

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-525614
(P2024-525614A)

(43)公表日 令和6年7月12日(2024.7.12)

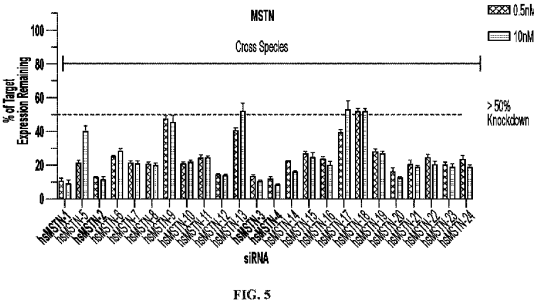
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 7 6
C 1 2 N	5/077(2010.01)	C 1 2 N	5/077		4 C 0 8 4
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	4 C 0 8 5
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 6
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
				(全357頁)	最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-500493(P2024-500493)	(71)出願人	521048956
(86)(22)出願日	令和4年7月1日(2022.7.1)		ダイン セラピューティクス, インコーポレーテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年3月11日(2024.3.11)		DYNE THERAPEUTICS, INC.
(86)国際出願番号	PCT/US2022/073362		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02451、ウォルサム、トラペロ ロード 1560
(87)国際公開番号	WO2023/283531		1560 Trapelo Road, Waltham, MA 02451, United States of America
(87)国際公開日	令和5年1月12日(2023.1.12)		
(31)優先権主張番号	63/220,039		
(32)優先日	令和3年7月9日(2021.7.9)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	63/220,050	(74)代理人	110003971
(32)優先日	令和3年7月9日(2021.7.9)		弁理士法人葛和国际特許事務所
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	サブラマニアン, ロメシュ, アール.
(31)優先権主張番号	63/220,071		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】筋標的化複合体および筋肉の健康に関連する遺伝子の調整のためのその使用

(57)【要約】

本開示の側面は、筋肉の成長および維持に関与する遺伝子(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3A)の発現または活性を調整する分子ペイロード、ならびにそのような分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体に関する。いくつかの態様において、筋標的化剤は、筋細胞(例えば、心筋細胞、平滑筋細胞、骨格筋細胞)上の内在化細胞表面受容体に特異的に結合する。いくつかの態様において、分子ペイロードは、オリゴヌクレオチド、例として、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはRNAiオリゴヌクレオチドである。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ミオスタチン(MSTN)、インヒピンベータA(INHBA)、アクチビン受容体1B型(ACVR1B)、ミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK1)、アクチビンA受容体1型(ACVR1)、アトロギン-1(FBXO32)、三分モチーフ含有63(TRIM63)、筋細胞特異的エンハンサー因子2D(MEF2D)、Kruppel様因子15(KLF15)、メディエーター複合体サブユニット1(MED1)、メディエーター複合体サブユニット13(MED13)および/またはタンパク質ホスファターゼ1調節サブユニット3A(PPP1R3A)の発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む、複合体であって、抗体が以下を含む、前記複合体:

- (i) 配列番号76と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (ii) 配列番号71と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (iii) 配列番号72と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (iv) 配列番号73と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (v) 配列番号73と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (vi) 配列番号76と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (vii) 配列番号69と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (viii) 配列番号77と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号78と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (ix) 配列番号79と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または
- (x) 配列番号77と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

【請求項 2】

抗体が、以下を含む、請求項1に記載の複合体:

- (i) 配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (ii) 配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iii) 配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iv) 配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (v) 配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (vi) 配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (vii) 配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(viii) 配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;

(ix) 配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または

(x) 配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

【請求項3】

抗体が、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される、請求項1または請求項2に記載の複合体。

【請求項4】

抗体が完全長IgGであり、任意に、完全長IgGが、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む、請求項3に記載の複合体。

【請求項5】

抗体が、以下を含む、請求項4に記載の複合体:

(i) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【請求項6】

抗体がFabである、請求項3に記載の複合体。

【請求項7】

抗体が、以下を含む、請求項6に記載の複合体:

(i) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

- (vii) 配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または
(x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【請求項8】

抗体が、以下を含む、請求項6または請求項7に記載の複合体:

- (i) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(iii) 配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(iv) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(v) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(vi) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(vii) 配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(viii) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(ix) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖;または
(x) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【請求項9】

トランスフェリン受容体に対する抗体の結合の平衡解離定数(K_D)が、 $10^{-11}M \sim 10^{-6}M$ の範囲内である、請求項1~8のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項10】

抗体が、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体が、トランスフェリン受容体に対するトランスフェリンの結合を阻害しない、請求項1~9のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項11】

抗体が、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類トランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である、請求項1~10のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項12】

複合体が、筋細胞への分子ペイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される、請求項1~11のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項13】

分子ペイロードが、MSTN標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、MSTN標的配列が、配列番号146~148に記載のMSTN mRNA配列、または配列番号149~196のいずれか1つに記載のMSTN標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1~12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 14】

アンチセンス鎖が、配列番号197～220のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号197～220のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項13に記載の複合体。

【請求項 15】

分子ペイロードが、INHBA標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、INHBA標的配列が、配列番号269もしくは配列番号270に記載のINHBA mRNA配列、または配列番号271～318のいずれか1つに記載のINHBA標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

10

【請求項 16】

アンチセンス鎖が、配列番号319～342のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号319～342のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項15に記載の複合体。

【請求項 17】

分子ペイロードが、ACVR1B標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、ACVR1B標的配列が、配列番号367～370のいずれか1つに記載のACVR1B mRNA配列、または配列番号221～268のいずれか1つに記載のACVR1B標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

20

【請求項 18】

アンチセンス鎖が、配列番号343～366のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号343～366のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項17に記載の複合体。

【請求項 19】

分子ペイロードが、MLCK1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、MLCK1標的配列が、配列番号411に記載のMLCK1 mRNAであり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

30

【請求項 20】

分子ペイロードが、ACVR1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、ACVR1標的配列が、配列番号429もしくは配列番号430に記載のACVR1 mRNA配列、または配列番号431～478のいずれか1つに記載のACVR1標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

40

【請求項 21】

アンチセンス鎖が、配列番号479～502のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号479～502のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項20に記載の複合体。

【請求項 22】

分子ペイロードが、FBXO32標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、FBXO32標的配列が、配列番号505もしくは配

50

列番号506に記載のFBX032 mRNA配列、または配列番号507～554のいずれか1つに記載のFBX032標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項23】

アンチセンス鎖が、配列番号555～578のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号555～578のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項22に記載の複合体。

【請求項24】

分子ペイロードが、TRIM63標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、TRIM63標的配列が、配列番号579もしくは配列番号580に記載のTRIM63 mRNA配列、または配列番号581～628のいずれか1つに記載のTRIM63標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項25】

アンチセンス鎖が、配列番号629～652のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号629～652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項24に記載の複合体。

【請求項26】

分子ペイロードが、MEF2D標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、MEF2D標的配列が、配列番号664もしくは配列番号665に記載のMEF2D mRNA配列、または配列番号668～715のいずれか1つに記載のMEF2D標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項27】

アンチセンス鎖が、配列番号716～223のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号716～223のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項26に記載の複合体。

【請求項28】

分子ペイロードが、KLF15標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、KLF15標的配列が、配列番号740もしくは配列番号741に記載のKLF15 mRNA配列、または配列番号742～789のいずれか1つに記載のKLF15標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項29】

アンチセンス鎖が、配列番号790～813のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号790～813のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項28に記載の複合体。

【請求項30】

分子ペイロードが、MED1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、MED1標的配列が、配列番号814もしくは配列番号815に記載のMED1 mRNA配列、または配列番号816～863のいずれか1つに記載のMED1標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり

10

20

30

40

50

、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオシド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項31】

アンチセンス鎖が、配列番号864～887のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号864～887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項30に記載の複合体。

【請求項32】

分子ペイロードが、MED13標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、MED13標的配列が、配列番号888もしくは配列番号889に記載のMED13 mRNA配列、または配列番号890～937のいずれか1つに記載のMED13標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオシド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項33】

アンチセンス鎖が、配列番号938～961のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項32に記載の複合体。

【請求項34】

分子ペイロードが、PPP1R3A標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドを含み、任意に、PPP1R3A標的配列が、配列番号962もしくは配列番号963に記載のPPP1R3A mRNA配列、または配列番号964～1011のいずれか1つに記載のPPP1R3A標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオシド長である、請求項1～12のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項35】

アンチセンス鎖が、配列番号1012～1035のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号1012～1035のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、請求項21に記載の複合体。

【請求項36】

オリゴヌクレオチドが、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む、請求項13～35のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項37】

オリゴヌクレオチドが、1以上の修飾ヌクレオシドを含み、任意に、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオシドが修飾ヌクレオシドである、請求項13～36のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項38】

1以上の修飾ヌクレオシドが2'修飾ヌクレオチドであり、任意に、1以上の2'修飾ヌクレオシドが、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択され、任意に、2'修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である、請求項37に記載の複合体。

【請求項39】

オリゴヌクレオチドが、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含み、任意に、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結が、RNAiオリゴヌクレオチドのア

10

20

30

40

50

ンチセンス鎖上に存在し、さらに任意に、センス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結である、請求項13～38のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項40】

オリゴヌクレオチドが、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである、請求項13～39のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項41】

抗体が、

(i)切断可能なリンカー、任意にここで、該切断可能なリンカーがバリン-シトルリン配列を含むもの;または

(ii)切断不可能なリンカー、任意にここで、該切断不可能なリンカーがアルカンリンカーであるもの

を介して、分子ペイロードに共有結合的に連結されている、請求項1～40のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項42】

筋細胞内のMSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aの発現を減少させる方法であって、筋細胞への分子ペイロードの内在化を促進するために、筋細胞を請求項1～41のいずれか一項に記載の複合体の有効量と接触させることを含む、前記方法。

【請求項43】

筋萎縮を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、請求項1～41のいずれか一項に記載の複合体の有効量を投与することを含み、対象が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bの上昇した発現または活性を有し、かつ複合体が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bの発現または活性を調整する分子ペイロードを含み、任意に、対象がヒトであり、かつ任意に、投与が静脈内である、前記方法。

【請求項44】

過敏性腸症候群(IBS)または過敏性腸疾患(IBD)を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、請求項1～41のいずれか一項に記載の複合体の有効量を投与することを含み、対象が、上昇したレベルのMLCK1タンパク質を有し、かつ複合体が、MLCK1の発現または活性を調整する分子ペイロードを含み、任意に、対象がヒトであり、かつ任意に、投与が静脈内である、前記方法。

【請求項45】

上昇したレベルのACVR1に関連する疾患を有する対象を処置する方法であって、方法が、請求項1～41のいずれか一項に記載の複合体の有効量を対象へ投与することを含み、複合体が、ACVR1の発現または活性を調整する分子ペイロードを含み、任意に、疾患が筋萎縮であり、さらに任意に、筋萎縮が、サルコペニアまたは悪液質であり、さらに任意に、対象がヒトであり、かつ任意に、投与が静脈内である、前記方法。

【請求項46】

筋萎縮を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、請求項1～41のいずれか一項に記載の複合体の有効量を投与することを含み、対象が、FBXO32またはTRIM63の上昇した発現または活性を有し、かつ複合体が、FBXO32またはTRIM63の発現または活性を調整する分子ペイロードを含み、任意に、対象がヒトであり、かつ任意に、投与が静脈内である、前記方法。

【請求項47】

心疾患を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、請求項1～41のいずれか一項に記載の複合体の有効量を投与することを含み、対象が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aの上昇した発現または活性を有し、かつ複合体が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aの発現または活性を調整する分子ペイロードを含み、任意に、対象がヒトであり、かつ任意に、投与が静

10

20

30

40

50

脈内である、前記方法。

【請求項 48】

複合体が、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3AのRNAレベルを低下させる、請求項42～47のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

複合体が、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aのタンパク質レベルを低下させる、請求項42～48のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

表9、10、12、13、15、16、18、19、21、22、24、25、27、28、30、21、33、34、36、37、39および40に列挙されるsiRNAを含むオリゴヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2021年7月9日に出願された「MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR MODULATION OF GENES ASSOCIATED WITH MUSCLE HEALTH」と題する米国仮特許出願第63/220,050号、2021年7月9日に出願された「MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR MODULATION OF MLCK1」と題する米国仮特許出願第63/220,039号、2021年7月9日に出願された「MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR MODULATION OF ACVR1」と題する米国仮特許出願第63/220,056号、2021年7月9日に出願された「MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR MODULATION OF GENES ASSOCIATED WITH MUSCLE ATROPHY」と題する米国仮特許出願第63/220,071号、および2021年7月9日に出願された「MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR MODULATION OF GENES ASSOCIATED WITH CARDIAC MUSCLE DISEASE」と題する米国仮特許出願第63/220,085号の米国特許法第119(e)条に基づく優先権を主張し、その各々の内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

本出願は、筋肉の健康(例えば、筋肉の成長および維持)に関連する遺伝子(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A)の発現または活性を調整する分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)、およびそのような分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)を細胞(例えば、心筋細胞、平滑筋細胞および/または骨格筋細胞)に送達するための標的化複合体、ならびにその使用、特に疾患の処置に関連する使用に関する。

【0003】

電子配列表への参照

電子配列表(D082470057W000-SEQ-ZJG.xml;サイズ:2,799,490バイト;および作成日2022年7月1日)の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0004】

背景

ミオスタチン(MSTN)、インヒビンベータA(INHBA)、アクチビン受容体1B型(ACVR1B)、ミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK1)、アクチビンA受容体1型(ACVR1)、アトロギン-1(FBXO32)、三分モチーフ含有63(tripartite motif containing 63)(TRIM63)、筋細胞特異的エンハンサー因子2D(MEF2D)、Kruppel様因子15(KLF15)、メディエーター複合体サブユニット1(MED1)、メディエーター複合体サブユニット13(MED13)お

10

20

30

40

50

よびタンパク質ホスファターゼ1調節サブユニット3A(PPP1R3A)を包含するいくつかの遺伝子の発現および/または活性は、筋肉の健康の様々な側面に関与している。これらの遺伝子のうちの1以上の異常発現、またはその変異型の発現は、とりわけ、心筋障害および骨格筋障害、例として、心線維症、心筋萎縮および骨格筋萎縮を包含する様々な筋障害に関与し得る。

【発明の概要】

【0005】

概要

いくつかの側面によれば、本開示は、筋肉の健康(例えば、筋肉の成長および維持)に関連する遺伝子(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A)の発現または活性を調整する分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)、およびそれらの細胞に分子ペイロードを送達することを目的として筋細胞(例えば、心筋細胞および/または骨格筋細胞)を標的とする複合体を提供する。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、心筋細胞を標的とするように設計される。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、骨格筋細胞を標的とするように設計される。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、筋肉の健康、例として、筋肉の成長および維持に関与する遺伝子の発現(例えば、タンパク質および/またはRNAレベル)または活性を調整する(例えば、低下させる)分子ペイロードを送達するのに特に有用である。そのような遺伝子は、限定するものではないが、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13およびPPP1R3Aを包含する。いくつかの態様において、本開示は、1以上のMSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13およびPPP1R3Aの発現を調整する分子ペイロードを送達することを目的として筋細胞を標的とする複合体を提供する。

【0006】

本開示のいくつかの側面は、ミオスタチン(MSTN)、インヒビンベータA(INHBA)、アクチビン受容体1B型(ACVR1B)、ミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK1)、アクチビンA受容体1型(ACVR1)、アトロギン-1(FBXO32)、三分モチーフ含有63(TRIM63)、筋細胞特異的エンハンサー因子2D(MEF2D)、Kruppel様因子15(KLF15)、メディエーター複合体サブユニット1(MED1)、メディエーター複合体サブユニット13(MED13)および/またはタンパク質ホスファターゼ1調節サブユニット3A(PPP1R3A)の発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む複合体を提供し、抗体は、以下を含む:

- (i) 配列番号76と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (ii) 配列番号71と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (iii) 配列番号72と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (iv) 配列番号73と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (v) 配列番号73と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (vi) 配列番号76と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (vii) 配列番号69と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

- (viii) 配列番号77と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);お

よび/もしくは配列番号78と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ix)配列番号79と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または

(x)配列番号77と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

【0007】

いくつかの態様において、抗体は、以下を含む:

(i)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;

(ii)配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(iii)配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(iv)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;

(v)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;

(vi)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;

(vii)配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(viii)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;

(ix)配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または

(x)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

【0008】

いくつかの態様において、抗体は、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される。いくつかの態様において、抗体は完全長IgGである。いくつかの態様において、完全長IgGは、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む。

【0009】

いくつかの態様において、抗体は、以下を含む:

(i)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii)配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii)配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv)配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v)配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii)配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは

10

20

30

40

50

配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【0010】

いくつかの態様において、抗体はFab断片である。

【0011】

いくつかの態様において、抗体は、以下を含む:

(i) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【0012】

いくつかの態様において、抗体は、以下を含む:

(i) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む

10

20

30

40

50

軽鎖;または

(x) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【0013】

いくつかの態様において、トランスフェリン受容体への抗体の結合の平衡解離定数(K_D)は、 $10^{-11}M \sim 10^{-6}M$ の範囲内である。

【0014】

いくつかの態様において、抗体は、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体は、トランスフェリン受容体へのトランスフェリンの結合を阻害しない。

【0015】

いくつかの態様において、抗体は、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類のトランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である。

【0016】

いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、翻訳後修飾から生じるピログルタマート形成を受けている。

【0017】

いくつかの態様において、複合体は、筋細胞への分子ペイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される。

【0018】

いくつかの態様において、分子ペイロードはオリゴヌクレオチドである。

【0019】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、MSTN標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、MSTN標的配列は、配列番号146~148に記載のMSTN mRNA配列、または配列番号149~196のいずれか1つに記載のMSTN標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号197~220のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号197~220のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0020】

いくつかの態様において、ここで、分子ペイロードは、INHBA標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、INHBA標的配列は、配列番号269もしくは配列番号270に記載のINHBA mRNA配列、または配列番号271~318のいずれか1つに記載のINHBA標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号319~342のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号319~342のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0021】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、ACVR1B標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、ACVR1B標的配列は、配列番号367~370のいずれか1つに記載のACVR1B mRNA配列、または配列番号221~268のいずれか1つに記載のACVR1B標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、アンチセンス

10

20

30

40

50

鎖は、配列番号343～366のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号343～366のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0022】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、MLCK1標的配列は、配列番号411に記載のMLCK1 mRNAである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。

【0023】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、ACVR1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、ACVR1標的配列は、配列番号429もしくは配列番号430に記載のACVR1 mRNA配列、または配列番号431～478のいずれか1つに記載のACVR1標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号479～502のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号479～502のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0024】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、FBXO32標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、FBXO32標的配列は、配列番号505もしくは配列番号506に記載のFBXO32 mRNA配列、または配列番号507～554のいずれか1つに記載のFBXO32標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号555～578のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号555～578のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0025】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、TRIM63標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、TRIM63標的配列は、配列番号579もしくは配列番号580に記載のTRIM63 mRNA配列、または配列番号581～628のいずれか1つに記載のTRIM63標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号629～652のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号629～652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0026】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、MEF2D標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、MEF2D標的配列は、配列番号664もしくは配列番号665に記載のMEF2D mRNA配列、または配列番号668～715のいずれか1つに記載のMEF2D標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、

配列番号716～223のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号716～223のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

【0027】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、KLF15標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、KLF15標的配列は、配列番号740もしくは配列番号741に記載のKLF15 mRNA配列、または配列番号742～789のいずれか1つに記載のKLF15標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号790～813のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号790～813のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

10

【0028】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、MED1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、MED1標的配列は、配列番号814もしくは配列番号815に記載のMED1 mRNA配列、または配列番号816～863のいずれか1つに記載のMED1標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号864～887のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号864～887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

20

【0029】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、MED13標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、MED13標的配列は、配列番号888もしくは配列番号889に記載のMED13 mRNA配列、または配列番号890～937のいずれか1つに記載のMED13標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号938～961のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

30

【0030】

いくつかの態様において、分子ペイロードは、PPP1R3A標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、PPP1R3A標的配列は、配列番号962もしくは配列番号963に記載のPPP1R3A mRNA配列、または配列番号964～1011のいずれか1つに記載のPPP1R3A標的配列である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域は少なくとも16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号1012～1035のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、配列番号1012～1035のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々は、任意にかつ独立してTである。

40

【0031】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズし

50

て二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。

【0032】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、1以上の修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオシドは修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、1以上の修飾ヌクレオシドは2'修飾ヌクレオチドである。いくつかの態様において、1以上の2'修飾ヌクレオシドは、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択される。いくつかの態様において、2'修飾ヌクレオチドは、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結は、RNAiオリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖上に存在する。いくつかの態様において、センス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結である。

10

【0033】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである。

【0034】

いくつかの態様において、抗体は、(i)切断可能なリンカーまたは(ii)切断不可能なリンカーを介して分子ペイロードに共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、バリン-シトルリン配列を含む。いくつかの態様において、切断不可能なリンカーはアルカンリンカーである。

20

【0035】

本開示の他の側面は、筋細胞内のMSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aの発現を減少させる方法であって、筋細胞への分子ペイロードの内在化を促進するために、筋細胞を本明細書において記載される複合体の有効量と接触させることを含む方法を提供する。

30

【0036】

本開示の他の側面は、筋萎縮を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、本明細書において記載される複合体の有効量を投与することを含み、対象が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bの上昇した発現または活性を有し、かつ複合体が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bの発現または活性を調整する分子ペイロードを含む方法を提供する。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、静脈内における投与。

【0037】

本開示の他の側面は、過敏性腸症候群(IBS)または過敏性腸疾患(IBD)を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、本明細書において記載される複合体の有効量を投与することを含み、対象が、上昇したレベルのMLCK1タンパク質を有し、かつ複合体が、MLCK1の発現または活性を調整する分子ペイロードを含む方法を提供する。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、静脈内における投与。

40

【0038】

本開示の他の側面は、上昇したレベルのACVR1に関連する疾患を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、本明細書において記載される複合体の有効量を投与することを含み、対象が、上昇したレベルのACVR1タンパク質を有し、かつ複合体が、ACVR1の発現または活性を調整する分子ペイロードを含む方法を提供する。いくつかの態様において、上昇したレベルのACVR1に関連する疾患は、筋萎縮である。いくつか

50

の態様において、筋萎縮は、サルコペニアまたは悪液質である。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、静脈内における投与。

【0039】

本開示の他の側面は、筋萎縮を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、本明細書において記載される複合体の有効量を投与することを含み、対象が、FBXO32またはTRIM63の上昇した発現または活性を有し、かつ複合体が、FBXO32またはTRIM63の発現または活性を調整する分子ペイロードを含む方法を提供する。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、静脈内における投与。

【0040】

本開示の他の側面は、心疾患を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、本明細書において記載される複合体の有効量を投与することを含み、対象が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aの上昇した発現または活性を有し、かつ複合体が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aの発現または活性を調整する分子ペイロードを含む方法を提供する。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、静脈内における投与。

【0041】

いくつかの態様において、複合体は、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3AのRNAレベルを低下させる。いくつかの態様において、複合体は、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13および/またはPPP1R3Aのタンパク質レベルを低下させる。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】図1は、siRNAによって細胞をトランスフェクトする効果を示す非限定的な概略図を示す。

【0043】

【図2】図2は、siRNAを含む筋標的化複合体の活性を示す非限定的な概略図を示す。

【0044】

【図3A-3B】図3A~図3Bは、ビヒクルによって処理した対照実験と比べた、*in vivo*でのマウス筋組織(腓腹筋(図3A)および心臓(図3B))内のsiRNAを含む筋標的化複合体の活性を示す非限定的な概略図を示す。(N=4 C57BL/6 WTマウス)。

【0045】

【図4A-4B】図4A~図4Eは、HPRT遺伝子の発現レベルを低下させるために、HPRT特異的siRNAにコンジュゲートされた抗TfR Fab(R17 217)を含む筋標的化複合体(抗TfR1抗体-siHPRT)の組織選択性を示す非限定的な概略図を示す。データは、脳(図4A)、肝臓(図4B)、肺(図4C)、腎臓(図4D)および脾臓(図4E)内の遺伝子発現を示し、筋標的化複合体が非筋組織内で遺伝子阻害を促進しないことを実証している。

【図4C-4D】図4A~図4Eは、HPRT遺伝子の発現レベルを低下させるために、HPRT特異的siRNAにコンジュゲートされた抗TfR Fab(R17 217)を含む筋標的化複合体(抗TfR1抗体-siHPRT)の組織選択性を示す非限定的な概略図を示す。データは、脳(図4A)、肝臓(図4B)、肺(図4C)、腎臓(図4D)および脾臓(図4E)内の遺伝子発現を示し、筋標的化複合体が非筋組織内で遺伝子阻害を促進しないことを実証している。

【図4E】図4A~図4Eは、HPRT遺伝子の発現レベルを低下させるために、HPRT特異的siRNAにコンジュゲートされた抗TfR Fab(R17 217)を含む筋標的化複合体(抗TfR1抗体-siHPRT)の組織選択性を示す非限定的な概略図を示す。データは、脳(図4A)、肝臓(図4B)、肺(図4C)、腎臓(図4D)および脾臓(図4E)内の遺伝子発現を示し、筋標的化複合体が非筋組織内で遺伝子阻害を促進しないことを実証している。

【0046】

【図5】図5は、0.5nMおよび10nMの用量で試験された24個のsiRNAによるMSTN遺伝子発現の阻害を示す。

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【0047】

【図6】図6は、100nM～10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトMSTNの阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0048】

【図7】図7は、0.5nMおよび10nMの用量で試験された24個のsiRNAによるINHBA遺伝子発現の阻害を示す。

【0049】

【図8】図8は、100nM～10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトINHBAの阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0050】

【図9】図9は、0.1nMおよび10nMの用量で試験された24個のsiRNAによるACVR1B遺伝子発現の阻害を示す。

【0051】

【図10】図10は、100nM～10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトACVR1Bの阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0052】

【図11】図11は、100nM～10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるマウスACVR1Bの阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0053】

【図12】図12は、10nMおよび0.5nMの濃度での細胞培養物中のオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトACVR1発現のノックダウン率を示す。

【0054】

【図13】図13は、100nM～10fMの濃度範囲にわたる様々なオリゴヌクレオチドによるヒトACVR1の阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0055】

【図14】図14は、FBXO32の発現を阻害することが可能な候補オリゴヌクレオチドを同定するために使用される二重ルシフェラーゼ遺伝子阻害アッセイの結果を示す。異種間、ヒト/カニクイザル、またはラット/マウス系において、0.1nMの濃度および10nMの濃度で候補オリゴヌクレオチド(siRNA分子)を評価した。

【0056】

【図15】図15は、TRIM63の発現を阻害することが可能な候補オリゴヌクレオチドを同定するために使用される二重ルシフェラーゼ遺伝子阻害アッセイの結果を示す。異種間、ヒト/カニクイザル、またはラット/マウス系において、0.1nMの濃度および10nMの濃度で候補オリゴヌクレオチド(siRNA分子)を評価した。

【0057】

【図16A～16B】図16A～図16Bは、100nM～10fMの濃度範囲にわたる候補オリゴヌクレオチド配列によるヒト(図16A)およびマウス(図16B)FBXO32の阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0058】

【図17A～17B】図17A～図17Bは、100nM～10fMの濃度範囲にわたる候補オリゴヌクレオチド配列によるヒト(図17A)およびマウス(図17B)TRIM63の阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0059】

【図18】図18は、10nMおよび0.1nMの濃度での細胞培養物中のオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトおよびマウスMEF2D発現のノックダウン率を示す。

【0060】

【図19】図19は、10nMおよび0.1nMの濃度での細胞培養物中のオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトおよびマウスKLF15発現のノックダウン率を示す。

【0061】

【図20】図20は、10nMおよび0.5nMの濃度での細胞培養物中のオリゴヌクレオチド

候補配列によるヒトMED1発現のノックダウン率を示す。

【0062】

【図21】図21は、10nMおよび0.1nMの濃度での細胞培養物中のオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトMED13発現のノックダウン率を示す。

【0063】

【図22】図22は、10nMおよび0.5nMの濃度での細胞培養物中のオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトおよびマウスPPP1R3A発現のノックダウン率を示す。

【0064】

【図23A-23B】図23A~図23Bは、100nM~10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトMEF2D(図23A)およびマウスMEF2D(図23B)の阻害に関する用量応答曲線を示す。

10

【0065】

【図24A-24B】図24A~図24Bは、100nM~10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトKLF15(図24A)およびマウスKLF15(図24B)の阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0066】

【図25】図25は、100nM~10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトMED1の阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0067】

【図26】図26は、100nM~10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトMED13の阻害に関する用量応答曲線を示す。

20

【0068】

【図27A-27B】図27A~図27Bは、100nM~10fMの濃度範囲にわたるオリゴヌクレオチド候補配列によるヒトPPP1R3A(図27A)およびマウスPPP1R3A(図27B)の阻害に関する用量応答曲線を示す。

【0069】

【図28A-28D】図28A~図28Hは、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(AS0300)にコンジュゲートされた抗TfR1 Fabを有するコンジュゲートが、ヒトTfR1を発現するマウスモデルの様々な筋組織内でマウスDMPK発現を減少させたことを示す。DMPK標的化オリゴヌクレオチドが抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3にコンジュゲートされた。図28Aは、コンジュゲートが、前脛骨筋内のマウス野生型Dmpkを79%減少させたことを示す。図28Bは、コンジュゲートが、腓腹筋内のマウス野生型Dmpkを76%減少させたことを示す。図28Cは、コンジュゲートが、心臓内のマウス野生型Dmpkを70%減少させたことを示す。図28Dは、コンジュゲートが、横隔膜内のマウス野生型Dmpkを88%減少させたことを示す。図28E~図28Hは、前脛骨筋(図28E)、腓腹筋(図28F)、心臓(図28G)および横隔膜(図28H)内のオリゴヌクレオチド分布を示す。

30

【図28E-28H】図28A~図28Hは、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(AS0300)にコンジュゲートされた抗TfR1 Fabを有するコンジュゲートが、ヒトTfR1を発現するマウスモデルの様々な筋組織内でマウスDMPK発現を減少させたことを示す。DMPK標的化オリゴヌクレオチドが抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3にコンジュゲートされた。図28Aは、コンジュゲートが、前脛骨筋内のマウス野生型Dmpkを79%減少させたことを示す。図28Bは、コンジュゲートが、腓腹筋内のマウス野生型Dmpkを76%減少させたことを示す。図28Cは、コンジュゲートが、心臓内のマウス野生型Dmpkを70%減少させたことを示す。図28Dは、コンジュゲートが、横隔膜内のマウス野生型Dmpkを88%減少させたことを示す。図28E~図28Hは、前脛骨筋(図28E)、腓腹筋(図28F)、心臓(図28G)および横隔膜(図28H)内のオリゴヌクレオチド分布を示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0070】

詳細な説明

本開示のいくつかの側面は、筋肉の健康(例えば、筋肉の成長および維持)に関連する遺

50

伝子(例えば、MSTN、INHBAまたはACDR1B)の発現または活性を調整する分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)を提供する。本開示の他の側面は、特定の分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、小分子)は筋細胞(例えば、心筋細胞)に有益な効果を有することができるが、そのような細胞を効果的に標的にすることは困難であることが判明しているという認識に関する。したがって、そのような課題を克服するために、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体が本明細書においてさらに提供される。いくつかの態様において、複合体は、例えば、稀な筋疾患を有するかまたは有すると疑われる対象に対して、筋細胞内の標的遺伝子の発現または活性を阻害する分子ペイロードを送達するのに特に有用である。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、心筋細胞または心筋組織を標的とするように設計される。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、筋萎縮(例えば、サルコペニアまたは悪液質)を有する対象を処置するために提供される。例を挙げると、いくつかの態様において、MSTN発現を標的として、心筋衰弱、心筋症、もしくは心臓悪液質、および/または骨格筋萎縮を有する対象を処置するための複合体が提供される。いくつかの態様において、INHBAを標的として、筋萎縮(例えば、心筋萎縮)を有する対象を処置するための複合体が提供される。いくつかの態様において、ACVR1Bを標的として、心線維症または心肥大を有する対象を処置するための複合体が提供される。

10

【0071】

増殖分化因子8(GDF8)とも呼ばれるミオスタチンは、筋肉量を負に調節する分泌型増殖因子である。ヒトでは、ミオスタチンは、MSTN遺伝子によってコードされる。ウシ、ヒツジ、魚、イヌおよびヒトでは、筋肉肥大(hypermuscular)表現型をもたらすミオスタチン遺伝子(MSTN)の機能喪失変異が記載されている。ミオスタチンは骨格筋内で発現され、脂肪組織および心臓組織では発現レベルが低いことが報告されている。ミオスタチンシグナル伝達の阻害は、筋肉サイズの増加をもたらす。

20

【0072】

ミオスタチンは、細胞周期進行を操作することによって心筋細胞の増殖および分化を阻害し得、サイクリン依存性キナーゼ複合体2(CDK2)のレベルを低下させることによって、およびp21レベルを増加させることによって、細胞周期G1期からS期への移行を防止することが示されている。生理学的には、心筋から血清中に分泌される心臓ミオスタチン(cardiac myostatin)の量は最小であり、筋肉の成長に対する効果は限定的である。しかし、心臓ミオスタチンの増加は、その血清濃度を増加させることができ、骨格筋萎縮を引き起こし得る。

30

【0073】

心臓ストレスを増加させ、心不全を促進する病的状態は、心臓内の心臓ミオスタチンmRNAおよびタンパク質レベルの両方の上昇を誘導することができる。虚血性心筋症または拡張型心筋症では、左心室内でミオスタチンmRNAレベルの増加が検出されている。さらに、慢性心不全中のミオスタチンレベルの増加は、心臓悪液質を引き起こすことが示されている。心臓ミオスタチンの全身阻害は、既存の心不全を有する実験モデルでは全体的な筋肉重量を維持することが示されている。

40

【0074】

インヒビンベータA(INHBA)は、アクチビンAおよびインヒビンAのオリゴマーサブユニットとして存在することができるタンパク質である。場合によっては、INHBAは、ジスルフィド連結ホモ二量体(すなわち、2つのINHBA分子間の二量体)を形成してアクチビンAを形成することができ、これは卵胞刺激ホルモン(FSH)の生合成および分泌を増強し、細胞の増殖および分化、免疫応答および創傷修復、ならびに内分泌機能を包含するいくつかの生物学的プロセスに関与する。他の例では、INHBAは、インヒビンアルファと二量体化して、FSHの生合成および分泌を減少させるインヒビンAを形成することができる。

【0075】

アクチビンAは、アクチビン1型受容体(例えば、ACVR1、ACVR1BおよびACVR1C)

50

およびアクチビン2型受容体(ACVR2AおよびACVR2B)と相互作用する。これらのタンパク質間相互作用は、SMAD2およびSMAD3のリン酸化をもたらし、最終的には、多種多様な遺伝子の遺伝子発現に変化をもたらすことができる。

【0076】

アクチビンAは、筋肉量を負に調節することが示されており(例えば、ミオスタチンに関連して)、したがって、例えば、Lee SJ, et al., “Regulation of muscle mass by follistatin and activins”, Mol. Endocrinol. 2010 Oct; 24(10):1998-2008; および Lach-Trifilieff et al., Mol Cell Biol. 2014 Feb; 34(4):606-618に記載されているように、筋萎縮(例えば、心筋萎縮)を包含するいくつかの筋障害に関与している。場合によっては、筋萎縮は、生命を脅かす合併症をもたらす。アクチビンAレベルの上昇はまた、2型糖尿病患者の心筋合併症と関連している(例えば、Lin et al., Acta Cardiol Sin. 2016 Jul; 32(4):420-427; および Kuo et al., Sci Rep 8, 9957 (2018)に記載されているように)。これらの適応症は、アクチビンAおよびそのサブユニットINHBAを標的とする組成物および方法が、治療上の利益を提供し得ることを実証している。しかし、INHBAの機能および発現を標的とする有効な処置(例えば、アクチビンAを形成するための二量体化を包含する)は限られている。

10

【0077】

ALK-4としても知られるアクチビン受容体1B型(ACVR1B)は、アクチビン受容体2型と相互作用してアクチビン受容体複合体を形成する膜貫通セリン/トレオニンキナーゼアクチビン1型受容体である。アクチビン受容体複合体は、アクチビンに結合し、シグナル伝達を通じて、神経の分化および生存、創傷治癒、細胞外マトリックス産生、免疫抑制ならびに発癌を包含する多様な細胞プロセスを調節するように機能する。受容体複体内で、ACVR1Bはアクチビン結合後にアクチビン受容体2型タンパク質によってリン酸化されるようになる。リン酸化ACVR1Bは、続いて、いくつかのSMADタンパク質(例えば、SMAD2およびSMAD3)をリン酸化してアクチビンシグナル伝達を伝播することができる。ACVR1BとSMAD7との間の相互作用は、代わりに、アクチビンシグナル伝達を阻害するように機能することができる。

20

【0078】

ACVR1Bを通るそのシグナル伝達経路を通じて機能するアクチビンは、心線維症(例えば、心房線維症)の重要な調節因子であると確立されている。この調節は、アンジオテンシンIIの存在によって増強されると考えられる。心筋内の細胞外マトリックスの過剰産生を伴う状態である心線維症は、心機能異常、心房細動および/または心臓発作に関連する構造リモデリングに一般に関連する。例えば、参照によりその内容が本明細書に組み込まれるWang, Q. et al., “The crucial role of activin A/ALK4 pathway in the pathogenesis of Ang-II-induced atrial fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation.” Basic Res Cardiol. 2017 Jul; 112(4):47を参照されたい。ACVR1Bを標的とすることは、心線維症を有する対象では、心線維症および機能障害を打ち消すように機能することがさらに示されている。さらに、ACVR1Bの阻害は、心肥大を有する対象に対して効果を有する。例えば、参照によりその各々の内容が本明細書に組み込まれるChen Y. H. et al., “Haploinsufficiency of activin receptor-like kinase 4 alleviates myocardial infarction-induced cardiac fibrosis and preserves cardiac function.” J Mol Cell Cardiol. 2017 Apr; 105:1-11.; および Wang, Q. et al., “Activin Receptor-Like Kinase 4 Haploinsufficiency Mitigates Arrhythmogenic Atrial Remodeling and Vulnerability to Atrial Fibrillation in Cardiac Pathological Hypertrophy.” J Am Heart Assoc. 2018 Aug 21; 7(16):e008842を参照されたい。

30

40

【0079】

本開示のいくつかの側面は、MLCK1の発現または活性を調整する分子ペイロード(例えば、MLCK1 RNAを標的とするオリゴヌクレオチド)を提供する。本開示の他の側面は、特定の分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、小分子)は筋細胞に有

50

益な効果を有することができるが、そのような細胞を効果的に標的にすることは困難であることが判明しているという認識に関する。したがって、そのような課題を克服するために、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体が本明細書においてさらに提供される。いくつかの態様において、複合体は、例えば、稀な筋疾患を有するかまたは有すると疑われる対象に対して、筋細胞内の標的遺伝子の発現または活性を阻害する分子ペイロードを送達するのに特に有用である。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、平滑筋細胞または平滑筋組織を標的とするように設計される。例を挙げると、いくつかの態様において、MLCK1を標的として、過敏性腸症候群(IBS)または炎症性腸疾患(IBD)を有する対象を処置するための複合体が提供される。

【0080】

キナーゼ関連タンパク質またはテロキンとしても知られるミオシン軽鎖キナーゼ(「MLCK1」または「MYLK」)は、平滑筋内のアクチンフィラメントとのミオシン相互作用を促進するために、ミオシン調節軽鎖をリン酸化する酵素である。MLCK1は、ミオシン軽鎖キナーゼの4つのアイソフォームのうちの1つであり、平滑筋内で発現される。他のアイソフォーム(MLCK2、MLCK3およびMLCK4)は、それぞれ骨格細胞、心細胞および癌細胞内で発現される。

【0081】

MLCK1が過敏性腸症候群の潜在的な治療標的であることが近年示されている(Graham, W.V. et al. "Intracellular MLCK1 diversion reverses barrier loss to restore mucosal homeostasis." *Nature Medicine*, volume 25, 690-700, 2019を参照)。MLCK1は、腸疾患(例えば、過敏性腸症候群)に関連する上皮バリア機能障害を調節する点で重要なタンパク質である。平滑筋組織内の上皮バリアの回復(例えば、MLCK1の阻害を通じて)は、これらの腸疾患を制限することができるかまたは逆転させることができる。したがって、新規MLCK1阻害剤の開発が望まれている。

【0082】

本開示のいくつかの側面は、ACVR1の発現または活性を調整する分子ペイロード(例えば、ACVR1 RNAを標的とするオリゴヌクレオチド)を提供する。本開示の他の側面は、特定の分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、小分子)は筋細胞に有益な効果を有することができるが、そのような細胞を効果的に標的にすることは困難であることが判明しているという認識に関する。したがって、そのような課題を克服するために、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体が本明細書において提供される。いくつかの態様において、複合体は、例えば、稀な筋疾患を有するかまたは有すると疑われる対象に対して、筋細胞内の標的遺伝子の発現または活性を阻害する分子ペイロードを送達するのに特に有用である。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、心筋細胞または心筋組織を標的とするように設計される。例を挙げると、いくつかの態様において、ACVR1を標的として、心疾患(例えば、心肥大)または筋萎縮(例えば、サルコペニアまたは悪液質)を有する対象を処置するための複合体が提供される。

