcuca gcagugucag 20

<210> 161

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 161

cagcugcgug auccaccgcc 20

<210> 162

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 162

cgaauguccg acagugucuc 20

<210> 163

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 163

gaagucggcc aggcggaugu 20

<210> 164

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 164

ugucgggguu gaugucccug 20

<210> 165

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 165

ggauggccuc caucucccgg 20

<210> 166

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 166

aggauguugu cggguuugau 20

<210> 167

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 167

gucggguuug augucccugu 20

<210> 168

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 168

aauacuccau gaccagguac 20

<210> 169

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 169

cuuguucaug aucuucaugg 20

<210> 170

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 170

ucagugcauc caaaacgugg 20

<210> 171

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 171

cugucccgga gaccauccca 20

<210> 172

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 172

gggccuggga ccucacuguc 20

<210> 173

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 173

cccacguaau acuccaugac 20

<210> 174

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 174

cucugccgca gggacagccg 20

<210> 175

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 175

cugugcacgu agccaagccg 20

<210> 176

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 176

ugcccaucca cgucagggcc 20

<210> 177

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 177

agcgccuccg auaggccagg 20

<210> 178

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 178

ugugcacgua gccaagccgg 20

<210> 179

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 179

gaccagguac agguaguucu 20

<210> 180

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 180

ccaucucggc cggaauccgc 20

<210> 181

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 181

caucucggcc ggaauccgcu 20

<210> 182

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 182

uugccauagg ucuccgccgu 20

<210> 183

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 183

acagcggucc agcaggaugu 20

<210> 184

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 184

aaagcgccuc cgauaggcca 20

<210> 185

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 185

gccaaagaag aagggaugug 20

<210> 186

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 186

cacguaauac uccaugacca 20

<210> 187

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 187

aucucggccg gaauccgcuc 20

<210> 188

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 188

gcuucaucuu cacuaccgcu 20

<210> 189

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 189

gccaucucgg ccggaauccg 20

<210> 190

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 190

cagggacagc cgcuggaacu 20

<210> 191

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 191

augacaaucu ccgccaggua 20

<210> 192

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 192

ggccaugaca aucuccgcca 20

<210> 193

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 193

auacuccaug accagguaca 20

<210> 194

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 194

gccucugccu cgcguaguug 20

<210> 195

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 195

gaauguccga cagugucucc 20

<210> 196

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 196

cguuccaucu gcccgcagcu 20

<210> 197

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 197

ccuuguagug gacgaucuug 20

<210> 198

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 198

aucuccgcca gguagaagcg 20

<210> 199

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 199

cucaggcucu gccgggugag 20

<210> 200

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 200

ugcuucaucu ucacuaccgc 20

<210> 201

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 201

gcaggauguu gucggguuug 20

<210> 202

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 202

ggccucagcc ucugccgcag 20

<210> 203

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 203

uguugucggg uuugaugucc 20

<210> 204

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 204

ccacguaaua cuccaugacc 20

<210> 205

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 205

ccguuccauc ugcccgcagc 20

<210> 206

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 206

uucccgagua agcaggcaga 20

<210> 207

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 207

ugaucuucau ggcauacacc 20

<210> 208

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 208

agggacagcc gcuggaactg 20

<210> 209

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 209

ggguuugaug ucccugugca 20

<210> 210

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 210

ugacaaucuc cgccagguag 20

<210> 211

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 211

cacagcgguc cagcaggaug 20

<210> 212

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 212

gcguagaagg gcgucugccc 20

<210> 213

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 213

cucagccucu gccgcaggga 20

<210> 214

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 214

gucucagugc auccaaaacg 20

<210> 215

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 215

ggacgaucuu gccauagguc 20

<210> 216

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 216

ucagcagugu cagcaggucc 20

<210> 217

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 217

gcuccugggc ggcgccagac 20

<210> 218

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 218

agcaggaugu ugucggguuu 20

<210> 219

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 219

auccgcuccu gcaacugccg 20

<210> 220

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 220