【0083】

BMP I型受容体(アクチビン受容体様キナーゼ2(ALK-2)、ACTRIA、ACVRLK2としても知られる)であるアクチビンA受容体1型(ACVR1)は、アクチビンAに結合するシグナル伝達受容体である。これらのタンパク質間相互作用は、SMAD2およびSMAD3のリン酸化をもたらし、最終的には、多種多様な遺伝子の遺伝子発現の変化をもたらすことができる。

【0084】

ACVR1は、アンジオテンシンII誘導性心肥大および筋萎縮(例えば、サルコペニアまたは悪液質)に関連している。具体的には、心筋細胞内のACVR1の欠失は、疾患マウスの心肥大を減少させることが示されている(Shahid, M. et al. "BMP type I receptor ALK2 is required for angiotensin II-induced cardiac hypertrophy" *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016 Apr 15; 310(8):H984-94)。進行性骨化性線維

10

20

30

40

50

異形成症(FOP)は、ACVR1のヘテロ接合変異(例えば、ACVR1 R206H変異)によって引き起こされる。これらの適応症は、ACVR1を標的とする組成物および方法が治療上の利益を提供し得ることを実証している。しかし、ACVR1の機能および発現を標的とする有効な処置は限られている。

【0085】

本開示のいくつかの側面は、筋萎縮に関連する遺伝子(例えば、FBX032またはTRIM63)の発現または活性を調整する分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)を提供する。本開示の他の側面は、特定の分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、小分子)は筋細胞に有益な効果を有することができるが、そのような細胞を効果的に標的にすることは困難であることが判明しているという認識に関する。したがって、そのような課題を克服するために、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体が本明細書においてさらに提供される。いくつかの態様において、複合体は、例えば、稀な筋疾患を有するかまたは有すると疑われる対象に対して、筋細胞内の標的遺伝子の発現または活性を阻害する分子ペイロードを送達するのに特に有用である。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、心筋細胞または心筋組織を標的とするように設計される。例を挙げると、いくつかの態様において、FBX032を標的として、筋萎縮を有する対象を処置するための複合体が提供される。いくつかの態様において、TRIM63を標的として、筋萎縮を有する対象を処置するための複合体が提供される。

10

【0086】

アトロギン-1および筋萎縮Fボックス遺伝子(MAFbx)とも呼ばれるFBX032は、E3ユビキチンリガーゼ、およびFボックスタンパク質ファミリーのメンバーである。Fボックスタンパク質は、ユビキチン媒介タンパク質分解を調節することが示されている。FBX032は、Fボックスタンパク質に一般的に見られるロイシンリッチ領域およびWD40反復を欠くが、FBX032は、他のタンパク質に結合することが可能なPDZドメインを含む。アダプターとして働くFBX032は、Skp、カリン、Fボックス含有複合体(またはSCF複合体)の他の成分とユビキチン化されるタンパク質を架橋する。ヒトでは、FBX032タンパク質は、FBX032遺伝子によってコードされる。

20

【0087】

FBX032は横紋筋内で主に発現され、筋萎縮中のタンパク質の合成および分解の調節に関与している。例を挙げると、FBX032発現は、筋萎縮中に顕著に増加する。例えば、Gomes et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Dec 4; 98(25):14440-5を参照されたい。特に、FBX032は、様々な状態によって誘導される筋萎縮に必要であることが示されている。例を挙げると、動物モデルでは、FBX032の欠損は、除神経によって引き起こされる筋萎縮を予防した。FBX032を標的とする低分子ヘアピン型RNA(shRNA)は、マウスでは、絶食によって誘導される筋喪失を阻止した。また、FBX032のノックアウトも、グルココルチコイド処置によって誘導された筋萎縮を予防した。合成グルココルチコイドデキサメタゾンによって処置された野生型マウスの下腿三頭筋および前脛骨筋の湿重量が減少したのに対して、FBX032ノックアウトマウスは筋温存を有しなかった。FBX032は、癌悪液質のバイオマーカーでもある。さらに、FBX032のノックアウトは、原発性筋芽細胞では、ミオスタチン誘導性増殖阻害を予防した。例えば、Bodine et al., Science. 2001 Nov 23; 294(5547):1704-8; Cong et al., Hum Gene Ther. 2011 Mar; 22(3):313-24; Baehr et al., J Physiol. 2011 Oct 1; 589(Pt 19):4759-76; および Lokireddy et al., Am J Physiol Cell Physiol 303:C512-C529, 2012; Sukari et al., Semin Cancer Biol. 2016 Feb; 36:95-104; Wang et al., Diabetes. 2010 Aug; 59(8):1879-89を参照されたい。さらに、FBX032は、生理学的肥大に関与するAkt依存性経路を妨害することが示されている(例えば、Li et al., J Clin Invest. 2007 Nov 1; 117(11):3211-3223を参照)。心筋内のFBX032の過剰発現は、心肥大のための治療価値をもたらし得る。

30

40

【0088】

TRIM63は、RINGフィンガータンパク質ファミリーのメンバーであり、筋肉特異的RI

50

NGフィンガータンパク質1(MuRF1)と呼ばれ得る。FBXO32と同様に、TRIM63は、骨格筋、心筋および平滑筋を包含する筋肉、ならびに虹彩内で主に発現されるE3ユビキチンリガーゼである。例を挙げると、TRIM63は、筋原線維のM線格子(M-line lattice)およびZ線格子(Z-line lattice)内で検出され得る。

【0089】

いくつかの試験は、筋萎縮にTRIM63を関係付けている。例を挙げると、TRIM63は、骨格筋萎縮に必要であることが示されている。TRIM63が欠損したマウスは筋萎縮を発症しなかった。例えば、Bodine et al., Science, 2001 Nov 23; 294(5547):1704-8を参照されたい。野生型マウスは、合成グルココルチコイド(デキサメタゾン)によって処置された場合に顕著な筋萎縮を示したが、TRIM63ヌルマウスは筋温存を示した。TRIM63のノックアウトは、マウスではタンパク質合成を維持し得ることから、TRIM63がプロテアソーム非依存的に細胞タンパク質レベルを調節することが可能であることが示唆される。例えば、Bodine et al., J Physiol, 2011 Oct 1; 589(Pt 19):4759-76を参照されたい。TRIM63は、デキサメタゾン誘導性萎縮条件下でミオシン重鎖タンパク質を分解することが示されており、TRIM63をノックアウトしたマウスは、野生型マウスよりも少ないミオシン重鎖タンパク質分解を示す。例えば、Clarke et al., Cell Metab, 2007 Nov; 6(5):376-85を参照されたい。同様に、筋萎縮が除神経または絶食によって誘導されると、筋肉は、筋原線維からミオシン結合タンパク質C(MyBP-C)ならびにミオシン軽鎖1および2(MyLC1およびMyLC2)を喪失する。MyBP-C、MyLC1およびMyLC2の喪失は、TRIM63依存的に起こる。例えば、Cohen et al., J Cell Biol, 2009 Jun 15; 185(6):1083-95を参照されたい。TRIM63と、TRIM63の遺伝子ノックアウトとを標的とするmiRNAベースのショートヘアピン型RNA(shRNA)もまた、急性肺傷害関連骨格筋萎縮に果たすTRIM63の役割を決定するために使用されている。TRIM63欠損は、急性肺傷害によって誘導された筋衰弱を減弱させた。例えば、Files et al., Am J Respir Crit Care Med, 2012 Apr 15; 185(8):825-34を参照されたい。

【0090】

本開示のいくつかの側面は、特定の分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、小分子)は筋細胞に有益な効果を有することができるが、そのような細胞を効果的に標的にすることは困難であることが判明しているという認識に関する。本明細書において記載されるように、本開示は、そのような課題を克服するために、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を提供する。いくつかの態様において、複合体は、例えば、稀な筋疾患を有するかまたは有すると疑われる対象に対して、筋細胞内の標的遺伝子の発現または活性を阻害する分子ペイロードを送達するのに特に有用である。いくつかの態様において、本明細書において提供される複合体は、心筋細胞または心筋組織を標的とするように設計される。例を挙げると、いくつかの態様において、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A遺伝子を標的として、筋疾患または心疾患を有する対象を処置するための複合体が提供される。

【0091】

MEF2Dは、転写因子の筋細胞特異的エンハンサー因子2(MEF2)ファミリーのメンバーである。選択的スプライシングMEF2D mRNAは、筋組織内で主に検出される複数の転写物バリエーション、遍在性アイソフォームおよび組織特異的アイソフォームをもたらす。

【0092】

Kruppel様因子15(KLF15)は、転写因子のKruppelファミリーに属し、遺伝子転写のリプレッサーまたはアクチベーターのいずれかとして機能することができるタンパク質である。KLF15の発現レベルは、グルココルチコイドシグナル伝達、およびインスリンの血中レベルによって増加する。筋組織では、KLF15のレベルは運動に応答して増加し、筋組織が脂肪を燃焼し、力を発生させる能力を制御する。KLF15は、MEF2と特異的に相互作用し、MEF2A部位の近位のインタクトなKLF15結合部位を介してGLUT4プロモーターを相乗的に活性化する。miR-133は、心筋および骨格筋内でKLF15を標的として、GLUT4の発現を調節する。KLF15は、MEF2および他の心臓転写因子(例えば、GA

TA4およびミオカルディン)の活性を抑制することによって心肥大を阻害する。KLF15の発現レベルは、機能不全のヒト心臓内およびヒト大動脈瘤組織内で低下する。したがって、KLF15は、心筋細胞および骨格筋組織内で代謝制御に関与し、心疾患、例として、心肥大および心不全(例えば、心筋梗塞後;例えば、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれるZhao,Y.et al., "Multiple roles of KLF15 in the heart:Underlying mechanisms and therapeutic implications." J Mol Cell Cardiol.2019 Apr; 129:193-196を参照)の治療標的である。KLF15発現レベルはまた、カリウムが心細胞からどのように流出するかに影響を及ぼす。KLF15のレベルの上昇または低下は、心不整脈をもたらし得ることが示されている。

【0093】

メディエーター(MED)複合体は、真核生物遺伝子転写の調節因子である。近年の試験は、MED1、MED13、MED14、MED15、MED23、MED25およびCDK8を包含するMED複合体のいくつかのサブユニットが代謝(例えば、グルコースおよび脂質の代謝)に重要な調節的役割を果たすことをさらに実証している。これらのサブユニットのいくつか(例えば、MED1およびMED13)は、一部には代謝におけるそれらの重要性のために、心血管疾患(例えば、ヒト先天性心疾患)に関連している。しかし、小分子阻害剤によってMEDサブユニット(例えば、MED1およびMED13)を標的とすることは困難であることが判明している。メディエーター複合体(例えば、サブユニット、例として、MED1およびMED13)を標的とするための、例えば、心血管疾患を処置するための新たな方法および組成物が必要とされている。

【0094】

骨格筋由来のタンパク質ホスファターゼ-1(PP1)のグリコーゲン関連形態は、37kDaの触媒サブユニット(OMIMエントリー176875)と、タンパク質ホスファターゼ1調節サブユニット3A(PPP1R3A)と呼ばれる124kDaの標的化調節サブユニットとから構成されるヘテロ二量体である。PPP1R3Aは、筋グリコーゲンに高い親和性で結合し、PP1に対するグリコーゲン結合基質、例として、グリコーゲンシンターゼおよびグリコーゲンホスホリラーゼキナーゼの脱リン酸化を増強する。PPP1R3Aは、心不全の中心的な調節因子であり、心筋細胞の代謝経路に関与している。

【0095】

定義された用語の記載を包含する本開示のさらなる側面は、以下に提供される。

【0096】

1. 定義

ACVR1:本明細書において使用される場合、用語「ACVR1」、「ALK2」、また「ALK-2」は、他の機能の中でも骨形態形成に関与するタンパク質受容体であるアクチビンA受容体1型をコードする遺伝子を指す。いくつかの態様において、ACVR1は、ヒト(遺伝子ID:90)(例えば、配列番号429)、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:697935(例えば、配列番号423)、遺伝子ID:470565(例えば、配列番号424)、遺伝子ID:102134051(例えば、配列番号425))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:11477(例えば、配列番号430)、遺伝子ID:79558(例えば、配列番号426))であり得る。ヒトでは、ACVR1タンパク質、例えば、L196P、R202I、R206H、Q207E、G328R、G328W、G328E、G356D、R375P、ΔP197-F198の変化をもたらす、遺伝子のいくつかの遺伝子変異がFOPと関連している(例えば、Haupt et al., Bone.2018 Apr;109:232-240に記載されているように)。加えて、異なるタンパク質アイソフォームをコードする複数のヒト転写物バリエーション(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_001105.5(配列番号429)、NM_001111067.4(配列番号427)、NM_001347663.1(配列番号217)、NM_001347664.1(配列番号218)、NM_001347665.1(配列番号219)、NM_001347666.1(配列番号220)およびNM_001347667.2(配列番号221)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトACVR1遺伝子によってコードされる例示的なACVR1タンパク質は、NCBI参照配列:NP_001096.1の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

10

20

30

40

50

MVDGVMILPVLIMIALPSPSPMEDEKPKVNPPLYMCVCEGLSCGNEDHCEGQQCFSS
LSINDGFHVYQKGCQVYEQGKMTCKTPPSPGQAVECCQGDWCNRNITAQLPTKGK
SFPGTQNFHLEVGLIILSVVFAVCLLACLLGVALRKFKRRNQERLNPRDVEYGTIEGL
ITTNVGDSTLADLLDHSCSTSGSGSGLPFLVQRTVARQITLLECVGKGGRYGEVWRGSW
QGENVAVKIFSSRDEKSWFRETELYNTVMLRHNILGFIAASDMTSRHSSTQLWLITH
YHEMGSLYDYLQLTTLDTVSCLRIVLSIASGLAHLHIEIFGTQGKPAIAHRDLKSKNI
LVKKNQCCCIADLGLAVMHSQSTNQLDVGNNPRVGTKRYMAPEVLDETIQVDCFDS
YKRVDIWAFLVLWEVARRMVSNGIVEDYKPPFYDVVPNDPSFEDMRKVVCVDQQ
RPNIPNRWFSDPTLTSLAKLMKECWYQNPSARLTALRIKKTTLTKIDNSLDKLTDC(
配列番号428)

10

【0097】

ACVR1B:本明細書において使用される場合、用語「ACVR1B」または「ALK-4」は、アクチビンA受容体1B型をコードする遺伝子を指す。ACVR1Bは、アクチビン受容体2型と相互作用してアクチビン受容体複合体を形成して、アクチビンシグナル伝達を可能にする膜貫通セリン/トレオニンキナーゼアクチビン1型受容体である。いくつかの態様において、ACVR1Bは、ヒト(遺伝子ID:91)(例えば、配列番号367~368)、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:696587(例えば、配列番号384)、遺伝子ID:101865702(例えば、配列番号385))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:11479(例えば、配列番号369)、遺伝子ID:29381(例えば、配列番号370))であり得る。加えて、複数の例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_004302.5(配列番号367)、NM_020327.3(配列番号386)、NM_020328.4(配列番号387)、XM_017020201.2(配列番号388)、XM_011538966.3(配列番号389)およびXM_011538967.3(配列番号390)の下にアノテーションされている)が特徴付けられている。ヒトACVR1B遺伝子によってコードされる例示的なACVR1Bタンパク質は、NCBI参照配列:NP_004293.1(配列番号142)、NP_064732.3(配列番号143)およびNP_064733.3(配列番号144)の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

20

NP_004293.1(配列番号142)

MAESAGASSFFPLVVLLLAGSGSGSGPRGVQALLCACTSCLQANYTCETDGACMVSIF
NLDGMEHHVRTCIPKVELVPAGKPFYCLSSDLRNTHCCYTDYCNRIDLRVPSGHLK
EPEHPSMWGPVELVGIIAGPVFLLFLIIIVFLVINYHQRVYHNRQRLDMEDPSCEMC
LSKDKTLQDLVYDLSTSGSGSGLPLFVQRTVARTIVLQEIIIGKGRFGGEVWRGRWRGG
DVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHNILGFIAADNKDNGTWTQLWLVS DYH
EHGSLFDYLNRYT VTIEGMIKLALSAASGLAHLHMEIVGTQGKPGIAHRDLKSKNILV
KKNGMCAIADLGLAVRHDAVTD TIDIAPNQRVGT KRYMAPEVLDETINMKHFD SFK
CADIYALGLVYWEIARRCNSGGVHEEYQLPYYDLVPSDPSIEEMRKVVCDQKLRPNI
PNWWQSYEALRVMGKMMREC WYANGAARLTALRIKKTLSQLSVQEDVKI

30

NP_064732.3(配列番号143)

MVSIFNLDGMEHHVRTCIPKVELVPAGKPFYCLSSDLRNTHCCYTDYCNRIDLRVP
SGHLKEPEHPSMWGPVELVGIIAGPVFLLFLIIIVFLVINYHQRVYHNRQRLDMEDP
SCEMCLSKDKTLQDLVYDLSTSGSGSGLPLFVQRTVARTIVLQEIIIGKGRFGGEVWRG
RWRGGDVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHNILGFIAADNKDNGTWTQLWL
VSDYHEHGSLFDYLNRYT VTIEGMIKLALSAASGLAHLHMEIVGTQGKPGIAHRDLK
SKNILVKKNGMCAIADLGLAVRHDAVTD TIDIAPNQRVGT KRYMAPEVLDETINMK
HFD SFKCADIYALGLVYWEIARRCNSGGVHEEYQLPYYDLVPSDPSIEEMRKVVCDQ
KLRPNIPNWWQSYEALRVMGKMMREC WYANGAARLTALRIKKTLSQLSVQEDVKI

40

NP_064733.3(配列番号144)

MAESAGASSFFPLVVLLLAGSGSGSGPRGVQALLCACTSCLQANYTCETDGACMVSIF
NLDGMEHHVRTCIPKVELVPAGKPFYCLSSDLRNTHCCYTDYCNRIDLRVPSGHLK
EPEHPSMWGPVELVGIIAGPVFLLFLIIIVFLVINYHQRVYHNRQRLDMEDPSCEMC
LSKDKTLQDLVYDLSTSGSGSGLPLFVQRTVARTIVLQEIIIGKGRFGGEVWRGRWRGG

50

DVAVKIFSSREERSWFR EAEIYQTVMLRHENILGFIAADNKADCSFLTLPWEVVMVS
AAPKLRLSLRLQYKGGRRARFLFPLNNGTWTQLWLVS DYHEHGS LFDYLNRYT VTI
EGMIKLALSAASGLAHLHMEIVGTQGKPGIAHRDLKSKNILVKKNGMCAIADLGLAV
RHDAVTD TIDIAPNQ RVG TKRYMAPEVLDETINMKHFDSFKCADIYALGLVYWEIAR
RCNSGGVHEEYQLPY YDLVPSDPSIEEMRKVVCDQKLRPNIPNWWQSYEALRVMGK
MMREC WYANGAARLTALRIKKTLSQLSVQEDVKI

【0098】

投与すること:本明細書において使用される場合、用語「投与すること」または「投与」は、生理学的におよび/または薬理学的に有用な様式で対象に複合体を提供すること(例えば、対象の状態を処置すること)を意味する。

【0099】

およそ:本明細書において使用される場合、用語「およそ」または「約」は、目的の1以上の値に適用される場合、規定された参照値と類似の値を指す。ある特定の態様において、用語「およそ」または「約」は、特に指示されない限り、または文脈から明らかでない限り(そのような数字が、可能な値の100%を超える場合を除く)、規定された参照値のいずれかの方向(超または未満)の15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%またはそれ以下に収まる広範囲な値を指す。

【0100】

抗体:本明細書において使用される場合、用語「抗体」は、少なくとも1つの免疫グロブリン可変ドメインまたは少なくとも1つの抗原決定基、例えば、抗原に特異的に結合するパラトープを包含するポリペプチドを指す。いくつかの態様において、抗体は完全長抗体である。いくつかの態様において、抗体はキメラ抗体である。いくつかの態様において、抗体はヒト化抗体である。ただし、いくつかの態様において、抗体は、Fab断片、F(ab')₂断片、Fv断片またはscFv断片である。いくつかの態様において、抗体は、ラクダ科の動物の抗体に由来するナノボディ、またはサメ抗体に由来するナノボディである。いくつかの態様において、抗体はダイアボディである。いくつかの態様において、抗体は、ヒト生殖細胞系配列を有するフレームワークを含む。別の態様において、抗体は、IgG、IgG1、IgG2、IgG2A、IgG2B、IgG2C、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgMおよびIgE定常ドメインからなる群から選択される重鎖定常ドメインを含む。いくつかの態様において、抗体は、重(H)鎖可変領域(本明細書においてVHと略される)、および/または軽(L)鎖可変領域(本明細書においてVLと略される)を含む。いくつかの態様において、抗体は、定常ドメイン、例えば、Fc領域を含む。免疫グロブリン定常ドメインとは、重鎖定常ドメインまたは軽鎖定常ドメインを指す。ヒトIgG重鎖定常ドメインアミノ酸配列およびヒトIgG軽鎖定常ドメインアミノ酸配列ならびにそれらの機能的変形例が公知である。重鎖に関して、いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体の重鎖は、アルファ(α)、デルタ(Δ)、イプシロン(ε)、ガンマ(γ)またはミュー(μ)重鎖であることができる。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体の重鎖は、ヒトアルファ(α)、デルタ(Δ)、イプシロン(ε)、ガンマ(γ)またはミュー(μ)重鎖を含むことができる。特定の態様において、本明細書において記載される抗体は、ヒトガンマ1 CH1、CH2および/またはCH3ドメインを含む。いくつかの態様において、VHドメインのアミノ酸配列は、ヒトガンマ(γ)重鎖定常領域のアミノ酸配列、例として、当技術分野で公知のいずれかを含む。ヒト定常領域配列の非限定的な例は当技術分野で記載されており、例えば、米国特許第5,693,780号、および上記のKabat E A et al.,(1991)を参照されたい。いくつかの態様において、VHドメインは、本明細書において提供される可変鎖定常領域のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体は修飾されており、例えば、グリコシル化、リン酸化、SUMO化および/またはメチル化を介して修飾されている。いくつかの態様において、抗体は、1以上の糖または炭水化物分子にコンジュゲートされたグリコシル化抗体である。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、N-グリコシル化、O-グリコシル化、C-グリコシル化、グリ

10

20

30

40

50

ピエーション(GPIアンカー付着)および/またはホスホグリコシル化を介して、抗体にコンジュゲートされている。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、単糖、二糖、オリゴ糖またはグリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、分岐オリゴ糖または分岐グリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、マンノース単位、グルコース単位、N-アセチルグルコサミン単位、N-アセチルガラクトサミン単位、ガラクトース単位、フコース単位またはホスホ脂質単位を包含する。いくつかの態様において、抗体は、リンカーポリペプチドまたは免疫グロブリン定常ドメインに連結された、本開示の1以上の抗原結合断片を含むポリペプチドを含む構築物である。リンカーポリペプチドは、ペプチド結合によって結び合わされた2つ以上のアミノ酸残基を含み、1以上の抗原結合部分に連結するために使用される。リンカーポリペプチドの例は報告されている(例えば、Holliger,P.,et al.(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak,R.J.,et al.(1994)Structure 2:1121-1123を参照)。またさらに、抗体は、抗体または抗体部分と1以上の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合的または非共有結合的会合によって形成されるさらに大きな免疫接着分子の一部であり得る。そのような免疫接着分子の例は、四量体scFv分子を作製するためのストレプトアビジンコア領域の使用(Kipriyanov,S.M.,et al.(1995)Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101)、ならびに二価のおよびビオチン化されたscFv分子を作製するためのシステイン残基、マーカーペプチドおよびC末端ポリヒスチジンタグの使用(Kipriyanov,S.M.,et al.(1994)Mol.Immunol.31:1047-1058)を包含する。

10

20

【0101】

CDR:本明細書において使用される場合、用語「CDR」は、抗体可変配列内の相補性決定領域を指す。典型的な抗体分子は、抗原結合に通常関与する重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む。VH領域およびVL領域は、「フレームワーク領域」(「FR」)として知られるさらに保存された領域が散在する、「相補性決定領域」(「CDR」)としても知られる超可変領域にさらに細分されることができる。各VHおよびVLは、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序で配置された3つのCDRおよび4つのFRから典型的に構成される。フレームワーク領域およびCDRの範囲は、当技術分野で公知の方法論を使用して、例を挙げると、いずれも当技術分野で周知のKabat定義、IMGT定義、Chothia定義、AbM定義、および/または(例えば、および)接触定義によって正確に同定されることができる。例えば、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(登録商標),the international ImMuNoGeneTics information system(登録商標)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;およびAlmagro,J.Mol.Recognit.17:132-143(2004)を参照されたい。hgmp.mrc.ac.ukおよびbioinf.org.uk/absも参照されたい。本明細書において使用される場合、CDRとは、当技術分野で公知のいずれかの方法によって定義されるCDRを指し得る。同じCDRを有する2つの抗体は、同じ方法、例を挙げると、IMGT定義によって決定される場合、2つの抗体がそのCDRの同じアミノ酸配列を有することを意味する。

30

40

【0102】

重鎖および軽鎖の可変領域の各々には3つのCDRがあり、これらは可変領域の各々に対

50

してCDR1、CDR2およびCDR3と指定される。本明細書において使用される用語「CDRセット」は、抗原に結合することが可能な単一の可変領域に生じる3つのCDRの群を指す。これらのCDRの厳密な境界は、様々な系に従って異なって定義されている。Kabat(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1987)and(1991))によって記載される系は、抗体のいずれかの可変領域に適用可能な一義的な残基ナンバリング系を提供するだけでなく、3つのCDRを定義する正確な残基境界も提供する。これらのCDRは、Kabat CDRと呼ばれ得る。CDRの下位部(sub-portion)は、L1、L2およびL3、またはH1、H2およびH3と指定され得、ここで、「L」および「H」は、それぞれ軽鎖領域および重鎖領域を指定する。これらの領域は、Kabat CDRと重複する境界を有するChothia CDRと呼ばれ得る。Kabat CDRと重複するCDRを定義する他の境界は、Padlan(FASEB J.9:133-139(1995))およびMacCallum(J Mol Biol 262(5):732-45(1996))によって記載されている。さらに他のCDR境界定義は、上の系のうちの1つに厳重に従わなくてもよいが、それでもなおKabat CDRと重複することがあり、具体的な残基、もしくは残基の群、またはCDR全体でさえも抗原結合に顕著に影響を及ぼすものではないという予測または実験的知見を踏まえ、それらは短縮または伸長されてもよい。本明細書において使用される方法は、これらの系のいずれかに従って定義されたCDRを利用し得る。CDR定義系の例は表1に提供される。

10

【表1】

表 1. CDR 定義

20

	IMGT ¹	Kabat ²	Chothia 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

¹ IMGT (登録商標), the international ImMunoGeneTics information system (登録商標), imgt.org, Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)

30

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

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

【0103】

CDR接合(CDR-grafted)抗体:用語「CDR接合抗体」は、ある種からの重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列を含むが、VHおよび/またはVLのCDR領域のうちの1以上の配列が別の種のCDR配列に置き換えられている抗体、例として、マウス重鎖可変領域およびマウス軽鎖可変領域を有するがマウスCDRのうちの1以上(例えば、CDR3)がヒトCDR配列に置き換えられている抗体を指す。

40

【0104】

キメラ抗体:用語「キメラ抗体」は、ある種からの重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列と別の種からの定常領域配列とを含む抗体、例として、ヒト定常領域に連結されたマウス重鎖可変領域およびマウス軽鎖可変領域を有する抗体を指す。

【0105】

相補的:本明細書において使用される場合、用語「相補的」は、2つのヌクレオシド間または2組のヌクレオシド間の正確な対形成のための能力を指す。特に、相補的とは、2つのヌクレオシド間または2組のヌクレオシド間に結合をもたらす水素結合対形成の程度を特徴付ける用語である。例を挙げると、ある位置のオリゴヌクレオチドの塩基が、対応する位置の標的核酸(例えば、mRNA)の塩基と水素結合することが可能である場合、塩

50

基は、その位置で互いに相補的であると見なされる。塩基対合は、標準的なWatson-Crick塩基対合および非Watson-Crick塩基対合(例えば、Wobble塩基対合およびHoogsteen塩基対合)の両方を包含し得る。例を挙げると、いくつかの態様において、相補的な塩基対合について、アデノシン型塩基(A)は、チミジン型塩基(T)またはウラシル型塩基(U)に相補的であり、シトシン型塩基(C)は、グアノシン型塩基(G)に相補的であり、ユニバーサル塩基、例として、3-ニトロピロールまたは5-ニトロインドールは、いずれかのA、C、UまたはTにハイブリダイズすることができ、いずれかのA、C、UまたはTと相補的であると見なされる。イノシン(I)は、当技術分野でユニバーサル塩基であるとも見なされており、いずれかのA、C、UまたはTに相補的であると見なされる。

【0106】

保存アミノ酸置換:本明細書において使用される場合、「保存アミノ酸置換」は、アミノ酸置換が行われたタンパク質の相対的な電荷またはサイズの特徴を変化させないアミノ酸置換を指す。バリエーションは、当業者に公知のポリペプチド配列を変化させる方法に従って調製されることができ、例として、そのような方法をまとめた参考文献、例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2012, or Current Protocols in Molecular Biology, F. M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New Yorkに見られる。アミノ酸の保存的置換は、以下の群:(a) M、I、L、V; (b) F、Y、W; (c) K、R、H; (d) A、G; (e) S、T; (f) Q、N; および (g) E、D 内のアミノ酸に対して行われる置換を包含する。

【0107】

共有結合的に連結された:本明細書において使用される場合、用語「共有結合的に連結された」は、少なくとも1つの共有結合を介して一緒に連結されている2つ以上の分子の特徴を指す。いくつかの態様において、2つの分子は、分子間のリンカーとして働く単結合、例えば、ジスルフィド結合またはジスルフィド架橋によって一緒に共有結合的に連結されることができる。ただし、いくつかの態様において、2つ以上の分子は、複数の共有結合を通じて2つ以上の分子を一緒に結び合わせるリンカーとして働く分子を介して一緒に共有結合的に連結されることができる。いくつかの態様において、リンカーは、切断可能なリンカーであり得る。ただし、いくつかの態様において、リンカーは、切断不可能なリンカーであり得る。

【0108】

交差反応性:本明細書において使用される場合、かつ標的化剤(例えば、抗体)の文脈では、用語「交差反応性」は、同様のタイプまたはクラスの複数の抗原(例えば、複数のホモログ、パラログまたはオルソログの抗原)に同様の親和性または結合活性で特異的に結合することが可能な剤の特性を指す。例を挙げると、いくつかの態様において、同様のタイプまたはクラスのヒトおよび非ヒト霊長類の抗原(例えば、ヒトトランスフェリン受容体および非ヒト霊長類トランスフェリン受容体)に対して交差反応性である抗体は、ヒト抗原および非ヒト霊長類抗原に同様の親和性または結合活性で結合することが可能である。いくつかの態様において、抗体は、同様のタイプまたはクラスのヒト抗原および齧歯類抗原に対して交差反応性である。いくつかの態様において、抗体は、同様のタイプまたはクラスの齧歯類抗原および非ヒト霊長類抗原に対して交差反応性である。いくつかの態様において、抗体は、同様のタイプまたはクラスのヒト抗原、非ヒト霊長類抗原および齧歯類抗原に対して交差反応性である。

【0109】

疾患対立遺伝子:本明細書において使用される場合、用語「疾患対立遺伝子」は、遺伝子、例として、限定するものではないが、MLCK1遺伝子、ACVR1遺伝子またはFBXO32遺伝子の代替形態(例えば、変異体形態)のいずれか1つを指し、対立遺伝子は、疾患と相関している、および/または疾患に直接的もしくは間接的に寄与する、または疾患を引き起こす。疾患対立遺伝子は、野生型(非疾患)対立遺伝子と比べて、限定するものではないが、挿入、欠失、ミスセンス変異、ナンセンス変異およびスプライス部位変異を包含す

10

20

30

40

50

る遺伝子変化を含み得る。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、機能喪失変異を有する。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、機能獲得変異を有する。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、活性化変異をコードする(例えば、構成的に活性であるタンパク質をコードする)。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、劣性表現型を有する劣性対立遺伝子である。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、優性表現型を有する優性対立遺伝子である。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、MLCK1(MYLK)をコードする遺伝子に機能喪失変異を有する。いくつかの態様において、機能喪失変異は、参照によりその各々の内容が本明細書に組み込まれるHalim D.et al. “Loss-of-Function Variants in MYLK Cause Recessive Megacystis Microcolon Intestinal Hypoperistalsis Syndrome.” Am J Hum Genet.2017 Jul 6;101(1):123-129;Hannuksela M.et al. “A novel variant in MYLK causes thoracic aortic dissections:genotypic and phenotypic description.” BMC Med Genet.2016 Sep 1;17(1):61;またはShalata,A.et al. “Fatal thoracic aortic aneurysm and dissection in a large family with a novel MYLK gene mutation:delineation of the clinical phenotype.” Orphanet J Rare Dis.2018 Mar 15;13(1):41に記載されている通りである。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、機能獲得変異を有する。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、活性化変異をコードする(例えば、構成的に活性であるタンパク質をコードする)。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、劣性表現型を有する劣性対立遺伝子である。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、優性表現型を有する優性対立遺伝子である。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、重複(例えば、7塩基対の重複(c.3838_3844dupGAAAGCG))、スプライス部位バリエーション(例えば、c.3985+5C>A)、欠失(例えば、2bp欠失(c.3272_3273del,p.Ser1091*))またはミスセンス変異(例えば、c.4471G>T(Ala1491Ser)でのミスセンス変異)を含む。いくつかの態様において、疾患対立遺伝子は、ACVR1タンパク質、例えば、L196P、R202I、R206H、Q207E、G328R、G328W、G328E、G356D、R375P、ΔP197-F198の変化をもたらす1以上の欠失または置換を含み得る。いくつかの態様において、対象は進行性骨化性線維異形成症(FOP)を有し得る。いくつかの態様において、FOPを有する対象は、1つまたは2つの変異ACVR1対立遺伝子を有し得る。いくつかの態様において、古典的または典型的なFOPを有する対象は、R206H ACVR1タンパク質をもたらす変異を含むACVR1対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、非定型のFOPを有する対象は、R206H変異を含まない変異ACVR1タンパク質をもたらす少なくとも1つの変異を含むACVR1対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、MEF2Dの疾患対立遺伝子は、β-エクソンを欠くMEF2Dのアイソフォームであり、筋変性障害、例として、筋緊張性ジストロフィー(例えば、参照により本明細書に組み込まれるLee et al.,The Journal of Biological Chemistry,285,33779-33787,2010に記載されているように)に関連する。いくつかの態様において、MED13の疾患対立遺伝子は、ミスセンス変異を含む。いくつかの態様において、MED13の疾患対立遺伝子は、T326I、P327Sおよび/またはP327Q変異をコードする。いくつかの態様において、MED13の疾患対立遺伝子は、(例えば、T326をコードするヌクレオチドの)インフレーム欠失を含む。いくつかの態様において、疾患MED13対立遺伝子は、参照によりその内容が本明細書に組み込まれるSnijders Blok L.,et.al, “De novo mutations in MED13,a component of the Mediator complex,are associated with a novel neurodevelopmental disorder” Hum.Genet.2018,137:375-388に記載されている通りである。

【0110】

FBX032:本明細書において使用される場合、用語「FBX032」は、Fボックスアダプタータンパク質をコードし、SKP1-カリックス-Fボックス(SCF)ユビキチンタンパク質リガーゼ複合体のメンバーである遺伝子を指す。FBX032は、SCF複合体によるユビキチン化のための基質に結合することができる。いくつかの態様において、FBX032は、ヒト(遺伝子ID:114907(例えば、配列番号505))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:10214

1240(例えば、配列番号653))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:67731(例えば、配列番号506)、遺伝子ID:171043(例えば、配列番号654))であり得る。加えて、例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_058229.4(配列番号505),NM_001242463.2(配列番号655)およびNM_148177.2(配列番号656)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトFBX032遺伝子によってコードされる例示的なFBX032タンパク質は、NCBI参照配列:NP_478136.1の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

```
MPFLGQDWRSPGQNWVKTADGWKRFLDEKSGSFVSDLSSYCNKEVYNKENLNFNSL
NYDVAACKKRKKDMLNSKTKTQYFHQEKWIYVHKGSTKERHGYCTLGEAFNRLDFST
AILDSRRFNYVVRLLELIAKSQLTSLSGIAQKNFMNILEKVVLKVLEDQQNIRLIRELL
QTLTSLCTLVQRVGKSVLVGNINMWVYRMETILHWQQQLNNIQTTPAFKGLTFT
DLPLCLQLNIMQRLSDGRDLVSLGQAAPDLHVLSEDRLLWKKLCQYHFSEQRIRKRL
ILSDKGQLDWKKMYFKLVRCYPRKEQYGDTLQLCKHCHILSWKGTDPCTANNPES
CSVSLSPQDFINLFKF(配列番号503)
```

10

【0111】

フレームワーク:本明細書において使用される場合、用語「フレームワーク」または「フレームワーク配列」は、CDRを差し引いた可変領域の残りの配列を指す。様々な系によってCDR配列の厳密な定義を決定することができるため、フレームワーク配列の意味は、相応に異なる解釈に従う。6つのCDR(軽鎖のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3、ならびに重鎖のCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)はまた、軽鎖および重鎖上のフレームワーク領域を各鎖上の4つの下位領域(FR1、FR2、FR3およびFR4)に分け、ここで、CDR1はFR1とFR2との間に、CDR2はFR2とFR3との間に、CDR3はFR3とFR4との間に位置付けられる。具体的な下位領域をFR1、FR2、FR3またはFR4として特定することなく、フレームワーク領域は、他によって言及される場合、天然に存在する単一の免疫グロブリン鎖の可変領域内の組み合わせられたFRを表す。本明細書において使用される場合、FRは4つの下位領域のうちの1つを表し、FRsはフレームワーク領域を構成する4つの下位領域のうちの2つ以上を表す。ヒト重鎖アクセプター配列およびヒト軽鎖アクセプター配列は、当技術分野で公知である。一態様において、当技術分野で公知のアクセプター配列は、本明細書において開示される抗体に使用され得る。

20

【0112】

ヒト抗体:用語「ヒト抗体」は、本明細書において使用される場合、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を包含することが意図される。本開示のヒト抗体は、例を挙げると、CDR、特にCDR3では、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、in vitroでのランダム変異誘発もしくは部位特異的変異誘発によって、またはin vivoでの体細胞変異によって導入された変異)を包含し得る。ただし、用語「ヒト抗体」は、本明細書において使用される場合、別の哺乳動物種、例として、マウスの生殖細胞系に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列上に接合された抗体を包含することは意図されない。

30

【0113】

ヒト化抗体:用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種(例えば、マウス)からの重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列を含むが、VHおよび/またはVL配列の少なくとも一部がさらに「ヒト様」に、すなわち、ヒト生殖細胞系可変配列にさらに類似するように変化させられている抗体を指す。ヒト化抗体の1つのタイプは、ヒトCDR配列が非ヒトVH配列および非ヒトVL配列に導入されて対応する非ヒトCDR配列を置き換えているCDR接合抗体である。一態様において、ヒト化抗トランスフェリン受容体1抗体および抗原結合部分が提供される。そのような抗体は、既存のハイブリドーマ技術、続いてin vitroで遺伝子工学を使用するヒト化、例として、Kasaian et al PCT公開番号WO 2005/123126に開示されたものを使用してマウス抗トランスフェリン受容体1モノクローナル抗体を得ることによって生成され得る。

40

【0114】

50

INHBA:本明細書において使用される場合、用語「INHBA」または「インヒビン、ベータA」は、インヒビン、ベータA(INHBA)をコードする遺伝子を指す。いくつかの態様において、INHBA遺伝子は、ヒトINHBA遺伝子(遺伝子ID:3624(例えば、配列番号269))、非ヒト霊長類INHBA遺伝子(例えば、遺伝子ID:102146142(例えば、配列番号391)、遺伝子ID:702734(例えば、配列番号392))、または齧歯類INHBA遺伝子(例えば、遺伝子ID:16323(例えば、配列番号270)、遺伝子ID:29200(例えば、配列番号393))であり得る。加えて、例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_002192.4(配列番号269)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトINHBA遺伝子によってコードされる例示的なINHBAタンパク質は、NCBI参照配列:NP_002183.1の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

10

MPLLWLRGFLASCWIIVRSSPTPGSEGHSAAPDCPSCALAALPKDVPNSQPPEMVEA
VKKHILNMLHLKKRPDVTQPVPKAAALLNAIRKLHVGVGKVGNGYVEIEDDIGRRAEM
NELMEQTSEIITFAESGTARKTLHFEISKEGSDLSVVERAEVWFLKVPKANRTRTKV
TIRLFQQQKHPQGS�DTGEEAAEEVGLKGERSELLLSEKVV DARKSTWHVFPVSSSIQ
RLLDQGKSSLDVRIACEQCQESGASLVLLGKKKKKEEGEGKKKGGGGEGGAGADEEK
EQSHRPFLMLQARQSEDHPHRRRRRRGLECDGKVNICKKKQFFVSFKDIGWNDWIIA
PSGYHANYCEGECPSHIAGTSGSSLSFHSTVINHYRMRGHSPFANLKSCCVPTKLRP
MSMLYYDDGQNIKKDIQNMIVEECGCS(配列番号145)