aggagcaggg aaagcgccuc 20

<210> 221

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 221

acaccuggcc cgucugcuuc 20

<210> 222

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 222

cccagcgccc accagucaca 20

<210> 223

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 223

gcucccucug ccugcagcaa 20

<210> 224

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 224

gcucaggcuc ugccggguga 20

<210> 225

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 225

uugauguccc ugugcacgua 20

<210> 226

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 226

gccucagccu cugccgcagg 20

<210> 227

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 227

gguaguucuc auccuggaag 20

<210> 228

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 228

cagcgcccac cagucacacu 20

<210> 229

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 229

cccaaacuug cucagcagug 20

<210> 230

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 230

cuugccauag gucuccgccg 20

<210> 231

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 231

uacaccuggc ccgucugcuu 20

<210> 232

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 232

ccagcgccca ccagucacac 20

<210> 233

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 233

ggccucagcc uggccgaaag 20

<210> 234

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 234

aaucuccgcc agguagaagc 20

<210> 235

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 235

auggcauaca ccuggcccgu 20

<210> 236

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 236

ccaugacaau cuccgccagg 20

<210> 237

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 237

uccccaaacu ugcucagcag 20

<210> 238

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 238

gauguugucg gguuugaugu 20

<210> 239

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 239

guuugcccau ccacgucagg 20

<210> 240

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 240

cggacggccc ggcuugcugc 20

<210> 241

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 241

cuccgccagg uagaagcgcg 20

<210> 242

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 242

guacagguag uucucauccu 20

<210> 243

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 243

agggcgucug cccauagaac 20

<210> 244

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 244

uggccacagc gguccagcag 20

<210> 245

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 245

cguaguugac uggcgaaguu 20

<210> 246

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 246

ucugccgcag ggacagccgc 20

<210> 247

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 247

aagcgccucc gauaggccag 20

<210> 248

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 248

gacagaacaa cggcgaacag 20

<210> 249

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 249

gcucagcagu gucagcaggu 20

<210> 250

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 250

augaucuuca uggcauacac 20

<210> 251

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 251

uuugcccauc cacgucaggg 20

<210> 252

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 252

acuugcucag cagugucagc 20

<210> 253

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 253

ugauguccccu gugcacguag 20

<210> 254

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 254

aaauaccgag gaaugucggg 20

<210> 255

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 255

ggcgaauaca cccagcgccc 20

<210> 256

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 256

agacaauaaa uaccgaggaa 20

<210> 257

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 257

cccgucugcu ucaucuucac 20

<210> 258

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 258

cugccugcag caacuccauc 20

<210> 259

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 259

ccucagccuc ugccgcaggg 20

<210> 260

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 260

guguccggaa gucgccugcu 20

<210> 261

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 261

ugcacgugug gcucaagcag 20

<210> 262

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 262

gacaauaaau accgaggaau 20

<210> 263

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 263

gccaugacaa ucuccgccag 20

<210> 264

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 264

gcugucccgg agaccauccc 20

<210> 265

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 265

caugaccagg uacagguagu 20

<210> 266

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 266

agcgcccacc agucacacuc 20

<210> 267

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 267

ucucagugca uccaaaacgu 20

<210> 268

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 268

uuugggcaga uggagggccu 20

<210> 269

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 269

gaugucccug ugcacguagc 20

<210> 270

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 270

cagcaguguc agcagguccc 20

<210> 271

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 271

caugacaauc uccgccaggu 20

<210> 272

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 272

acuuguucau gaucuucaug 20

<210> 273

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 273

guggaauccg cguagaaggg 20

<210> 274

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 274

uggccaugac aaucuccgcc 20

<210> 275

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 275

gggacagaca auaaauaccg 20

<210> 276

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 276

ccgcucccca aacuugcuca 20

<210> 277

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 277

cggcucaggc ucugccgggu 20

<210> 278

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 278

ggcuccuggg cggcgccaga 20

<210> 279

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 279

uuucccgagu aagcaggcag 20

<210> 280

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 280