20

【0115】

内在化細胞表面受容体:本明細書において使用される場合、用語「内在化細胞表面受容体」は、例えば、外部刺激、例えば、受容体へのリガンド結合時に、細胞によって内在化される細胞表面受容体を指す。いくつかの態様において、内在化細胞表面受容体は、エンドサイトーシスによって内在化される。いくつかの態様において、内在化細胞表面受容体は、クラスリン媒介エンドサイトーシスによって内在化される。ただし、いくつかの態様において、内在化細胞表面受容体は、クラスリンに依存しない経路、例として、例を挙げると、食作用、マクロピノサイトーシス、カベオラ-およびラフト-媒介取込み、またはクラスリンに依存しない構成的エンドサイトーシスによって内在化される。いくつかの態様において、内在化細胞表面受容体は、リガンド結合ドメインを任意にさらに含み得る細胞内ドメイン、膜貫通ドメインおよび/または細胞外ドメインを含む。いくつかの態様において、細胞表面受容体は、リガンド結合後に細胞によって内在化されるようになる。いくつかの態様において、リガンドは、筋標的化剤または筋標的化抗体であり得る。いくつかの態様において、内在化細胞表面受容体はトランスフェリン受容体である。

30

【0116】

単離された抗体:「単離された抗体」は、本明細書において使用される場合、異なる抗原特異性を有する他の抗体が実質的にない抗体を指すことが意図される(例えば、トランスフェリン受容体に特異的に結合する単離された抗体は、トランスフェリン受容体以外の抗原に特異的に結合する抗体が実質的にない)。ただし、トランスフェリン受容体複合体に特異的に結合する単離された抗体は、他の抗原、例として、他の種からのトランスフェリン受容体分子に対する交差反応性を有し得る。さらに、単離された抗体は、他の細胞の材料および/または化学物質が実質的になくてもよい。

40

【0117】

Kabatナンバリング:用語「Kabatナンバリング」、「Kabat定義」および「Kabat標識化」は、本明細書において区別なく使用される。当技術分野で認識されているこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖可変領域および軽鎖可変領域内の他のアミノ酸残基よりも可変(すなわち、超可変)であるアミノ酸残基をナンバリングする系を指す(Kabat et al.(1971)Ann.NY Acad.Sci.190:382-391および、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)。重鎖可変領域の場合、超可変領域は、CDR1についてはアミノ酸位置31~35、CDR2

50

についてはアミノ酸位置50～65、およびCDR3についてはアミノ酸位置95～102に及ぶ。軽鎖可変領域の場合、超可変領域は、CDR1についてはアミノ酸位置24～34、CDR2についてはアミノ酸位置50～56、およびCDR3についてはアミノ酸位置89～97に及ぶ。

【0118】

KLF15:本明細書において使用される場合、用語「KLF15」は、心筋細胞および骨格筋細胞内で、MEF2および他の心臓転写因子(例えば、GATA4およびミオカルディン)の活性を阻害するように機能する転写因子であるKruppel様因子15タンパク質をコードする遺伝子を指す。いくつかの態様において、KLF15は、ヒトKLF15(遺伝子ID:28999(例えば、配列番号1045))、非ヒト霊長類KLF15(例えば、遺伝子ID:716386(例えば、配列番号1046)、遺伝子ID:470911(例えば、配列番号1047))、または齧歯類KLF15(例えば、遺伝子ID:66277(例えば、配列番号1048)、遺伝子ID:85497(例えば、配列番号1049))を指す。加えて、異なるタンパク質アイソフォームをコードする複数のヒトKLF15転写物バリエーション(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_014079.4(配列番号740)、XM_011512743.2(配列番号1050)およびXM_005247400.4(配列番号1051)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトKLF15遺伝子によってコードされる例示的なKLF15タンパク質アイソフォームは、NCBI参照配列:NP_054798.1の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

MVDHLLPVDENFSSPKCPVGYLGDRLVGRRAYHMLPSPVSEDDSDASSPCSCSSPDS
QALCSCYGGGLGTESQDSILDFLLSQATLGSGGGSGSSIGASSGPVAVWGPWRRRAAP
VKGEHFCLPEFPLGDPDDVPRPFQPTLEEIEEFLEENMEPGVKEVPEGNSKDLACS
QLSAGPHKSHLHPGSSGRERCSPPPGGASAGGAQGPGGGGPTPDGPIPVLLQIQPVVP
KQESGTGPASPGQAPENVKVAQLLVNIQGQTFALVPQVVPSSNLNLPSKFVRIAPVP
IAAKPVGSGPLGPGPAGLLMGQKFPKNPAAELIKMHKCTFPGCSKMYTKSSHLKAH
LRRHTGEKPFACWPGCGWRFSRSDLSRHRSHSGVKPYQCPVCEKKFARSDHLS
KHIKVHRFPRSSRSVRSVN(配列番号131)

【0119】

メディエーター(MED)複合体サブユニット:本明細書において使用される場合、用語「メディエーター複合体サブユニット」または「メディエーター複合体のサブユニット」は、メディエーター複合体の個々の成分を指す。メディエーター複合体のサブユニットは、MED1、MED13、MED14、MED15、MED23、MED25、CDK8などを包含する。単純な真核生物(例えば、*Saccharomyces cerevisiae*(酵母))は、最大21個のMED複合体サブユニットを一般に有するのに対して、哺乳動物は、26～31個のMED複合体サブユニットを典型的に有する。

【0120】

MED1:本明細書において使用される場合、用語「MED1」は、メディエーター複合体サブユニット1(MED1)をコードする遺伝子を一般に指す。いくつかの態様において、MED1は、ヒト(遺伝子ID:5469(例えば、配列番号1052))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:101925389(例えば、配列番号1053)、遺伝子ID:697781(例えば、配列番号1054))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:19014(例えば、配列番号1055)、遺伝子ID:497991(例えば、配列番号1056))であり得る。加えて、例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_004774.4(配列番号814)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトMED1遺伝子によってコードされる例示的なMED1タンパク質は、NCBI参照配列:NP_004765.2の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

MKAQGETEESEKLSKMSSLLERLHAKFNQNRPWSETIKLVRQVMEKRVVMSSGGHQ
HLVSCLETQLQKALKVTSLPAMTDRLESIRQNGLGSHLSASGTECYITSDMFYVEVQ
LDPAGQLCDVKVAHHGENPVSCPELVQQLREKNFDEFKHLKGLVNLNLPDGNKL
KTKMYLALQSLEQDLSKMAIMYWKATNAGPLDKILHGSVGYLTPRSGGHLMLNLKYY

VSPSDLLDDKTASPIILHENNVSRSLGMNASVTIEGTSAVYKLPPIAPLIMGSHPVNDK
WTPSFSSITSANSVDLPACFFLKFPQPIPVSRFAVQKLQNCTGIPLFETQPTYAPLYE
LITQFELSKDPDPIPLNHNMRFYAALPGQQHCYFLNKDAPLPDGRSLQGTLVSKITF
QHPGRVPLILNLIRHQVAYNTLIGSCVKRTILKEDSPGLLQFEVCPLSESRFSVSFQH
PVNDLSLVCVVMQDSTHVSCCKLYKGLSDALICTDDFIAKVVRQCM SIPVTMRAIRR
KAETIQADTPALSIAETVEDMVKKNLPPASSPGYGMTTGNPNMSGTTTTPTNTFPGG
PITTLFNMSMSIKDRHESVGHGEDFSKVSQNPILTSLLQITGNGGSTIGSSPTPPHHT
PPPVSMMAGNTKNHPMLMNLKDNPAQDFSTLYGSSPLERQNSSSGSPRMEICSGS
NKTKKKKSSRLPPEKPKHQTEDDFQRELFSDVDSQNPFDVNMTADTLDTPHITP
APSQCSTPPTTYPQPVPHPQPSIQRMVRLSSSDSIGPDVTDILSDIAEEASKLPSTSD
DCPAIGTPLRDSSSSGHSQSTLFDSDFQTNNNENPYTDPADLIADAAGSPSSDSPTN
HFFHDGVDNFNPDLLNSQSQSGFGEEYFDESSQSGDNDDFKGFASQALNTLGVPMLG
GDNGETKFKGNNQADTVDFSIISVAGKALAPADLMEHHSGSQGPLLTGDLGKEKTQ
KRVKEGNGTSNSTLSGPGLD SKPGKRSRTPSNDGKSKDKPPKRKKADTEGKSPSHSS
SNRPFTPPTSTGGSKSPGSAGRSQTPPGVATPPIPKITIQIPKGTVMVGKPSHSHQYT
SSGSVSSSGSKSHSHSSSSSSSSASTSGMKSSKSEGSSSSKLSSSMYSSQGSSGSSQS
KNSSQSGGKPGSSPITKHGLSSGSSSTKMKPQGKPSLMNPSLSKPNISPSHSRPPGG
SDKLASPMKPVPGTPPSSKAKSPISSGSGGSHMSGTSSSSSGMKSSSGLGSSGSLSQKT
PPSSNSCTASSSSSFSSSGSSMSSSQNQHGSSKKGKSPSRNKKPSLTAVIDKLKHGVVTS
GPGGEDPLDGQMGVSTNSSSHPMSSKHNMSSGGEFQGKREKSDKDKSKVSTSGSSVD
SSKKTSESKNVGSTGVAKIIISKHDGGSPSIKAKVTLQKPGESSGGLRPQMASSKNY
GSPLISGSTPKHERGSPSHSKSPAYTPQNL DSESESGSSIAEKSYQNSPSSDDGIRPLP
EYSTEKHKHKKKEKKKVKDKDRDRDRDKDRDKKKSHSIKPESWSKSPISSDQSLSMT
SNTILSADRPSRLSPDFMIGEEDDDLMDVALIGN (配列番号138)

10

20

30

40

50

【0121】

MED13:本明細書において使用される場合、用語「MED13」または「PROSIT240」は、メディエーター複合体サブユニット13(MED13)をコードする遺伝子を一般に指す。MED13は、サイクリンC、サイクリン依存性キナーゼ8(CDK8)およびMED12をさらに含むメディエーター複合体の4サブユニットキナーゼモジュールの一成分である。いくつかの態様において、MED13は、ヒト(遺伝子ID:9969(例えば、配列番号1057))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:712277(例えば、配列番号1058)、遺伝子ID:102120434(例えば、配列番号1059))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:327987(例えば、配列番号1060)、遺伝子ID:303403(例えば、配列番号1061))であり得る。加えて、MED13の例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_005121.3(配列番号888)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトMED13遺伝子によってコードされる例示的なMED13タンパク質は、NCBI参照配列:NP_005112.2の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

MSASFVPNGASLEDCHCNLFCLADLTGIKWKKYVWQGPTSAPILFPVTEEDPILSSF
SRCLKADV LGVWRRDQRPGRRELWIFWWGEDPSFADLIHHD LSEEDGVWENGLS
YECRTLLFKAVHNLLERCLMNRNFVRIGKWVFKPYEKDEKPKNKSEHLSCSFTFFLH
GDSNVCTSV EINH QHPVYLLSEEHITLAQQSNSPFQVILCPFGLNGTLTGQAFKMSD
SATKKLIGEWKQFYPISSCCLKEMSEEKQEDMDWEDDSLAAVEVLVAGVRMIYPACF
VLVPQSDIPTPSPVGSTHCSSSCLGVHQPASTRDPAMSSVTLTPTSPPEEVQTVDP
QSVQKWVKFSSVSDGFNSDSTSHHGGKIPRKL ANHVVDRVWQECNMNRAQNK RKY
SASSGGLCEEATAAKVASWDFVEATQRTNCSCLRHKNLKS RNAGQQGQAPSLGQQQ
QILPKHKTNEKQEKSEKPKKRPLTPFHHRVSVSDDVGM DADSASQRLVISAPDSQVR
FSNIRTNDVAKTPQM HGT EMANSPQPPPLSPHPCDVVDEGVTKTPSTPQSQH FYQM
PTPDPLVPSKPMEDRIDSLSQSFPPQYQEA VEPTVYVGTA VNLEED EANIAWKYYKF
PKKKDVEFLPPQLPSDKFKDDPVGPFQGESVTSVTELMVQCKKPLKVSDELVQQYQI

KNQCLSAIASDAEQEPKIDPYAFVEGDEEFLFPDKKDRQNSEREAGKKHKVEDGTSS
VTVLSHEEDAMSLFSPSIKQDAPRPTSHARPPSTSLIYDSDLAVSYTDLDNLFNSDED
ELTPGSKKSANGSDDKASCESKTGNLDPLSCISTADLHKMYPTPPSLEQHIMGFSP
MNMNNKEYGSMDDTTPGGTVLEGNSSSIGAQFKIEVDEGFCSPKPSEIKDFSYYVKPE
NCQILVGC SMFAPLKTLP SQYL PPIKLPEECIYRQSWTVGKLELLSSGSPMPFIKEGD
GSNMDQEYGTAYTPQTHTSFGMPSSAPPSNSGAGILPSPSTPRFPTPRTPTPTPT
RGAGGPASAQGSVKYENS DLYSPASTPSTCRPLNSVEPATVPSIPEAHS LYNLILSE
SVMNLFKDCNFDSCCICVCNMNIKGADVGVYIPDPTQEAQYRCTCGFSAVMNRKFG
NNSGLFLEDELDIIGNRTDCGKEAEKRFEALRATSAEHVNGGLKESEKLSDDLILLQ
DQCTNLFSPFGAADQDPFPKSGVISNWWVRVEERDCND CYLALEHGRQFMDNMSGG
KVDEALVKSSCLHPWSKRNDVSMQCSQDILRMLLSLQPV LQDAIQKKRTVRPWGVQ
GPLTWQQFHKMAGRGSYGTDESPEPLPIPTFLLGYDYDYLVLSPFALPYWERLMLE
PYGSQRDIAYVVLCPENEALLNGAKSFFRDLTAIYESCRLGQHRPVSRLLT DGIMRV
GSTASKKLSEKLVAEWFSAADGNNEAFSKLKL YAQVCRYDLGPYLASLPLDSSLLS
QPNLVAPTSQSLITPPQMTNTGNANTPSATLASAASSTMTVTSGVAISTSVATANST
LTTASTSSSSSSNLNSGVSSNKLPSFPFPGSMNSNAAGSMSTQANTVQSGQLGGQQT
SALQTAGISGESSSLPTQPHPDVSESTMDRDKVG IPTDGD SHAVTYPPAIVVYIIDPF
TYENTDESTNSSSVWTLGLLR CFLEMVQTLPPHIKSTVSVQIIPCQYLLQPVKHEDR
EIYPQHLKSLAFSAFTQCRRPLPTSTNVKTLTGFGPGLAMETALRSPDRPECIRLYAP
PFILAPVKDKQTELGETFGEAGQKYNVLFVGYCLSHDQRWILASCTDLYGELLETCII
NIDVPNRARRKKSSARKFGLQKLWEWCLGLVQMSSLPWRVVIGRLGRIGHGELKDW
SCLLSRRNLQSLSKRLKDMCRMCGISAADSPSILSACL VAMEPQGSFVIMPDSVSTGS
VFGIRSTTLNMQTSQLNTPQDTSCTHILVFPTSASVQVASATYTTENLDLAFNPNDG
ADGMGIFDLLDTGDDLD PDIINILPASPTGSPVHSPGSHYPHGGDAGKGQSTDRLLS
TEPHEEVPNILQQPLALGYFVSTAKAGPLPDWFW SACPQAQYQCPLFLKASLHLHV
PSVQSDELLHSHKSHPLDSNQTSDVLR FVLEQYNALSWLTCDPATQDRRSCLPIHFV
VLNQLYNFIMNML (配列番号139)

10

20

30

40

50

【0122】

MEF2D:本明細書において使用される場合、用語「MEF2D」は、転写因子の筋細胞特異的エンハンサー因子2(MEF2)ファミリーのメンバーである筋細胞エンハンサー因子2Dをコードする遺伝子を指す。MEF2Dは、多くの筋肉特異的な増殖因子、およびストレス誘導遺伝子に見出されるMEF2エレメント5'-YTA [AT] 4TAR-3'に特異的に結合する。MEF2Dは、骨格筋および心筋の発生だけでなく、ニューロンの分化および生存でも細胞機能を媒介する。MEF2Dはまた、細胞の成長、生存およびアポトーシスの制御、ならびにニューロンのアポトーシスの調節に多様な役割を果たす。MEF2Dは、心臓の発生、および心疾患(例えば、心肥大、心筋症)、ならびに筋疾患(例えば、筋萎縮、筋緊張性ジストロフィー)に重要な役割を果たすことが示されている。例えば、参照により本明細書に組み込まれるChen et al., *Oncotarget*.2017 Dec 19;8(67):112152-112165を参照されたい。マウスでは、心臓におけるMEF2D活性の低下は、圧力過負荷およびβ-慢性アドレナリン刺激に応答した心肥大、胎児遺伝子活性化および線維症に対する耐性をもたらし、MEF2Dの過剰発現は、胎児遺伝子プログラム、および心臓の病理学的リモデリングを推進するのに十分であったことが示されている(例えば、参照により本明細書に組み込まれるKim et al., *J Clin Invest*.2008 Jan 2;118(1):124-132を参照)。さらに、MEF2Dは、神経筋疾患、例として、パーキンソン病(例えば、参照により本明細書に組み込まれるYao et al., *The Journal of Biological Chemistry*,287,34246-34255,2012を参照)および筋萎縮性側索硬化症(例えば、参照により本明細書に組み込まれるArosio et al., *Molecular and Cellular Neuroscience*,Volume 74,July 2016,Pages 10-17を参照)に関与している。いくつかの態様において、MEF2Dは、ヒト(遺伝子ID:4209(例えば、配列番号664))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:102143822(例えば、配列番号1062))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:172

61(例えば、配列番号666)、遺伝子ID:81518(例えば、配列番号1063))を指す。加えて、異なるタンパク質アイソフォームをコードする複数のヒトMEF2D転写物バリエーション(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_001271629.2(配列番号665)、NM_005920.4(配列番号664)、XM_006711332.3(配列番号1036)、XM_006711334.3(配列番号1037)、XM_006711333.2(配列番号1038)、XM_005245169.4(配列番号1039)、XM_017001315.1(配列番号1040)、XM_006711330.3(配列番号1041)、XM_005245170.3(配列番号1042)、XM_011509569.3(配列番号1043)およびXM_017001314.1(配列番号1044)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトMEF2D遺伝子によってコードされる例示的なMEF2Dタンパク質アイソフォームは、NCBI参照配列:NP_001258558.1およびNP_005911.1の下にアノテーションされており、それぞれ以下のアミノ酸配列を有する:

MGRKKIQIQRITDERNRQVTFTKRKFGLMKKAYELSVLCDCEIALIIFNHSNKLQFYA
STDMDKVLLKYTEYNEPHESTRNADIIETLRKKGFNGCDSPEPDGEDSLEQSPILLED
KYRRASEELDGLFRRYGSTVPAPNFAMPVTVPVSNQSSLQFSNPSGSLVTPSLVTSSLT
DPRLLSPQQPALQRNSVSPGLPQRPASAGAMLGGDLNSANGACPSVGNVGYVSAR
ASPGLLPVANGNSLNKVIPAKSPPPPTHSTQLGAPSRKPDLRVITSQAGKGLMHHLN
NAQRLGVSQSTHSLTTPVVSVATPSLLSQGLPFSSMPTAYNTDYQLTSAELSSLPAF
SSPGGLSLGNVTAWQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQ
SHLVPVSLSNLIPGSPLPHVGAALTVTTHPHISIKSEPVSPSRERSPAPPPPAVFPAAR
PEPGDGLSSPAGGSYETGDRDDGRGDFGPTLGLLRPAPEPEAEAGSAVKRMRLDTW
TLK(配列番号140)

MGRKKIQIQRITDERNRQVTFTKRKFGLMKKAYELSVLCDCEIALIIFNHSNKLQFYA
STDMDKVLLKYTEYNEPHESTRNADIIETLRKKGFNGCDSPEPDGEDSLEQSPILLED
KYRRASEELDGLFRRYGSTVPAPNFAMPVTVPVSNQSSLQFSNPSGSLVTPSLVTSSLT
DPRLLSPQQPALQRNSVSPGLPQRPASAGAMLGGDLNSANGACPSVGNVGYVSAR
ASPGLLPVANGNSLNKVIPAKSPPPPTHSTQLGAPSRKPDLRVITSQAGKGLMHHLT
EDHLDLNNNAQRLGVSQSTHSLTTPVVSVATPSLLSQGLPFSSMPTAYNTDYQLTSAE
LSSLPAFSSPGGLSLGNVTAWQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQPQQ
QPPQQQSHLVPVSLSNLIPGSPLPHVGAALTVTTHPHISIKSEPVSPSRERSPAPPPP
AVFPAARPEPGDGLSSPAGGSYETGDRDDGRGDFGPTLGLLRPAPEPEAEAGSAVKRM
RLDTWTLK(配列番号141)

【0123】

分子ペイロード:本明細書において使用される場合、用語「分子ペイロード」は、生物学的結果を調整するよう機能する分子または種を指す。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋標的化剤に連結されているか、または他の方法で会合されている。いくつかの態様において、分子ペイロードは、小分子、タンパク質、ペプチド、核酸またはオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、DNA配列の転写を調整するように、タンパク質の発現を調整するように、またはタンパク質の活性を調整するように機能する。いくつかの態様において、分子ペイロードは、標的遺伝子に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。

【0124】

MLCK1:本明細書において使用される場合、用語「MLCK1」または「MYLK1」は、平滑筋内のアクチンフィラメントとのミオシン相互作用を促進するためにミオシン調節軽鎖をリン酸化する酵素であるミオシン軽鎖キナーゼ-1タンパク質をコードする遺伝子を指す。いくつかの態様において、MLCK1は、ヒト(遺伝子ID:4638(例えば、配列番号412))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:102130711(例えば、配列番号413))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:107589(例えば、配列番号414)、遺伝子ID:288057(例えば、配列番号415))であり得る。加えて、いくつかの例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_001321309.2(配列番号416)、NM_053025.4(配列番号417)、NM_053026.4(配列番号418)、NM_053027.4(配列番

号419)、NM_053028.4(配列番号420)、NM_053031.4(配列番号421)およびNM_053032.4(配列番号422)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。

【0125】

ヒトMLCK1遺伝子によってコードされる例示的なMLCK1タンパク質は、NCBI参照配列:NP_444253.3の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

MGDVKLVASSHISKTSLSVDPSRVDSMPLTEAPAFILPPRNLCIKEGATAKFEGRVRG
YPEPQVTWHRNGQPITSGGRFLLDGIRGTFSLVIHAVHEEDRGKYTCEATNGSGAR
QVTVELTVEGSFAKQLGQPVVSKTLGDRFSAPAVETRPSIWGECPPKFATKLGRVVV
KEGQMGRFSCKITGRPQPQVTWLKGNVPLQPSARVSVSEKNGMQVLEIHGVNQDD
VGVTCLVVNGSGKASMSAELSIQGLDSANRSFVRETKATNSDVRKEVTNVISKESK
LDSLEAAAKSKNCSSPQRGGSPWAANSQPQPPRESKLESCKDSPTAPQTPVLQKT
SSSITLQAARVQPEPRAPGLGVLSPSGEERKRPAAPRPATFPTRQPGLGSQDVVSKAA
NRRIPMEGQRDSAFPKEFKPQSQEVKENQTVKFRCEVSGIPKPEVAWFLGTPVRR
QEGSIEVYEDAGSHYLCLLKARTRDSGTYSCTASNAQGQLSCSWTLQVERLAVMEVA
PSFSSVLKDCAVIEGQDFVLQCSVRGTPVPRITWLLNGQPIQYARSTCEAGVAELHIQ
DALPEDHGTYTCLAENALGQVSCSAWVTVHEKKSSRKSEYLLPVAPSKPTAPIFLQG
LSDLKVMMDGSQVTMTVQVSGNPPPEVIWLHNGNEIQESEDHFHEQRGTQHSLCIQE
VFPEDTGTYTCEAWNSAGEVRTQAVLTVQEPHDGTQPFISKPRSVTASLGQSVLIS
CAIAGDPFPTVHWRDGLCKLCKDTGHFEVLQNEDEVFTLVLLKKVQPWHAGQYEILLK
NRVGECSQVSLMLQNSSARALPRGREPASCEDLCGGGVGADGGGSDRYGSLRPGW
PARGQGWL EEEEDGEDVRGV LKRRVETRQHTEEAIRQQEVEQLDFRDLLGKKVSTKT
LSEDDLKEIPAEQMDFRANLQRQVKPKTVSEEEKVHSPQQVDFRSVLAKKGTSKTP
VPEKVPPP KPATP DFRSVLGGKKKLPAENGSSSAETLNAKAVESSKPLSNAQPSGPL
KPVGNAKPAETLKPMGNAKPAETLKPMGNAKPDENLKSASKEELKKDVKNDVNCKR
GHAGTTDNEKRSESQGTAPAFKQKLQDVHVAEGKKLLQCVSSDPPATIIWTLNG
KTLKTTKFIILSQEGLCSVSIEKALPEDRGLYKCAKNDAGQAECSCQVTVDAPAS
ENTKAPEMKSRPKSSLPVLGTESDATVKKKPAPKTPPKAAMPPQIIQFPEDQKVR
AGESVELFGKVTGTQPITCTWMKFRKQIQESEHMKVENSENGSKLTLAARQEHCGC
YTLLVENKLGSRQAQVNLTVVDKPDPPAGTPCASDIRSSSLTWSYGSSYDGGSAVQ
SYSIEIWDSANKTWKELATCRSTSFNVQDLLPDHEYKFRVRAINVYGTSEPSQESEL
TVGEKPEEPKDEVEVSDDDEKEPEVDYRTVTINTEQKVSDFYDIEERLGSGKFGQVF
RLVEKKTRKVWAGKFFKAYSACEKENIRQEISIMNCLHHPKLVQCVDAFEEKANIVM
VLEIVSGGELFERIIDEDFELTERECIKYMRQISEGVEYIHKQGIVHLDLKPENIMCVN
KTGTRIKLIDFGLARRLENAGSLKVLFGTPEFVAPEVINYEPIGYATDMWSIGVICYIL
VSGLSPFMGDNDNETLANVTSATWDFDDEAFDEISDDAKDFISNLLKKDMKNRLDC
TQCLQHPWLMKDTKNMEAKKLSKDRMKKYMARRKWQKTGNAVRAIGRLSSMAMI
SGLSGRKSSTGSPTSPLNAEKLESEEDVSQAFLEAVAEKPHVKPYFSKTIRDLEVVE
GSAARFDCKIEGYPDPEVVWFKDDQSIRESRHFQIDYDEDGNCSLIISDVCGDDDAKY
TCKAVNSLGEATCTAELIVETMEEGEGEGEEEE(配列番号410)

【0126】

MSTN:本明細書において使用される場合、用語「MSTN」は、筋肉量を負に調節する分泌型増殖因子であるミオスタチンをコードする遺伝子を指す。いくつかの態様において、MSTNは、ヒト(遺伝子ID:2660(例えば、配列番号147))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:710114(例えば、配列番号394)、遺伝子ID:470605(例えば、配列番号395))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:29152(例えば、配列番号396)、遺伝子ID:17700(例えば、配列番号148))であり得る。加えて、例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_005259.3(配列番号147)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。ヒトMSTN遺伝子によってコードされる例示的なミオスタチンタンパク質は、NCBI参照配列:NP_005250.1の下にアノテーショ

ンされており、以下のアミノ酸配列を有する：

MQKLQLCVYIYLFMLIVAGPVDLNENSEQKENVEKEGLCNACTWRQNTKSSRIEAIK
IQILSKLRLETAPNISKDVIRQLLPKAPPLRELIDQYDVQRDDSSDGSLEDDDYHATT
ETIITMPTESDFLMQVDGKPKCCFFKFSSKIQYNKVVKAKQLWIYLRPVETPTTVFVQI
LRLIKPMKDGTRYTGIRSLKLDMNPGTGIWQSIDVKTVLQNWVKQPESNLGIEIKAL
DENGHD LAVTFPGPGEDGLNPFLEVKVTDTPKRSRRDFGLDCDEHSTESRCCRYPLT
VDFEAFGWDWIIAPKRYKANYCSGECEVFVLQKYPHTHLVHQANPRGSAGPCCTPT
KMSPINMLYFNGKEQIIYGKIPAMVVDRCGCS(配列番号146)

【0127】

筋萎縮:本明細書において使用される場合、用語「筋萎縮」は、筋衰弱によって特徴付けられる状態を指す。いくつかの態様において、筋萎縮は、廃用期間中に、および/または全身性炎症(例えば、悪液質)に応答して起こる高度に調節された異化過程である。いくつかの態様において、筋萎縮は、対象の筋肉量の減少、筋肉サイズの減少、および/または筋細胞数の減少に関連する。慢性疾病(例えば、鬱血性心不全、糖尿病、癌、AIDSおよび腎疾患)、重度の火傷、救命医療ミオパシー(critical care myopathy)、四肢除神経、脳卒中、四肢骨折、食欲不振、脊髄損傷、または筋廃用をもたらす他の状態を包含する状態は、筋萎縮をもたらす得る。いくつかの態様において、筋萎縮は、癌悪液質、心臓悪液質、絶食、糖尿病、腎不全、除神経またはグルココルチコイド誘導性筋萎縮によって引き起こされる。

【0128】

筋標的化剤:本明細書において使用される場合、用語「筋標的化剤」は、筋細胞(例えば、心筋細胞)上に発現される抗原に特異的に結合する分子を指す。筋細胞内または筋細胞上の抗原は、膜タンパク質、例を挙げると、内在性膜タンパク質または表在性膜タンパク質であり得る。典型的には、筋標的化剤は、筋細胞上の抗原に特異的に結合し、これにより、筋細胞への筋標的化剤(およびいずれかの会合された分子ペイロード)の内在化を促進する。いくつかの態様において、筋標的化剤は、筋肉上の内在化細胞表面受容体に特異的に結合し、受容体媒介内在化を通じて筋細胞内に内在化されることが可能である。いくつかの態様において、筋標的化剤は、小分子、タンパク質、ペプチド、核酸(例えば、アプタマー)または抗体である。いくつかの態様において、筋標的化剤は、分子ペイロードに連結されている。

【0129】

筋標的化抗体:本明細書において使用される場合、用語「筋標的化抗体」は、筋細胞(例えば、心筋細胞)内または筋細胞(例えば、心筋細胞)上に見出される抗原に特異的に結合する抗体である筋標的化剤を指す。いくつかの態様において、筋標的化抗体は、筋細胞上の抗原に特異的に結合し、これにより、筋細胞への筋標的化抗体(およびいずれかの会合された分子ペイロード)の内在化を促進する。いくつかの態様において、筋標的化抗体は、筋細胞上に存在する内在化細胞表面受容体に特異的に結合する。いくつかの態様において、筋標的化抗体は、トランスフェリン受容体に特異的に結合する抗体である。

【0130】

オリゴヌクレオチド:本明細書において使用される場合、用語「オリゴヌクレオチド」は、最大200ヌクレオチド長のオリゴマー核酸化合物を指す。オリゴヌクレオチドの例は、限定するものではないが、RNAiオリゴヌクレオチド(例えば、siRNA、shRNA)、マイクロRNA、ギャップマー、ミックスマー(mixmer)、ホスホロジアミダートモルホリノ、ペプチド核酸、アプタマー、ガイド核酸(例えば、Cas9ガイドRNA)などを包含する。オリゴヌクレオチドは、一本鎖または二本鎖であり得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、1以上の修飾ヌクレオシド(例えば、2'-O-メチル糖修飾、プリンまたはピリミジン修飾)を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、1以上の修飾ヌクレオシド間連結を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、RpまたはSpの立体化学配置にあり得る1以上のホスホロチオアート連結を含み得る。

【0131】

PPP1R3A:本明細書において使用される場合、用語「PPP1R3A」は、タンパク質ホスファターゼ-1(PP1)の調節サブユニットをコードする遺伝子を指す。いくつかの態様において、この調節サブユニットは、筋グリコーゲンに高い親和性で結合し、PP1に対するグリコーゲン結合基質、例として、グリコーゲンシンターゼおよびグリコーゲンホスホリラーゼキナーゼの脱リン酸化を増強する。いくつかの態様において、PPP1R3Aは、ヒト(遺伝子ID:5506(配列番号1064))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:703562(例えば、配列番号1065)(*Macaca mulatta*))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:140491(例えば、配列番号963)(*M.musculus*)、遺伝子ID:500036(例えば、配列番号1066)(*R.norvegicus*)であり得る。加えて、例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_002711.4(配列番号962)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。

10

【0132】

ヒトPPP1R3A遺伝子によってコードされる例示的なPPP1R3Aタンパク質は、NCBI参照配列:NP_002702.2の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する:

MEPSEVPSQISKDNFLEVPNLSDSLCEDEEVTFQPGFSPQPSRRGSDSSEDIYLDTPS
SGTRRVSFADSFGFNLVSVKEFDCWELPSASTTFDLGTDIFHTEEYVLAPLFDLPSSK
EDLMQQLQIQKAILESTESLLGSTSIKGIIRVLNVSEKLVYVRMSLDDWQTHYDILA
EYVPNSCDGETDQFSFKIVLVPPYQKDGSKVEFCIRYETSVGTFWSNNNGTNYTFIC
QKKEQEPEPVKPWKVPNRQIKGCLKVKSSKEESSVTSEENNFENPKNTDTYIPTIIC
SHEDKEDLEASNRNVKDVNREHDEHNEKELELMINQHLIRTRSTASRDERNTFSTDP
VNFPNKAEGLEKKQIHGEICTDLFQRSLSPPSSSAESSVKGDFYCNEKYSSGDDCTHQP
SEETTSNMGEIKPSLGDTSDELVLHTGSKEVLDDNANPAHNGTVQIPCPSSDQL
MAGNLNKKHEGGAKNIEVKDLGCLRRDFHSDTSACLKESTEEGSSKEDYYGNGKDDE
EQRIYLVGNEKQRKNFQTLHDQERKMGNPKISVAGIGASNRDLATLLSEHTAIPTRA
ITADVSHSPRTNLSWEEAVLTPEHHHLTSEGSALGGITGQVCSSRTGNVLRNDYLFQ
VEEKSGGINSEDQDNSPQHKQSWNVLESQGKSRENKTNITEHIKGQTDCEVDWGKR
DNTRSLKATTEELFTCQETVCCELSSLADHGITEKAEAGTAYIIKTTSESTPESMSARE
KAIIAKLPQETARSDRPIEVKETAFDPHEGRNDDSHYTLQCRDVTGVIYDNDFEKESR
LGICNVVRVDEMEKEETMSMYNPRKTHDREKCGTGNITSVEESSWVITEYQKATSKL
DLQLGMLPTDKTVFSENRLRQVQELSKKTDSDAIVHSAFNSDTNRAPQNSSPFSKH
HTEISVSTNEQAI AVENAVTTMASQPISTKSENICNSTREIQGIEKHPYPESKPEEVS
SSGIVTSGSRKERKICIGQIFQTEEYSVEKSLGPMILINKPLENMEEARHENEGLVSSGQS
LYTSGEKESDSSASTSLPVEESQAQGNESLFSKYTNSKIPYFLLFLITVYHYDLMI
GLTFYVLSLSWLSWEEGRQKESVKKK(配列番号663)

20

30

【0133】

組換え抗体:用語「組換えヒト抗体」は、本明細書において使用される場合、組換え手段によって調製、発現、作成もしくは単離されたあらゆるヒト抗体、例として、宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現された抗体(本開示にさらに詳細に記載される)、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体(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)、ヒト免疫グロブリン遺伝子トランスジェニック動物(例えば、マウス)から単離された抗体(例えば、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を参照)、または他のDNA配列へのヒト免疫グロブリン遺伝子配列のサブライシングを伴ういずれかの他の手段によって調製、発現、作成もしくは単離された抗体を包

40

50

含することが意図される。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。ただし、ある特定の態様において、そのような組換えヒト抗体は、*in vitro*での変異誘発(または、ヒトIg配列トランスジェニック動物が使用される場合、*in vivo*での体細胞変異誘発)に供され、したがって、組換え抗体のVH領域およびVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系のVH配列およびVL配列に由来しかつこれに関するものの、*in vivo*でのヒト抗体の生殖細胞系レパートリー内には天然に存在し得ない配列である。本開示の一態様は、当技術分野で周知の技術を使用して、例として、限定するものではないが、ヒトIgファージライブラリー、例として、Jermutus et al., PCT公開番号WO 2005/007699に開示されたものを使用して生成されることができヒトトランスフェリン受容体に結合することが可能な完全ヒト抗体を提供する。

10

【0134】

相補性領域:本明細書において使用される場合、用語「相補性領域」は、2つのヌクレオチド配列が生理学的条件下(例えば、細胞内)で相互にアニーリングすることが可能であるように、例えば、標的核酸の同族ヌクレオチド配列(cognate nucleotide sequence)に十分に相補的な、例えば、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド配列を指す。いくつかの態様において、相補性領域は、標的核酸の同族ヌクレオチド配列に完全に相補的である。ただし、いくつかの態様において、相補性領域は、標的核酸の同族ヌクレオチド配列に部分的に相補的(例えば、少なくとも80%、90%、95%または99%相補性)である。いくつかの態様において、相補性領域は、標的核酸の同族ヌクレオチド配列と比較して1、2、3または4つのミスマッチを含有する。

20

【0135】

特異的に結合する:本明細書において使用される場合、用語「特異的に結合する」は、結合アッセイまたは他の結合状況では、適切な対照から結合パートナーを区別するために分子を使用することを可能にする程度の親和性または結合活性で分子が結合パートナーに結合する能力を指す。抗体に関して、用語「特異的に結合する」は、本明細書において記載されるように、単数または複数の適切な参照抗原と比較して、他のものから特定の抗原を区別するために抗体を使用することを可能にする程度の親和性または結合活性で、例えば、抗原への結合を通じて特定の細胞、例えば、筋細胞への優先的標的化を可能にする程度まで、抗体が特定の抗原に結合する能力を指す。いくつかの態様において、抗体が標的に結合するために少なくとも約 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またはそれ以下の K_D を有する場合、抗体は標的に特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体は、トランスフェリン受容体、例えば、トランスフェリン受容体の先端ドメインのエピトープに特異的に結合する。

30

【0136】

対象:本明細書において使用される場合、用語「対象」は、哺乳動物を指す。いくつかの態様において、対象は、非ヒト霊長類または齧歯類である。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、疾患を有するかまたは有すると疑われるペイシエント、例えば、ヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、2型糖尿病を有するペイシエントである。いくつかの態様において、対象は、癌を有するペイシエントである。いくつかの態様において、対象は、心不全、筋萎縮(例えば、骨格筋萎縮および/または心筋萎縮)、筋ジストロフィー、悪液質(例えば、心臓悪液質)、筋肥大、心筋衰弱および/または心筋症を有するかまたは有すると疑われるヒト患者である。いくつかの態様において、筋肥大を有する対象は、参照により本明細書に組み込まれるSchuelke, M. et al., "Myostatin Mutation Associated with Gross Muscle Hypertrophy in a Child" N Engl J Med 2004;350:2682-2688にあるとおり、MSTNに少なくとも1つの変異を有する。いくつかの態様において、対象は、心筋合併症(例えば、心不全、心筋萎縮、悪液質および/または心筋肥大)に罹患している、2型糖尿病を有するペイシエントである。いくつかの態様において、対象は、悪液質に罹患している癌ペイシエントである。いくつかの態様において、対象は、心線維症または心肥大を有するかま

40

50

たは有すると疑われるヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、アンジオテンシンII誘導性心肥大を有するかまたは有すると疑われるヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、心筋梗塞(すなわち、心臓発作)を経験したことがある。いくつかの態様において、対象は、過敏性腸症候群(IBS)を有するかまたは有すると疑われるヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、炎症性腸疾患(IBD)を有するかまたは有すると疑われるヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、家族性胸部大動脈瘤・解離(FTAAD)を有するヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、ベルドン症候群(Berdon syndrome)(「劣性巨大膀胱小結腸腸管蠕動低下症候群(recessive megacystis microcolon intestinal hypoperistalsis syndrome)」とも呼ばれる)を有するヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、心肥大を有するか、または有すると疑われる。いくつかの態様において、対象は、アンジオテンシンII誘導性心肥大を有するか、または有すると疑われる。いくつかの態様において、対象は、筋萎縮(例えば、心筋萎縮)を有する。いくつかの態様において、対象は、典型的なFOPまたは非定型のFOPを有するかまたは有すると疑われるヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、ACVR1タンパク質、例えば、L196P、R202I、R206H、Q207E、G328R、G328W、G328E、G356D、R375P、ΔP197-F198の変化をもたらす1以上の欠失または置換を含む少なくとも1つのACVR1対立遺伝子を有する。

10

【0137】

TRIM63:本明細書において使用される場合、用語「TRIM63」は、RINGジンクフィンガータンパク質ファミリーのメンバーであるE3ユビキチンリガーゼをコードする遺伝子を指す。TRIM63は、IRF;SMRZ;MURF1;MURF2;RNF28;または三分モチーフ含有63とも呼ばれ得る。いくつかの態様において、TRIM63は、ヒト(遺伝子ID:84676(例えば、配列番号579))、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:102120812(例えば、配列番号659))、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:433766(例えば、配列番号580)、遺伝子ID:140939(例えば、配列番号660))であり得る。加えて、例示的なヒト転写物(例えば、GenBank RefSeqアクセス番号:NM_032588.3(配列番号579)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。