ggauguuguc gggguuugaug 20

<210> 281

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 281

cagguaguuc ucauccugga 20

<210> 282

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 282

ugcccauaga acauuucaua 20

<210> 283

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 283

uaguucucau ccuggaaggc 20

<210> 284

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 284

augucccugu gcacguagcc 20

<210> 285

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 285

cgggcccgga ucacaggacu 20

<210> 286

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 286

uggacgaucu ugccauaggu 20

<210> 287

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 287

guuggccggc gugggccacc 20

<210> 288

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 288

cucagugcau ccaaaacgug 20

<210> 289

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 289

ucgaaguugc augugucggu 20

<210> 290

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 290

uggaacacgg acggcccggc 20

<210> 291

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 291

ccgagagcag cgcaagugag 20

<210> 292

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 292

uccugcaacu gccggacgug 20

<210> 293

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 293

ucaccaacac gucccucucc 20

<210> 294

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 294

ugccugcagc aacuccaucc 20

<210> 295

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 295

uuggccggcg ugggccacca 20

<210> 296

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 296

gagccucugc cucgcguagu 20

<210> 297

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 297

aagggcgucu gcccauagaa 20

<210> 298

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 298

acagacaaua aauaccgagg 20

<210> 299

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 299

ggacagacaa uaaauaccga 20

<210> 300

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 300

acgugugccu cuaggucccg 20

<210> 301

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 301

ggcacgagac agaacaacgg 20

<210> 302

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 302

ugaccaggua cagguaguuc 20

<210> 303

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 303

cucugccggg ugagcaccuc 20

<210> 304

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 304

gacaaucucc gccagguaga 20

<210> 305

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 305

ucuccgccag guagaagcgc 20

<210> 306

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 306

cucugccucg cguaguugac 20

<210> 307

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 307

cuuugggcag auggagggcc 20

<210> 308

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 308

acagguaguu cucauccugg 20

<210> 309

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 309

ccaaacuugc tcagcagugu 20

<210> 310

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 310

ucggguuuga ugucccugug 20

<210> 311

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 311

ggcuugcugc cuucccaggc 20

<210> 312

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 312

uacagguagu ucucauccug 20

<210> 313

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 313

uugcccaucc acgucagggc 20

<210> 314

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 314

agguacaggu aguucucauc 20

<210> 315

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 315

gacagacaau aaauaccgag 20

<210> 316

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 316

uagaacauuu cauaggcgaa 20

<210> 317

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 317

agggccuuuu auucgcgagg 20

<210> 318

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 318

gccucgcgua guugacuggc 20

<210> 319

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 319

ccagcaggau guugucgggu 20

<210> 320

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 320

guaguugacu ggcgaaguuc 20

<210> 321

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 321

ugcggauggc cuccaucucc 20

<210> 322

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 322

acaaucuccg ccagguagaa 20

<210> 323

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 323

gcgaauacac ccagcgccca 20

<210> 324

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 324

guaguucuca uccuggaagg 20

<210> 325

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 325

ggcucaggcu cugccgggug 20

<210> 326

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 326

ccauucacca acacgucccu 20

<210> 327

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 327

accagguaca gguaguucuc 20

<210> 328

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 328

ctgcaguuug cccauccacg 20

<210> 329

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 329

uuguucauga ucuucauggc 20

<210> 330

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 330

uugauguccc ugugcacgu 19

<210> 331

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 331

gcgguccagc aggauguugu 20

<210> 332

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 332

gucuauggcc augacaaucu 20

<210> 333

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 333

ggagcaggga aagcgccucc 20

<210> 334

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 334

ugccucgcgu aguugacugg 20

<210> 335

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 335

gcggauggcc uccaucuccc 20

<210> 336

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 336

uuucauaggc gaauacaccc 20

<210> 337

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 337

gccugucagc gagucggagg 20

<210> 338

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 338

ccacuucagc uguuucaucc 20

<210> 339

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 339

cauccgcucc ugcaacugcc 20

<210> 340