20

【0138】

ヒトTRIM63遺伝子によってコードされる例示的なTRIM63タンパク質は、NCBI参照配列:NP_115977.2の下にアノテーションされており、以下のアミノ酸配列を有する: MDYKSSLIQDGNPMENLEKQLICPICLEMFTKPVVILPCQHNLCKRCANDIFQAANP YWTSRGSSVSMMSGGRFRCPTCRHEVIMDRHGVYGLQRNLLVENIIDYKQECSSRPL QKGSHPMCKEHEDEKINIYCLTCEVPTCSMCKVFGIHKACEVAPLQSVFQGGQKTELN NCISMLVAGNDRVQTIITQLEDSSRRVTKESSHQVKEELSQKFDLTLYAILDEKKSELLQ RITQEQQEKKLSFIEALIQYQEQLDKSTKLVTETAIQSLDEPGGATFLLTAKQLIKSIVE ASKGCQLGKTEQGFENMDFFTLDEHIADALRAIDFGTDEEEEEFIEEEDQEEEESTE GKEEGHQ.(配列番号504)

30

【0139】

トランスフェリン受容体:本明細書において使用される場合、用語「トランスフェリン受容体」(CD71、p90、TFR.またはTFR1としても知られる)は、エンドサイトーシスによる鉄取込みを促進するためにトランスフェリンに結合する内在化細胞表面受容体を指す。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体は、ヒト(NCBI遺伝子ID 7037(例えば、配列番号397))、非ヒト霊長類(例えば、NCBI遺伝子ID 711568(例えば、配列番号398)またはNCBI遺伝子ID 102136007(例えば、配列番号399))、または齧歯類(例えば、NCBI遺伝子ID 22042(例えば、配列番号400))起源のものであり得る。加えて、受容体の異なるアイソフォームをコードした複数のヒト転写物バリエーション(例えば、GenBank RefSeqアクセス番号:NP_001121620.1(配列番号401)、NP_003225.2(配列番号105)、NP_001300894.1(配列番号402)およびNP_001300895.1(配列番号403)の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。

40

【0140】

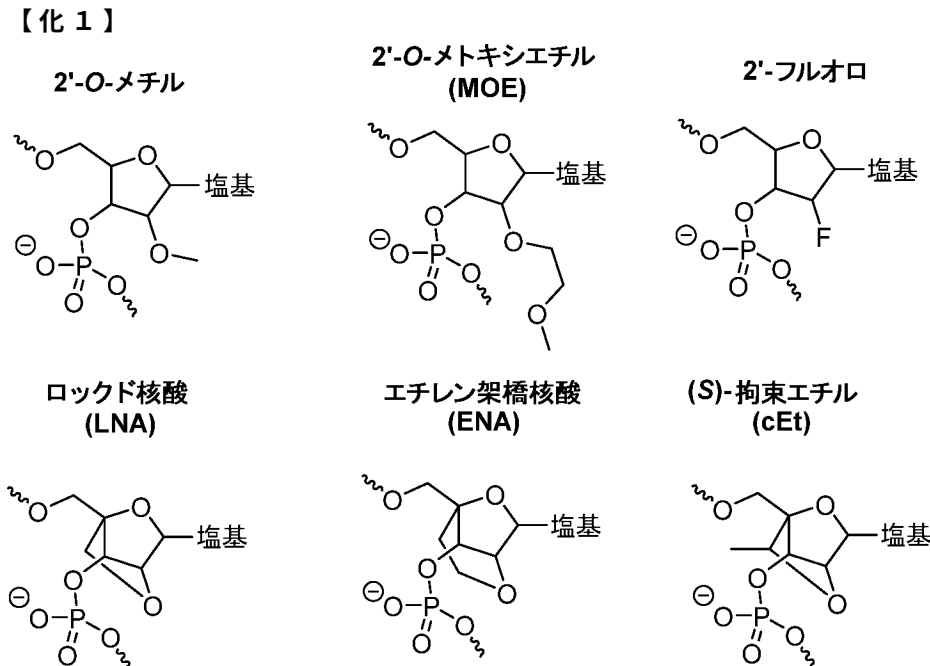
50

2'-修飾ヌクレオシド:本明細書において使用される場合、用語「2'-修飾ヌクレオシド」および「2'-修飾リボヌクレオシド」は、区別なく使用され、2'位で修飾糖部分を有するヌクレオシドを指す。いくつかの態様において、2'-修飾ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシドであり、ここで、糖の2'位および4'位は架橋されている(例えば、メチレン、エチレン、または(S)-拘束エチル架橋を介して)。いくつかの態様において、2'-修飾ヌクレオシドは非二環式2'-修飾ヌクレオシドであり、例えば、ここで、糖部分の2'位は置換されている。2'-修飾ヌクレオシドの非限定的な例は、2'デオキシ、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA、メチレン架橋核酸)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)を包含する。いくつかの態様において、本明細書において記載される2'-修飾ヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドであり、2'-修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、非修飾オリゴヌクレオチドと比べて標的配列に対する増加した親和性を有する。2'-修飾ヌクレオシドの構造の例は、以下に提供される:

10

20

30



これらの例はホスファート基を用いて示されているが、いずれかのヌクレオシド間連結が2'-修飾ヌクレオシド間で企図される。

【0141】

II. 複合体

標的化剤、例えば、分子ペイロードに共有結合的に連結された抗体を含む複合体が、本明細書において提供される。いくつかの態様において、複合体は、オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結された筋標的化抗体を含む。複合体は、単一の抗原部位に特異的に結合する抗体、または同じ抗原上もしくは異なる抗原上に存在し得る少なくとも2つの抗原部位に結合する抗体を含み得る。

40

【0142】

複合体は、少なくとも1つの遺伝子、タンパク質および/または核酸の活性または機能を調整するために使用され得る。いくつかの態様において、複合体とともに存在する分子ペイロードは、遺伝子、タンパク質および/または核酸の調整を担う。分子ペイロードは、細胞内の遺伝子、タンパク質および/または核酸の活性または機能を調整することが可能な小分子、タンパク質、核酸、オリゴヌクレオチドまたはいずれかの分子実体であり得る。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のMSTN

50

遺伝子を標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のINHBAまたはアクチビンAを標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のACVR1Bを標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、平滑筋細胞)内のMLCK1遺伝子を標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のACVR1を標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のFBXO32を標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のTRIM63を標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞(例えば、心筋細胞)内のMEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞内でMEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの機能を阻害する。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋細胞内でMEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの機能を促進または増強する(例えば、発現を増加させる)。

10

【0143】

いくつかの態様において、複合体は、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤、例えば、抗トランスフェリン受容体1抗体、例えば、MSTN遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド、INHBAを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはACVR1Bを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、複合体は、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤、例えば、抗トランスフェリン受容体1抗体、例えば、MSTN遺伝子を標的とするsiRNAオリゴヌクレオチド、INHBAを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはACVR1Bを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、複合体は、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤、例えば、抗トランスフェリン受容体1抗体、例えば、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAオリゴヌクレオチドを含む。

20

【0144】

A.筋標的化剤

本開示のいくつかの側面は、例えば、分子ペイロードを筋細胞(例えば、心筋細胞)に送達するための筋標的化剤を提供する。いくつかの態様において、そのような筋標的化剤は、例えば、筋細胞上の抗原への特異的な結合を介して筋細胞に結合すること、および会合された分子ペイロードを筋細胞に送達することが可能である。いくつかの態様において、筋標的化剤は、心筋細胞または心筋組織を標的とするように設計される。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋標的化剤に結合され(例えば、共有結合的に結合され)、例えば、エンドサイトーシスを介して筋標的化剤が筋細胞上の抗原に結合した際に筋細胞内に内在化される。様々なタイプの筋標的化剤が本開示に従って使用され得、いずれかの筋標的(例えば、筋肉表面タンパク質)が、本明細書において記載されるいずれかのタイプの筋標的剤によって標的とされることができると理解されたい。例を挙げると、筋標的化剤は、小分子、核酸(例えば、DNAまたはRNA)、ペプチド(例えば、抗体)、脂質(例えば、マイクロベシクル)または糖部分(例えば、多糖)を含み得るか、またはそれらからなり得る。例示的な筋標的化剤は本明細書さらに詳細に記載されているが、本明細書において提供される例示的な筋標的化剤が限定されることを意味しないことを理解されたい。

40

【0145】

本開示のいくつかの側面は、筋肉、例として、骨格筋、平滑筋または心筋上の抗原に特異的に結合する筋標的化剤を提供する。いくつかの態様において、本明細書において提供される筋標的化剤のいずれかは、心筋細胞、骨格筋細胞および/または平滑筋細胞上の抗原に結合する(例えば、特異的に結合する)。いくつかの態様において、本明細書において

50

提供される筋標的化剤のいずれかは、心筋細胞上の抗原に結合する(例えば、特異的に結合する)。

【0146】

筋肉特異的細胞表面認識要素(例えば、細胞膜タンパク質)との相互作用によって、組織局在化、および筋細胞への選択的取込みの両方が達成されることができ、いくつかの態様において、筋肉の取込みトランスポーターの基質である分子は、分子ペイロードを筋組織内に送達するのに有用である。筋肉表面認識要素への結合、続いてエンドサイトーシスは、大きな分子、例として、抗体さえも筋細胞へ侵入することを可能にすることができる。別の例として、トランスフェリンまたは抗トランスフェリン受容体1抗体にコンジュゲートされた分子ペイロードは、トランスフェリン受容体への結合を介して筋細胞によって取り入れられることができ、次いで、例えば、クラスリン媒介エンドサイトーシスを介して形質膜陥入され得る。

10

【0147】

筋標的化剤の使用は、他の組織内で効果に関連する毒性を低下させながら、筋肉内の分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)を濃縮するのに有用であり得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は、対象内の別の細胞型と比較して、筋細胞内の結合された分子ペイロードを濃縮する。いくつかの態様において、筋標的化剤は、筋細胞(例えば、心筋細胞)内の結合された分子ペイロードを、非筋細胞(例えば、肝臓細胞、神経細胞、血液細胞または脂肪細胞)内の量よりも少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍または100倍多い量に濃縮する。いくつかの態様において、対象における分子ペイロードの毒性は、筋標的化剤に結合した際に対象に送達されると、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%または95%低下する。

20

【0148】

いくつかの態様において、筋肉選択性を達成するために、筋肉認識要素(例えば、筋細胞抗原)が必要とされ得る。一例として、筋標的化剤は、筋肉特異的取込みトランスポーターの基質である小分子であり得る。別の例として、筋標的化剤は、トランスポーター媒介エンドサイトーシスを介して筋細胞に侵入する抗体であり得る。別の例として、筋標的化剤は、筋細胞上の細胞表面受容体に結合するリガンドであり得る。トランスポーターに基づく手法が細胞侵入への直接通路を提供するのに対して、受容体に基づく標的化は、所望の作用部位に達するために刺激されたエンドサイトーシスを伴い得ることを理解されたい。

30

【0149】

i. 筋標的化抗体

いくつかの態様において、筋標的化剤は抗体である。一般に、それらの標的抗原に対する抗体の高い特異性は、筋細胞(例えば、骨格筋細胞、平滑筋細胞および/または(例えば、および)心筋細胞)を選択的に標的とする可能性を提供する。この特異性はまた、オフターゲット毒性を限定し得る。筋細胞の表面抗原を標的とすることが可能な抗体の例は報告されており、本開示の範囲内にある。例を挙げると、筋細胞の表面を標的とする抗体は、参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる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; および 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に記載されている。

40

【0150】

50

a. 抗トランスフェリン受容体1抗体

本開示のいくつかの側面は、トランスフェリン受容体、例えば、抗トランスフェリン受容体抗体に結合する薬剤は筋細胞を標的とすることが可能であるという認識に基づく。トランスフェリン受容体は、細胞膜を越えてトランスフェリンを輸送し細胞内鉄レベルの調節および恒常性に加わる内在化細胞表面受容体である。本開示のいくつかの側面は、トランスフェリン受容体に結合することが可能なトランスフェリン受容体結合タンパク質を提供する。したがって、本開示の側面は、トランスフェリン受容体に結合する結合タンパク質(例えば、抗体)を提供する。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体に結合する結合タンパク質は、いずれかの結合された分子ペイロードとともに筋細胞内に内在化される。本明細書において使用される場合、トランスフェリン受容体に結合する抗体は、トランスフェリン受容体抗体、抗トランスフェリン受容体1抗体または抗TfR1抗体と区別なく呼ばれ得る。トランスフェリン受容体に結合する、例えば、特異的に結合する抗体は、トランスフェリン受容体に結合した際に、例えば、受容体媒介エンドサイトーシスを通じて細胞内に内在化され得る。

10

【0151】

抗トランスフェリン受容体1抗体が、いくつかの公知の方法論、例えば、ファージディスプレイを使用するライブラリー設計を使用して、産生、合成および/または(例えば、および)誘導体化され得ることを理解されたい。例示的な方法論は当技術分野で特徴付けられており、参照により組み込まれる(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.)。他の態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、以前に特徴付けられているかまたは開示されている。トランスフェリン受容体に特異的に結合する抗体は、当技術分野で公知である(例えば、米国特許第4,364,934号、12/4/1979出願、“Monoclonal antibody to a human early thymocyte antigen and methods for preparing same”; 米国特許第8,409,573号、6/14/2006出願、“Anti-CD71 monoclonal antibodies and uses thereof for treating malignant tumor cells”; 米国特許第9,708,406号、5/20/2014出願、“Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use”; 米国特許第9,611,323号、12/19/2014出願、“Low affinity blood brain barrier receptor antibodies and uses therefor”; 国際公開第2015/098989号、12/24/2014出願、“Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”; 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を参照。)

20

30

【0152】

いくつかの側面では、(例えば、筋標的化複合体内の)筋標的化剤として使用するための新たな抗TfR1抗体が、本明細書において提供される。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、高い特異性および親和性でトランスフェリン受容体に結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、トランスフェリン受容体のいずれかの細胞外エピトープ、または抗体に対して曝露されるようになるエピトープに特異的に結合する。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗TfR1抗体は、ヒト、非ヒト霊長類、マウス、ラットなどからのトランスフェリン受容体に特異的に結合する。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗TfR1抗体は、ヒトトランスフェリン受容体に結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、配列番号105~108に提供されるヒトまた

40

50

は非ヒト霊長類トランスフェリン受容体のアミノ酸セグメントに結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、トランスフェリン受容体の先端ドメインにはない、配列番号105に記載のヒトトランスフェリン受容体のアミノ酸90～96に対応するアミノ酸セグメントに結合する。

【0153】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体(例えば、以下の表1の3M12、およびそのヒト化バリエーション)は、配列番号105のアミノ酸258～291および/またはアミノ酸358～381の残基を含むTfR1のエピトープに結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体(例えば、以下の表1の3M12、およびそのヒト化バリエーション)は、配列番号105のアミノ酸258～291およびアミノ酸358～381の残基を含むエピトープに結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体(例えば、以下の表1の3M12、およびそのヒト化バリエーション)は、配列番号105に記載のヒトTfR1の残基K261、S273、Y282、T362、S368、S370およびK371のうち1以上を含むエピトープに結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体(例えば、以下の表1の3M12、およびそのヒト化バリエーション)は、配列番号105に記載のヒトTfR1の残基K261、S273、Y282、T362、S368、S370およびK371を含むエピトープに結合する。

10

【0154】

NCBI配列NP_003225.2(トランスフェリン受容体タンパク質1アイソフォーム1、*homo sapiens*)に対応するヒトトランスフェリン受容体アミノ酸配列の例は、以下の通りである:

20

MMDQARSAFSNLFGGPELSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAVDEEENADNNTKAN
VTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGE
DFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVEN
QFREFKLSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAAT
VTGKL V HANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMD
QTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAA
EKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEP
DHYVVVGAQRDAWGPGAAKSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFGQPSRSIIFASWSA
GDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVVSASPLLYTLIEKTMQN
VKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTT
MDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLN
QYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVE
YHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLENLKLRLKQNNGAFNETLFRNQLALAT
WTIQGAANALSGDVWDIDNEF(配列番号105)。

30

【0155】

NCBI配列NP_001244232.1(トランスフェリン受容体タンパク質1、*Macaca mulatta*)に対応する非ヒト霊長類トランスフェリン受容体アミノ酸配列の例は、以下の通りである:

40

MMDQARSAFSNLFGGPELSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDEEENTDNNTKPNG
TKPKRCGGNICYGTIAVVIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEED
FPAAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQ
FREFKLSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVT
GKL V HANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTK
FPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKL
FGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHY
VVVGAQRDAWGPGAAKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFGQPSRSIIFASWSAGDF
GSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVVSASPLLYTLIEKTMQDVKH
PVTGRSLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDT
YKELVERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLT HDTELNDYERYNSQLLLFLRDLNQYR

50

ADV KEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFRNAEK RDKFVMKKLND RVMRVEYYF
LSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTI
QGAANALSGDVWDIDNEF

(配列番号106)

【0156】

NCBI配列XP_005545315.1(トランスフェリン受容体タンパク質1、*Macaca fascicularis*)に対応する非ヒト霊長類トランスフェリン受容体アミノ酸配列の例は、以下の通りである:

MMDQARSAFSNLF GGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVD E EENTDNNTKAN
GTPKPKRCGGNICYGTIAV I IFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEE
DFPAAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGS QKDENLALYIEN
QFREFKLSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSV I IVDKNGGLVYLVENPGGYVAYS KAAT
VTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQ
TKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPQS SGLPNIPVQTISR AAE
KLFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPD
HYVVVGAQRDAWGPGA AKSSVGTALLLKL AQMFSDMVLKDG FQPSRSIIFASWSAG
DFGSGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDV
KHPVTGRSLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTM
DTYKELVERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDTELNDYERYNSQLLLFLRDLNQ
YRADVKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFRNAEK RDKFVMKKLND RVMRVE
YYFLSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALAT
WTIQGAANALSGDVWDIDNEF(配列番号107)

10

20

【0157】

NCBI配列NP_001344227.1(トランスフェリン受容体タンパク質1、*mus musculus*)に対応するマウストランスフェリン受容体アミノ酸配列の例は、以下の通りである:

MMDQARSAFSNLF GGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLA ADEEENADNNMKAS
VRKPKRFNGRLCFAAIALV I FFLIGFMSGYLG YCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETM
ETEDVPTSSRLYWADLKTLLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGS QKDESLAYYI
ENQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPT
EVSGKLVHANFGTKKDFEELS YSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMD
KNKFPVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPQS SGLPNIPVQTISR A
AEKLF GKMEGSCPARWNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEP
DRYVVVGAQRDALGAGVAAKSSVGTGLLLKL AQVFSDMISKDGF RPSRSIIFASWTA
GDFGAVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVVLGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQD
VKHPVDGKSLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTR
LDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIKLTHDVELNDYEMYN SKLLSFMKDL
NQFKTDIRD MGLSLQWLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNR FVMREINDRIMKV
EYHFLSPYVSPRESPFRHIFWGSGSHTLSALVENLKL RQKNITAFNETLFRNQLALAT
WTIQGVANALSGDIWNIDNEF

30

40

(配列番号108)

【0158】

いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、以下のような受容体:

FVKIQVKDSAQNSV I IVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVHANFGTKKDF
EDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHA
HLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPRS SGLPNIPVQTISR AAEKLF GNMEGDCPSDWK
TDSTCRMVTSESKNV KLT VSNVLKE(配列番号109)のアミノ酸セグメントに結合し、

トランスフェリン受容体とトランスフェリンおよび/または(例えば、および)ヒトヘモクロマトーシスタンパク質(HFEとしても知られる)との間の結合相互作用を阻害しない。

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗トランスフェリン受容体1抗体は、配列番号109のエピトープには結合しない。

50

【0159】

適切な方法論は、例えば、組換えDNAプロトコルの使用を通じて、抗体、抗体断片または抗原結合剤を得るか、および/または(例えば、および)産生するために使用され得る。いくつかの態様において、抗体はまた、ハイブリドーマの生成を通して産生され得る(例えば、Kohler, G and Milstein, C. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity" *Nature*, 1975, 256:495-497を参照)。目的の抗原は、いずれかの形態または実体、例えば、組換えまたは天然に存在する形態または実体の免疫原として使用され得る。ハイブリドーマは、特定の抗原を標的とする抗体を産生する少なくとも1つのハイブリドーマを見出すために、標準的な方法、例えば、ELISAスクリーニングを使用してスクリーニングされる。抗体はまた、抗体を発現するタンパク質発現ライブラリー、例えば、ファージディスプレイライブラリーのスクリーニングを通じて産生され得る。ファージディスプレイライブラリー設計はまた、いくつかの態様において使用され得る(例えば、米国特許第5,223,409号、3/1/1991出願、"Directed evolution of novel binding proteins"; 国際公開第1992/18619号、4/10/1992出願、"Heterodimeric receptor libraries using phagemids"; 国際公開第1991/17271号、5/1/1991出願、"Recombinant library screening methods"; 国際公開第1992/20791号、5/15/1992出願、"Methods for producing members of specific binding pairs"; および国際公開第1992/15679号、2/28/1992出願、"Improved epitope displaying phage"を参照)。いくつかの態様において、目的の抗原は、非ヒト動物、例えば、齧歯類またはヤギを免疫するために使用され得る。いくつかの態様において、次いで、抗体は、非ヒト動物から得られ、任意に、いくつかの方法論を使用して、例えば、組換えDNA技術を使用して、修飾され得る。抗体産生および方法論の追加の例が当技術分野で公知である(例えば、Harlow et al. "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988を参照)。

【0160】

いくつかの態様において、抗体は、修飾されており、例えば、グリコシル化、リン酸化、SUMO化および/または(例えば、および)メチル化を介して修飾されている。いくつかの態様において、抗体は、1以上の糖または炭水化物分子にコンジュゲートされたグリコシル化抗体である。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、N-グリコシル化、O-グリコシル化、C-グリコシル化、グリπιエーション(GPIアンカー付着)および/または(例えば、および)ホスホグリコシル化を介して、抗体にコンジュゲートされている。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、単糖、二糖、オリゴ糖またはグリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、分岐オリゴ糖または分岐グリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、マンノース単位、グルコース単位、N-アセチルグルコサミン単位、N-アセチルガラクトサミン単位、ガラクトース単位、フコース単位またはホスホ脂質単位を包含する。いくつかの態様において、約1~10個、約1~5個、約5~10個、約1~4個、約1~3個、または約2個の糖分子が存在する。いくつかの態様において、グリコシル化抗体は、全体的にまたは部分的にグリコシル化されている。いくつかの態様において、抗体は、化学反応によって、または酵素的な手段によってグリコシル化されている。いくつかの態様において、抗体は、in vitroまたは細胞内でグリコシル化され、任意に、N-またはO-グリコシル化経路では酵素、例えば、グリコシルトランスフェラーゼが欠乏し得る。いくつかの態様において、抗体は、「Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof」と題する、2014年5月1日に公開された国際特許出願公開WO2014065661に記載されているように、糖または炭水化物分子によって官能化されている。

【0161】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表2~7のうちのいずれか1つから選択される抗TfR1抗体のいずれか1つのVLDメインおよび/または(例えば、および)VHドメインを含み、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAまたはIgY免疫グロブリン分子、いずれ

かのクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2)またはいずれかのサブクラス(例えば、IgG2aおよびIgG2b)の免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む定常領域を含む。ヒト定常領域の非限定的な例は当技術分野で記載されており、例えば、上記のKabat E A et al.,(1991)を参照されたい。

【0162】

いくつかの態様において、トランスフェリン受容体に結合する薬剤、例えば、抗TfR1抗体は、筋細胞を標的とすることが可能であり、および/または(例えば、および)血液脳関門を通過する薬剤の輸送を媒介する。トランスフェリン受容体は、細胞膜を越えてトランスフェリンを輸送し細胞内鉄レベルの調節および恒常性に加わる内在化細胞表面受容体である。本開示のいくつかの側面は、トランスフェリン受容体に結合することが可能なトランスフェリン受容体結合タンパク質を提供する。トランスフェリン受容体に結合する、例えば、特異的に結合する抗体は、トランスフェリン受容体に結合した際に、例えば、受容体媒介エンドサイトーシスを通じて細胞内に内在化され得る。

10

【0163】

いくつかの側面では、トランスフェリン受容体に高い特異性および親和性で結合するヒト化抗体が、本明細書において提供される。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、トランスフェリン受容体のいずれかの細胞外エピトープ、または抗体に対して曝露されるようになるエピトープに特異的に結合する。いくつかの態様において、本明細書において提供されるヒト化抗TfR1抗体は、ヒト、非ヒト霊長類、マウス、ラットなどからのトランスフェリン受容体に特異的に結合する。いくつかの態様において、本明細書において提供されるヒト化抗TfR1抗体は、ヒトトランスフェリン受容体に結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、配列番号105~108に提供されるヒトまたは非ヒト霊長類トランスフェリン受容体のアミノ酸セグメントに結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、トランスフェリン受容体の先端ドメインにはない、配列番号105に記載のヒトトランスフェリン受容体のアミノ酸90~96に対応するアミノ酸セグメントに結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、TfR1に結合するが、TfR2には結合しない。

20

【0164】

いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、少なくとも約 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またはそれ以下の結合親和性(例えば、Kdによって示される場合)でTfR1(例えば、ヒトまたは非ヒト霊長類TfR1)に特異的に結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、サブナノモル範囲のKDでTfR1に結合する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、トランスフェリン受容体1(TfR1)に選択的に結合するが、トランスフェリン受容体2(TfR2)には結合しない。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、ヒトTfR1およびカニクイザルTfR1に結合するが(例えば、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} Mまたはそれ以下のKdで)、マウスTfR1には結合しない。抗TfR1抗体の親和性および結合動態は、限定するものではないが、バイオセンサ技術(例えば、OCTETまたはBIA CORE)を包含するいずれかの好適な方法を使用して試験され得る。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つの結合は、TfR1へのトランスフェリン結合と競合しないか、またはそれを阻害しない。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つの結合は、TfR1に対するHFE-ベータ2-ミクログロブリン結合と競合しないか、またはそれを阻害しない。

30

40

【0165】

抗TfR1抗体の非限定的な例は表2に提供される。

【表 2 - 1】

表 2. 抗 Tfr1 抗体の例

Ab	ナンバリ ング系	IMGT	Kabat	Chothia
3-A4	CDR- H1	GFNIKDDY (配列番号 1)	DDYMY (配列番号 7)	GFNIKDD (配列 番号 12)
	CDR- H2	IDPENGDT (配列番号 2)	WIDPENGDT EYASKFQD (配列番号 8)	ENG (配列番号 13)
	CDR- H3	TLWLRRGLDY (配列 番号 3)	WLRRGLDY (配列番号 9)	LRRGLD (配列番 号 14)
	CDR- L1	KSLLSHNGYTY (配列 番号 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (配 列番号 10)	SKSLLSHNGYTY (配列番号 15)
	CDR- L2	RMS (配列番号 5)	RMSNLAS (配列番号 11)	RMS (配列番号 5)
	CDR- L3	MQHLEYPFT (配列 番号 6)	MQHLEYPFT (配列番号 6)	HLEYPF (配列 番号 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWI DPENGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRG LDYWGQGTSVTVSS (配列番号 17)		
	VL	DIVMTQAAPSPVPTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIY RMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGG TKLEIK (配列番号 18)		
3-A4 N54T*	CDR- H1	GFNIKDDY (配列番号 1)	DDYMY (配列番号 7)	GFNIKDD (配 列番号 12)
	CDR- H2	IDPETGDT (配列番号 19)	WIDPETGDTEYASKFQD (配列番号 20)	ETG (配列番号 21)
	CDR- H3	TLWLRRGLDY (配列番 号 3)	WLRRGLDY (配列番号 9)	LRRGLD (配列 番号 14)
	CDR- L1	KSLLSHNGYTY (配列 番号 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (配列 番号 10)	SKSLLSHNGYTY (配列番号 15)
	CDR- L2	RMS (配列番号 5)	RMSNLAS (配列番号 11)	RMS (配列番号 5)
	CDR- L3	MQHLEYPFT (配列 番号 6)	MQHLEYPFT (配列番号 6)	HLEYPF (配列番 号 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWI DPETGDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRG LDYWGQGTSVTVSS (配列番号 22)		

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHNSGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIY RMSNLAGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVIYCMQHLEYPFTFGGG TKLEIK (配列番号 18)		
3-A4 N54S*	CDR- H1	GFNIKDDY (配列番号 1)	DDMY (配列番号 7)	GFNIKDD (配 列番号 12)
	CDR- H2	IDPESGDT (配列番号 23)	WIDPESGDTYASKFQD (配列番号 24)	ESG (配列番号 25)
	CDR- H3	TLWLRRGLDY (配列 番号 3)	WLRRGLDY (配列番号 9)	LRRGLD (配列 番号 14)
	CDR- L1	KSLHNSGYTY (配列 番号 4)	RSSKSLHNSGYTYLF (配 列番号 10)	SKSLHNSGYTY (配列番号 15)
	CDR- L2	RMS (配列番号 5)	RMSNLAG (配列番号 11)	RMS (配列番号 5)
	CDR- L3	MQHLEYPFT (配列 番号 6)	MQHLEYPFT (配列番号 6)	HLEYPF (配列 番号 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWI DPESGDTYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCTLWLRRG LDYWGGQTSVTVSS (配列番号 26)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHNSGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIY RMSNLAGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVIYCMQHLEYPFTFGGG TKLEIK (配列番号 18)		
3-M12	CDR- H1	GYSITSGYY (配列 番号 27)	SGYYWN (配列番号 33)	GYSITSGY (配 列番号 38)
	CDR- H2	ITFDGAN (配列番号 28)	YITFDGANNYNPSLKN (配 列番号 34)	FDG (配列番号 39)
	CDR- H3	TRSSYDYDVL DY (配 列番号 29)	SSYDYDVL DY (配列番号 35)	SYDYDVL D (配 列番号 40)
	CDR- L1	QDISNF (配列番号 30)	RASQDISNFLN (配列番号 36)	SQDISNF (配列 番号 41)
	CDR- L2	YTS (配列番号 31)	YTSRLHS (配列番号 37)	YTS (配列番号 31)
	CDR- L3	QQGHTLPYT (配列 番号 32)	QQGHTLPYT (配列番号 32)	GHTLPY (配列 番号 42)
	VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYIT FDGANNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWGQGTTLTVSS (配列番号 43)		
	VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGGKLEIK (配列番号 44)		
5-H12	CDR- H1	GYSFTDYC (配列番号 45)	DYCIN (配列番号 51)	GYSFTDY (配 列番号 56)
	CDR- H2	IYPGSGNT (配列番号 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (配列番号 52)	GSG (配列番号 57)
	CDR- H3	AREDYYPYHGMDY (配列番号 47)	EDYYPYHGMDY (配列 番号 53)	DYYPYHGMD (配列番号 58)
	CDR- L1	ESVDGYDNSF (配列 番号 48)	RASESVDGYDNSFMH (配 列番号 54)	SESVDGYDNSF (配列番号 59)
	CDR- L2	RAS (配列番号 49)	RASNLES (配列番号 55)	RAS (配列番号 49)
	CDR- L3	QQSSEDPWT (配列 番号 50)	QQSSEDPWT (配列番号 50)	SSSEDPW (配列 番号 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIGWIYP GSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYH GMDYWGQTSVTVSS (配列番号 61)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIF RASNLESIGIPARFSGSGSRDTFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGT KLEIK (配列番号 62)		
5-H12 C33Y*	CDR- H1	GYSFTDYY (配列 番号 63)	DYYIN (配列番号 64)	GYSFTDY (配 列番号 56)
	CDR- H2	IYPGSGNT (配列番号 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (配列番号 52)	GSG (配列番号 57)

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (配列番号 47)	EDYYPYHGMDY (配列 番号 53)	DYYPYHGMD (配列番号 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (配列 番号 48)	RASESVDGYDNSFMH (配 列番号 54)	SESVDGYDNSF (配列番号 59)
	CDR-L2	RAS (配列番号 49)	RASNLES (配列番号 55)	RAS (配列番号 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (配列 番号 50)	QQSSEDPWT (配列番号 50)	SSDPW (配列 番号 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYINWVNQRPQGQGLEWIGWIYP GSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYH GMDYWGQTSVTVSS (配列番号 65)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIF RASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGT KLEIK (配列番号 62)		
5-H12 C33D*	CDR-H1	GYSFTDYD (配列 番号 66)	DYDIN (配列番号 67)	GYSFTDY (配 列番号 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (配列番号 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (配列番号 52)	GSG (配列番号 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (配列番号 47)	EDYYPYHGMDY (配列 番号 53)	DYYPYHGMD (配列番号 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (配列 番号 48)	RASESVDGYDNSFMH (配 列番号 54)	SESVDGYDNSF (配列番号 59)
	CDR-L2	RAS (配列番号 49)	RASNLES (配列番号 55)	RAS (配列番号 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (配列 番号 50)	QQSSEDPWT (配列番号 50)	SSDPW (配列 番号 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPQGQGLEWIGWIYPG SGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGM DYWGQTSVTVSS (配列番号 68)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIF RASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGT KLEIK (配列番号 62)		

10

20

* 変異位置は、変異を含有するそれぞれの VH 配列の Kabat ナンバリングによる

【0166】

30

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表2に提供される抗TfR1抗体のいずれか1つのヒト化バリエーションである。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表2に提供される抗TfR1抗体のいずれか1つのCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と同じCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含み、ヒト化重鎖可変領域および/または(例えば、および)ヒト化軽鎖可変領域を含む。

【0167】

ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域(CDR)からの残基が、所望の特異性、親和性および能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)、例として、マウス、ラットまたはウサギのCDRからの残基によって置き換えられているヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。いくつかの態様において、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体に見出されない残基も、移入された(imported)CDRまたはフレームワーク配列に見出されない残基も含み得るが、抗体の性能をさらに改良および最適化するために包含される残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全部を含むが、可変ドメインでは、CDR領域の全部または実質的に全部が、非ヒト免疫グロブリンのCDR領域に対応し、FR領域の全部または実質的に全部が、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のFR領域である。ヒト化抗体はまた、最適には、免疫グロブリンの定常領域またはドメイン(Fc)、典型的には、ヒト免疫グロブリンの定常領域またはドメイン(Fc)の少なくとも一部も含む。抗体は、国際公開第99/58572号に記載されるように修飾されたFc領域を有し得る。ヒト化抗体の他の形態は、元

40

50

の抗体に関して変化させられた1以上のCDR(1、2、3、4、5、6)を有し、これらはまた、元の抗体からの1以上のCDRに由来する1以上のCDRとも呼ばれる。ヒト化抗体はまた、親和性成熟も伴い得る。

【0168】

ヒト化抗体、およびそれらを作製する方法は、例えば、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); 米国特許第5,821,337号; 米国特許第7,527,791号、米国特許第6,982,321号および米国特許第7,087,409号; 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); ならびに Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260(2000)に記載されているように公知であり、これらのすべての内容は参照により本明細書に組み込まれる。ヒト化のために使用され得るヒトフレームワーク領域は、例えば、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); および Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618(1996)に記載されており、これらのすべての内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【0169】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に列挙されるVHのいずれか1つと比較して(例えば、VHフレームワーク領域に)1以上のアミノ酸変異を含むヒト化VH、および/または(例えば、および)表2に列挙されるVLのいずれか1つと比較して(例えば、VLフレームワーク領域に)1以上のアミノ酸変異を含むヒト化VLを含む。

【0170】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に列挙される抗TfR1抗体のいずれかのVH(例えば、配列番号17、22、26、43、61、65および68のいずれか1つ)と比較して、フレームワーク領域に25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に列挙される抗TfR1抗体のいずれか1つのVL(例えば、配列番号18、44および62のいずれか1つ)と比較して、フレームワーク領域に25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有するヒト化VLを含む。

【0171】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に列挙される抗TfR1抗体のいずれかのVH(例えば、配列番号17、22、26、43、61、65および68のいずれか1つ)とフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含むヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に列挙される抗TfR1抗体のいずれかのVL(例えば、配列番号18、44および62のいずれか1つ)とフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含むヒト化VLを含む。

【0172】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号1のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(IMGT定義系による)配列番号2、配列番号19または配列番号23のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(IMGT定義系による)配列番号3のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号17、配列番号22または配列番号26に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1

以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号4のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(IMGT定義系による)配列番号5アミノ酸配列を有するCDR-L2、および(IMGT定義系による)配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号18に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

【0173】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号1のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(IMGT定義系による)配列番号2、配列番号19または配列番号23のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(IMGT定義系による)配列番号3のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号17、配列番号22または配列番号26に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号4のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(IMGT定義系による)配列番号5アミノ酸配列を有するCDR-L2、および(IMGT定義系による)配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号18のいずれか1つに記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0174】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号7のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義系による)配列番号8、配列番号20または配列番号24のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義系による)配列番号9のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号17、配列番号22または配列番号26に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号10のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Kabat定義系による)配列番号11のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Kabat定義系による)配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号18に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

【0175】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号7のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義系による)配列番号8、配列番号20または配列番号24のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義系による)配列番号9のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号17、配列番号22または配列番号26に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号10のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Kabat定義系による)配列番号11のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Kabat定義系による)配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号18のいずれか1つに記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0176】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配

列番号12のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Chothia定義系による)配列番号13、配列番号21または配列番号25のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Chothia定義系による)配列番号14のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号17、配列番号22または配列番号26に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号15のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Chothia定義系による)配列番号5のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号16のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号18に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

10

【0177】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号12のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Chothia定義系による)配列番号13、配列番号21または配列番号25のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Chothia定義系による)配列番号14のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号17、配列番号22または配列番号26に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号15のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Chothia定義系による)配列番号5のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号16のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号18のいずれか1つに記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

20

【0178】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号27のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(IMGT定義系による)配列番号28のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(IMGT定義系による)配列番号29のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号43に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号30のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(IMGT定義系による)配列番号31のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(IMGT定義系による)配列番号32のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号44に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

30

【0179】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号27のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(IMGT定義系による)配列番号28のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(IMGT定義系による)配列番号29のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号43に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号30のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(IMGT定義系による)配列番号31のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(IMGT定義系による)配列番号32のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号44に記載のVLとフレームワ

40

50

ーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0180】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号33のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義系による)配列番号34のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義系による)配列番号35のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号43に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号36のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Kabat定義系による)配列番号37のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Kabat定義系による)配列番号32のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号44に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

10

【0181】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号33のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義系による)配列番号34のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義系による)配列番号35のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号43に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号36のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Kabat定義系による)配列番号37のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Kabat定義系による)配列番号32のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号44に記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

20

【0182】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号38のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Chothia定義系による)配列番号39のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Chothia定義系による)配列番号40のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号43に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号41のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Chothia定義系による)配列番号31のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号42のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号44に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

30

40

【0183】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号38のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Chothia定義系による)配列番号39のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Chothia定義系による)配列番号40のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号43に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号41のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Chothia定義系による)配列番号31のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号42のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号44に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

50

よる)配列番号31のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号42のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号44に記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0184】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号45、配列番号63または配列番号66のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(IMGT定義系による)配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(IMGT定義系による)配列番号47のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号61、配列番号65または配列番号68に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号48のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(IMGT定義系による)配列番号49のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(IMGT定義系による)配列番号50のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号62に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

【0185】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号45、配列番号63または配列番号66のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(IMGT定義系による)配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(IMGT定義系による)配列番号47のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号61、配列番号65または配列番号68に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号48のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(IMGT定義系による)配列番号49のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(IMGT定義系による)配列番号50のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号62に記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0186】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号51、配列番号64または配列番号67のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義系による)配列番号52のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義系による)配列番号53のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号61、配列番号65、配列番号68に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号54のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Kabat定義系による)配列番号55のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Kabat定義系による)配列番号50のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号62に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

【0187】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号51、配列番号64または配列番号67のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義系による)配列番号52のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義系による)配列番号

53のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号61、配列番号65、配列番号68に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号54のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Kabat定義系による)配列番号55のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Kabat定義系による)配列番号50のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号62に記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0188】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号56のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Chothia定義系による)配列番号57のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Chothia定義系による)配列番号58のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含み、配列番号61、配列番号65、配列番号68に記載のVHと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号59のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Chothia定義系による)配列番号49のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号60のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含み、配列番号62に記載のVLと比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)をフレームワーク領域内に含有するヒト化VLを含む。

【0189】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号56のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Chothia定義系による)配列番号57のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Chothia定義系による)配列番号58のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VHを含み、配列番号61、配列番号65、配列番号68に記載のVHとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号59のアミノ酸配列を有するCDR-L1、(Chothia定義系による)配列番号49のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および(Chothia定義系による)配列番号60のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含み、配列番号62に記載のVLとフレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である。

【0190】

本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体のアミノ酸配列の例は、表3に提供される。

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3. ヒト化抗 Tlr1 抗体の可変領域

抗体	可変領域アミノ酸配列**
3A4 VH3 (N54T*)/Vk4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ETGDTEYASKFQDRVT VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRGLD YWGQGT LVTVSS (配列番号 69)
	VL: DIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSKSL LHSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSN LAS GV PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCM QHLEYPFT FGGGTK VEIK (配列番号 70)
3A4 VH3 (N54S*)/Vk4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ESGDTEYASKFQDRVT VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRGLD YWGQGT LVTVSS (配列番号 71)
	VL: DIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSKSL LHSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSN LAS GV PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCM QHLEYPFT FGGGTK VEIK (配列番号 70)
3A4 VH3 /Vk4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ENG DTEYASK FQDRVT VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRGLD YWGQGT LVTVSS (配列番号 72)
	VL: DIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSKSL LHSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSN LAS GV PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCM QHLEYPFT FGGGTK VEIK (配列番号 70)
3M12 VH3/Vk2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQ TL SLTCSVTGYSIT SGYYWN WIRQPPGKGLEWMGYIT F DGANNYNPSLKNRVSISR DTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVLDY WGQGT TVTVSS (配列番号 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDIS NFLNWYQKPGQPVKLLIY YTSRLH SGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC QQGHTLPY TFGQGTKLEIK (配 列番号 74)
3M12 VH3/Vk3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQ TL SLTCSVTGYSIT SGYYWN WIRQPPGKGLEWMGYIT F DGANNYNPSLKNRVSISR DTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVLDY WGQGT TVTVSS (配列番号 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDIS NFLNWYQKPGQPVKLLIY YTSRLH SGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPY TFGQGTKLEIK (配 列番号 75)
3M12	VH:

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

抗体	可変領域アミノ酸配列**
VH4/Vκ2	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVTGYISITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFD GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDDYW GQGTITVTSS (配列番号 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISNFLNWYQQKPGQPVKLLIYYTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK (配 列番号 74)
3M12 VH4/Vκ3	VH: QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVTGYISITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFD GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDDYW GQGTITVTSS (配列番号 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISNFLNWYQQKPGQPVKLLIYYTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK (配 列番号 75)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYINWVRQAPGQGLEWMGWIIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDYYPYH GMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 77)
	VL: DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGQGTKL EIK (配列番号 78)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYDINWVRQAPGQGLEWMGWIIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDYYPYH GMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 79)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGQGTKL EIK (配列番号 80)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYINWVRQAPGQGLEWMGWIIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDYYPYH GMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 77)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGQGTKL EIK (配列番号 80)

10

20

30

* 変異位置は、変異を含有するそれぞれの VH 配列の Kabat ナンバリングによる

** Kabat ナンバリング系による CDR は太字になっている

【0191】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に提供される抗TfR1抗体のいずれか1つのCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むヒト化VHを含み、表3に提供されるそれぞれのヒト化VHと比較して、フレームワーク領域に1以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上)のアミノ酸変異を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、表2に提供される抗TfR1抗体のいずれか1つのCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むヒト化VLを含み、表3に提供されるそれぞれのヒト化VLと比較して、フレームワーク領域に1以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上)のアミノ酸変異を含む。

40

【0192】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号69と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含むヒト化VH、および/または(例えば、および)配列番号70と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含むヒト化V

50

【 0 1 9 3 】

【 0 1 9 4 】

【 0 1 9 5 】

【 0 1 9 6 】

【 0 1 9 7 】

【 0 1 9 8 】

【 0 1 9 9 】

50

ノ酸配列を含むヒト化VH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むヒト化VLを含む。

【0200】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号79と少なくとも80% (例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%) 同一であるアミノ酸配列を含むヒト化VH、および/または(例えば、および)配列番号80と少なくとも80% 同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含むヒト化VLを含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号79のアミノ酸配列を含むヒト化VH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むヒト化VLを含む。

【0201】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号77と少なくとも80% (例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%) 同一であるアミノ酸配列を含むヒト化VH、および/または(例えば、および)配列番号80と少なくとも80% 同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含むヒト化VLを含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号77のアミノ酸配列を含むヒト化VH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むヒト化VLを含む。

【0202】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、ヒト抗体からの重鎖定常領域および軽鎖定常領域を包含することができる完全長IgGである。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれかの重鎖は、重鎖定常領域(CH)またはその部分(例えば、CH1、CH2、CH3またはそれらの組合せ)を含み得る。重鎖定常領域は、いずれかの好適な起源、例えば、ヒト、マウス、ラットまたはウサギのものであることができる。具体的な一例では、重鎖定常領域は、ヒトIgG(ガンマ重鎖)、例えば、IgG1、IgG2またはIgG4に由来する。ヒトIgG1定常領域の例は、以下に与えられる:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(配列番号81)

【0203】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれかの重鎖は、変異体ヒトIgG1定常領域を含む。例を挙げると、ヒトIgG1のCH2ドメイン内のLALA変異の導入(ヒンジ下部残基Leu234 Leu235をAla234およびAla235によって置き換えるように変異させられたmAb b12に由来する変異体)は、Fcγ受容体結合を減少させることが知られている(Bruhns, P., et al. (2009)およびXu, D. et al. (2000))。変異体ヒトIgG1定常領域は、以下に提供される(変異は太字にされ、下線が付されている):

【数1】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(配列番号82)

【0204】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれかの軽鎖は、当技術分野で公知のいずれかのCLであることができる軽鎖定常領域(CL)をさらに含み得る。いくつかの例では、CLはカップ軽鎖である。他の例では、CLはラムダ軽鎖である。いくつかの態様において、CLはカップ軽鎖であり、その配列は以下に提供される：
RTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号83)

【0205】

他の抗体の重鎖定常領域および軽鎖定常領域、例えば、参照によりいずれも本明細書に組み込まれるIMGT database(www.imgt.org)またはwww.vbase2.org/vbstat.phpに提供されるものが当技術分野で周知である。

10

【0206】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号81または配列番号82と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一である重鎖定常領域を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号81または配列番号82と比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖定常領域を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号81に記載の重鎖定常領域を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号82に記載の重鎖定常領域を含む重鎖を含む。

20

【0207】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVLまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号83と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一である軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVLまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号83と比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVLまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号83に記載の軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。

30

【0208】

記載される抗TfR1抗体のIgG重鎖アミノ酸配列およびIgG軽鎖アミノ酸配列の例は、以下の表4に提供される。

40

【表 4 - 1】

表 4. ヒト化抗 Tfr1 IgG の例の重鎖配列および軽鎖配列

抗体	IgG 重鎖/軽鎖配列**	
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	重鎖（野生型ヒト IgG1 定常領域を有する） <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGW</u> <u>IDPETGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWL</u> <u>RRGLDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP</u> EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号 84）	10
	軽鎖（カッパ軽鎖定常領域を有する） <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSNGYTYLFWFQORPGQSPRLLI</u> <u>YRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTE</u> <u>GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC（配列番号 85）	
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	重鎖（野生型ヒト IgG1 定常領域を有する） <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGW</u> <u>IDPESGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWL</u> <u>RRGLDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP</u> EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号 86）	20
	軽鎖（カッパ軽鎖定常領域を有する） <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSNGYTYLFWFQORPGQSPRLLI</u> <u>YRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTE</u> <u>GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC（配列番号 85）	
3A4 VH3 /Vκ4	重鎖（野生型ヒト IgG1 定常領域を有する） <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGW</u> <u>IDPENGDTYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWL</u> <u>RRGLDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP</u> EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号 87）	30
	軽鎖（カッパ軽鎖定常領域を有する） <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSNGYTYLFWFQORPGQSPRLLI</u> <u>YRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTE</u> <u>GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC（配列番号 85）	
3M12	重鎖（野生型ヒト IgG1 定常領域を有する）	40

【表 4 - 2】

抗体	IgG 重鎖/軽鎖配列**
VH3/Vκ2	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLCSVTGYSTSGYYWNWIROP</u><u>PGKGLEWMGY</u> <u>ITFDGANNYNPSLKNRV</u><u>SISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDY</u> <u>DVLDYWGQGT</u><u>TVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 88) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRV</u><u>TITCRASQDISNFLNWYQOKPGQP</u><u>VKLLIYYTS</u> <u>RLHSGVPSRFSGSGSGT</u><u>DFTLTISSLOPEDFATYFCQOQGH</u><u>TLPTYFGQGTKL</u> <u>EIKRTVAAPS</u><u>VFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS</u> GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 89)
3M12 VH3/Vκ3	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLCSVTGYSTSGYYWNWIROP</u><u>PGKGLEWMGY</u> <u>ITFDGANNYNPSLKNRV</u><u>SISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDY</u> <u>DVLDYWGQGT</u><u>TVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 88) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRV</u><u>TITCRASQDISNFLNWYQOKPGQP</u><u>VKLLIYYTS</u> <u>RLHSGVPSRFSGSGSGT</u><u>DFTLTISSLOPEDFATYFCQOQGH</u><u>TLPTYFGQGTKL</u> <u>EIKRTVAAPS</u><u>VFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS</u> GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 90)
3M12 VH4/Vκ2	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROP</u><u>PGKGLEWIGYI</u> <u>TFDGANNYNPSLKNRV</u><u>SISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDY</u> <u>DVLDYWGQGT</u><u>TVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 91) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRV</u><u>TITCRASQDISNFLNWYQOKPGQP</u><u>VKLLIYYTS</u> <u>RLHSGVPSRFSGSGSGT</u><u>DFTLTISSLOPEDFATYFCQOQGH</u><u>TLPTYFGQGTKL</u> <u>EIKRTVAAPS</u><u>VFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS</u> GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 89)
3M12 VH4/Vκ3	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROP</u><u>PGKGLEWIGYI</u> <u>TFDGANNYNPSLKNRV</u><u>SISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDY</u> <u>DVLDYWGQGT</u><u>TVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 91) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRV</u><u>TITCRASQDISNFLNWYQOKPGQP</u><u>VKLLIYYTS</u> <u>RLHSGVPSRFSGSGSGT</u><u>DFTLTISSLOPEDFATYFCQOQGH</u><u>TLPTYFGQGTKL</u> <u>EIKRTVAAPS</u><u>VFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS</u> GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 89)

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

抗体	IgG 重鎖/軽鎖配列**
	GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk3	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARED</u> <u>YYPYHGMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 92) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKLL</u> <u>IFRASNLESGVPDRFSGSGSRDTFTLTISSLQAEDVAVYYCQOQSEDPWTFG</u> <u>QGTLKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD</u> NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC (配列番号 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vk4	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARED</u> <u>YYPYHGMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 94) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKL</u> <u>LIFRASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQOQSEDPWTF</u> <u>GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk4	重鎖 (野生型ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARED</u> <u>YYPYHGMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 92) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKL</u> <u>LIFRASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQOQSEDPWTF</u> <u>GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 95)

* 変異位置は、変異を含有するそれぞれの VH 配列の Kabat ナンバリングによる

** Kabat ナンバリング系による CDR は太字になっている;VH/VL 配列には下線が引かれている

【0209】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号84、86、87、88、91、92および94のいずれか1つに記載の重鎖と比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号85、89、90、93および95のいずれか1つに記載の軽鎖と比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖を含む

。

【0210】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、配列番号84、86、87、88、91、92および94のいずれか1つと少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、配列番号85、89、90、93および95のいずれか1つと少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、配列番号84、86、87、88、91、92および94のいずれか1つのアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、配列番号85、89、90、93および95のいずれか1つのアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0211】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号84と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号85と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号84のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

20

【0212】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号86と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号85と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号86のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0213】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号87と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号85と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号87のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

30

【0214】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号88と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号89と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号88のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

40

【0215】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号88と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号90と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号88のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0216】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号91と少なくとも8

50

0%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号89と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号91のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0217】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号91と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号90と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号91のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0218】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号92と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号93と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号92のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0219】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号94と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号95と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号94のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0220】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号92と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号95と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号92のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0221】

いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、インタクトな抗体(完全長抗体)のFab断片、Fab'断片またはF(ab')₂断片である。インタクトな抗体(完全長抗体)の抗原結合断片は、常用的な方法を介して(例えば、組換え的に、または酵素、例として、パパインを使用して完全長IgGの重鎖定常領域を消化することによって)調製され得る。例を挙げると、F(ab')₂断片は、抗体分子のペプシンまたはパパイン消化によって産生されることができ、および、Fab'断片は、F(ab')₂断片のジスルフィド架橋を還元することによって生成されることができる。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のFab断片内の重鎖定常領域は、

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT(配列番号96)

のアミノ酸配列を含む。

【0222】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号96と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なく

とも99%同一である重鎖定常領域を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号96と比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖定常領域を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVHまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号96に記載の重鎖定常領域を含む重鎖を含む。

【0223】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVLまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号83と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一である軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVLまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号83と比較して25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、表3に列挙されるVLまたはそれらのいずれかのバリエーションのいずれか1つ、および配列番号83に記載の軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。

【0224】

記載される抗TfR1抗体のFab重鎖アミノ酸配列およびFab軽鎖アミノ酸配列の例は、以下の表5に提供される。

【表5-1】

表5. ヒト化抗TfR1 Fabの例の重鎖配列および軽鎖配列

抗体	Fab 重鎖/軽鎖配列**
3A4 VH3 (N54T*)/Vk4	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKV</u> SCTASGFNIK DDYMYWVR PPGKGLEWIGW <u>IDPETGDTEYASKFQDRVT</u> VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWL <u>RRGLDYWGQ</u> GLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 97)
	軽鎖 (カップ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSL</u> LHSNGYTYLFWFQORPGQSPRLLI <u>YRMSNLASGV</u> PDPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTF <u>GGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNPFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vk4	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKV</u> SCTASGFNIK DDYMYWVR PPGKGLEWIGW <u>IDPESGDTEYASKFQDRVT</u> VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWL <u>RRGLDYWGQ</u> GLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 98)
	軽鎖 (カップ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSL</u> LHSNGYTYLFWFQORPGQSPRLLI <u>YRMSNLASGV</u> PDPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTF <u>GGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNPFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 85)
3A4 VH3 /Vk4	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKV</u> SCTASGFNIK DDYMYWVR PPGKGLEWIGW <u>IDPENG</u> DTTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWL

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

抗体	Fab 重鎖/軽鎖配列**
	RRGLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 99) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFOORPGQSPRLLI YRMSNLASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTF GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 85)
3M12 VH3/Vκ2	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) QVQLQESGPGLVKPSQTLTLTCSVTGYSTSGYYWNWIROP PGKLEWMGY ITFDGANNYNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSTVAEDTATYYCTRSSYDY DVLDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 100) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISNFLN WYQOKPGQPVKLLIYYTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 89)
3M12 VH3/Vκ3	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) QVQLQESGPGLVKPSQTLTLTCSVTGYSTSGYYWNWIROP PGKLEWMGY ITFDGANNYNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSTVAEDTATYYCTRSSYDY DVLDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 100) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISNFLN WYQOKPGQPVKLLIYYTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 90)
3M12 VH4/Vκ2	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) QVQLQESGPGLVKPSQTLTLTCTVTGYSTSGYYWNWIROP PGKLEWIGYI TFDGANNYNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSTVAEDTATYYCTRSSYDY DVLDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 101) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISNFLN WYQOKPGQPVKLLIYYTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 89)
3M12 VH4/Vκ3	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) QVQLQESGPGLVKPSQTLTLTCTVTGYSTSGYYWNWIROP PGKLEWIGYI TFDGANNYNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSSTVAEDTATYYCTRSSYDY DVLDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 101) 軽鎖 (カッパ軽鎖定常領域を有する) DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISNFLN WYQOKPGQPVKLLIYYTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (配列番号 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYINWVRQAPGQGLEWMG WIYPGSGNTRYSERFKGRVITITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARE

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

抗体	Fab 重鎖/軽鎖配列**
5H12 VH5 (C33D*)/Vk4	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>YYPYHGMDYWGQGLTVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 102)
	軽鎖 (カップ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESV</u> <u>DGYDNSFMHWYQQKPGQP</u> <u>PKLL</u> <u>IFRASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTL</u> <u>TISSLQAEDVAVYYCQO</u> <u>SSDPWTFG</u> <u>QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD</u> <u>NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS</u> <u>SPVTKSFNRGEC</u> (配列番号 93)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk4	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYST</u> <u>FDYDINWVRQAPGQGLEWMG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARED</u> <u>YYPYHGMDYWGQGLTVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 103)
	軽鎖 (カップ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESV</u> <u>DGYDNSFMHWYQQKPGQP</u> <u>PKL</u> <u>LIFRASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTL</u> <u>TISSLQAEDVAVYYCQO</u> <u>SSDPWTF</u> <u>GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> <u>DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL</u> <u>SSPVTKSFNREGC</u> (配列番号 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk4	重鎖 (部分的ヒト IgG1 定常領域を有する) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYST</u> <u>FDYYINWVRQAPGQGLEWMG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARED</u> <u>YYPYHGMDYWGQGLTVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 102)
	軽鎖 (カップ軽鎖定常領域を有する) <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESV</u> <u>DGYDNSFMHWYQQKPGQP</u> <u>PKL</u> <u>LIFRASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTL</u> <u>TISSLQAEDVAVYYCQO</u> <u>SSDPWTF</u> <u>GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> <u>DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL</u> <u>SSPVTKSFNREGC</u> (配列番号 95)

* 変異位置は、変異を含有するそれぞれの VH 配列の Kabat ナンバリングによる

**Kabat ナンバリング系による CDR は太字になっている ; VH/VL 配列には下線が引かれている

【0225】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号97～103のいずれか1つに記載の重鎖と比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号85、89、90、93および95のいずれか1つに記載の軽鎖と比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖を含む。

【0226】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、配列番号97～103のいずれか1つと少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、配列番号85、89、90、93および95のいずれか1つと少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、配列番号97～103のいずれか1つのアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、配列番号85、89、90、93および

【 0 2 2 7 】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【 0 2 2 8 】

10

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【 0 2 2 9 】

20

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【 0 2 3 0 】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号100と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号89と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【 0 2 3 1 】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号100と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号90と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

30

【 0 2 3 2 】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号101と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号89と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

40

【 0 2 3 3 】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号101と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号90と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

50

【0234】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号102と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号93と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0235】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号103と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号95と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0236】

いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号102と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖、および/または(例えば、および)配列番号95と少なくとも80%同一である(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)アミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示のヒト化抗TfR1抗体は、配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

20

【0237】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1受容体抗体は、限定するものではないが、インタクトな(すなわち、完全長)抗体、その抗原結合断片(例として、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、一本鎖抗体、二重特異性抗体またはナノボディを包含するいずれかの抗体形態であることができる。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体はscFvである。いくつかの態様において、本明細書において記載されるヒト化抗TfR1抗体は、scFv-Fab(例えば、定常領域の一部に融合されたscFv)である。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1受容体抗体は、C末端またはN末端のいずれかで定常領域(例えば、配列番号81もしくは配列番号82に記載のヒトIgG1定常領域、またはその部分、例として、Fc部分)に融合されたscFvである。

30

【0238】

いくつかの態様において、保存的変異は、例を挙げると、結晶構造に基づいて決定される場合、残基が標的抗原(例えば、トランスフェリン受容体)との相互作用に関与する可能性が低い位置で、抗体配列(例えば、CDRまたはフレームワーク配列)に導入されることことができる。いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)は、抗体の1以上の機能特性、例として、血清半減期、補体固定、Fc受容体結合および/または(例えば、および)抗原依存的細胞傷害性を変化させるために、本明細書において記載される抗TfR1抗体のFc領域(例えば、Kabatナンバリング系(例えば、KabatのEUインデックス)によるナンバリングで、CH2ドメイン(ヒトIgG1の残基231~340)内、および/または(例えば、および)CH3ドメイン(ヒトIgG1の残基341~447)内、および/または(例えば、および)ヒンジ領域内)に導入される。

40

【0239】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)は、ヒンジ領域内のシステイン残基の数が、例えば、米国特許第5,677,425号に記載されるように変化させられる(例えば、増加または減少させられる)ように、Fc領域のヒンジ領域(CH1ドメイン)に導入される。CH1ドメインのヒンジ領域内のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖と重鎖との集合を促進するために、または抗体の安定性を変化させる(例えば、増加または低下させる)ために、またはリンカーのコンジュゲーションを促進す

50

るために、変化させられることができる。

【0240】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)は、エフェクター細胞表面上のFc受容体(例えば、活性化されたFc受容体)に対する抗体の親和性を増加または低下させるために、本明細書において記載される筋標的化抗体のFc領域(例えば、Kabatナンバリング系(例えば、KabatのEUインデックス)によるナンバリングで、CH2ドメイン(ヒトIgG1の残基231~340)内、および/または(例えば、および)CH3ドメイン(ヒトIgG1の残基341~447)内、および/または(例えば、および)ヒンジ領域内)に導入される。Fc受容体に対する抗体の親和性を増加または低下させる、抗体のFc領域内の変異、およびそのような変異をFc受容体またはその断片に導入するための技術は、当業者に公知である。Fc受容体に対する抗体の親和性を変化させるために行われることができる、抗体のFc受容体内の変異の例は、例えば、参照により本明細書に組み込まれるSmith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186、米国特許第6,737,056号、ならびに国際公開番号WO 02/060919; WO 98/23289; およびWO 97/34631に記載されている。

10

【0241】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸変異(すなわち、置換、挿入または欠失)は、in vivoでの抗体の半減期を変化させる(例えば、増加または減少させる)ために、IgG定常ドメインまたはそのFcRn-結合断片(好ましくは、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入される。例えば、in vivoでの抗体の半減期を変化させる(例えば、増加または減少させる)変異の例について、国際公開番号WO 02/060919; WO 98/23289; およびWO 97/34631; ならびに米国特許第5,869,046号、米国特許第6,121,022号、米国特許第6,277,375号および米国特許第6,165,745号を参照されたい。

20

【0242】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸変異(すなわち、置換、挿入または欠失)は、in vivoでの抗TfR1抗体の半減期を減少させるために、IgG定常ドメインまたはそのFcRn-結合断片(好ましくは、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入される。いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸変異(すなわち、置換、挿入または欠失)は、in vivoでの抗体の半減期を増加させるために、IgG定常ドメインまたはそのFcRn-結合断片(好ましくは、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入される。いくつかの態様において、抗体は、KabatのEUインデックス(上記のKabat E A et al., (1991))によるナンバリングで第2の定常(CH2)ドメイン(ヒトIgG1の残基231~340)および/または(例えば、および)第3の定常(CH3)ドメイン(ヒトIgG1の残基341~447)内に1以上のアミノ酸変異(例えば、置換)を有することができる。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のIgG1の定常領域は、KabatにあるようなEUインデックスに従ってナンバリングされた位置252におけるメチオニン(M)からチロシン(Y)への置換、位置254におけるセリン(S)からトレオニン(T)への置換、および位置256におけるトレオニン(T)からグルタミン酸(E)への置換を含む。参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7,658,921号を参照されたい。「YTE変異体」と呼ばれるこのタイプの変異体IgGは、同じ抗体の野生型バージョンと比較して4倍増加した半減期を発揮することが示されている(Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24を参照)。いくつかの態様において、抗体は、KabatにあるようなEUインデックスに従ってナンバリングされた位置251~257、285~290、308~314、385~389、および428~436でのアミノ酸残基の1つ、2つ、3つまたはそれ以上のアミノ酸置換を含むIgG定常ドメインを含む。

30

40

【0243】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸置換は、抗TfR1抗体のエフェクター機能を変化させるために、IgG定常ドメインFc領域に導入される。自身への親和性が変化させられたエフェクターリガンドは、例を挙げると、Fc受容体、または

50

補体のC1成分であることができる。この手法は、米国特許第5,624,821号および米国特許第5,648,260号にさらに詳細に記載されている。いくつかの態様において、定常領域ドメインの欠失または不活化(点変異または他の手段を通じて)は、循環抗体のFc受容体結合を減少させ、それによって、腫瘍局在化を増加させることができる。定常ドメインを欠失させるかまたは不活化し、それによって、腫瘍局在化を増加させる変異の記載については、例えば、米国特許第5,585,097号および米国特許第8,591,886号を参照されたい。いくつかの態様において、1以上のアミノ酸置換は、Fc領域上の潜在的なグリコシル化部位を除去するために、本明細書において記載される抗体のFc領域に導入され得、これにより、Fc受容体結合が減少し得る(例えば、Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-604を参照)。

10

【0244】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体の定常領域内の1以上のアミノは、抗体が変化させられたC1q結合および/または(例えば、および)低減もしくは消失された補体依存性細胞傷害性(CDC)を有するように、異なるアミノ酸残基に置き換えられることができる。この手法は、米国特許第6,194,551号(Idusogie et al)にさらに詳細に記載されている。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のCH2ドメインのN末端領域内の1以上のアミノ酸残基は変化させられて、それによって、抗体が補体を固定する能力を変化させる。この手法は、国際公開番号WO 94/29351にさらに記載されている。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のFc領域は、抗体が抗体依存的細胞傷害性(ADCC)を媒介する能力を増加させるために、および/または(例えば、および)Fcγ受容体に対する抗体の親和性を増加させるために修飾される。この手法は、国際公開番号WO 00/42072にさらに記載されている。

20

【0245】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体の重鎖および/または(例えば、および)軽鎖可変ドメイン配列は、本明細書において他の箇所に記載されているように、例を挙げると、CDR接合抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体もしくは複合ヒト抗体、または抗原結合断片を生成するために使用されることができる。当業者によって理解されるように、本明細書において提供される抗体のいずれかに由来するいずれかのバリエーション、CDR接合抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体または複合抗体は、本明細書において記載される組成物および方法に有用であり得、バリエーション、CDR接合抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体または複合抗体が、これが由来する元の抗体と比べて、トランスフェリン受容体への少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%以上の結合を有するように、トランスフェリン受容体に特異的に結合する能力を維持する。

30

【0246】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体は、所望の特性を抗体に付与する変異を含む。例を挙げると、天然のIgG4 mAbに生じることが知られているFabアーム交換に起因する潜在的な合併症を回避するために、本明細書において提供される抗体は、安定化「Adair」変異を含み得(Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human(IgG4) antibody," Mol Immunol 30,105-108;1993)、ここで、セリン228(EUナンバリング; 残基241 Kabatナンバリング)は、IgG1様ヒンジ配列をもたすプロリンに変換されている。したがって、抗体のいずれかは、安定化「Adair」変異を含み得る。

40

【0247】

いくつかの態様において、抗体は、修飾されており、例えば、グリコシル化、リン酸化、SUMO化および/または(例えば、および)メチル化を介して修飾されている。いくつかの態様において、抗体は、1以上の糖または炭水化物分子にコンジュゲートされたグリコシル化抗体である。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、N-グリコシル化、O-グリコシル化、C-グリコシル化、グリπιエーション(GPIアンカー付着)および/または(例えば、および)ホスホグリコシル化を介して、抗体にコンジュゲートされ

50

ている。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、単糖、二糖、オリゴ糖またはグリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、分岐オリゴ糖または分岐グリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、マンノース単位、グルコース単位、N-アセチルグルコサミン単位、N-アセチルガラクトサミン単位、ガラクトース単位、フコース単位またはホスホ脂質単位を包含する。いくつかの態様において、約1~10個、約1~5個、約5~10個、約1~4個、約1~3個、または約2個の糖分子が存在する。いくつかの態様において、グリコシル化抗体は、全体的にまたは部分的にグリコシル化されている。いくつかの態様において、抗体は、化学反応によって、または酵素的な手段によってグリコシル化されている。いくつかの態様において、抗体は、in vitroまたは細胞内でグリコシル化され、任意に、N-またはO-グリコシル化経路では酵素、例えば、グリコシルトランスフェラーゼが欠乏し得る。いくつかの態様において、抗体は、「Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof」と題する、2014年5月1日に公開された国際特許出願公開WO2014065661に記載されているように、糖または炭水化物分子によって官能化されている。

10

【0248】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つは、重鎖および/または(例えば、および)軽鎖配列にシグナルペプチド(例えば、N末端シグナルペプチド)を含み得る。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体は、VH配列およびVL配列のいずれか1つ、IgG重鎖配列およびIgG軽鎖配列のいずれか1つ、または本明細書において記載されるFab重鎖配列およびFab軽鎖配列のいずれか1つを含み、シグナルペプチド(例えば、N末端シグナルペプチド)をさらに含む。いくつかの態様において、シグナルペプチドはMGWSCIILFLVATATGVHS(配列番号104)のアミノ酸配列を含む。

20

【0249】

他の公知の抗トランスフェリン受容体1抗体

当技術分野で公知のいずれかの他の適切な抗トランスフェリン受容体1抗体は、本明細書において開示される複合体内の筋標的化剤として使用され得る。関連する参考文献および結合エピトープを包含する公知の抗トランスフェリン受容体1抗体の例は、表6に列挙される。いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、本明細書において提供される抗トランスフェリン受容体1抗体、例えば、表6に列挙される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかの相補性決定領域(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)を含む。

30

40

50

【表 6 - 1】

表 6- 関連する参考文献および結合エピトープ情報を包含する抗トランスフェリン受容体 1 抗体クローンの一覧。

抗体クローン名	参考文献	エピトープ/注記
OKT9	12/4/1979 出願、「MONOCLONAL ANTIBODY TO A HUMAN EARLY THYMOCYTE ANTIGEN AND METHODS FOR PREPARING SAME」と題する米国特許第 4,364,934 号 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.	TfR の先端ドメイン（ヒト TfR 配列 XM_052730.3（配列番号 404）の残基 305～366、GenBank において入手可能）
(JCR 製) クローン M11 クローン M23 クローン M27 クローン B84	12/24/2014 出願、国際公開第 2015/098989 号「Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier」 12/24/2014 出願、米国特許第 9,994,641 号「Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier」	先端ドメイン（TfR の残基 230～244、および 326～347）およびプロテアーゼ様ドメイン（残基 461～473）
(Genentech 製) 7A4、8A2、 15D2、10D11、 7B10、15G11、 16G5、13C3、 16G4、16F6、 7G7、4C2、 1B12 および 13D4	5/26/2016 出願、「ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE」と題する国際公開第 2016/081643 号 5/20/2014 出願、「Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use」と題する米国特許第 9,708,406 号	先端ドメインおよび非先端領域
(Armagen 製)	Lee et al. “Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal	

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

8D3	Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse” 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052. 9/11/2008 出願、「COMPOSITIONS AND METHODS FOR BLOOD-BRAIN BARRIER DELIVERY IN THE MOUSE」と題する米国特許出願第 2010/077498 号	
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.	
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	市販の抗トランスフェリン受容体抗体。	Novus Biologicals 8100 Southpark Way, A-8 Littleton CO 80120
(INSERM 製) BA120g	6/15/2005出願、「ANTI-CD71 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF FOR TREATING MALIGNANT TUMOR CELLS」と題する米国特許出願第2011/0311544号	OKT9 と競合しない
LUCA31	6/7/2004 出願、「TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES」と題する米国特許第 7,572,895 号	「LUCA31 エピトープ」
(Salk Institute) 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	

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

R17 217.1.3、 5E9C11、 OKT9 (BE0023 クロ ーン)	市販の抗トランスフェリン受容体抗体。	BioXcell 10 Technology Dr., Suite 2B West Lebanon, NH 03784-1671 USA
BK19.9、 B3/25、 T56/14、およ び 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.	

10

【0250】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つからのCDR-H(例えば、CDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)アミノ酸配列のうちの1以上を包含する。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つについて提供されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を包含する。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つについて提供されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を包含する。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つについて提供されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を包含する。本開示はまた、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つについて提供されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2またはCDR-L3を含む分子をコードするいずれかの核酸配列を包含する。いくつかの態様において、抗体の重鎖CDR3ドメインおよび軽鎖CDR3ドメインは、抗原に対する抗体の結合特異性/親和性に特に重要な役割を演じ得る。したがって、本開示の抗TfR1抗体は、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つの少なくとも重鎖および/または(例えば、および)軽鎖CDR3を包含し得る。

20

【0251】

いくつかの例では、本開示の抗TfR抗体のいずれかは、表6から選択される抗TfR1抗体のうちの1つからのCDR-H1配列、CDR-H2配列、CDR-H3配列、CDR-L1配列、CDR-L2配列および/または(例えば、および)CDR-L3配列のいずれかと実質的に同様の1以上のCDR(例えば、CDR-HまたはCDR-L)配列を有する。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のVH(例えば、CDR-H1、CDR-H2またはCDR-H3)および/または(例えば、および)VL(例えば、CDR-L1、CDR-L2またはCDR-L3)領域に沿った1以上のCDRの位置は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、1、2、3、4、5または6アミノ酸位置だけ変動することができる。例えば、いくつかの態様において、本明細書において記載されるいずれかの抗体のCDRを定義する位置は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、本明細書において記載される抗体のいずれか1つのCDR位置と比べて、CDRのN末端および/または(例えば、および)C末端境界を1、2、3、4、5または6アミノ酸だけずらすことによって変動することができる。別の態様において、本明細書において記載される抗体のVH(例えば、CDR-H1、CDR-H2またはCDR-H3)および/または(例えば、および)VL(例えば、CDR-L1、CDR-L2またはCDR-L3)領域に沿った1以上のCDRの長さは、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結

30

40

50

合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、1、2、3、4、5またはそれ以上のアミノ酸だけ変動することができる(例えば、さらに短いまたはさらに長い)。

【0252】

したがって、いくつかの態様において、本明細書において記載されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2および/または(例えば、および)CDR-H3は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合と比べて少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、本明細書において記載されるCDR(例えば、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかからのCDR)のうちの1以上よりも1、2、3、4、5またはそれ以上のアミノ酸短くあり得る。いくつかの態様において、本明細書において記載されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2および/または(例えば、および)CDR-H3は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合と比べて少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、本明細書において記載されるCDR(例えば、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかからのCDR)のうちの1以上よりも1、2、3、4、5またはそれ以上のアミノ酸長くあり得る。いくつかの態様において、本明細書において記載されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2および/または(例えば、および)CDR-H3のアミノ部分は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合と比べて少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、本明細書において記載されるCDR(例えば、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかからのCDR)のうちの1以上と比較して1、2、3、4、5またはそれ以上のアミノ酸だけ伸長されることができる。いくつかの態様において、本明細書において記載されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2および/または(例えば、および)CDR-H3のカルボキシ部分は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合と比べて少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、本明細書において記載されるCDR(例えば、表6から選

10

20

30

40

50

択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかからのCDR)のうちの1以上と比較して1、2、3、4、5またはそれ以上のアミノ酸だけ短縮されることができる。例を挙げると、当技術分野で記載された結合アッセイおよび条件を使用して、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持されるかどうかを確かめるためのいずれかの方法が使用されることができる。

【0253】

いくつかの例では、本開示の抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかは、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つと実質的に同様の1以上のCDR(例えば、CDR-HまたはCDR-L)配列を有する。例を挙げると、抗体は、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に対する免疫特異的結合が維持される(例えば、実質的に維持される、例を挙げると、それが由来する元の抗体の結合と比べて少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%)限り、本明細書において提供されるCDR(例えば、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかからのCDR)のいずれか1つの対応するCDR領域と比較して最大5、4、3、2または1アミノ酸残基変異を含有する表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかからの1以上のCDR配列を包含し得る。いくつかの態様において、本明細書において提供されるCDRのいずれかにおけるアミノ酸変異のいずれかは、保存的な変異であり得る。保存的な変異は、例を挙げると、結晶構造に基づいて決定される場合、残基がトランスフェリン受容体タンパク質(例えば、ヒトトランスフェリン受容体タンパク質)との相互作用に関与する可能性が低い位置で、CDRに導入されることができる。本開示のいくつかの側面は、本明細書において提供される重鎖可変(VH)および/または(例えば、および)軽鎖可変(VL)ドメインのうちの1以上を含むトランスフェリン受容体抗体を提供する。いくつかの態様において、本明細書において提供されるVHドメインのいずれかは、本明細書において提供されるCDR-H配列(例えば、CDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)のうちの1以上、例を挙げると、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つに提供されるCDR-H配列のいずれかを包含する。いくつかの態様において、本明細書において提供されるVLドメインのいずれかは、本明細書において提供されるCDR-L配列(例えば、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)のうちの1以上、例を挙げると、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つに提供されるCDR-L配列のいずれかを包含する。

【0254】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つの重鎖可変ドメインおよび/または(例えば、および)軽鎖可変ドメインを包含するいずれかの抗体を包含する。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つの重鎖可変対および軽鎖可変対を包含するいずれかの抗体を包含する。

【0255】

本開示の側面は、本明細書において記載されるもののいずれかに相同な重鎖可変(VH)および/または(例えば、および)軽鎖可変(VL)ドメインアミノ酸配列を有する抗TfR1抗体を提供する。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、いずれかの抗TfR1抗体、例として、表6から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つの重鎖可変配列および/またはいずれかの軽鎖可変配列と少なくとも75%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一である重鎖可変配列または軽鎖可変配列を含む。いくつかの態様において、相同な重鎖可変および/または(例えば、および)軽鎖可変アミノ酸配列は、本明細書において提供されるCDR配列のいずれかでは変動しない。例を挙げると、いくつかの態様において、配列変異の程度(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)は、本明細書において提供されるCDR配列のいずれかを除外した重鎖可変および/または(例えば、および)軽鎖可変配列内で起こり得る。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗TfR1抗体のいずれかは、いずれかの抗TfR1抗体、例として、表6

から選択される抗TfR1抗体のいずれか1つのフレームワーク配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一であるフレームワーク配列を含む重鎖可変配列および軽鎖可変配列を含む。

【0256】

いくつかの態様において、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に特異的に結合する抗トランスフェリン受容体1抗体は、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかの、本明細書において提供されるCDR-Lドメイン(CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)またはCDR-Lドメインバリエーションのいずれかを含む軽鎖可変VLドメインを含む。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体(例えば、ヒトトランスフェリン受容体)に特異的に結合する抗トランスフェリン受容体1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つのCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む軽鎖可変VLドメインを含む。いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つの軽鎖可変領域配列のフレームワーク領域のうちの1、2、3または4つを含む軽鎖可変(VL)領域配列を含む。いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つの軽鎖可変領域配列のフレームワーク領域のうちの1、2、3または4つと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%または100%同一である軽鎖可変領域配列のフレームワーク領域のうちの1、2、3または4つを含む。いくつかの態様において、該アミノ酸配列に由来する軽鎖可変フレームワーク領域は、最大10個のアミノ酸置換、欠失および/または(例えば、および)挿入、好ましくは最大10個のアミノ酸置換の存在を除けば、該アミノ酸配列からなる。いくつかの態様において、該アミノ酸配列に由来する軽鎖可変フレームワーク領域は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10アミノ酸残基が、対応する非ヒト、霊長類またはヒトの軽鎖可変フレームワーク領域内の類似の位置に見出されるアミノ酸と置換されている該アミノ酸配列からなる。

【0257】

いくつかの態様において、トランスフェリン受容体に特異的に結合する抗トランスフェリン受容体1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つのCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗体は、ヒトまたは霊長類の抗体のVLに由来する1つ、2つ、3つ、または4つ全部のVLフレームワーク領域をさらに含む。本明細書において記載される軽鎖CDR配列とともに使用するために選択される抗体の霊長類またはヒトの軽鎖フレームワーク領域は、例を挙げると、非ヒト親抗体の軽鎖フレームワーク領域と少なくとも70%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、98%または少なくとも99%)の同一性を有することができる。選択される霊長類またはヒトの抗体は、その軽鎖相補性決定領域内で、本明細書において提供される抗体のいずれか、例えば、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかの軽鎖相補性決定領域のアミノ酸に対して、同じ数または実質的に同じ数のアミノ酸を有することができる。いくつかの態様において、霊長類またはヒトの軽鎖フレームワーク領域のアミノ酸残基は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つの軽鎖フレームワーク領域と少なくとも75%の同一性、少なくとも80%の同一性、少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも98%の同一性、少なくとも99%(またはそれ以上)の同一性を有する、天然の霊長類またはヒトの抗体軽鎖フレームワーク領域からのものである。いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、ヒト軽鎖可変カップサブファミリーに由来する1つ、2つ、3つ、または4つ全部のVLフレームワーク領域をさらに含む。いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、ヒト軽鎖可変ラムダサブファミリーに由来する1つ、2つ、3つ、または4つ全部のVLフレ

ームワーク領域をさらに含む。

【0258】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれかは、軽鎖定常領域をさらに含む軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの態様において、軽鎖定常領域は、カップまたはラムダ軽鎖定常領域である。いくつかの態様において、カップまたはラムダ軽鎖定常領域は、哺乳動物から、例えば、ヒト、サル、ラットまたはマウスからのものである。いくつかの態様において、軽鎖定常領域はヒトカップ軽鎖定常領域である。いくつかの態様において、軽鎖定常領域はヒトラムダ軽鎖定常領域である。本明細書において提供される軽鎖定常領域のいずれかは、本明細書において提供される軽鎖定常領域のいずれかのバリエーションであり得ることを理解されたい。いくつかの態様において、軽鎖定常領域は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つの軽鎖定常領域のいずれかと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【0259】

いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つである。

【0260】

いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、いずれかの抗トランスフェリン受容体1抗体、例として、表6から選択される抗トランスフェリン受容体1抗体のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVLドメインを含み、ここで、定常領域は、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAもしくはIgY免疫グロブリン分子、またはヒトIgG、IgE、IgM、IgD、IgAもしくはIgY免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗トランスフェリン受容体1抗体は、VLドメインまたはVLドメインバリエーションのいずれか、およびVHドメインまたはVHドメインバリエーションのいずれかを含み、ここで、VLドメインおよびVHドメイン、またはそれらのバリエーションは、同じ抗体クローンからのものであり、ここで、定常領域は、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAもしくはIgY免疫グロブリン分子、いずれかのクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2)またはいずれかのサブクラス(例えば、IgG2aおよびIgG2b)の免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む。ヒト定常領域の非限定的な例は当技術分野で記載されており、例えば、上記のKabat E A et al.,(1991)を参照されたい。