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 340

ucuaggguuc agggagcgcg 20

<210> 341

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 341

caccaacacg ucccucuccu 20

<210> 342

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 342

caggagcagg gaaagcgccu 20

<210> 343

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 343

caaucuccgc cagguagaag 20

<210> 344

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 344

auguugucgg guuugauguc 20

<210> 345

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 345

ccauccgcuc cugcaacugc 20

<210> 346

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 346

gcgucaccuc ggccucagcc 20

<210> 347

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 347

gagggccuuu uauucgcgag 20

<210> 348

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 348

agcggcagag agaggugcuc 20

<210> 349

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 349

cauccaaaac guggauuggg 20

<210> 350

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 350

uugggcagau ggagggccuu 20

<210> 351

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 351

ccucugccuc gcguaguuga 20

<210> 352

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 352

acagaacaac ggcgaacagg 20

<210> 353

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 353

caggauguug ucggguuuga 20

<210> 354

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 354

cggccucagc cucugccgca 20

<210> 355

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 355

cagcaggaug uugucggguu 20

<210> 356

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 356

gcagagagag gugcuccuug 20

<210> 357

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 357

uccaguucca uggguguggg 20

<210> 358

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 358

ccucagccug gccgaaagaa 20

<210> 359

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 359

gggccuuuua uucgcgaggg 20

<210> 360

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 360

gucggccagg cggauguggc 20

<210> 361

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 361

gcuugcugcc uucccaggcc 20

<210> 362

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 362

gguccagcag gauguugucg 20

<210> 363

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 363

cggagaccau cccagucgag 20

<210> 364

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 364

ucugccucgc guagugacu 19

<210> 365

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 365

agguaguucu cauccuggaa 20

<210> 366

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 366

uccuuguagu ggacgaucuu 20

<210> 367

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 367

gcauccaaaa cguggauugg 20

<210> 368

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 368

guccagcagg augugucgg 19

<210> 369

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 369

agcucccgca gcgucaccuc 20

<210> 370

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 370

cgagagcagc gcaagugagg 20

<210> 371

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 371

cagggaaagc gccuccgaua 20

<210> 372

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 372

auuucauagg cgaauacacc 20

<210> 373

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 373

ucggccaggc ggauguggcc 20

<210> 374

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 374

aagggaugug uccggaaguc 20

<210> 375

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 375

cuuguagugg acgaucuugc 20

<210> 376

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 376

agucggccag gcggaugugg 20

<210> 377

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 377

gccucagccu ggccgaaaga 20

<210> 378

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 378

agcgucaccu cggccucagc 20

<210> 379

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 379

cagcggcaga gagaggugct 20

<210> 380

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 380

ccagcggcag agagaggugc 20

<210> 381

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 381

uuguagugga cgaucuugcc 20

<210> 382

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 382

agggaaagcg ccuccgauag 20

<210> 383

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 383

gggaaagcgc cuccgauagg 20

<210> 384

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 384

ggcagcaagc cgggccgtcc 20

<210> 385

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 385

cagtcctgtg atccgggccc 20

<210> 386

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 386

gacactgctg agcaagtttg 20

<210> 387

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 387

tgacactgct gagcaagttt 20

<210> 388

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 388

cgggagatgg aggccatccg 20

<210> 389

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 389

gggagcggat tccggccgag 20

<210> 390

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 390

ggagcggatt ccggccgaga 20

<210> 391

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 391

cctgctgaca ctgctgagca 20

<210> 392

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 392

agggacatca aacccgacaa 20

<210> 393

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 393

gggacatcaa acccgacaac 20

<210> 394

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 394

gcgcgcttct acctggcgga 20

<210> 395

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 395

cgggccaggt gtatgccatg 20

<210> 396

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 396

ctgacactgc tgagcaagtt 20

<210> 397

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 397

ggcggtggat cacgcagctg 20

<210> 398

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 398

gagacactgt cggacattcg 20

<210> 399

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 399

acatccgcct ggccgacttc 20

<210> 400

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 400

cagggacatc aaacccgaca 20

<210> 401

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 401

ccgggagatg gaggccatcc 20

<210> 402

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 402

atcaaacccg acaacatcct 20

<210> 403

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 403

acagggacat caaacccgac 20

<210> 404

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 404

gtacctggtc atggagtatt 20

<210> 405

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 405

ccatgaagat catgaacaag 20

<210> 406

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 406

ccacgttttg gatgcactga 20

<210> 407

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 407

tgggatggtc tccgggacag 20

<210> 408

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 408

gacagtgagg tcccaggccc 20

<210> 409

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 409

gtcatggagt attacgtggg 20

<210> 410

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 410

cggctgtccc tgcggcagag 20

<210> 411

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 411

cggcttggct acgtgcacag 20

<210> 412

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 412

ggccctgacg tggatgggca 20

<210> 413

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 413

cctggcctat cggaggcgct 20

<210> 414

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 414

ccggcttggc tacgtgcaca 20

<210> 415

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 415

agaactacct gtacctggtc 20

<210> 416

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 416

gcggattccg gccgagatgg 20

<210> 417

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 417

agcggattcc ggccgagatg 20

<210> 418

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 418

acggcggaga cctatggcaa 20

<210> 419

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 419

acatcctgct ggaccgctgt 20

<210> 420

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 420

tggcctatcg gaggcgcttt 20

<210> 421

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 421

cacatccctt cttctttggc 20

<210> 422

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 422

tggtcatgga gtattacgtg 20

<210> 423

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 423

gagcggattc cggccgagat 20

<210> 424

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 424

agcggtagtg aagatgaagc 20

<210> 425

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 425

cggattccgg ccgagatggc 20

<210> 426

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 426

agttccagcg gctgtccctg 20

<210> 427

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 427

tacctggcgg agattgtcat 20

<210> 428

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 428

tggcggagat tgtcatggcc 20

<210> 429

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 429

tgtacctggt catggagtat 20

<210> 430

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 430

caactacgcg aggcagaggc 20

<210> 431

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 431

ggagacactg tcggacattc 20

<210> 432

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 432

agctgcgggc agatggaacg 20

<210> 433

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 433

caagatcgtc cactacaagg 20

<210> 434

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 434

cgcttctacc tggcggagat 20

<210> 435

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 435

ctcacccggc agagcctgag 20

<210> 436

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 436

gcggtagtga agatgaagca 20

<210> 437

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 437

caaacccgac aacatcctgc 20

<210> 438

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 438

ctgcggcaga ggctgaggcc 20

<210> 439

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 439

ggacatcaaa cccgacaaca 20

<210> 440

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 440

ggtcatggag tattacgtgg 20

<210> 441

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 441

gctgcgggca gatggaacgg 20

<210> 442

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 442

tctgcctgct tactcgggaa 20

<210> 443

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 443

ggtgtatgcc atgaagatca 20

<210> 444

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 444

cagttccagc ggctgtccct 20

<210> 445

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 445

tgcacaggga catcaaaccc 20

<210> 446

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 446

ctacctggcg gagattgtca 20

<210> 447

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 447

catcctgctg gaccgctgtg 20

<210> 448

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 448

gggcagacgc ccttctacgc 20

<210> 449

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 449

tccctgcggc agaggctgag 20

<210> 450

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 450

cgttttggat gcactgagac 20

<210> 451

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 451

gacctatggc aagatcgtcc 20

<210> 452

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 452

ggacctgctg acactgctga 20

<210> 453

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 453

gtctggcgcc gcccaggagc 20

<210> 454

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 454

aaacccgaca acatcctgct 20

<210> 455

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 455

cggcagttgc aggagcggat 20

<210> 456

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 456

gaggcgcttt ccctgctcct 20

<210> 457

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 457

gaagcagacg ggccaggtgt 20

<210> 458

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 458

tgtgactggt gggcgctggg 20

<210> 459

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 459

ttgctgcagg cagagggagc 20