20

30

【0261】

いくつかの態様において、筋標的化剤は、トランスフェリン受容体抗体(例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際出願公開WO 2016/081643に記載されているような抗体およびそのバリエーション)である。

【0262】

様々な定義系による抗体の重鎖CDRおよび軽鎖CDRは、表7に提供される。様々な定義系、例えば、Kabat定義、Chothia定義および/または(例えば、および)contact定義が記載されている。例えば、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; および Almagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004)を参照されたい。hgmp.mrc.ac.uk and bioinf.org.uk/absも参照されたい。

40

【0263】

本開示に従って使用され得るトランスフェリン受容体抗体の例は、参照により本明細書に組み込まれる国際出願公開WO 2016/081643に記載されている。この抗体のCDRアミノ酸配列は、表7に提供される。

50

【表 7】

表 7. マウストランスフェリン受容体抗体の重鎖 CDR および軽鎖

配列タイプ	Kabat	Chothia	Contact
CDR-H1	SYWMH (配列番号 110)	GYTFTSY (配列番号 116)	TSYWMH (配列番号 118)
CDR-H2	EINPTNGRTNYIE KFKS (配列番号 111)	NPTNGR (配列番号 117)	WIGEINPTNGRTN (配列番号 119)
CDR-H3	GTRAYHY (配列番号 112)	GTRAYHY (配列番号 112)	ARGTRA (配列番号 120)
CDR-L1	RASDNLYSNLA (配列番号 113)	RASDNLYSNLA (配列番号 113)	YSNLAWY (配列番号 121)
CDR-L2	DATNLAD (配列番号 114)	DATNLAD (配列番号 114)	LLVYDATNLA (配列番号 122)
CDR-L3	QHFWGTPLT (配列番号 115)	QHFWGTPLT (配列番号 115)	QHFWGTPL (配列番号 123)

10

【0264】

重鎖可変ドメイン(VH)配列および軽鎖可変ドメイン配列も提供される:

【0265】

VH

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPTN
GRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSTV
TVSS(配列番号124)

20

【0266】

VL

DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKGKSPQLLVYDATNLAD
GVPSRFGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELK(配列番号
125)

【0267】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と同じであるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3と同じであるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む。

30

【0268】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と比較して、5つ以下のアミノ酸変異(例えば、5つ、4つ、3つ、2つまたは1つ以下のアミノ酸変異)を合わせて含有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む。「合わせて」は、3つの重鎖CDRの全部におけるアミノ酸変異の総数が、定義された範囲内にあることを意味する。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3と比較して、5つ以下のアミノ酸変異(例えば、5つ、4つ、3つ、2つまたは1つ以下のアミノ酸変異)を合わせて含有するCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含み得る。

40

【0269】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、CDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含み、これらのうちの少なくとも1つは、表7に示される対応物重鎖CDRと比較して、3つ以下のアミノ酸変異(例えば、3つ、2つまたは1つ以下のアミノ酸変異)を含有する。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含み得、これらのうちの少なくとも1つは、表7に示される対応物軽鎖CDRと比較して、3つ以下のアミノ酸変異(例えば、3つ、2つまたは1つ以下のアミノ酸変異)を含有する。

【0270】

50

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-L3と比較して、3つ以下のアミノ酸変異(例えば、3つ、2つまたは1つ以下のアミノ酸変異)を含有するCDR-L3を含む。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-L3と比較して、1つのアミノ酸変異を含有するCDR-L3を含む。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、QHFGAGTPLT(配列番号126)(KabatおよびChothia定義系による)またはQHFGAGTPL(配列番号127)(Contact定義系による)のCDR-L3を含む。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と同じであるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1およびCDR-L2を含み、QHFGAGTPLT(配列番号126)(KabatおよびChothia定義系による)またはQHFGAGTPL(配列番号127)(Contact定義系による)のCDR-L3を含む。

10

【0271】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1は、表7に示される重鎖CDRと、合わせて少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一である重鎖CDRを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、表7に示される軽鎖CDRと、合わせて少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一である軽鎖CDRを含む。

【0272】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号124のアミノ酸配列を含むVHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号125のアミノ酸配列を含むVLを含む。

20

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号128に記載のVHと比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有するVHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号129に記載のVLと比較して、15以下のアミノ酸変異(例えば、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有するVLを含む。

【0273】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号124に記載のVHと少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号125に記載のVLと少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。

30

【0274】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、ヒト化抗体(例えば、抗体のヒト化バリエーション)である。いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、表7に示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と同じであるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含み、ヒト化重鎖可変領域および/または(例えば、および)ヒト化軽鎖可変領域を含む。

【0275】

40

ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域(CDR)からの残基が、所望の特異性、親和性および能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)、例として、マウス、ラットまたはウサギのCDRからの残基によって置き換えられているヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。いくつかの態様において、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体に見出されない残基も、移入された(imported)CDRまたはフレームワーク配列に見出されない残基も含み得るが、抗体の性能をさらに改良および最適化するために包含される残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全部を含むが、可変ドメインでは、CDR領域の全部または実質的に全部が、非ヒト免疫グロブリンのCDR領域に対応し、FR領域の全部または実質的に

50

全部が、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のFR領域である。ヒト化抗体はまた、最適には、免疫グロブリンの定常領域またはドメイン(Fc)、典型的には、ヒト免疫グロブリンの定常領域またはドメイン(Fc)の少なくとも一部も含む。抗体は、国際公開第99/58572号に記載されるように修飾されたFc領域を有し得る。ヒト化抗体の他の形態は、元の抗体に関して変化させられた1以上のCDR(1、2、3、4、5、6)を有し、これらはまた、元の抗体からの1以上のCDRに由来する1以上のCDRとも呼ばれる。ヒト化抗体はまた、親和性成熟も伴い得る。

【0276】

いくつかの態様において、ヒト化は、CDR(例えば、表7に示される)をIGKV1-NL1*01およびIGHV1-3*01ヒト可変ドメインに接合させることによって達成される。いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号125に記載のVLと比較して、位置9、13、17、18、40、45および70に1以上のアミノ酸置換、ならびに/または(例えば、ならびに)配列番号124に記載のVHと比較して、位置1、5、7、11、12、20、38、40、44、66、75、81、83、87および108に1以上のアミノ酸置換を含むヒト化バリエーションである。いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号125に記載のVLと比較して、位置9、13、17、18、40、45および70の全部にアミノ酸置換、ならびに/または(例えば、ならびに)配列番号124に記載のVHと比較して、位置1、5、7、11、12、20、38、40、44、66、75、81、83、87および108の全部にアミノ酸置換を含むヒト化バリエーションである。

【0277】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、ヒト化抗体であり、配列番号125に記載のVLの位置43および48に残基を含有する。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、ヒト化抗体であり、配列番号124に記載のVHの位置48、67、69、71および73に残基を含有する。

【0278】

本開示に従って使用され得るヒト化抗体の例のVHアミノ酸配列およびVLアミノ酸配列は、以下に提供される:

【0279】

ヒト化VH

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTN
GRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTM
VTVSS(配列番号128)

【0280】

ヒト化VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLDG
VPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGGGTKVEIK

(配列番号129)

【0281】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号128のアミノ酸配列を含むVHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号129のアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0282】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号128に記載のVHと比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有するVHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号129に記載のVLと比較して、15以下のアミノ酸変異(例えば、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有するVLを含む。

【0283】

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号128に記載のVHと少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号129に記載のVLと少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0284】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号125に記載のVLと比較して、位置43および48のうちの1以上にアミノ酸置換、ならびに/または(例えば、ならびに)配列番号124に記載のVHと比較して、位置48、67、69、71および73のうちの1以上にアミノ酸置換を含むヒト化バリエーションである。いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号125に記載のVLと比較して、S43Aおよび/もしくは(例えば、および)V48L変異、ならびに/または(例えば、ならびに)配列番号124に記載のVHと比較して、A67V、L69I、V71RおよびK73Tのうちの1以上の変異を含むヒト化バリエーションである。

【0285】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号125に記載のVLと比較して、位置9、13、17、18、40、43、48、45および70のうちの1以上にアミノ酸置換、ならびに/または(例えば、ならびに)配列番号124に記載のVHと比較して、位置1、5、7、11、12、20、38、40、44、48、66、67、69、71、73、75、81、83、87および108のうちの1以上にアミノ酸置換を含むヒト化バリエーションである。

【0286】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、ヒト抗体からの重鎖定常領域および軽鎖定常領域を包含することができるキメラ抗体である。キメラ抗体とは、第1の種からの可変領域または一部の可変領域、および第2の種からの定常領域を有する抗体を指す。典型的には、これらのキメラ抗体では、軽鎖および重鎖の両方の可変領域は、ある種の哺乳動物(例えば、非ヒト哺乳動物、例として、マウス、ウサギおよびラット)に由来する抗体の可変領域を模倣するのに対して、定常部分は、別の哺乳動物、例として、ヒトに由来する抗体内の配列と相同である。いくつかの態様において、アミノ酸修飾は、可変領域および/または(例えば、および)定常領域に対して行われることができる。

【0287】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、ヒト抗体からの重鎖定常領域および軽鎖定常領域を包含することができるキメラ抗体である。キメラ抗体とは、第1の種からの可変領域または一部の可変領域、および第2の種からの定常領域を有する抗体を指す。典型的には、これらのキメラ抗体では、軽鎖および重鎖の両方の可変領域は、ある種の哺乳動物(例えば、非ヒト哺乳動物、例として、マウス、ウサギおよびラット)に由来する抗体の可変領域を模倣するのに対して、定常部分は、別の哺乳動物、例として、ヒトに由来する抗体内の配列と相同である。いくつかの態様において、アミノ酸修飾は、可変領域および/または(例えば、および)定常領域に対して行われることができる。

【0288】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体のいずれかの重鎖は、重鎖定常領域(CH)またはその一部(例えば、CH1、CH2、CH3またはそれらの組合せ)を含み得る。重鎖定常領域は、いずれかの好適な起源、例えば、ヒト、マウス、ラットまたはウサギのものであり得る。具体的な一例では、重鎖定常領域は、ヒトIgG(ガンマ重鎖)、例えば、IgG1、IgG2またはIgG4に由来する。ヒトIgG1定常領域の例は、以下に与えられる:

【0289】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL

QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(配列番号130)
【0290】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体の
いずれかの軽鎖は、当技術分野で公知のいずれかのCLであり得る軽鎖定常領域(CL)をさ
らに含み得る。いくつかの例では、CLはカップ軽鎖である。他の例では、CLはラムダ軽
鎖である。いくつかの態様において、CLはカップ軽鎖であり、その配列は以下に提供さ
れる:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号8
3)
【0291】

他の抗体の重鎖定常領域および軽鎖定常領域、例えば、参照によりいずれも本明細書に
組み込まれるIMGT database(www.imgt.org)または[www.vbase2.org/vbstat.ph](http://www.vbase2.org/vbstat.php)
p.に提供されるものが当技術分野で周知である。

【0292】

記載されるトランスフェリン受容体抗体の重鎖アミノ酸配列および軽鎖アミノ酸配列の
例は、以下に提供される:

【0293】

重鎖(VH+ヒトIgG1定常領域)

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWWVKQRPGQGLEWIGEINPTN
GRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(配列番
号132)

【0294】

軽鎖(VL+カップ軽鎖)

DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKGKSPQLLVYDATNLAD
GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYQCQHFHWGTPLTFGAGTKLELKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号133)

【0295】

重鎖(ヒト化VH+ヒトIgG1定常領域)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWWVRQAPGQRLEWIGEINPTN
GRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGT
MTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(配列番
号134)

【0296】

軽鎖(ヒト化VL+カップ軽鎖)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASDNLVSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLAG
VPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFVGTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号135)

【0297】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号132と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号133と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号132のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号133のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0298】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号132に記載の重鎖と比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号133に記載の軽鎖と比較して、15以下のアミノ酸変異(例えば、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖を含む。

20

【0299】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号134と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号135と少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%または98%)同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号134のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号135のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

30

【0300】

いくつかの態様において、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号134に記載のヒト化抗体の重鎖と比較して、25以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本開示のトランスフェリン受容体抗体は、配列番号135に記載のヒト化抗体の軽鎖と比較して、15以下のアミノ酸変異(例えば、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖を含む。

40

【0301】

いくつかの態様において、トランスフェリン受容体抗体は、インタクトな抗体(完全長抗体)の抗原結合断片(Fab)である。インタクトな抗体(完全長抗体)の抗原結合断片は、常用的な方法を介して調製されることができる。例を挙げると、F(ab')₂断片は、抗体分子のペプシン消化によって産生されることができ、および、Fab'断片は、F(ab')₂断片のジスルフィド架橋を還元することによって生成されることができる。本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体のFabアミノ酸配列の例は、以下に提供される：

【0302】

50

重鎖Fab(VH+ヒトIgG1定常領域の一部)

【0303】

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPTN
GRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP(

配列番号136)

【0304】

重鎖Fab(ヒト化VH+ヒトIgG1定常領域の一部)

【0305】

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTN
GRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARGTRAYHYWGQGT M
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
P(配列番号137)

【0306】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号136のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号133のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0307】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号137のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。あるいは、または加えて(例えば、加えて)、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、配列番号135のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0308】

本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、限定するものではないが、インタクトな(すなわち、完全長)抗体、その抗原結合断片(例として、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、一本鎖抗体、二重特異性抗体またはナノボディを包含するいずれかの抗体形態であることができる。いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体はscFvである。いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、scFv-Fab(例えば、定常領域の一部に融合されたscFv)である。いくつかの態様において、本明細書において記載されるトランスフェリン受容体抗体は、定常領域(例えば、配列番号130に記載のヒトIgG1定常領域)に融合されたscFvである。

【0309】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つは、組換えDNA技術によって、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞懸濁培養において、任意に、CHO-K1細胞(例えば、European Collection of Animal Cell Culture、カタログ番号85051005に由来するCHO-K1細胞)内で産生される。

【0310】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体は、1以上の翻訳後修飾を有し得る。いくつかの態様において、ピログルタマート形成(ピロGlu)とも呼ばれるN末端環化が、産生中にN末端グルタマート(Glu)および/またはグルタミン(Gln)残基で抗体に起こり得る。このように、N末端グルタマートまたはグルタミン残基を含む配列を有すると特定される抗体は、翻訳後修飾から生じるピログルタマート形成を受けた抗体を包摂することを理解されたい。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、重鎖配列内で起こる。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、軽鎖配列内で起こる。

【0311】

b.他の筋標的化抗体

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、筋標的化抗体は、ヘモジュベリン(hemojuvelin)、カベオリン-3、デュシェンヌ型筋ジストロフィーペプチド、またはミオシンlib、またはCD63に特異的に結合する抗体である。いくつかの態様において、筋標的化抗体は、筋原性前駆体タンパク質に特異的に結合する抗体である。例示的な筋原性前駆体タンパク質は、限定するものではないが、ABCG2、M-カドヘリン/カドヘリン-15、カベオリン-1、CD34、FoxK1、インテグリンアルファ7、インテグリンアルファ7ベータ1、MYF-5、MyoD、ミオゲニン、NCAM-1/CD56、Pax3、Pax7、およびPax9を包含する。いくつかの態様において、筋標的化抗体は、骨格筋タンパク質に特異的に結合する抗体である。例示的な骨格筋タンパク質は、限定するものではないが、アルファ-サルコグリカン、ベータ-サルコグリカン、カルパイン阻害剤、クレアチンキナーゼMM/CKMM、eIF5A、エノラーゼ2/ニューロン特異的エノラーゼ、イプシロン-サルコグリカン、FABP3/H-FABP、GDF-8/ミオスタチン、GDF-11/GDF-8、インテグリンアルファ7、インテグリンアルファ7ベータ1、インテグリンベータ1/CD29、MCAM/CD146、MyoD、ミオゲニン、ミオシン軽鎖キナーゼ阻害剤、NCAM-1/CD56、およびトロポニンIを包含する。いくつかの態様において、筋標的化抗体は、平滑筋タンパク質に特異的に結合する抗体である。例示的な平滑筋タンパク質は、限定するものではないが、アルファ-平滑筋アクチン、VE-カドヘリン、カルデスモン/CALD1、カルボニン1、デスミン、ヒスタミンH2 R、モチリンR/GPR38、トランスジェリン(Transgelin)/TAGLN、およびビメンチンを包含する。ただし、追加の標的に対する抗体が本開示の範囲内にあること、および本明細書において提供される標的の例示的な一覧が限定されることを意味しないことを理解されたい。

10

20

【0312】

c. 抗体の特色/変化

いくつかの態様において、保存的変異は、例を挙げると、結晶構造に基づいて決定される場合、残基が標的抗原(例えば、トランスフェリン受容体)との相互作用に関与する可能性が低い位置で、抗体配列(例えば、CDRまたはフレームワーク配列)に導入されることができる。いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)は、抗体の1以上の機能特性、例として、血清半減期、補体固定、Fc受容体結合および/または抗原依存的細胞傷害性を変化させるために、本明細書において記載される筋標的化抗体のFc領域(例えば、Kabatナンバリング系(例えば、KabatのEUインデックス)によるナンバリングで、CH2ドメイン(ヒトIgG1の残基231~340)内、および/またはCH3ドメイン(ヒトIgG1の残基341~447)内、および/またはヒンジ領域内)に導入される。

30

【0313】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)は、ヒンジ領域内のシステイン残基の数が、例えば、米国特許第5,677,425号に記載されるように変化させられる(例えば、増加または減少させられる)ように、Fc領域のヒンジ領域(CH1ドメイン)に導入される。CH1ドメインのヒンジ領域内のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖と重鎖との集合を促進するために、または抗体の安定性を変化させる(例えば、増加または低下させる)ために、またはリンカーのコンジュゲーションを促進するために、変化させられることができる。

40

【0314】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)は、エフェクター細胞表面上のFc受容体(例えば、活性化されたFc受容体)に対する抗体の親和性を増加または低下させるために、本明細書において記載される筋標的化抗体のFc領域(例えば、Kabatナンバリング系(例えば、KabatのEUインデックス)によるナンバリングで、CH2ドメイン(ヒトIgG1の残基231~340)内、および/またはCH3ドメイン(ヒトIgG1の残基341~447)内、および/またはヒンジ領域内)に導入される。Fc受容体に対する抗体の親和性を増加または低下させる、抗体のFc領域内の変異、およびそのような変異をFc受容体またはその断片に導入するための技術は、当業者に公知である。Fc

50

受容体に対する抗体の親和性を変化させるために行われることができる、抗体のFc受容体内の変異の例は、例えば、参照により本明細書に組み込まれるSmith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186、米国特許第6,737,056号、ならびに国際公開番号WO 02/060919; WO 98/23289; およびWO 97/34631に記載されている。

【0315】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸変異(すなわち、置換、挿入または欠失)は、in vivoでの抗体の半減期を変化させる(例えば、増加または減少させる)ために、IgG定常ドメインまたはそのFcRn-結合断片(好ましくは、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入される。例えば、in vivoでの抗体の半減期を変化させる(例えば、増加または減少させる)変異の例について、国際公開番号WO 02/060919; WO 98/23289; およびWO 97/34631; ならびに米国特許第5,869,046号、米国特許第6,121,022号、米国特許第6,277,375号および米国特許第6,165,745号を参照されたい。

10

【0316】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸変異(すなわち、置換、挿入または欠失)は、in vivoでの抗トランスフェリン受容体1抗体の半減期を減少させるために、IgG定常ドメインまたはそのFcRn-結合断片(好ましくは、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入される。いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸変異(すなわち、置換、挿入または欠失)は、in vivoでの抗体の半減期を増加させるために、IgG定常ドメインまたはそのFcRn-結合断片(好ましくは、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入される。いくつかの態様において、抗体は、KabatのEUインデックス(上記のKabat E A et al., (1991))によるナンバリングで第2の定常(CH2)ドメイン(ヒトIgG1の残基231~340)および/または第3の定常(CH3)ドメイン(ヒトIgG1の残基341~447)内に1以上のアミノ酸変異(例えば、置換)を有することができる。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のIgG1の定常領域は、KabatにあるようなEUインデックスに従ってナンバリングされた位置252におけるメチオニン(M)からチロシン(Y)への置換、位置254におけるセリン(S)からトレオニン(T)への置換、および位置256におけるトレオニン(T)からグルタミン酸(E)への置換を含む。参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7,658,921号を参照されたい。「YTE変異体」と呼ばれるこのタイプの変異体IgGは、同じ抗体の野生型バージョンと比較して4倍増加した半減期を発揮することが示されている(Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24を参照)。いくつかの態様において、抗体は、KabatにあるようなEUインデックスに従ってナンバリングされた位置251~257、285~290、308~314、385~389、および428~436でのアミノ酸残基の1つ、2つ、3つまたはそれ以上のアミノ酸置換を含むIgG定常ドメインを含む。

20

30

【0317】

いくつかの態様において、1つ、2つまたはそれ以上のアミノ酸置換は、抗トランスフェリン受容体1抗体のエフェクター機能を変化させるために、IgG定常ドメインFc領域に導入される。自身への親和性が変化させられたエフェクターリガンドは、例を挙げると、Fc受容体、または補体のC1成分であることができる。この手法は、米国特許第5,624,821号および米国特許第5,648,260号にさらに詳細に記載されている。いくつかの態様において、定常領域ドメインの欠失または不活化(点変異または他の手段を通じて)は、循環抗体のFc受容体結合を減少させ、それによって、腫瘍局在化を増加させることができる。定常ドメインを欠失させるかまたは不活化し、それによって、腫瘍局在化を増加させる変異の記載については、例えば、米国特許第5,585,097号および米国特許第8,591,886号を参照されたい。いくつかの態様において、1以上のアミノ酸置換は、Fc領域上の潜在的なグリコシル化部位を除去するために、本明細書において記載される抗体のFc領域に導入され得、これにより、Fc受容体結合が減少し得る(例えば、Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-604を参照)。

40

【0318】

50

いくつかの態様において、本明細書において記載される筋標的化抗体の定常領域内の1以上のアミノは、抗体が変化させられたClq結合および/または低減もしくは消失された補体依存性細胞傷害性(CDC)を有するように、異なるアミノ酸残基に置き換えられることができる。この手法は、米国特許第6,194,551号(Idsogie et al)にさらに詳細に記載されている。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のCH2ドメインのN末端領域内の1以上のアミノ酸残基は変化させられて、それによって、抗体が補体を固定する能力を変化させる。この手法は、国際公開番号WO 94/29351にさらに記載されている。いくつかの態様において、本明細書において記載される抗体のFc領域は、抗体が抗体依存的細胞傷害性(ADCC)を媒介する能力を増加させるために、および/またはFcγ受容体に対する抗体の親和性を増加させるために修飾される。この手法は、国際公開番号WO 00/42072にさらに記載されている。

10

【0319】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体の重鎖および/または軽鎖可変ドメイン配列は、本明細書において他の箇所に記載されているように、例を挙げると、CDR接合抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体もしくは複合ヒト抗体、または抗原結合断片を生成するために使用されることができる。当業者によって理解されるように、本明細書において提供される抗体のいずれかに由来するいずれかのバリエーション、CDR接合抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体または複合抗体は、本明細書において記載される組成物および方法に有用であり得、バリエーション、CDR接合抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体または複合抗体が、これが由来する元の抗体と比べて、トランスフェリン受容体への少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%以上の結合を有するように、トランスフェリン受容体に特異的に結合する能力を維持する。

20

【0320】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体は、所望の特性を抗体に付与する変異を含む。例を挙げると、天然のIgG4 mAbに生じることが知られているFabアーム交換に起因する潜在的な合併症を回避するために、本明細書において提供される抗体は、安定化「Adair」変異を含み得(Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human(IgG4) antibody," Mol Immunol 30,105-108;1993)、ここで、セリン228(EUナンバリング; 30 残基241 Kabatナンバリング)は、IgG1様ヒンジ配列をもたすプロリンに変換されている。したがって、抗体のいずれかは、安定化「Adair」変異を含み得る。

30

【0321】

本明細書において提供されるように、本開示の抗体は、任意に、定常領域またはその一部を含み得る。例を挙げると、VLドメインは、そのC末端で、軽鎖定常ドメイン様CκまたはCλに付着されていてもよい。同様に、VHドメインまたはその一部は、全部または一部の重鎖様IgA、IgD、IgE、IgGおよびIgM、ならびにいずれかのアイソタイプのサブクラスに付着されていてもよい。抗体は、好適な定常領域を包含し得る(例を挙げると、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No.91-3 242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md.(1991)を参照 40)。したがって、本開示の範囲内の抗体は、いずれかの好適な定常領域と組み合わせられて、VHドメインおよびVLドメイン、またはその抗原結合部分を包含し得る。

40

【0322】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表1または表2に列挙されるマウス抗体(例えば、3A4、3M12または5H12)のCDRを有するヒトフレームワーク領域を含むヒト化抗体である。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表1または表2に列挙されるマウス抗体(例えば、3A4、3M12または5H12)のCDRを有するヒトフレームワーク領域を含むIgG1カッパである。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、表1または表2に列挙されるマウス抗体(例えば、3A4、3M12または5H12)のCDRを有するヒトフレームワーク領域を含むIgG1カッパのFab断片である。

50

【0323】

いくつかの態様において、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つは、組換えDNA技術によって、チャイニーズハムスター卵巢(CHO)細胞懸濁培養において、任意に、CHO-K1細胞(例えば、European Collection of Animal Cell Culture、カタログ番号85051005に由来するCHO-K1細胞)内で産生される。

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体は、1以上の翻訳後修飾を有し得る。いくつかの態様において、ピログルタマート形成(ピロGlu)とも呼ばれるN末端環化が、産生中にN末端グルタマート(Glu)および/またはグルタミン(Gln)残基で抗体に起こり得る。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、重鎖配列内で起こる。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、軽鎖配列内で起こる。

10

【0324】

ii.筋標的化ペプチド

本開示のいくつかの側面は、筋標的化剤として筋標的化ペプチドを提供する。特定の細胞型に結合する短いペプチド配列(例えば、5~20アミノ酸長のペプチド配列)が記載されている。例を挙げると、細胞標的化ペプチドは、参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる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; 2001年12月11日に発行された「METHODS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING COMPOUNDS TO MUSCLE」と題する米国特許第6,329,501号; および 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に記載されている。特定の細胞表面抗原(例えば、受容体)と相互作用するようにペプチドを設計することによって、所望の組織、例えば、筋肉に対する選択性が獲得されることができ。骨格筋標的化が調査されており、広範囲な分子ペイロードが送達されることが可能である。大きな抗体またはウイルス粒子に関する実際上の不利な点の多くが存在しないこれらの手法は、筋組織に対する高い選択性を有し得る。したがって、いくつかの態様において、筋標的化剤は、4~50アミノ酸長の筋標的化ペプチドである。いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、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または50アミノ酸長である。筋標的化ペプチドは、いくつかの方法のいずれか、例として、ファージディスプレイを使用して生成されることができ。

20

30

【0325】

いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、特定の他の細胞と比較して、筋細胞内で過剰発現されるかまたは相対的に高度に発現される内在化細胞表面受容体、例えば、トランスフェリン受容体に結合し得る。いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、トランスフェリン受容体を標的にし得、例えば、トランスフェリン受容体に結合し得る。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体を標的とするペプチドは、天然に存在するリガンド、例えば、トランスフェリンのセグメントを含み得る。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体を標的とするペプチドは、米国特許第6,743,893号、11/30/2000出願、「RECEPTOR-MEDIATED UPTAKE OF PEPTIDES THAT BIND THE HUMAN TRANSFERRIN RECEPTOR」に記載されている通りである。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体を標的とするペプチドは、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に記載されている通りである。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体を標的とするペプチドは、米国特許第8,399,653号、5/20/2011

40

50

出願、「TRANSFERRIN/TRANSFERRIN RECEPTOR-MEDIATED SIRNA DELIVERY」に記載されている通りである。

【0326】

上述のように、筋標的化ペプチドの例が報告されている。例を挙げると、筋肉特異的ペプチドは、表面ヘプタペプチドを提示するファージディスプレイライブラリーを使用して同定された。一例として、アミノ酸配列ASSLNIA(配列番号375)を有するペプチドは、*in vitro*ではC2C12マウス筋管に結合し、*in vivo*ではマウス筋組織に結合した。したがって、いくつかの態様において、筋標的化剤は、アミノ酸配列ASSLNIA(配列番号375)を含む。このペプチドは、マウスに対する静脈内注射後に心筋組織および骨格筋組織への結合について改善された特異性を示し、肝臓、腎臓および脳への結合が減少した。追加の筋肉特異的ペプチドがファージディスプレイを使用して同定されている。例を挙げると、DMDへの処置という状況では、12個のアミノ酸ペプチドが、筋標的化のためのファージディスプレイライブラリーによって同定された。参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれるYoshida D., et al., "Targeting of salicylate to skin and muscle following topical injections in rats." *Int J Pharm* 2002;231:177-84を参照されたい。ここで、配列SKTFNTHPQSTP(配列番号376)を有する12個のアミノ酸ペプチドが同定され、この筋標的化ペプチドは、ASSLNIA(配列番号375)ペプチドと比べてC2C12細胞への改善された結合を示した。

10

【0327】

他の細胞型よりも筋肉(例えば、骨格筋)に対して選択的なペプチドを同定するための追加の方法は、*in vitro*での選択を含み、これは、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる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に記載されている。ランダムな12量体ペプチドファージディスプレイライブラリーを非筋細胞型の混合物とプレインキュベートすることによって、非特異的細胞バインダーが選出された。選択を繰り返した後、12個のアミノ酸ペプチドTARGEHKEEELI(配列番号377)が最も頻繁に出現した。したがって、いくつかの態様において、筋標的化剤は、アミノ酸配列TARGEHKEEELI(配列番号377)を含む。

20

【0328】

筋標的化剤は、アミノ酸含有分子またはペプチドであり得る。筋標的化ペプチドは、筋細胞に見出されたタンパク質受容体に優先的に結合するタンパク質の配列に対応し得る。いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、ペプチドが筋細胞(例えば、心筋細胞)を優先的に標的とするように、疎水性アミノ酸、例えば、バリンの性質を強く含有する。いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、これまでに特徴付けも開示もされていない。これらのペプチドは、いくつかの方法論のいずれか、例えば、ファージディスプレイペプチドライブラリー、1ビーズ・1化合物(one-bead one-compound)ペプチドライブラリー、またはポジショナルスキニング(positional scanning)合成ペプチドコンビナトリアルライブラリーを使用して、想起、産生、合成および/または誘導体化され得る。例示的な方法論は、当技術分野で特徴付けられており、参照により組み込まれる(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.). いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、以前に開示されている(例えば、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

30

40

50

,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を参照。)。例示的な筋標的化ペプチドは、以下の群のアミノ酸配列を含む:CQAQGQLVC(配列番号378)、CSERSMNFC(配列番号379)、CPKTRRVPC(配列番号380)、WLSEAGPVVTVRALRGTTGSW(配列番号381)、ASSLNIA(配列番号376)、CMQHSMRVC(配列番号382)およびDDTRHWG(配列番号383)。いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは、約2~25アミノ酸、約2~20アミノ酸、約2~15アミノ酸、約2~10アミノ酸または約2~5アミノ酸を含み得る。筋標的化ペプチドは、天然に存在するアミノ酸、例えば、システイン、アラニン、または天然に存在しないか、もしくは修飾されたアミノ酸を含み得る。天然に存在しないアミノ酸は、 β -アミノ酸、ホモ-アミノ酸、プロリン誘導体、3-置換アラニン誘導体、線形コアアミノ酸、N-メチルアミノ酸、および当技術分野で公知のその他のアミノ酸を包含する。いくつかの態様において、筋標的化ペプチドは線状であり得、他の態様において、筋標的化ペプチドは環状、例えば、二環式であり得る(例えば、Silvana,M.G.et al.Mol.Therapy,2018,26:1,132-147を参照。)

10

20

30

40

50

【0329】

iii.筋標的化受容体リガンド

筋標的化剤は、リガンド、例えば、受容体タンパク質に結合するリガンドであり得る。筋標的化リガンドは、筋細胞(例えば、心筋細胞)によって発現される内在化細胞表面受容体に結合するタンパク質、例えば、トランスフェリンであり得る。したがって、いくつかの態様において、筋標的化剤は、トランスフェリン、またはトランスフェリン受容体に結合するその誘導体である。あるいは、筋標的化リガンドは、小分子、例えば、他の細胞型と比べて筋細胞を優先的に標的とする親油性小分子であり得る。筋細胞を標的とし得る例示的な親油性小分子は、コレステロール、コレステリル、ステアリン酸、パルミチン酸、オレイン酸、オレイル、リノレン酸、リノール酸、ミリスチン酸、ステロール、ジヒドロテストステロン、テストステロン誘導体、グリセリン、アルキル鎖、トリチル基およびアルコキシ酸を含む化合物を包含する。

【0330】

iv.筋標的化アプタマー

筋標的化剤は、他の細胞型と比べて筋細胞を優先的に標的とするアプタマー、例えば、RNAアプタマーであり得る。いくつかの態様において、筋標的化アプタマーは、これまでに特徴付けも開示もされていない。これらのアプタマーは、いくつかの方法論のいずれか、例えば、指数関数的濃縮によるリガンドの体系的進化(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment)を使用して、想起、産生、合成および/または誘導体化され得る。例示的な方法論は、当技術分野で特徴付けられており、参照により組み込まれる(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.)。いくつかの態様において、筋標的化アプタマーは、以前に開示されている(例えば、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を参照。)。例示的な筋標的化アプタマーは、A01B RNAアプタマーおよびRNA Apt 14を包含する。いくつかの態様において、アプタマーは、核酸に基づくアプタマー、オリゴヌクレオチドアプタマー、またはペプチドアプタマーである。いくつかの態様において、アプタマーは、約5~15kDa、約5~10kDa、約10~15kDa、約1~5Da、約1~3kDaまたはそれ以下であり得る。

【0331】

v.他の筋標的化剤

筋細胞(例えば、心筋細胞)を標的とするための1つの戦略は、筋肉トランスポータータンパク質、例として、筋線維鞘上に発現されたトランスポータータンパク質の基質を使用

することである。いくつかの態様において、筋標的化剤は、筋組織に特異的な流入トランスポーターの基質である。いくつかの態様において、流入トランスポーターは、骨格筋組織に特異的である。骨格筋の筋線維鞘上に発現されるトランスポーターの二大クラスは、(1)骨格筋組織からの流出を促進するアデノシン三リン酸(ATP)結合カセット(ABC)スーパーファミリー、および(2)骨格筋内への基質の流入を促進することができる溶質輸送体(solute carrier)(SLC)スーパーファミリーである。いくつかの態様において、筋標的化剤は、トランスポーターのABCスーパーファミリーまたはSLCスーパーファミリーに結合する基質である。いくつかの態様において、トランスポーターのABCまたはSLCスーパーファミリーに結合する基質は、天然に存在する基質である。いくつかの態様において、トランスポーターのABCまたはSLCスーパーファミリーに結合する基質は、天然に存在しない基質、例を挙げると、トランスポーターのABCまたはSLCスーパーファミリーに結合するその合成誘導体である。

10

【0332】

いくつかの態様において、筋標的化剤は、トランスポーターのSLCスーパーファミリーを標的とする、本明細書において記載されるいずれかの筋標的化剤(例えば、抗体、核酸、小分子、ペプチド、アプタマー、脂質、糖部分)である。いくつかの態様において、筋標的化剤は、トランスポーターのSLCスーパーファミリーの基質である。SLCトランスポーターは、平衡型であるか、または膜を横切って作成されたプロトンもしくはナトリウムのイオン勾配を使用して基質の輸送を推進する。高い骨格筋発現を有する例示的なSLCトランスポーターは、限定するものではないが、SATTトランスポーター(ASCT1;SLC1A4)、GLUT4トランスポーター(SLC2A4)、GLUT7トランスポーター(GLUT7;SLC2A7)、ATRC2トランスポーター(CAT-2;SLC7A2)、LAT3トランスポーター(KIAA0245;SLC7A6)、PHT1トランスポーター(PTR4;SLC15A4)、OATP-Jトランスポーター(OATP5A1;SLC21A15)、OCT3トランスポーター(EMT;SLC22A3)、OCTN2トランスポーター(FLJ46769;SLC22A5)、ENTトランスポーター(ENT1;SLC29A1およびENT2;SLC29A2)、PAT2トランスポーター(SLC36A2)およびSAT2トランスポーター(KIAA1382;SLC38A2)を包含する。これらのトランスポーターは、骨格筋への基質の流入を促進し、筋標的化のための好機を提供することができる。

20

【0333】

いくつかの態様において、筋標的化剤は、平衡型ヌクレオシドトランスポーター2(ENT2)トランスポーターの基質である。他のトランスポーターと比べて、ENT2は、骨格筋内で最も高いmRNA発現の1つを有する。ヒトENT2(hENT2)は、ほとんどの体器官、例として、脳、心臓、胎盤、胸腺、脾臓、前立腺および腎臓に発現されるものの、特に骨格筋に豊富である。ヒトENT2は、その基質の取込みを、それらの濃度勾配に応じて促進する。ENT2は、広範囲なプリンおよびピリミジン核酸塩基を輸送することによってヌクレオシド恒常性を維持する役割を果たす。hENT2トランスポーターは、イノシンを除くあらゆるヌクレオシド(アデノシン、グアノシン、ウリジン、チミジンおよびシチジン)に対して低い親和性を有する。したがって、いくつかの態様において、筋標的化剤はENT2基質である。例示的なENT2基質は、限定するものではないが、イノシン、2',3'-ジデオキシイノシン、およびクロファラビンを含む。いくつかの態様において、本明細書において提供される筋標的化剤のいずれかは、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチドペイロード)と会合される。いくつかの態様において、筋標的化剤は、分子ペイロードに共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、筋標的化剤は、分子ペイロードに非共有結合的に連結されている。

30

40

【0334】

いくつかの態様において、筋標的化剤は、ナトリウムイオン依存性の高親和性カルニチントランスポーターである有機カチオン/カルニチントランスポーター(OCTN2)の基質である。いくつかの態様において、筋標的化剤は、カルニチン、ミルドロナート、アセチルカルニチン、またはOCTN2に結合するそのいずれかの誘導体である。いくつかの態様において、カルニチン、ミルドロナート、アセチルカルニチン、またはその誘導体は、分

50

子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチドペイロード)に共有結合的に連結されている。

【0335】

筋標的化剤は、筋細胞を標的とする少なくとも1つの可溶性形態で存在するタンパク質であるタンパク質であり得る。いくつかの態様において、筋標的化タンパク質は、鉄過剰および恒常性に関与するタンパク質であるヘモジュベリン(反発誘導分子Cまたはヘモクロマトーシス2型タンパク質としても知られる)であり得る。いくつかの態様において、ヘモジュベリンは、完全長もしくは断片、または機能的ヘモジュベリンタンパク質に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%配列同一性を有する変異体であり得る。いくつかの態様において、ヘモジュベリン変異体は、可溶性断片であり得、N末端シグナル伝達を欠いていてもよく、および/またはC末端アンカードメイン(anchoring domain)を欠いていてもよい。いくつかの態様において、ヘモジュベリンは、GenBank RefSeqアクセッション番号NM_001316767.1(配列番号405)、NM_145277.4(配列番号406)、NM_202004.3(配列番号407)、NM_213652.3(配列番号408)またはNM_213653.3(配列番号409)の下にアノテーションされていてもよい。ヘモジュベリンが、ヒト、非ヒト霊長類または齧歯類を起源とするものであり得ることを理解されたい。

10

【0336】

B. 分子ペイロード

本開示のいくつかの側面は、分子ペイロード、例えば、生物学的結果、例えば、DNA配列の転写、タンパク質の発現、またはタンパク質の活性を調整するための分子ペイロードを提供する。いくつかの態様において、分子ペイロードは、筋標的化剤に連結されているか、または他の方法で会合されている。いくつかの態様において、そのような分子ペイロードは、例えば、会合された筋標的化剤による筋細胞への送達後の筋細胞内の核酸またはタンパク質への特異的結合を介して、筋細胞を標的とすることが可能である。様々なタイプの分子ペイロードが本開示に従って使用され得ることを理解されたい。例を挙げると、分子ペイロードは、オリゴヌクレオチド(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)、ペプチド(例えば、筋細胞内で疾患に関連する核酸またはタンパク質に結合するペプチド)、タンパク質(例えば、筋細胞内で疾患に関連する核酸またはタンパク質に結合するタンパク質)もしくは小分子(例えば、筋細胞内で疾患に関連する核酸またはタンパク質の機能を調整する小分子)を含み得るか、またはこれらからなり得る。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MSTNに対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、INHBA遺伝子(例えば、INHBA DNAまたはINHBA RNA)に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、ACVR1Bに対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、野生型ACVR1に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、FOPに関連する変異体ACVR1に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、FBXO32に対する相補性領域(例えば、NM_001242463.2(配列番号655)、NM_058229.4(配列番号505)、NM_148177.2(配列番号656)、XM_005564029.2(配列番号657)、NM_026346.3(配列番号506)および/またはNM_133521.1(配列番号658)に対する相補性)を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、TRIM63に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aをコードする核酸配列(例えば、mRNAまたはDNA)に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aをコードする遺伝子に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MEF2D、KLF15

20

30

40

50

、MED1、MED13またはPPP1R3Aをコードする疾患対立遺伝子に対する相補性領域を有する鎖を含むオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A核酸のDNAデコイである。いくつかの態様において、2つ以上の分子ペイロード(例えば、2つ以上の遺伝子を標的とする)が、筋標的化剤に連結され得る。非限定的な例として、複合体は、ACVR1BおよびMSTNを標的とするか、ACVR1BおよびINHBAを標的とするか、MSTNおよびINHBA標的とするか、またはACVR1B、MSTNおよびINHBAを標的とする分子ペイロードを含み得る。例示的な分子ペイロードが本明細書においてさらに詳細に記載されているが、本明細書において提供される例示的な分子ペイロードが限定されることを意味しないことを理解されたい。

10

【0337】

i. オリゴヌクレオチド

本明細書において記載されるように、いずれかの好適なオリゴヌクレオチドが、分子ペイロードとして使用され得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、mRNAの分解を引き起こすように設計され得る(例えば、オリゴヌクレオチドは、分解を引き起こすギャップマー、siRNA、リボザイムまたはアプタマーであり得る)。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、遺伝子(例えば、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A)の発現を促進するかまたは増加させるように設計され得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、mRNAの翻訳を遮断するように設計され得る(例えば、オリゴヌクレオチドは、翻訳を遮断するミックスマー、siRNAまたはアプタマーであり得る)。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、mRNAの分解を引き起こし、mRNAの翻訳を遮断するように設計され得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、酵素(例えば、遺伝子編集酵素)の活性を導くためのガイド核酸(例えば、ガイドRNA)であり得る。オリゴヌクレオチドの他の例は本明細書において提供される。いくつかの態様において、一方の形式からの機能的配列(例えば、アンチセンス鎖配列)を他方の形式に組み込むことによって、ある形式のオリゴヌクレオチド(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)が、別の形式(例えば、siRNAオリゴヌクレオチド)に好適に適応され得ることを理解されたい。本明細書において提供されるオリゴヌクレオチドは、MSTN、INHBAおよびACVR1Bを包含する、筋肉の健康、例として、筋肉の成長および維持に関与する標的遺伝子の発現または活性を調整するように設計され得る。

20

30

【0338】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはsiRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはショートヘアピン型RNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、miRNAに基づくshRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、参照により本明細書に組み込まれるHu et al., Oncotarget. 2017 Nov 3; 8(54):92079-92089、およびChen et al., Oncotarget. 2017 Dec 19; 8(67):112152-112165に記載されているように、miR-92b-3p、miR-218、miR-18a、miR-1244、およびmiR-103のいずれか1つに基づくshRNAに基づく。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、miR-190a-5p、miR-223-3p、およびmiR-133のいずれか1つに基づくshRNAに基づく。

40

【0339】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするCRISPRガイドRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、KLF15を標的とするCRISPRガイドRNA、またはKLF15に会合されたプロモーター領域(例えば、KLF15の発現を増加させるために)である。

【0340】

a. MSTNオリゴヌクレオチド

MSTNを標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明

50

細書に組み込まれるLu-Nguyen,N.et.al. “ Functional muscle recovery following dystrophin and myostatin exon splice modulation in aged mdx mice ” Human Molecular Genetics, Vol.28,18,3091-3100(2019);Liu,C.M.et.al. “ Myostatin antisense RNA-mediated muscle growth in normal and cancer cachexia mice ” Gene Therapy, Vol.15,155-160(2008);Kang,J.K., “ Antisense-induced myostatin exon skipping leads to muscle hypertrophy in mice following octa-guanidine morpholino oligomer treatment ” Mol Ther.2011 Jan;19(1):159-64.;Kemaladewi,D.U.et.al. “ Dual exon skipping in myostatin and dystrophin for Duchenne muscular dystrophy ” BMC Med Genomics.2011 Apr 20;4:36.;Tripathi,A.K.et.al. “ Short hairpin RNA-induced myostatin gene silencing in caprine myoblast cells in vitro ” Appl Biochem Biotechnol.2013 Jan;169(2):688-94.;Lu-Nguyen,N.et.al., “ Systemic Antisense Therapeutics for Dystrophin and Myostatin Exon Splice Modulation Improve Muscle Pathology of Adult mdx Mice ” Mol.Ther.Nucleic Acids.2017 Mar 17;6:15-28.;2005年6月5日に公開された「RNA interference mediated inhibition of myostatin gene expression using short interfering nucleic acid(s iNA)」と題する米国特許出願公開第20050124566号;2018年6月26日発行、「Systemic delivery of myostatin short interfering nucleic acids(siNA)conjugated to a lipophilic moiety」と題する米国特許第10,004,814号;2011年7月7日に公開された「Antisense composition and method for treating muscle atrophy」と題する米国特許出願公開第20110166082号;2011年2月15日発行、「Treatment of Duchenne muscular dystrophy with myoblasts expressing dystrophin and treated to block myostatin signaling」と題する米国特許第7,887,793号;および2018年12月13日に公開された「Antisense-induced exon exclusion in myostatin」と題する米国特許出願公開第20180355358号に提供されている。

10

20

30

40

50

【0341】

いくつかの態様において、MSTNを標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドは、MSTN RNA配列のエクソンスキッピングを促進するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、MSTNを標的とするためのオリゴヌクレオチドは、エクソン2のエクソンスキッピングを促進する。エクソン2のスキッピングは、エクソン1および3の不適切な異相スプライシングをもたらし得る。いくつかの態様において、MSTNを標的とするためのオリゴヌクレオチドは、例えば、イントロン1/エクソン2、またはエクソン2/イントロン2にあるRNAスプライスジャンクションを標的とする。

【0342】

MSTN遺伝子編集を促進するためのオリゴヌクレオチドの例は、Crispo,M.et.al. “ Efficient Generation of Myostatin Knock-Out Sheep Using CRISPR/Cas9 Technology and Microinjection into Zygotes ” PLoS One.2015 Aug 25;10(8):e0136690;およびZhang,J.et.al. “ Comparison of gene editing efficiencies of CRISPR/Cas9 and TALEN for generation of MSTN knock-out cashmere goats ” Theriogenology.2019 Jul 1;132:1-11を包含する。

【0343】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトMSTN遺伝子配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:2660;NCBI参照番号:NM_005259.3):

AGATTCACCTGGTGTGGCAAGTTGTCTCTCAGACTGTACATGCATTAAAATTTTGCT
TGGCATTACTCAAAAGCAAAAGAAAAGTAAAAGGAAGAAACAAGAACAAGAAAAA
GATTATATTGATTTTAAAATCATGCAAAAAGTCAACTCTGTGTTTATATTTACCT
GTTTATGCTGATTGTTGCTGGTCCAGTGGATCTAAATGAGAACAGTGAGCAAAAAG
AAAATGTGGAAAAAGAGGGGCTGTGTAATGCATGTACTTGGAGACAAAACACTAAA
TCTTCAAGAATAGAAGCCATTAAGATACAAATCCTCAGTAAACTTCGTCTGGAAAC

AGCTCCTAACATCAGCAAAGATGTTATAAGACAACTTTTACCCAAAGCTCCTCCAC
TCCGGGAAGCTGATTGATCAGTATGATGTCCAGAGGGATGACAGCAGCGATGGCTCT
TTGGAAGATGACGATTATCACGCTACAACGGAAACAATCATTACCATGCCTACAGA
GTCTGATTTTCTAATGCAAGTGGATGGAAAACCCAAATGTTGCTTCTTTAAATTTA
GCTCTAAAATACAATACAATAAAGTAGTAAAGGCCCAACTATGGATATATTTGAGA
CCCGTCGAGACTCCTACAACAGTGTGTTGTGCAAATCCTGAGACTCATCAAACCTAT
GAAAGACGGTACAAGGTATACTGGAATCCGATCTCTGAAACTTGACATGAACCCAG
GCACTGGTATTTGGCAGAGCATTGATGTGAAGACAGTGTGCAAAATTGGCTCAAA
CAACCTGAATCCAACTTAGGCATTGAAATAAAAGCTTTAGATGAGAATGGTCATGA
TCTTGCTGTAACCTTCCCAGGACCAGGAGAAGATGGGCTGAATCCGTTTTTTAGAGG
TCAAGGTAACAGACACACCAAAAAGATCCAGAAGGGATTTTGGTCTTGACTGTGAT
GAGCACTCAACAGAATCACGATGCTGTCGTTACCCTCTAACTGTGGATTTTGAAGC
TTTTGGATGGGATTGGATTATCGCTCCTAAAAGATATAAGGCCAATTACTGCTCTG
GAGAGTGTGAATTTGTATTTTTACAAAAATATCCTCATACTCATCTGGTACACCAA
GCAAACCCCAGAGGTTTACGACAGGCCCTTGCTGTACTCCCACAAAGATGTCTCCAAT
TAATATGCTATATTTTAATGGCAAAGAACAATAATATATGGGAAAATTCCAGCGA
TGGTAGTAGACCGCTGTGGGTGCTCATGAGATTTATATTAAGCGTTCATAACTTCC
TAAAACATGGAAGGTTTTCCCCTCAACAATTTTGAAGCTGTGAAATTAAGTACCAC
AGGCTATAGGCCTAGAGTATGCTACAGTCACTTAAGCATAAGCTACAGTATGTAAA
CTAAAAGGGGGAATATATGCAATGGTTGGCATTTAACCATCCAAACAAATCATACA
AGAAAGTTTTATGATTTCCAGAGTTTTTGGAGCTAGAAGGAGATCAAATTACATTTA
TGTTCTATATATTACAACATCGGCGAGGAAATGAAAGCGATTCTCCTTGAGTTCT
GATGAATTAAGGAGTATGCTTTAAAGTCTATTTCTTTAAAGTTTTGTTTAATATTT
ACAGAAAAATCCACATACAGTATTGGTAAAATGCAGGATTGTTATATACCATCATT
CGAATCATCCTTAAACACTTGAATTTATATTGTATGGTAGTATACTTGGTAAGATA
AAATTCCACAAAAATAGGGATGGTGCAGCATATGCAATTTCCATTCTATTATAAT
TGACACAGTACATTAACAATCCATGCCAACGGTGCTAATACGATAGGCTGAATGTC
TGAGGCTACCAGGTTTATCACATAAAAAACATTCAGTAAAATAGTAAGTTTTCTCTT
TTCTTCAGGTGCATTTTCTACACCTCCAAATGAGGAATGGATTTTCTTTAATGTAA
GAAGAATCATTTTTCTAGAGGTTGGCTTTCAATTCTGTAGCATACTTGGAGAACT
GCATTATCTTAAAGGCAGTCAAATGGTGTGTTTGTGTTTATCAAAATGTCAAAATAA
CATACTTGGAGAAGTATGTAATTTTGTCTTTGGAAAATTACAACACTGCCTTTGCA
ACACTGCAGTTTTTATGGTAAAATAATAGAAATGATCGACTCTATCAATATTGTAT
AAAAAGACTGAAACAATGCATTTTATATAATATGTATACAATATTGTTTTGTAAATA
AGTGTCTCCTTTTTTATTTACTTTGGTATATTTTTTACACTAAGGACATTTCAAATTA
AGTACTAAGGCACAAAGACATGTCATGCATCACAGAAAAGCAACTACTTATATTTT
AGAGCAAATTAGCAGATTAAATAGTGGTCTTAAAACTCCATATGTTAATGATTAGA
TGGTTATATTACAATCATTTTATATTTTTTTTACATGATTAAACATTCATTATGGATT
CATGATGGCTGTATAAAGTGAATTTGAAATTTCAATGGTTTTACTGTCATTGTGTTT
AAATCTCAACGTTCCATTATTTTAATACTTGCAAAAACATTACTAAGTATACCAA
ATAATTGACTCTATTATCTGAAATGAAGAATAAACTGATGCTATCTCAACAATAAC
TGTTACTTTTTATTTTATAATTTGATAATGAATATATTTCTGCATTTATTTACTTCTG
TTTTGTAAATTGGGATTTTGTTAATCAAATTTATTGTACTATGACTAAATGAAATT
ATTTCTTACATCTAATTTGTAGAAACAGTATAAGTTATATTAAAGTGTTTTTACATT
TTTTTGAAAGACA

(配列番号147)

【0344】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスMSTN遺伝子配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:17700;NCBI参照番号:NM_010834.3):

10

20

30

40

50

AGGACTCCCTGGCGTGGCAGGTTGTCTCTCGGACGGTACATGCACTAATATTTTAC
TTGGCATTACTCAAAAGCAAAAAGAAGAAATAAGAACAAGGGAAAAAAGATTG
TGCTGATTTTTTAAAATGATGCAAAAAGTCAAAATGTATGTTTATATTTACCTGTTT
ATGCTGATTGCTGCTGGCCCCAGTGGATCTAAATGAGGGCAGTGAGAGAGAAGAAAA
TGTGGAAAAAGAGGGGGCTGTGTAATGCATGTGCGTGGAGACAAAACACGAGGTACT
CCAGAATAGAAGCCATAAAAATTCAAATCCTCAGTAAGCTGCGCCTGGAAACAGCT
CCTAACATCAGCAAAGATGCTATAAGACAACCTTCTGCCAAGAGCGCCTCCACTCCG
GGAAGTATCGATCAGTACGACGTCCAGAGGGATGACAGCAGTGATGGCTCTTTGG
AAGATGACGATTATCACGCTACCACGGAAACAATCATTACCATGCCTACAGAGTCT
GACTTTCTAATGCAAGCGGATGGCAAGCCCAAATGTTGCTTTTTTAAATTTAGCTC
TAAAATACAGTACAACAAAGTAGTAAAAGCCCAACTGTGGATATATCTCAGACCCG
TCAAGACTCCTACAACAGTGTTTTGTGCAAATCCTGAGACTCATCAAACCCATGAAA
GACGGTACAAGGTATACTGGAATCCGATCTCTGAAACTTGACATGAGCCCAGGCAC
TGGTATTTGGCAGAGTATTGATGTGAAGACAGTGTTGCAAAATTGGCTCAAACAGC
CTGAATCCAACCTTAGGCATTGAAATCAAAGCTTTGGATGAGAATGGCCATGATCTT
GCTGTAACCTTCCCAGGACCAGGAGAAGATGGGCTGAATCCCTTTTTAGAAAGTCAA
GGTGACAGACACACCCAAGAGGTCCCGGAGAGACTTTGGGCTTGACTGCGATGAGC
ACTCCACGGAATCCCGGTGCTGCCGCTACCCCTCACGGTCGATTTTGAAGCCTTT
GGATGGGACTGGATTATCGCACCCAAAAGATATAAGGCCAATTACTGCTCAGGAGA
GTGTGAATTTGTGTTTTTACAAAAATATCCGCATACTCATCTTGTGCACCAAGCAA
ACCCAGAGGGCTCAGCAGGCCCTTGCTGCACTCCGACAAAAATGTCTCCCATTAAT
ATGCTATATTTTAATGGCAAAGAACAATAATATATGGGAAAATTCCAGCCATGGT
AGTAGACCGCTGTGGGTGCTCATGAGCTTTGCATTAGGTTAGAAATTTCCCAAGTC
ATGGAAGGTCTTCCCCTCAATTTTCGAAACTGTGAATTCGAAGCACACAGGCTGTAG
GCCTTGAGTATGCTCTAGTAACGTAAGCACAAAGCTACAGTGTATGAACTAAAAGAG
AGAATAGATGCAATGGTTGGCATTCAACCACCAAAAATAAACCATACTATAGGATGT
TGTATGATTTCCAGAGTTTTTGAATAGATGGAGATCAAATTACATTTATGTCCAT
ATATGTATATTACAACATAATCTAGGCAAGGAAGTGAGAGCACATCTTGTGGTCT
GCTGAGTTAGGAGGGTATGATTAAAAGGTAAAGTCTTATTTCTAACAGTTTCACT
TAATATTTACGGAAGAATCTATATGTAGCCTTTGTAAAGTGTAGGATTGTTATCAT
TTAAAAACATCATGTACACTTATATTTGTATTGTATACTTGGTAAGATAAAATTCC
ACAAAGTAGGAATGGGGCCTTACATACACATTGCCATTCTATTATAATTGGACAA
TCCACCACGGTGCTAATGCAGTGCTGAATGGCTCCTACTGGACCTCTCGATAGAAC
ACTCTACAAAGTACGAGTCTCTCTCTCCCTTCCAGGTGCATCTCCACACACACAGC
ACTAAGTGTTCAATGCATTTTCTTTAAGGAAAGAAGAATCTTTTTTTCTAGAGGTC
AACTTTTCAAGTCAACTCTAGCACAGCGGGAGTGACTGCTGCATCTTAAAAGGCAGCC
AAACAGTATTCATTTTTTAATCTAAATTTCAAAATCACTGTCTGCCTTTATCACATG
GCAATTTTGTGGTAAAATAATGGAAATGACTGGTTCTATCAATATTGTATAAAAGA
CTCTGAAACAATTACATTTTATATAATATGTATACAATATTGTTTTGTAAATAAGTG
TCTCCTTTTATATTTACTTTGGTATATTTTTTACACTAATGAAATTTCAAATCATTA
AGTACAAAGACATGTCATGTATCACAAAAAAGGTGACTGCTTCTATTTTCAAGAGTGA
ATTAGCAGATTCAATAGTGGTCTTAAAGTCTGTATGTTAAGATTAGAAGGTTATA
TTACAATCAATTTATGTATTTTTTACATTATCAACATTCACCTTATGGTTTTCATGGTG
GCTGTATCTATGAATGTGGCTCCAGTCAAATTTCAATGCCCCACCATTTTTAAAAA
TTACAAGCATTACTAAACATAACCAACATGTATCTAAAGAAATACAAATATGGTATC
TCAATAACAGCTACTTTTTTATTTTATAATTTGACAATGAATACATTTCTTTTATTT
ACTTCAGTTTTTATAAATTGGAACCTTTGTTTATCAAATGTATTGTACTCATAGCTAAA
TGAAATTATTTCTTACATAAAAATGTGTAGAACTATAAATTAAAGTGTTTTTACA
TTTTTGAAAGGC

10

20

30

40

【0345】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれるSchuelke, M. et al., “Myostatin Mutation Associated with Gross Muscle Hypertrophy in a Child” N Engl J Med 2004;350:2682-2688に報告されているように、MSTNの変異体形態に対する相補性領域を有し得る。

【0346】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号147または配列番号148に記載のMSTN配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号147または配列番号148に記載のMSTN配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号147または配列番号148に記載のMSTN配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号147または配列番号148に記載のMSTN配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号147または配列番号148に記載のMSTN配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号147または配列番号148に記載のMSTN配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

【0347】

いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号197~220のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号197~220のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号197~220のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

【0348】

いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号149~196のいずれか1つを含むMSTN配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号149~196のいずれか1つを含むMSTN配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号149~196のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0349】

いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号149~196のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域

[illegible]

50

」は、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオシドを示し、「fN」は、2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオシドを示し、2つのヌクレオシド間に「*」が存在しないことは、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0356】

いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、表10に列挙される配列番号197～220の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、表10に列挙される配列番号173～196の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチドは、表10に列挙されるsiRNAから選択されるsiRNAである。

【表8】

表8. MSTN 標的配列

NM_005259.3 (配列番号300) における対応するヌクレオチド	MSTN 標的配列 (5'から 3')	配列番号
448-466	TTTGGAAGATGACGATTAT	149
450-468	TGGAAGATGACGATTATCA	150
454-472	AGATGACGATTATCACGCT	151
482-500	ACAATCATTACCATGCCTA	152
630-644	CTACAACAGTGTTTGTGCA	153
632-650	ACAACAGTGTTTGTGCAAA	154
671-679	ATGAAAGACGGTACAAGGT	155
697-715	AATCCGATCTCTGAAACTT	156
699-717	TCCGATCTCTGAAACTTGA	157
754-772	TGTGAAGACAGTGTTGCAA	158
760-788	GACAGTGTTGCAAAATTGG	159
762-780	CAGTGTTGCAAAATTGGCT	160
766-784	GTTGCAAAATTGGCTCAAA	161
788-806	CCTGAATCCAACCTTAGGCA	162
789-807	CTGAATCCAACCTTAGGCAT	163
792-810	AATCCAACCTTAGGCATTGA	164
793-811	ATCCAACCTTAGGCATTGAA	165
846-864	CTGTAACCTTCCCAGGACC	166
865-883	AGGAGAAGATGGGCTGAAT	167
1181-1199	ATGCTATATTTTAATGGCA	168
1185-1203	TATATTTTAATGGCAAAGA	169
1201-1219	AGAACAAATAATATATGGG	170
1202-1220	GAACAAATAATATATGGGA	171
1203-1221	AACAAATAATATATGGGAA	172

* 標的配列はTを含有するが、RNA および/またはDNA への結合が企図される。

【0357】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表9に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 9 - 1】

表 9. MSTN を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
UCUUUGGAAGAUGACGAUUAU	173	AUAAUCGUCAUCUCCAAAGAGC	197
UUUGGAAGAUGACGAUUAUCA	174	UGAUAAUCGUCAUCUCCAAAGA	198
GAAGAUGACGAUUAUCACGCU	175	AGCGUGAUAAUCGUCAUCUCCAA	199
AAACAAUCAUUAACCAUGCCUA	176	UAGGCAUGGUAAUGAUUGUUUCC	200
UCCUACAACAGUGUUUGUGCA	177	UGCACAAACACUGUUGUAGGAGU	201
CUACAACAGUGUUUGUGCAAA	178	UUUGCACAAACACUGUUGUAGGA	202
CUAUGAAAGACGGUACAAGGU	179	ACCUUGUACCGUCUUUCAUAGGU	203
GGAAUCCGAUCUCUGAAACUU	180	AAGUUUCAGAGAUCGGAUUCCAG	204
AAUCCGAUCUCUGAAACUUGA	181	UCAAGUUUCAGAGAUCGGAUUCC	205

10

【表 9 - 2】

GAUGUGAAGACAGUGUUGCAA	182	UUGCAACACUGUCUUCACAUCAA	206
AAGACAGUGUUGCAAAAUUGG	183	CCAAUUUUGCAACACUGUCUUA	207
GACAGUGUUGCAAAAUUGGCU	184	AGCCAAUUUUGCAACACUGUCUU	208
GUGUUGCAAAAUUGGCUCAA	185	UUUGAGCCAAUUUUGCAACACUG	209
AACCUGAAUCCAACUUAGGCA	186	UGCCUAAGUUGGAUUCAGGUUGU	210
ACCUGAAUCCAACUUAGGCAU	187	AUGCCUAAGUUGGAUUCAGGUUG	211
UGAAUCCAACUUAGGCAUUGA	188	UCAAUGCCUAAGUUGGAUUCAGG	212
GAAUCCAACUUAGGCAUUGAA	189	UCAAUGCCUAAGUUGGAUUCAG	213
UGCUGUAACCUUCCCAGGACC	190	GGUCCUGGGAAGGUUACAGCAAG	214
CCAGGAGAAGAUGGGCUGAAU	191	AUUCAGCCCAUCUUCUCCUGGUC	215
AUAUGCUAUUUUUAUUGGCA	192	UGCCAUUAAAAUAUAGCAUAUUA	216
GCUAUUUUUUAUUGGCAAAGA	193	UCUUUGCCAUUAAAAUAUAGCAU	217
AAAGAACAAAUAUUAUUGGG	194	CCCAUAUAUUAUUUGUUCUUUGC	218
AAGAACAAAUAUUAUUGGGA	195	UCCCAUAUAUUAUUUGUUCUUUG	219
AGAACAAAUAUUAUUGGGAA	196	UUCCCAUAUAUUAUUUGUUCUUU	220

20

30

【 0 3 5 8】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 10 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

40

50

【表 10 - 1】

表 10. MSTN を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsMSTN-1	mUmCfUmUfUmGfGmAfA mGfAmUfGmAfCmGfAmU fUmAfU	173	fAfUmAfAmUfCmGfUmCfAmUfCm UfUmCfCmAfAmAfGmA*fG*mC	197
hsMSTN-5	mUmUfUmGfGmAfAmGfA mUfGmAfCmGfAmUfUmA fUmCfA	174	fUfGmAfUmAfAmUfCmGfUmCfAm UfCmUfUmCfCmAfAmA*fG*mA	198
hsMSTN-2	mGmAfAmGfAmUfGmAfC mGfAmUfUmAfUmCfAmCf GmCfU	175	fAfGmCfGmUfGmAfUmAfAmUfCm GfUmCfAmUfCmUfUmC*fC*mA	199
hsMSTN-6	mAmAfAmCfAmAfUmCfA mUfUmAfCmCfAmUfGmCf CmUfA	176	fUfAmGfGmCfAmUfGmGfUmAfAm UfGmAfUmUfGmUfUmU*fC*mC	200
hsMSTN-7	mUmCfCmUfAmCfAmAfC mAfGmUfGmUfUmUfGmU fGmCfA	177	fUfGmCfAmCfAmAfAmCfAmCfUm GfUmUfGmUfAmGfGmA*fG*mU	201
hsMSTN-8	mCmUfAmCfAmAfCmAfG mUfGmUfUmUfGmUfGmC fAmAfA	178	fUfUmUfGmCfAmCfAmAfAmCfAm CfUmGfUmUfGmUfAmG*fG*mA	202
hsMSTN-9	mCmUfAmUfGmAfAmAfG mAfCmGfGmUfAmCfAmAf GmGfU	179	fAfCmCfUmUfGmUfAmCfCmGfUm CfUmUfUmCfAmUfAmG*fG*mU	203
hsMSTN-10	mGmGfAmAfUmCfCmGfA mUfCmUfCmUfGmAfAmAf CmUfU	180	fAfAmGfUmUfUmCfAmGfAmGfAm UfCmGfGmAfUmUfCmC*fA*mG	204

10

20

30

40

50

【表 10 - 2】

hsMSTN-11	mAmAfUmCfCmGfAmUfCmUfCmUfGmAfAmAfCmUfUmGfA	181	fUfCmAfAmGfUmUfUmCfAmGfAmGfAmUfCmGfGmAfUmU*fC*mC	205
hsMSTN-12	mGmAfUmGfUmGfAmAfGmAfCmAfGmUfGmUfUmGfCmAfA	182	fUfUmGfCmAfAmCfAmCfUmGfUmCfUmUfCmAfCmAfUmC*fA*mA	206
hsMSTN-13	mAmAfGmAfCmAfGmUfGmUfUmGfCmAfAmAfAmUfUmGfG	183	fCfCmAfAmUfUmUfUmGfCmAfAmCfAmCfUmGfUmCfUmU*fC*mA	207
hsMSTN-3	mGmAfCmAfGmUfGmUfUmGfCmAfAmAfAmUfUmGfGmCfU	184	fAfGmCfCmAfAmUfUmUfUmGfCmAfAmCfAmCfUmGfUmC*fU*mU	208
hsMSTN-4	mGmUfGmUfUmGfCmAfAmAfAmUfUmGfGmCfUmCfAmAfA	185	fUfUmUfGmAfGmCfCmAfAmUfUmUfUmGfCmAfAmCfAmC*fU*mG	209
hsMSTN-14	mAmAfCmCfUmGfAmAfUmCfCmAfAmCfUmUfAmGfGmCfA	186	fUfGmCfCmUfAmAfGmUfUmGfGmAfUmUfCmAfGmGfUmU*fG*mU	210
hsMSTN-15	mAmCfCmUfGmAfAmUfCmCfAmAfCmUfUmAfGmGfCmAfU	187	fAfUmGfCmCfUmAfAmGfUmUfGmGfAmUfUmCfAmGfGmU*fU*mG	211
hsMSTN-16	mUmGfAmAfUmCfCmAfAmCfUmUfAmGfGmCfAmUfUmGfA	188	fUfCmAfAmUfGmCfCmUfAmAfGmUfUmGfGmAfUmUfCmA*fG*mG	212
hsMSTN-17	mGmAfAmUfCmCfAmAfCmUfUmAfGmGfCmAfUmUfGmAfA	189	fUfUmCfAmAfUmGfCmCfUmAfAmGfUmUfGmGfAmUfUmC*fA*mG	213
hsMSTN-18	mUmGfCmUfGmUfAmAfCmCfUmUfCmCfCmAfGmGfAmCfC	190	fGfGmUfCmCfUmGfGmGfAmAfGmGfUmUfAmCfAmGfCmA*fA*mG	214
hsMSTN-19	mCmCfAmGfGmAfGmAfAmGfAmUfGmGfGmCfUmGfAmAfU	191	fAfUmUfCmAfGmCfCmCfAmUfCmUfUmCfUmCfCmUfGmG*fU*mC	215
hsMSTN-20	mAmUfAmUfGmCfUmAfUmAfUmUfUmUfAmAfUmGfGmCfA	192	fUfGmCfCmAfUmUfAmAfAmAfUmAfUmAfGmCfAmUfAmU*fU*mA	216
hsMSTN-21	mGmCfUmAfUmAfUmUfUmUfAmAfUmGfGmCfAmAfAmGfA	193	fUfCmUfUmUfGmCfCmAfUmUfAmAfAmAfUmAfUmAfGmC*fA*mU	217
hsMSTN-22	mAmAfAmGfAmAfCmAfAmAfUmAfAmUfAmUfAmUfGmGfG	194	fCfCmCfAmUfAmUfAmUfUmAfUmUfUmGfUmUfCmUfUmU*fG*mC	218
hsMSTN-23	mAmAfGmAfAmCfAmAfAmUfAmAfUmAfUmAfUmGfGmGfA	195	fUfCmCfCmAfUmAfUmAfUmUfAmUfUmUfGmUfUmCfUmU*fU*mG	219
hsMSTN-24	mAmGfAmAfCmAfAmAfUmAfAmUfAmUfAmUfGmGfGmAfA	196	fUfUmCfCmCfAmUfAmUfAmUfUmAfUmUfUmGfUmUfCmU*fU*mU	220

10

20

30

40

【0359】

b. INHBAオリゴヌクレオチド

INHBAを標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるTada et.al., “Differential expression and cellular localization of activin and inhibin mRNA in the rainbow trout ovary and testis” Gen Comp Endocrinol.2002 Jan;125(1):142-9.;2019年4月16日に発行された「Prophylactic agent and therapeutic agent for fibrodysplasia ossificans progressiva」と題する米国特許第10,260,068号;Carlton,AL et.al. “Small molecule inhibition of the CBF β /RUNX interaction decreases ovarian can

50

cer growth and migration through alterations in genes related to epithelial-to-mesenchymal transition” Gynecol Oncol.2018 May;149(2):350-360.;およびTakabe,K.et al. “ Interruption of activin A autocrine regulation by antisense oligodeoxynucleotides accelerates liver tumor cell proliferation” Endocrinology.1999 Jul;140(7):3125-32.に提供されている。

【0360】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトINHBA配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:3624;NCBI参照番号:NM_002192.4):

```
ACAGTGCCAATACCATGAAGAGGAGCTCAGACAGCTCTTACCACATGATACAAGAG
CCGGCTGGTGGAAAGAGTGGGGACCAGAAAGAGAATTTGCTGAAGAGGAGAAGGAAA
AAAAAAAAACACCAAAAAAAAAAATAAAAAAATCCACACACACAAAAAACCTGCGCG
TGAGGGGGGAGGAAAAGCAGGGCCTTTTAAAAAGGCAATCACAACAACCTTTTGCTG
CCAGGATGCCCTTGCTTTGGCTGAGAGGATTTCTGTTGGCAAGTTGCTGGATTATA
GTGAGGAGTTCCCCCACCCAGGATCCGAGGGGACAGCGCGGGCCCCCGACTGTCC
GTCCTGTGCGCTGGCCGCCCTCCCAAAGGATGTACCAACTCTCAGCCAGAGATGG
TGGAGGCCGTCAAGAAGCACATTTTAAACATGCTGCACTTGAAGAAGAGACCCGAT
GTCACCCAGCCGGTACCCAAGGCGGCGCTTCTGAACGCGATCAGAAAGCTTCATGT
GGGCAAAGTCGGGGAGAACGGGTATGTGGAGATAGAGGATGACATTGGAAGGAGGG
CAGAAATGAATGAACTTATGGAGCAGACCTCGGAGATCATCACGTTTGCCGAGTCA
GGAACAGCCAGGAAGACGCTGCACTTCGAGATTTCCAAGGAAGGCAGTGACCTGTC
AGTGGTGGAGCGTGCAGAAGTCTGGCTCTTCCTAAAAGTCCCCAAGGCCAACAGGA
CCAGGACCAAAGTCACCATCCGCCTCTTCCAGCAGCAGAAGCACCCGCAGGGCAGC
TTGGACACAGGGGAAGAGGGCCGAGGAAAGTGGGCTTAAAGGGGGGAGAGGAGTGA
GTTGCTCTCTGAAAAAGTAGTAGACGCTCGGAAGAGCACCTGGCATGTCTTCCCTG
TCTCCAGCAGCATCCAGCGGTTGCTGGACCAGGGCAAGAGCTCCCTGGACGTTCGG
ATTGCCTGTGAGCAGTGCCAGGAGAGTGGCGCCAGCTTGGTTCTCCTGGGCAAGAA
GAAGAAGAAAGAAGAGGAGGGGGGAAGGGAAAAAGAAGGGCGGAGGTGAAGGTGGG
GCAGGAGCAGATGAGGAAAAGGAGCAGTCGCACAGACCTTTCCTCATGCTGCAGGC
CCGGCAGTCTGAAGACCACCCTCATCGCCGGCGTCGGCGGGGGCTTGAGGTGTGATG
GCAAGGTCAACATCTGCTGTAAGAAACAGTTCTTTGTCAGTTTCAAGGACATCGGC
TGGAATGACTGGATCATTGCTCCCTCTGGCTATCATGCCAACTACTGCGAGGGTGA
GTGCCCGAGCCATATAGCAGGCACGTCCGGGTCTCACTGTCCTTCCACTCAACAG
TCATCAACCACTACCGCATGCGGGGCCATAGCCCCTTTGCCAACCTCAAATCGTGC
TGTGTGCCACCAAGCTGAGACCCATGTCCATGTTGTACTATGATGATGGTCAAAA
CATCATCAAAAAGGACATTCAGAACATGATCGTGGAGGAGTGTGGGTGCTCATAGA
GTTGCCCAGCCCAGGGGGAAAGGGAGCAAGAGTTGTCCAGAGAAGACAGTGGCAAA
ATGAAGAAATTTTTAAGGTTTCTGAGTTAACCAGAAAAATAGAAATTAAAAACAAA
ACAAAAAATAACAAAAAATAACAAAAGTAAATTAAAAACAAAACCTGATGAACA
GATGAAGGAAGATGTGGAAAAAATCCTTAGCCAGGGCTCAGAGATGAAGCAGTGAA
AGAGACAGGAATTGGGAGGGGAAAGGGAGAATGGTGTACCCTTTATTTCTTCTGAAA
TCACACTGATGACATCAGTTGTTTAAACGGGGTATTGTCCTTTCCCCCTTGAGGTT
CCCTTGTGAGCCTTGAATCAACCAATCTAGTCTGCAGTAGTGTGGACTAGAACAA
CCAAATAGCATCTAGAAAGCCATGAGTTTGAAAGGGGCCATCACAGGCACTTTCT
ACCCAATTACCCAGGTCATAAGGTATGTCTGTGTGACACTTATCTCTGTGTATATC
AGCATACACACACACACACACACACACACACACACACAGGCATTTCCACACATT
ACATATATACATACTGGTAAAAGAACAATCGTGTGCAGGTGGTCACTTTCCTT
TTTCTGTACCACTTTTGCAACAAAACAAAACAAACAAACATTAAAAAATTGAGAACA
AGTATGGAAAGAATGAAAGATCAAGGAAAAAAGAATACCAAGTTACATTTTCGTAA
GGTGCTTATGATCTTAGAACTATGCAACCTAATAGGTTTGAAACTGTTTACCTGAG
```

10

20

30

40

50

AGAGAACAAAAAGAGAGACTTTTTTGTATTGGAAGTAATCTGATTAATTTTTATTT
TCTTCAAGGAGAGATACTTGAAAGGAATATGTTTGTCCATCTGTTGGATCCAAACA
TTTCTATATTTTTGTAAATGTTGTTGTTGTTTTTTTTTAATCGTTTACTATTTGCAC
TACAATGGTGTTTGACCTGTCTAATCCTTATTTAACAAGTATTTTCTTTGGTTGGGG
GTGGGGGGTGGGGTTTAAGAGCTGCACTTAATGTGAGCTATAAAAGAACTGCTACAG
CACACAAAATAGCTATTTTTATTATTATAATTATAATTATTATTATTTTTGTACC
TTAAAAAATAGACACATACACCAAAGACATTTGTGTGAGCCTTTAAACAGTCTGTC
TGTGGTTGGTATCATTCACCATCAATGAGTCAGGGGTTGGGATTCAAGGTTGAGTA
GTGTGGATTGTGTTTCAAGGCTTAAAAGACCTGAGAAGTTTGGTTTTTGAATCCTTTT
ACATCCATGAAACAGGACATTTTCTACTGGATGTACAGTAGTTGTACACTGTTGGA
TATCAAGTTCAATCAAATTCATGGAACCTACATGCTTGTATGTGTATATATACATTG
CTTGTGCATATGCATATCTGTATGTATATATACATGTATTGTACCATGTCCATACAC
ATTTTAAGCACTTCAGGCTGTCAATTTTTTAATGTTCTTAAAGCAATGAATGTTTGTG
TGCAAAACACAGTATTTTTAAGAAGGATAGGCTATAGTTTTTGTCTTTTACTCTGAA
CTAGGTGGGCGCATTTTCAAAAATTCGGATGGGAAAAAGCCTGGAAATTCAGTGAA
TATTCAGCAAGGCCCTCTTTCATTGTACAGGGATCAAATTTCTCCTCTTTTTTGTG
CCCCCTCCCACTTCTACAAGTTATCCCCTGTGGGGAAAAACAGGATGATAATCAAAA
CTCTGGGCTGATGTTTTTCCAACCTTAGTGTCTATTGGAATCAATCTTAAATCAGAA
GCTTTTTTCAAGAAAAATAATATTTAGGCCAGAATTAGAGTTGAGTGTATTTTTTAAA
AATGATTAAGGCTTGGTTGTGAGAAATATTACCTGTACCAGCTGGGAAAAATAATG
TCATCACTAACTAAAAGATAATTAATTTGAGAGAAAGTGTTAAGAGAGGGAGAGTA
AGGAAGAGAACAGTTAAGAGGAGGCAGAGGTGAGGGCAGTAGTAAAAATCTCTAAA
ATTTTAATTTACAGCCAAAATTCCTCATGTGTAAATTTGTATTGATTACAGATGCAG
AAATGAAAAAAAACACCTTTGTTTTATAAATATCAAAGTACATGCTTAAAGCCAA
GTTTTTATCTAGTTTATTCTAGTACTTAGCTTGCCTGGAATAGCTAATAAATTATTC
ATGTATGTGCTTTTGAAAATCCAGAGCCCTATTTTTTACACACTTGTGTGAAGTTGG
CAAACATTTTGAAAAATGGAAAAAGTTTCTAATAATTGGGAACAATTACATTAAT
TAATATTTTGTAATAATTGAAGCTTTTAGCCCTATGTCAATTTGTAGATTAAAT
AAATTAATTATAGGAAAGGAAGATAACAGTGAGAAACCAAACATTACAAAAGGTGG
TTTAGCTCTCCTTGAAAAATATACTAAGTTGGTATACTATAACACTTGGCTATATG
TAGGCAATGTCACTACTGGGCAAATACACTTACTGTGTTCTAGAGGCAGCCCTTTC
TTATGCAGAAAATACAATACGCACTGCATGAGAAGCTTGAGAGTGGATTCTAATCC
AGGTCTGTGACCTTGGATATCATGCATGTGGGAAGGTGGGTGTGGTGAGAAAAGT
TTTAAGGCAAGAGTAGATGGCCATGTTCAACTTTACAAAATTTCTTGGAACCTGG
CAGTATTTTGAACCTGCATCTTCTTTGGTACCGGAACCTGCAGAAACAGTGTGAGAA
ATTAAGTCCTGGTTCAGTGCAGTAGCAAGATGGTCAAGGCCATGGAAAAAGCA
GAAATTTACCAAGAAAGCTGATACCCATGTATAGTTCCCACTCATCTCAAATACAT
CTGCTATCTTTTTAAGCTAAGTCCTAGACATATCGGGGATAACATGGGGGTTGATT
AGTGACCACAGTTATCAGAAGCAGAGAAATGTAATTCCATATTTTTATTTGAACTT
ATTCCATATTTTAATTGGATATTGAGTGATTGGGTTATCAAACACCCACAACTTT
AATTTTGTTAAATTTATATGGCTTTGAAATAGAAGTATAAGTTGCTACCATTTTTTG
ATAACATTGAAAGATAGTATTTTACCATCTTTAATCATCTTGGAATAACAAGTCC
TGTGAACAACCACTCTTTCACCTAGCAGCATGAGGCCAAAAGTAAAGGCTTTAAAT
TATAACATATGGGATTCTTAGTAGTATGTTTTTTTTCTTGAAACTCAGTGGCTCTATC
TAACCTTACTATCTCCTCACTCTTCTCTAAGACTAACTCTAGGCTCTTAAAAATC
TGCCACACCAATCTTAGAAGCTCTGAAAAGAATTTGTCTTTAAATATCTTTTAAT
AGTAACATGTATTTTATGGACCAAATTGACATTTTTCGACTATTTTTTCCAAAAAAG
TCAGGTGAATTTCAAGCACTGAGTTGGGAATTTCTTATCCCAGAAGACCAACCAA
TTTCATATTTATTTAAGATTGATTCCATACTCCGTTTTTCAAGGAGAATCCCTGCAGT
CTCCTTAAAGGTAGAACAAATACTTTCTATTTTTTTTTTACCATTGTGGGATTGGAC