<210> 460

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 460

tcacccggca gagcctgagc 20

<210> 461

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 461

tacgtgcaca gggacatcaa 20

<210> 462

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 462

cctgcggcag aggctgaggc 20

<210> 463

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 463

cttccaggat gagaactacc 20

<210> 464

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 464

agtgtgactg gtgggcgctg 20

<210> 465

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 465

cactgctgag caagtttggg 20

<210> 466

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 466

cggcggagac ctatggcaag 20

<210> 467

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 467

aagcagacgg gccaggtgta 20

<210> 468

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 468

gtgtgactgg tgggcgctgg 20

<210> 469

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 469

ctttcggcca ggctgaggcc 20

<210> 470

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 470

gcttctacct ggcggagatt 20

<210> 471

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 471

acgggccagg tgtatgccat 20

<210> 472

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 472

cctggcggag attgtcatgg 20

<210> 473

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 473

ctgctgagca agtttgggga 20

<210> 474

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 474

acatcaaacc cgacaacatc 20

<210> 475

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 475

cctgacgtgg atgggcaaac 20

<210> 476

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 476

gcagcaagcc gggccgtccg 20

<210> 477

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 477

cgcgcttcta cctggcggag 20

<210> 478

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 478

aggatgagaa ctacctgtac 20

<210> 479

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 479

gttctatggg cagacgccct 20

<210> 480

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 480

ctgctggacc gctgtggcca 20

<210> 481

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 481

aacttcgcca gtcaactacg 20

<210> 482

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 482

gcggctgtcc ctgcggcaga 20

<210> 483

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 483

ctggcctatc ggaggcgctt 20

<210> 484

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 484

ctgttcgccg ttgttctgtc 20

<210> 485

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 485

acctgctgac actgctgagc 20

<210> 486

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 486

gtgtatgcca tgaagatcat 20

<210> 487

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 487

ccctgacgtg gatgggcaaa 20

<210> 488

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 488

gctgacactg ctgagcaagt 20

<210> 489

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 489

ctacgtgcac agggacatca 20

<210> 490

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 490

cccgacattc ctcggtattt 20

<210> 491

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 491

gggcgctggg tgtattcgcc 20

<210> 492

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 492

ttcctcggta tttattgtct 20

<210> 493

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 493

gtgaagatga agcagacggg 20

<210> 494

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 494

gatggagttg ctgcaggcag 20

<210> 495

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 495

ccctgcggca gaggctgagg 20

<210> 496

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 496

agcaggcgac ttccggacac 20

<210> 497

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 497

ctgcttgagc cacacgtgca 20

<210> 498

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 498

attcctcggt atttattgtc 20

<210> 499

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 499

ctggcggaga ttgtcatggc 20

<210> 500

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 500

gggatggtct ccgggacagc 20

<210> 501

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 501

actacctgta cctggtcatg 20

<210> 502

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 502

gagtgtgact ggtgggcgct 20

<210> 503

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 503

acgttttgga tgcactgaga 20

<210> 504

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 504

aggccctcca tctgcccaaa 20

<210> 505

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 505

gctacgtgca cagggacatc 20

<210> 506

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 506

gggacctgct gacactgctg 20

<210> 507

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 507

acctggcgga gattgtcatg 20

<210> 508

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 508

catgaagatc atgaacaagt 20

<210> 509

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 509

cccttctacg cggattccac 20

<210> 510

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 510

ggcggagatt gtcatggcca 20

<210> 511

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 511

cggtatttat tgtctgtccc 20

<210> 512

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 512

tgagcaagtt tggggagcgg 20

<210> 513

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 513

acccggcaga gcctgagccg 20

<210> 514

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 514

tctggcgccg cccaggagcc 20

<210> 515

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 515

ctgcctgctt actcgggaaa 20

<210> 516

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 516

catcaaaccc gacaacatcc 20

<210> 517

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 517

tccaggatga gaactacctg 20

<210> 518

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 518

tatgaaatgt tctatgggca 20

<210> 519

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 519

gccttccagg atgagaacta 20

<210> 520

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 520

ggctacgtgc acagggacat 20

<210> 521

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 521

agtcctgtga tccgggcccg 20

<210> 522

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 522

acctatggca agatcgtcca 20

<210> 523

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 523

ggtggcccac gccggccaac 20

<210> 524

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 524

cacgttttgg atgcactgag 20

<210> 525

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 525

accgacacat gcaacttcga 20

<210> 526

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 526

gccgggccgt ccgtgttcca 20

<210> 527

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 527

ctcacttgcg ctgctctcgg 20

<210> 528

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 528

cacgtccggc agttgcagga 20

<210> 529

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 529

ggagagggac gtgttggtga 20

<210> 530

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 530

ggatggagtt gctgcaggca 20

<210> 531

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 531

tggtggccca cgccggccaa 20

<210> 532

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 532

actacgcgag gcagaggctc 20

<210> 533

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 533

ttctatgggc agacgccctt 20

<210> 534

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 534

cctcggtatt tattgtctgt 20

<210> 535

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 535

tcggtattta ttgtctgtcc 20

<210> 536

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 536

cgggacctag aggcacacgt 20

<210> 537

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 537

ccgttgttct gtctcgtgcc 20

<210> 538

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 538

gaactacctg tacctggtca 20

<210> 539

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 539

gaggtgctca cccggcagag 20

<210> 540

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 540

tctacctggc ggagattgtc 20

<210> 541

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 541

gcgcttctac ctggcggaga 20

<210> 542

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 542

gtcaactacg cgaggcagag 20

<210> 543

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 543

ggccctccat ctgcccaaag 20

<210> 544

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 544

ccaggatgag aactacctgt 20

<210> 545

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 545

acactgctga gcaagtttgg 20

<210> 546

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 546

cacagggaca tcaaacccga 20

<210> 547

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 547

gcctgggaag gcagcaagcc 20

<210> 548

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 548

caggatgaga actacctgta 20

<210> 549

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 549

gccctgacgt ggatgggcaa 20

<210> 550

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 550

gatgagaact acctgtacct 20

<210> 551

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 551

ctcggtattt attgtctgtc 20

<210> 552

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 552

ttcgcctatg aaatgttcta 20

<210> 553

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 553

cctcgcgaat aaaaggccct 20

<210> 554

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 554

gccagtcaac tacgcgaggc 20

<210> 555

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 555

acccgacaac atcctgctgg 20

<210> 556

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 556

gaacttcgcc agtcaactac 20

<210> 557

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 557

ggagatggag gccatccgca 20

<210> 558

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 558

ttctacctgg cggagattgt 20

<210> 559

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 559

tgggcgctgg gtgtattcgc 20

<210> 560

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 560

ccttccagga tgagaactac 20

<210> 561

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 561

cacccggcag agcctgagcc 20

<210> 562

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 562

agggacgtgt tggtgaatgg 20

<210> 563

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 563

gagaactacc tgtacctggt 20

<210> 564

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 564

cgtggatggg caaactgcag 20

<210> 565

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 565

gccatgaaga tcatgaacaa 20

<210> 566

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 566

acgtgcacag ggacatcaaa 20

<210> 567

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 567

acaacatcct gctggaccgc 20

<210> 568

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 568

agattgtcat ggccatagac 20

<210> 569

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 569

ggaggcgctt tccctgctcc 20

<210> 570

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 570

ccagtcaact acgcgaggca 20

<210> 571

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 571

gggagatgga ggccatccgc 20

<210> 572

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 572

gggtgtattc gcctatgaaa 20

<210> 573

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 573

cctccgactc gctgacaggc 20

<210> 574

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 574

ggatgaaaca gctgaagtgg 20

<210> 575

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 575

ggcagttgca ggagcggatg 20

<210> 576

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 576

cgcgctccct gaaccctaga 20

<210> 577

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 577

aggagaggga cgtgttggtg 20

<210> 578

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 578

aggcgctttc cctgctcctg 20

<210> 579

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 579

cttctacctg gcggagattg 20

<210> 580

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 580

gacatcaaac ccgacaacat 20

<210> 581

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 581

gcagttgcag gagcggatgg 20

<210> 582

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 582

ggctgaggcc gaggtgacgc 20

<210> 583

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 583

ctcgcgaata aaaggccctc 20

<210> 584

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 584

gagcacctct ctctgccgct 20

<210> 585

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 585

cccaatccac gttttggatg 20

<210> 586

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 586

aaggccctcc atctgcccaa 20

<210> 587

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 587

tcaactacgc gaggcagagg 20

<210> 588

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 588

cctgttcgcc gttgttctgt 20

<210> 589

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 589

tcaaacccga caacatcctg 20

<210> 590

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 590

tgcggcagag gctgaggccg 20

<210> 591

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 591

aacccgacaa catcctgctg 20

<210> 592

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 592

caaggagcac ctctctctgc 20

<210> 593

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 593

cccacaccca tggaactgga 20

<210> 594

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 594

ttctttcggc caggctgagg 20

<210> 595

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 595

ccctcgcgaa taaaaggccc 20

<210> 596

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 596

gccacatccg cctggccgac 20

<210> 597

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 597

ggcctgggaa ggcagcaagc 20

<210> 598

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 598

cgacaacatc ctgctggacc 20

<210> 599

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 599

ctcgactggg atggtctccg 20

<210> 600

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 600

agtcaactac gcgaggcaga 20

<210> 601

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 601

ttccaggatg agaactacct 20

<210> 602

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 602

aagatcgtcc actacaagga 20

<210> 603

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 603

ccaatccacg ttttggatgc 20

<210> 604

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 604

ccgacaacat cctgctggac 20

<210> 605

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 605

gaggtgacgc tgcgggagct 20

<210> 606

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 606

cctcacttgc gctgctctcg 20

<210> 607

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 607

tatcggaggc gctttccctg 20

<210> 608

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 608

ggtgtattcg cctatgaaat 20

<210> 609

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 609

ggccacatcc gcctggccga 20

<210> 610

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 610

gacttccgga cacatccctt 20

<210> 611

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 611

gcaagatcgt ccactacaag 20

<210> 612

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 612

ccacatccgc ctggccgact 20

<210> 613

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 613

tctttcggcc aggctgaggc 20

<210> 614

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 614

gctgaggccg aggtgacgct 20

<210> 615

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 615

agcacctctc tctgccgctg 20

<210> 616

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 616

gcacctctct ctgccgctgg 20

<210> 617

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 617

ggcaagatcg tccactacaa 20

<210> 618

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 618

ctatcggagg cgctttccct 20

<210> 619

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 619

cctatcggag gcgctttccc 20

<210> 620

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 620

accattttct tccacagggc t 21

<210> 621

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 621

taggcactca cccactgcaa ga 22

<210> 622

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 622

cggagctcac caggtagttc t 21

<210> 623

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 623

agggcagtgc ttacctgagg g 21

<210> 624

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 624

caggtgacag ttcaggtgca g 21

<210> 625

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 625

tccaccctga ctccaggtga c 21

<210> 626

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 626

gagaaggaaa taagacccag tt 22

<210> 627

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 627

ccttctctct gcctctcagc tt 22

<210> 628

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 628

ccaccctctg tctgtctcc 19

<210> 629

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 629

tccgctgggt ggtgggaaaa gaa 23

<210> 630

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 630

atgggctccg ctgggtggtg g 21

<210> 631

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 631

acgatgggct ccgctggg 18

<210> 632

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 632

ccatccttgg gcagagacct 20

<210> 633

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 633

atgaccaggt actgagaagg g 21

<210> 634

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 634

aggtactgag aagggttcgt c 21

<210> 635

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 635

tagggacctg cggagagggc ga 22

<210> 636

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 636

gcctagggac ctgcgggaga g 21

<210> 637

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 637

gcctttttatt cgcgagggtc gg 22

<210> 638

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 638

tggagggcct tttattcgcg agg 23