10

20

30

40

50

TTTAAGAGGTGACTCTAAAAAACAGAGAACAATATGTCTCAGTTGTATTAAGCA
CGGACCCATATTATCATATTCACCTAAAAAATGATTTCTGTGCACCTTTTGGCA
ACTTCTCTTTTCAATGTAGGGAAAAACTTAGTCACCCTGAAAACCCACAAAATAAA
TAAAACTTGTAGATGTGGGCAGAAGGTTTGGGGGTGGACATTGTATGTGTTTAAAT
TAAACCCTGTATCACTGAGAAGCTGTTGTATGGGTCAGAGAAAATGAATGCTTAGA
AGCTGTTACATCTTCAAGAGCAGAAGCAAACCACATGTCTCAGCTATATTATTAT
TTATTTTTTATGCATAAAGTGAATCATTTCTTCTGTATTAATTTCCAAAGGGTTTTA
CCCTCTATTTAAATGCTTTGAAAAACAGTGCATTGACAATGGGTTGATATTTTTCTT
TAAAAGAAAAATATAATTATGAAAGCCAAGATAATCTGAAGCCTGTTTTATTTTAA
AACTTTTTATGTTCTGTGGTTGATGTTGTTTGTGTTTGTGTTTCTATTTTGTGTT
TTTTACTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTGCATACTACATGCAGTTCTTT
AACCAATGTCTGTTTGGCTAATGTAATTAAAGTTGTTAATTTATATGAGTGCATTT
CAACTATGTCAATGGTTTCTTAATATTTATTGTGTAGAAGTACTGGTAATTTTTTTA
TTTACAATATGTTTAAAGAGATAACAGTTTGATATGTTTTCATGTGTTTATAGCAG
AAGTTATTTATTTCTATGGCATTCCAGCGGATATTTTGGTGTGTTGCGAGGCATGCA
GTCAATATTTTGTACAGTTAGTGGACAGTATTCAGCAACGCCTGATAGCTTCTTTG
GCCTTATGTTAAATAAAAAGACCTGTTTGGGATGTA(配列番号269)。

10

【0361】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、遺伝子ID:16323;
NCBI参照番号:NM_008380.2によって提供されるように、マウスINHBA配列に対する
相補性領域を有し得る:

20

GGGGTTCGCTAGTGGCTGCTCCTCCAGGCAGCACCGGGCCAGCGTGGAGTTGGAGC
TTTGTGAAGTAGCCAGTAAATCAGAACGCCTCCGCTAGGTGCAGAGCGCGGTGGCA
GCGGGCCACTCTGCCAGTGCGGTAGTCGGTGGGACCGAACTCTACACTCGGGAAGG
GGCAGTCTGCGGGTGCGGGGCCTGAGCTGCCGCTCGCCTCCGTTGGCCAGGAGACC
GGCAGCCCCACTGCAGCTGCCAAAAGGGGGGAAAAATCAAGAGCTGCGCTTTTAA
ACGAAGTTGCCCTTGCTGGTGTTCAGGGTAAAAATAGAGGCGGCGCTTGACCAG
CTTGGCCCCTGAGTCCAGGCGTCCCGCGAGCCGGGCTGGAGCTGCGCATTCGGGAG
TGATCCCTGGAAACTGCCAGCAGGTGCTGCTCAAGTGCCAATACCATGAAGAGGAA
TTCAGACAGCTCTGACCTCATGAGACAAGAGCCGGCTGACAAAACAGAAGGGACCC
GAAAGAGAATTTGCTGAAGAGGAGAAGGAAAAAAAAGTCCAAAAAACCTGTGCG
TGAGGGGTGGGGAGGAAAAGCAGGGCCTTTAAAGAAGGCAACCACACGACTTTTGC
TGCCAGGATGCCCTTGCTTTGGCTGAGAGGATTTCTGTTGGCAAGTTGCTGGATTA
TAGTGAGGAGTTCCCCACCCCAGGATCCGAGGGGACAGGCTCAGCCCCGGAAGTGC
CCGTCTGTGCGCTGGCCACCCTTCCGAAGGATGGACCTAACTCTCAGCCAGAGAT
GGTAGAGGCTGTCAAGAAGCACATCTTAAACATGCTGCACTTTGAAGAAGAGACCCG
ATGTCACCCAGCCGGTGCCCAAGGCGGCGCTTCTCAACGCGATCAGAAAGCTTCAT
GTGGGTAAAGTGGGGGAGAACGGGTATGTGGAGATAGAGGACGACATTGGCAGGAG
GGCCGAAATGAATGAACTCATGGAGCAGACCTCGGAGATCATCACCTTTGCCGAGT
CAGGCACAGCCAGGAAGACACTGCACTTTGAGATTTCCAAGGAAGGCAGTGACCTG
TCAGTAGTGGAGCGTGCAGAAGTGTGGCTCTTCTGAAAGTCCCCAAGGCTAACAG
AACCAGGACCAAGTCACCATCCGTCTATTTAGCAGCAGAAGCACCCACAGGGCA
GCTTGGACACGGGGGATGAGGCCGAGGAAATGGGCTTAAAGGGGGAGAGGAGTGAA
CTGTTGCTATCAGAGAAAGTAGTTGATGCTCGGAAGAGTACCTGGCACATCTTTCC
AGTGTCCAGCAGCATCCAGCGCCTGCTGGACCAGGGAAAGAGTTCCCTGGACGTGC
GGATTGCTTGTGAGCAGTGCCAGGAGAGTGGTGCCAGTCTAGTGCTTCTGGGCAAG
AAGAAGAAGAAAGAGGTGGATGGAGATGGGAAGAAGAAAGATGGGAGTGACGGAG
GGCTGGAAGAGGAAAAGGAACAGTCACATAGACCTTTCCTCATGCTGCAGGCTAGG
CAGTCCGAAGACCACCTCATCGCAGGCGTAGGCGGGGCTTGGAGTGCGACGGCAA
GGTCAACATTTGCTGTAAGAAACAGTTCTTTGTCAGCTTCAAGGACATTGGCTGGA

30

40

50

ATGACTGGATCATTGCTCCCTCTGGCTATCACGCCAATTATTGTGAGGGGGGAGTGCC
CCAAGCCACATAGCAGGCACCTCTGGGTCCTCGCTCTCCTTCCACTCAACAGTCAT
TAACCACTACCGCATGAGGGGTCACAGCCCCTTTGCCAACCTTAAGTCATGCTGTG
TGCCCACCAAGCTGAGACCCATGTCCATGCTGTATTACGATGATGGTCAAAACATC
ATCAAAAAGGACATTCAAAACATGATTGTGGAGGAGTGTGGCTGCTCCTAGAGTCG
CCAGGTCCCAGAGAAAATGGATCTAGAGAGTCCAGAGAAGACAGTGGCAAAATGAA
GAAAAAAATATAAGATTTATGAACTAAACAAAACAACCAGAAAAATAGAAATAATA
ATAATAAAAAACCCACAAAAAACAACAAAACAAAATCAAAAACTAAACTGAAA
ACAAGACCTAATGAAACAGATGAAGGAAGATGTGGAAAAATATCCTAAGGCAGGGC
TCAGAGATGAAGCAGTAAAGGAGACAGGGATTGGGGGGGGGGAGGGGGGGAGAAGA
GAGAATGGTGTACCTTCATTTCTTCCAAAACCAAACCTGATTGCATCAGTTTTATCC
AAACTGGGTATTGTCTCTCTCCTGCCTCTTGCGGTTCCCTTGCGAGCCTGGAAGTC
TACTTGTCTATTCTGCAGTAATGTGGGTTAGCACAAACCAAATAATAATGTCTAGA
AAGCCATGAGTTTTAAAGGGCCAGTCCCACCCACTTACCCAGGTTATAAGTATGTC
TATGTGACACTATCTCTGTGTATTTCAACACACACACACACACACACACTCACA
CACACACACACACACACACACACACACACACACACGCCCCCCCCACACACACACACT
CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACTCACACACACACACA
CACACACACACGCCCACACACACAAACACAGAGGTGTTTCCACACACCACATGCAT
ACACATACTGGTAAAAGAACAATTCTGTGCAGGTGGTCACATTTTCTTTTCTGTAC
CACTTTTGCCACCAGACAAAACCAACATAAAACATTGAGAACAAGAGTGGAAGAA
TGAAAGACCAAGGGAAGAAGAATACCAAGTTACATTTCTGTTAAGGTGCTTTTGATC
CTAGAACTATGCAACCTAATAGGTTTGAAACTGTTTACCTGAAAGAGGACAAAAAG
AGAGACTTTTTTGTATTGGAAGTAACCTGATTAATTTTTATTTTCTTCAAGGAGAG
ATACTTGAAAGGAATATGTTTGTCCATCTGTTGGATTCAAACATTTCTATATTTTGT
AAATGTTGTTTTTTTTATCGTTTACTATTTGCACTACGATGGTGTGTGACCTGTCTA
ATCCTTATTTAACAAGTATTTTCTTTGGGTGGGGGTGGGGGTGGGGTTTAAGAGCT
GCACCTTCATGTGAGCTATAAAAGAACTGCTACAGCACACAAAATAGCTATTTTTAT
TATTATAATTATAATTATTATTATTTTGTACCTTAAAAATAGACACATACACCA
AAGACATTTTGTGTGAGCCTTTAAACAGTCTGTCTGTGGTTGGTATTGTTTACCATC
AATGAGTCAGGGGTACAGATTTAAGGTTGAGTTAGGTAGATTGTGTTTCAAGGCTTAA
AAGACCTGAGAGGTTTGGGTTTTGACTCTTTTACATCCATGAAACAGGACATTTCA
TACTGGATGTACAGTAGTGTACACTGTTGGATTATCAAGTTCAAATTCATGAGACT
ACATGCTTGTATGTGTATATATACATTGCTTGTGCATATGCATATCTGTATGTATAT
ATACATGTATTGTACCATGTCCATACACATTTTAAAGCACTTCAGGCTGTCATTTTAA
AAATGTTCTTAAACAATGAATGTTTGTGTGCAAAACACAGTATTTTTTAAGAAGGA
TAAGTGATAGATTTTTTTTTTTCTTGCTTTTACTCTGTAGTACGTGGGTACATTTCA
AATGTTAGGATGGGGAAAGACTGAAAATCCCAGTGAGTATCCAGCCAGGCCCTCTT
TAAATGTACAGGATGAAATCCCCTCTTTCATATCCCCCTGCTCCCTACAAGTTATC
CCCTGTGGGGAAAAATGGGATGTTACTTTAAAAACAACAAATGGGCTGATTTTTTCAA
CTTATATTTATTATTTATTGGAATCAATCTTAAATCAGAAACATTTTTTGGAaaaaa
TCTTTAGGCTAGAATAATTTTTTTGAATAGTGTTATTACTACTTAAATAATAAAATA
AGCAGGAAAGTATTTAAGACAGTGAGAGTTAAGGGAGAGAGCACTCAGGAGCCAGG
GAGTTGTACAAATCTCTAATATTCTATTTTGCAGCCAAAAAACTTGCTGTGTATGT
TTGTACTTTTTTCAGAGGCCAAAACCTGAAAAGATTGTCTTACGAATATCAAAATACAC
ACTTAACCCAAGTTCCTAATTTAACCAGTGTTGGCTTGTCTAAAACAGCTAATCA
GTTATTCATTTACATATTTAAAATATAGAGCCTTATTTTTACGGACTTGTTTGAAGT
TTGAAAAACTTTATAAAAGTGAAAAACTCTAATTGAAAAAAAATCTATATTCCTCA
GTATTTTGTAAAATATTGAAGCTTTTAGCATTAAGTCAGTCCATAGATTAAAGTCA
TTGTAGGAAAAATGAAATACAAAGGAGAAATTAATCTTAAAAAAGCTGGTTTAACT
CTTAAAAAATAAACTAACTCAATATGTATTAAATATACCGTCAATATACCTTATC

10

20

30

40

50

ACATTAGGCTGTGTGTAGGCCAACTACTTTAGTCTTGTTACTGGGCAAACATATTT
ACTGTGTTCCAGGGGCCCTCCCTGTCTTATGCAGGAAATGCATGTACTGCATAAGA
AATGAATTATAATTAAGGTCTAATGACCTTGAAGATCTCGCATGCGAGGACAGATG
GCATGTTGAGGACACAGAGGTGAGGTGGATGTCCAGGTTTCAGCTTTGCCAATTTTT
GTGAAAAACCTTTAGCGCCCTCTGAACTGTTTCTTTAGTATTGGAGCTAATGCCGA
GGCCTAGAGAAATAGTGGGCAAGAGATCTAACTGTGCCATATCAGAGATGATCTAG
ACCATGGGAAGAGCAGGATTTATGTAACCTACTAATTATAGTTCTCATTCTCTGAG
ATGAATCTGCAATCTTCTTAAGCCCTTTAAATTCTAGATGTTTTGAGGGTAAGCTT
GGGTTTAATTAGTAGCCATAGTAATTAAATCTAGAAAGAAATGAAATTCACAGGA
CAGTGTATTTACTGGAGACCAAGTGACTTGGTTGTCACATAAACCTCATCAGAACT
CATCAAATTTGTATGGCCTTGCAATAGAATTTAAATTGCTAATATTTTAAACAATAT
TAGATATTGTTAACAATTTAGAAAACATGAAGTCTTGTTGAAGTGGTCTTTCTACAT
AAGTGCTTAATCCAAAATTTGAAAAGCCTTTAATGCTTAAGATCTTAGTTTTCTTCA
TGGTGTGCTTTCCCTAGTGTTAAAGTGGCTCTGTCTGGTCTCCCCACTTTCTCTAGG
ATAATTCCTAAATACCTGCCCACACAAGTTCTAGATGCTCTGAAGAGCATTGTAG
TTAGTATCTCTTTAATACTTGTAAGCTTCATTGACACTTTTCTTCCCAAATAAGT
CAAATTTTCAGCACAGCAATGGGGATTTTCTTATCTTAGAAGACCAGCCAATTCTAT
GTTCAATTTAAGATTGATTCCACACTCCATTTTCAAGGAGAGGCCTTGTTGTTTTCTTA
AAAGGCAGAATAAGTAAAATTGGGAGCTATGCCAGACTGAACGCAAGACGTGACTT
TGTGATTCCAGAACAAACATGCCTCAGTTATAGTAACATGCATTCAAATGATTGTG
TCACTTGAAAAATATGATTTCTGTGGGCCTTTTGGCAACTTCTCTTTTATGATCG
AGAAAAATGTAATCACCCCAAACCCGCATAAGTGTGACTTGTAGATGTGGGCAGG
AGGTTGGGGGATGGACATTGTATGTGTTTAAATTAAACCCTGTATCACTGAGAAGC
TATTGGAGGGGTCAGAGATAATGAATGCATAGATGCTGTTACATCTTCAAGAGCA
AAAGCAAATCACGTGTCTCAGCTATATTATTATTTATTTTATGCATAAAGTGAAT
CATTTCTTCTGTATTAATTTTCAGTGGGGTTTGCCCTCTATTTAAATGCTTTGAAAA
ACAGTGCATTGACAATGGTTGATATTTTTCTTTAAAAGAAAAATATAATTATGAAA
GCCAAGATAATCTGAAATCTGTTTTGATCTAAACCTTTTATGTTATGTGGTTGAT
GTTGTTTTGTTTTGTTTTTTATTTTTATTTTGTGAGTTCCTTTGCATACTACATGCAAT
TCTTTAACCAATGTCTGGCTAATGTAATTAAAGTTGTTAATTTATATGAGTGCATTT
CAACTATGTCAATGGTTTCTTAATATTTATTTTGTAGAAGTGCTGGTAATTTTTTAT
TTACGATATGTTTAAAGAGATAACGGTTGGATATGTTTTCATGTGTTTATAGCAGA
AGTTATTTATTTCTATTCCATTCCAGCGGATATTCTGATGTTTGCGAGGCATGCAGT
CAATACTTTGTACAGTTAGTAGGCAGTATTCAGCAATGCCCGATAGCTTCTTTGGC
CTTATGTTAAATAAAAAGACCTGTTTGGGATGTAAAAAATAAAAAAAAAAAAAAAA
AAA(配列番号270)。

10

20

30

40

50

【0362】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号269または配列番号270に記載のINHBA配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号269または配列番号270に記載のINHBA配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号269または配列番号270に記載のINHBA配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号269または配列番号270に記載のINHBA配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号269または配列番号270に記載のINHBA配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号269または配列番

号270に記載のINHBA配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

【0363】

いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号319~342のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号319~342のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号319~342のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

10

【0364】

いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号271~318のいずれか1つを含むINHBA配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号271~318のいずれか1つを含むINHBA配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号271~318のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

20

【0365】

いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号271~318のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

30

【0366】

いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号319~342のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号295~318のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖をさらに含む。

【0367】

40

いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号319~342のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号295~318のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)は、1以上の修飾ヌクレオシド(例えば、2'-修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、1以上の修飾ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される。

【0368】

いくつかの態様において、INHBA標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号319~342のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリ

50

【 0 3 6 9 】

10

20

【 0 3 7 1 】

30

【 0 3 7 2 】

40

【表 1 1 - 1】

表 11. INHBA 標的配列

配列 NM_002192.4 (配列番号 422) の対応する ヌクレオチド	INHBA 標的配列 (5'から 3')	配列番号
227-245	AGGATGCCCTTGCTTTGGC	271
228-246	GGATGCCCTTGCTTTGGCT	272
237-255	TGCTTTGGCTGAGAGGATT	273
246-264	TGAGAGGATTTCTGTTGGC	274
250-268	AGGATTTCTGTTGGCAAGT	275
252-270	GATTTCTGTTGGCAAGTTG	276
260-278	TTGGCAAGTTGCTGGATTA	277
261-279	TGGCAAGTTGCTGGATTAT	278
262-280	GGCAAGTTGCTGGATTATA	279

10

【表 1 1 - 2】

264-282	CAAGTTGCTGGATTATAGT	280
267-285	GTTGCTGGATTATAGTGAG	281
272-290	TGGATTATAGTGAGGAGTT	282
273-291	GGATTATAGTGAGGAGTTC	283
489-507	TCAGAAAGCTTCATGTGGG	284
521-539	AACGGGTATGTGGAGATAG	285
522-540	ACGGGTATGTGGAGATAGA	286
523-541	CGGGTATGTGGAGATAGAG	287
525-543	GGTATGTGGAGATAGAGGA	288
582-600	AGCAGACCTCGGAGATCAT	289
728-746	ACCAGGACCAAAGTCACCA	290
1191-1209	GCTGTAAGAAACAGTTCTT	291
1231-1249	CTGGAATGACTGGATCATT	292
1328-1346	TCCTTCCACTCAACAGTCA	293
1407-1425	CCACCAAGCTGAGACCCAT	294

20

30

* 標的配列は T を含有するが、RNA およびまたは DNA への結合が企図される。

【0 3 7 3】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 12 に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

40

50

【表 1 2 - 1】

表 12. INHBA を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
CCAGGAUGCCCUUGCUUUGGC	295	GCCAAAGCAAGGGCAUCCUGGCA	319
CAGGAUGCCCUUGCUUUGGCU	296	AGCCAAAGCAAGGGCAUCCUGGC	320
CUUGCUUUGGCUGAGAGGAUU	297	AAUCCUCUCAGCCAAAGCAAGGG	321
GCUGAGAGGAUUUCUGUUGGC	298	GCCAAACAGAAAUCCUCUCAGCCA	322
AGAGGAUUUCUGUUGGCAAGU	299	ACUUGCCAACAGAAAUCCUCUCA	323
AGGAUUUCUGUUGGCAAGUUG	300	CAACUUGCCAACAGAAAUCCUCU	324
UGUUGGCAAGUUGCUGGAUUA	301	UAAUCCAGCAACUUGCCAACAGA	325
GUUGGCAAGUUGCUGGAUUAU	302	AUAAUCCAGCAACUUGCCAACAG	326
UUGGCAAGUUGCUGGAUUAUA	303	UAUAAUCCAGCAACUUGCCAACA	327
GGCAAGUUGCUGGAUUAUAGU	304	ACUAUAAUCCAGCAACUUGCCAA	328
AAGUUGCUGGAUUAUAGUGAG	305	CUCACUAUAAUCCAGCAACUUGC	329
GCUGGAUUAUAGUGAGGAGUU	306	AACUCCUCACUAUAAUCCAGCAA	330
CUGGAUUAUAGUGAGGAGUUC	307	GAACUCCUCACUAUAAUCCAGCA	331
GAUCAGAAAGCUUCAUGUGGG	308	CCCACAUGAAGCUUUCUGAUCGC	332
AGAACGGGUAUGUGGAGAUAG	309	CUAUCUCCACAUACCCGUUCUCC	333
GAACGGGUAUGUGGAGAUAGA	310	UCUAUCUCCACAUACCCGUUCUC	334
AACGGGUAUGUGGAGAUAGAG	311	CUCUAUCUCCACAUACCCGUUCU	335
CGGGUAUGUGGAGAUAGAGGA	312	UCCUCUAUCUCCACAUACCCGUU	336
GGAGCAGACCUCGGAGAUCAU	313	AUGAUCUCCGAGGUCUGCUCCAU	337
GGACCAGGACCAAAGUCACCA	314	UGGUGACUUUGGUCCUGGUCCUG	338
CUGCUGUAAGAAACAGUUCUU	315	AAGAACUGUUUCUUACAGCAGAU	339

【表 1 2 - 2】

GGCUGGAAUGACUGGAUCAUU	316	AAUGAUCCAGUCAUUCCAGCCGA	340
UGUCCUCCACUCAACAGUCA	317	UGACUGUUGAGUGGAAGGACAGU	341
GCCCAACCAAGCUGAGACCCAU	318	AUGGGUCUCAGCUUGGUGGGCAC	342

【0 3 7 4】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 13 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 13 - 1】

表 13. INHBA を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsINHBA-4	mCmCfAmGfGmAfUmGfC mCfCmUfUmGfCmUfUmUf GmGfC	295	fGfCmCfAmAfAmGfCmAfAmGf GmGfCmAfUmCfCmUfGmG*fC *mA	319
hsINHBA-5	mCmAfGmGfAmUfGmCfC mCfUmUfGmCfUmUfUmGf GmCfU	296	fAfGmCfCmAfAmAfGmCfAmAf GmGfGmCfAmUfCmCfUmG*fG *mC	320
hsINHBA-6	mCmUfUmGfCmUfUmUfG mGfCmUfGmAfGmAfGmG fAmUfU	297	fAfAmUfCmCfUmCfUmCfAmGf CmCfAmAfAmGfCmAfAmG*fG *mG	321
hsINHBA-7	mGmCfUmGfAmGfAmGfG mAfUmUfUmCfUmGfUmU fGmGfC	298	fGfCmCfAmAfCmAfGmAfAmAf UmCfCmUfCmUfCmAfGmC*fC* mA	322
hsINHBA-8	mAmGfAmGfGmAfUmUfU mCfUmGfUmUfGmGfCmAf AmGfU	299	fAfCmUfUmGfCmCfAmAfCmAf GmAfAmAfUmCfCmUfCmU*fC *mA	323
hsINHBA-9	mAmGfGmAfUmUfUmCfU mGfUmUfGmGfCmAfAmG fUmUfG	300	fCfAmAfCmUfUmGfCmCfAmAf CmAfGmAfAmAfUmCfCmU*fC *mU	324
hsINHBA-10	mUmGfUmUfGmGfCmAfA mGfUmUfGmCfUmGfGmA fUmUfA	301	fUfAmAfUmCfCmAfGmCfAmAf CmUfUmGfCmCfAmAfCmA*fG *mA	325
hsINHBA-11	mGmUfUmGfGmCfAmAfG mUfUmGfCmUfGmGfAmU fUmAfU	302	fAfUmAfAmUfCmCfAmGfCmAf AmCfUmUfGmCfCmAfAmC*fA *mG	326
hsINHBA-12	mUmUfGmGfCmAfAmGfU mUfGmCfUmGfGmAfUmU fAmUfA	303	fUfAmUfAmAfUmCfCmAfGmCf AmAfCmUfUmGfCmCfAmA*fC *mA	327
hsINHBA-1	mGmGfCmAfAmGfUmUfG mCfUmGfGmAfUmUfAmU fAmGfU	304	fAfCmUfAmUfAmAfUmCfCmAf GmCfAmAfCmUfUmGfCmC*fA *mA	328
hsINHBA-2	mAmAfGmUfUmGfCmUfG mGfAmUfUmAfUmAfGmU fGmAfG	305	fCfUmCfAmCfUmAfUmAfAmUf CmCfAmGfCmAfAmCfUmU*fG *mC	329
hsINHBA-13	mGmCfUmGfGmAfUmUfA mUfAmGfUmGfAmGfGmA fGmUfU	306	fAfAmCfUmCfCmUfCmAfCmUf AmUfAmAfUmCfCmAfGmC*fA *mA	330
hsINHBA-14	mCmUfGmGfAmUfUmAfU mAfGmUfGmAfGmGfAmG fUmUfC	307	fGfAmAfCmUfCmCfUmCfAmCf UmAfUmAfAmUfCmCfAmG*fC *mA	331
hsINHBA-15	mGmAfUmCfAmGfAmAfA mGfCmUfUmCfAmUfGmUf GmGfG	308	fCfCmCfAmCfAmUfGmAfAmGf CmUfUmUfCmUfGmAfUmC*fG *mC	332

10

20

30

40

50

【表 13-2】

hsINHBA-16	mAmGfAmAfCmGfGmGfU mAfUmGfUmGfGmAfGmA fUmAfG	309	fCfUmAfUmCfUmCfCmAfCmAf UmAfCmCfCmGfUmUfCmU*fC *mC	333
hsINHBA-17	mGmAfAmCfGmGfGmUfA mUfGmUfGmGfAmGfAmU fAmGfA	310	fUfCmUfAmUfCmUfCmCfAmCf AmUfAmCfCmCfGmUfUmC*fU *mC	334
hsINHBA-18	mAmAfCmGfGmGfUmAfU mGfUmGfGmAfGmAfUmA fGmAfG	311	fCfUmCfUmAfUmCfUmCfCmAf CmAfUmAfCmCfCmGfUmU*fC *mU	335
hsINHBA-19	mCmGfGmGfUmAfUmGfU mGfGmAfGmAfUmAfGmA fGmGfA	312	fUfCmCfUmCfUmAfUmCfUmCf CmAfCmAfUmAfCmCfCmG*fU *mU	336
hsINHBA-20	mGmGfAmGfCmAfGmAfC mCfUmCfGmGfAmGfAmUf CmAfU	313	fAfUmGfAmUfCmUfCmCfGmAf GmGfUmCfUmGfCmUfCmC*fA *mU	337
hsINHBA-21	mGmGfAmCfCmAfGmGfA mCfCmAfAmAfGmUfCmAf CmCfA	314	fUfGmGfUmGfAmCfUmUfUmGf GmUfCmCfUmGfGmUfCmC*fU *mG	338
hsINHBA-3	mCmUfGmCfUmGfUmAfA mGfAmAfAmCfAmGfUmU fCmUfU	315	fAfAmGfAmAfCmUfGmUfUmUf CmUfUmAfCmAfGmCfAmG*fA *mU	339
hsINHBA-22	mGmGfCmUfGmGfAmAfU mGfAmCfUmGfGmAfUmCf AmUfU	316	fAfAmUfGmAfUmCfCmAfGmUf CmAfUmUfCmCfAmGfCmC*fG *mA	340
hsINHBA-23	mUmGfUmCfCmUfUmCfC mAfCmUfCmAfAmCfAmGf UmCfA	317	fUfGmAfCmUfGmUfUmGfAmGf UmGfGmAfAmGfGmAfCmA*fG *mU	341
hsINHBA-24	mGmCfCmCfAmCfCmAfA mGfCmUfGmAfGmAfCmCf CmAfU	318	fAfUmGfGmGfUmCfUmCfAmGf CmUfUmGfGmUfGmGfGmC*fA *mC	342

10

20

【0375】

c.ACVR1Bオリゴヌクレオチド

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはsiRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはショートヘアピン型RNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、miRNAに基づくshRNA(例えば、miR-24、miR-210、miR-199a-5pに基づくshRNA)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ACVR1Bを標的とするCRISPRガイドRNAである。ACVR1Bを標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるKatoh M., "Cardio-miRNAs and onco-miRNAs: circulating miRNA-based diagnostics for non-cancerous and cancerous diseases." Front Cell Dev Biol. 2014 Oct 16; 2:61.; Mizuno, Y. et al. "miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of Acvr1b." FEBS Lett. 2009 Jul 7; 583(13): 2263-8.; Lin, H.S. et al., "miR-199a-5p inhibits monocyte/macrophage differentiation by targeting the activin A type 1B receptor gene and finally reducing C/EBPα expression." J Leukoc Biol. 2014 Dec; 96(6): 1023-35.; 2016年3月23日出願された「A method of treating neoplasias」と題する国際特許出願公開WO 2016/161477; および2014年3月27日に公開された「Compounds and methods for altering activin receptor-like kinase signaling」と題する米国特許出願公開第2014/0088174号に提供されている。

30

40

【0376】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトACVR1B配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID: 91; NCBI参照番号: NM_004302.5):

50

GGGCGCTGCTGGGCTGCGGCGGGCGGGCGGGCGGGCGGTGGTTACTATGGCGGAGTC
GGCCGGAGCCTCCTCCTTCTTCCCCCTTGTTGTCCTCCTGCTCGCCGGCAGCGGGCGG
GTCCGGGCCCCGGGGGGTCCAGGCTCTGCTGTGTGCGTGCACCAGCTGCCTCCAGG
CCAACTACACGTGTGAGACAGATGGGGCCTGCATGGTTTCCATTTTCAATCTGGAT
GGGATGGAGCACCATGTGCGCACCTGCATCCCCAAAGTGGAGCTGGTCCCTGCCGG
GAAGCCCTTCTACTGCCTGAGCTCGGAGGACCTGCGCAACACCCACTGCTGCTACA
CTGACTACTGCAACAGGATCGACTTGAGGGTGCCCAGTGGTCACTCAAGGAGCCT
GAGCACCCGTCCATGTGGGGCCCCGGTGGAGCTGGTAGGCATCATCGCCGGCCCCGGT
GTTCTCCTGTTCCCTCATCATCATCATTGTTTTCTTGTCATTAATCATCATCAGCG
TGTCTATCACAACCGCCAGAGACTGGACATGGAAGATCCCTCATGTGAGATGTGTC
TCTCCAAAGACAAGACGCTCCAGGATCTTGCTACGATCTCTCCACCTCAGGGTCT
GGCTCAGGGTTACCCCTCTTTGTCCAGCGCACAGTGGCCCCGAACCATCGTTTTACA
AGAGATTATTGGCAAGGGTCGGTTTGGGGAAGTATGGCGGGGGCCGCTGGAGGGGTG
GTGATGTGGCTGTGAAAATATTCTTCTCGTGAAGAACGGTCTTGTTTCAGGGAA
GCAGAGATATACCAGACGGTCATGCTGCGCCATGAAAACATCCTTGGATTTATTGC
TGCTGACAATAAAGATAATGGCACCTGGACACAGCTGTGGCTTGTTTCTGACTATC
ATGAGCACGGGTCCCTGTTTGATTATCTGAACCGGTACACAGTGACAATTGAGGGG
ATGATTAAGCTGGCCTTGCTGTGCTAGTGGGCTGGCACACCTGCACATGGAGAT
CGTGGGCACCCAAGGGAAGCCTGGAATTGCTCATCGAGACTTAAAGTCAAAGAACA
TTCTGGTGAAGAAAAATGGCATGTGTGCCATAGCAGACCTGGGCCTGGCTGTCCGT
CATGATGCAGTCACTGACACCATTGACATTGCCCCGAATCAGAGGGTGGGGACCAA
ACGATACATGGCCCCTGAAGTACTTGATGAAACCATTAAATATGAAACACTTTGACT
CCTTTAAATGTGCTGATATTTATGCCCTCGGGCTTGATATTGGGAGATTGCTCGA
AGATGCAATTCTGGAGGAGTCCATGAAGAATATCAGCTGCCATATTACGACTTAGT
GCCCTCTGACCCTTCCATTGAGGAAATGCGAAAGGTTGTATGTGATCAGAAGCTGC
GTCCCAACATCCCCAACTGGTGGCAGAGTTATGAGGCACTGCGGGTGATGGGGAAAG
ATGATGCGAGAGTGTTGGTATGCCAACGGCGCAGCCCGCCTGACGGCCCTGCGCAT
CAAGAAGACCCTCTCCAGCTCAGCGTGCAGGAAGACGTGAAGATCTAACTGCTCC
CTCTCTCCACACGGAGCTCCTGGCAGCGAGAAGTACGCACAGCTGCCGCGTTGAGC
GTACGATGGAGGCCTACCTCTCGTTTCTGCCCAGCCCTCTGTGGCCAGGAGCCCTG
GCCCGCAAGAGGGACAGAGCCCCGGGAGAGACTCGCTCACTCCCATGTTGGGTTTGA
GACAGACACCTTTTCTATTTACCTCCTAATGGCATGGAGACTCTGAGAGCGAATTG
TGTGGAGAACTCAGTGCCACACCTCGAACTGGTTGTAGTGGGAAGTCCCGCGAAAC
CCGGTGCATCTGGCACGTGGCCAGGAGCCATGACAGGGGGCGCTTGAGGAGGGGGCCGG
AGGAACCGAGGTGTTGCCAGTGCTAAGCTGCCCTGAGGGTTTCTTTCGGGGACCAAG
CCCACAGCACACCAAGGTGGCCCCGAAGAACCAGAAGTGCAGCCCCCTCTCACAGGC
AGCTCTGAGCCGCGCTTTCCCCCTCCTCCCTGGGATGGACGCTGCCGGGAGACTGCC
AGTGGAGACGGAATCTGCCGCTTTGTCTGTCCAGCCGTGTGTGCATGTGCCGAGGT
GCGTCCCCCGTTGTGCCTGGTTCGTGCCATGCCCTTACACGTGCGTGTGAGTGTGT
GTGTGTGTCTGTAGGTGCGCACTTACCTGCTTGAGCTTTCTGTGCATGTGCAGGTG
GGGGGTGTGGTTCGTATGCTGTCCGTGCTTGCTGGTGCCTCTTTTTCAGTAGTGAGC
AGCATCTAGTTTCCCTGGTGCCCTTCCCTGGAGGTCTCTCCCTCCCCCAGAGCCCCT
CATGCCACAGTGGTACTCTGTGTCTGGCAGGCTACTCTGCCACCCCCAGCATCAGC
ACAGCTCTCCTCCTCCATCTCAGACTGTGGAACCAAAGCTGGCCCAGTTGTCCATG
ACAAAAGAGGCTTTTGGGGCCAAAATGTGAGGGTGGTGGGTGGGATGGGCAGGGAAAG
GAATCCTGGTGGAAAGTCTTGGGTGTTAGTGTGAGCCATGGGAATGAGCCAGCCCA
AGGGCATCATCCTCAGCAGCATCGAGGAAGGGCCGAGGAATGTGAAGCCAGATCTC
GGGACTCAGATTGGAATGTTACATCTGTCTTTTCATCTCCAGATCCTGGAAACAGC
AGTGTATATTTTTTGGTGGTGGTGGGTTTGGGGTGGGGAAGGGAAGGGCGGGCAAGG
AGTGGGGAGGGAGTCTGGGGTGGGAGGGAGGCATCTGCATGGGTCTTCTTTTACTG

10

20

30

40

50

GACTGTCTGATCAGGGTGGAGGGAAGGTGAGAGGTTTGCATCCACTTCAGGAGCCC
TACTGAAGGGAACAGCCTGAGCCGAACATGTTATTTAACCTGAGTATAGTATTTAA
CGAAGCCTAGAAGCACGGCTGTGGGTGGTGATTTGGTCAGCATATCTTAGGTATAT
AATAACTTTGAAGCCATAACTTTTAACTGGAGTGGTTTGTATTTCTTTTTTTAATTTT
ATTGGGAGGGTTTGGATTTTAACTTTTTTTAATGTTGTTAAATATTAAGTTTTTTGTA
AAAGGAAAACCATCTCTGTGATTACCTCTCAATCTATTTGTTTTTAAAGAAATCCC
TAAAAAATAATTATCCAATTGAACGCACATAGCTCAATCACACTGGAAATGTTT
GTCCTTGCACCTGAGCCTGTTCCCACTCAGCAGTGAGAGTTCCTCTTTGCCCTGAG
GCTCAGTCTCTCTCGTATTTTGTCCCCACCCCAATTCTTGAGTGGTTTTTGTCTCT
AGGGCCCTTTCTTGCACCTGTCCAGCTGGTTGTACCCTCTCCAGGCATTTATTCAACA
AATGTGGGTGAAGTGCCTGCTGGGTGCCAGGTGCTGGGAATACATCTGTGGACAAG
ACATGCTTGGGTCTACTCCTGGAGCACTGTAAAAAGAGCTGATTCAAGTAAGTAG
ATGCCTGTTTTGAGACCAGAAGGTTTCATAATTGGTTCTACGACCCTTTTGAGCCT
AGAATTATTGTTCTTATATAAGATCACTGAAGAAAGAGGAACCCCCACAACCCCT
CCACAAAGAGACCAGGGGCGGGTGATGAGACCTGGGGTTTAGAACCCAGGTGAGA
CCTCAAATCACTGCATTCAATTCTGAGCCCCCTTCTGTCCCCAGGGGAGGTGTATT
GTGTATGTAGCCTTAGAGCATCTCTGCCTCCAACCCAGCAGTTCTCTGCCAAAGCT
TGTGGAGGAGGGAGAGCCCTGTCCCTGCCCTCAGGCTCCCCAGTGCTCCTGGCCCT
TCTATTTATTTGACTGATTATTGCTTCTTTCCTTGCATTAAAGGAGATCTTCCCCTA
ACCTTTGGGCCAATTTACTGGCCACTAATTTGTTTTAAATACCATTGTGTCAATTGGG
GGGACCGTCTTTACCCCTGCTGACCTCCACCTATCCGCCCTGCAGCAGAACCTTG
GCGGTTTATAGGTAATGATGGAACCTTAGACTCCTCTTCCCAGAGTCACAAGTAGCC
TCTGGGATCTGCCAACACACGTCCACTCCAAGCCACTAGCCCACTCCCCAGTTGG
CCCTTCTGCCCTTACCCACACACAGTCCAACCTCTTCCACCTCTGGGGAAGATGGA
GCAGGTCTTTGGGAAGCTCCACACCCACCTCTGCCACTCTTAACACTAAGTGAGA
GTTGGGGAGAACTGAAGCCGTGTTTTTGGCCCCCGAGGCTAACCTGATCCATA
GTGCTACCTGCACCTCTGGATTCTGGATTACAGACCAAGTCCAAGCCCGTTCTTA
CGTCGCCATAAAGGCCCCCGAACGGCATTCTCGGTACTTCTGTTTTGTTTTTGTACAT
TTTATTAGAAAGGACTGTAAAATAGCCACTTAGACACTTTACCTCTTCAGTATGCA
AATGTAAATAAATTGTAATATAGGAAATCTTTTGTTTTAAATATAAGAATGAGCCTG
TCCAATTTCTGCTGTACATTATTAAAGTTTTTATTACAGA(配列番号367)。

【0377】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトACVR1B配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:91;NCBI参照番号:NM_020328.4):

GGGCGCTGCTGGGCTGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGTTACTATGGCGGAGTC
GGCCGGAGCCTCCTCCTTCTTCCCCCTTGTTGTCCTCCTGCTCGCCGGCAGCGGCGG
GTCCGGGCCCCGGGGGTCCAGGCTCTGCTGTGTGCGTGCAACAGCTGCCTCCAGG
CCAACCTACACGTGTGAGACAGATGGGGCCTGCATGGTTTCCATTTTCAATCTGGAT
GGGATGGAGCACCATGTGCGCACCTGCATCCCCAAAGTGGAGCTGGTCCCTGCCGG
GAAGCCCTTCTACTGCCTGAGCTCGGAGGACCTGCGCAACACCCACTGCTGCTACA
CTGACTACTGCAACAGGATCGACTTGAGGGTGCCCAAGTGGTCACTCAAGGAGCCT
GAGCACCCGTCCATGTGGGGCCCGGTGGAGCTGGTAGGCATCATCGCCGGCCCGGT
GTTCTCCTGTTCTCATCATCATCATTGTTTTCTTGTCACTTAATATCATCAGCG
TGTCTATACAACCGCCAGAGACTGGACATGGAAGATCCCTCATGTGAGATGTGTC
TCTCAAAGACAAGACGCTCCAGGATCTTGTCTACGATCTCTCCACCTCAGGGTCT
GGCTCAGGGTTACCCCTCTTTGTCCAGCGCACAGTGGCCCGAACCATCGTTTTACA
AGAGATTATTGGCAAGGGTCGGTTTGGGGAAGTATGGCGGGGCGCTGGAGGGGTG
GTGATGTGGCTGTGAAAATATTCTTCTCGTGAAGAACGGTCTTGGTTTCAGGGAA
GCAGAGATATACCAGACGGTCATGCTGCGCCATGAAAACATCCTTGGATTTATTGC

TGCTGACAATAAAGCAGACTGCTCATTCTCACATTGCCATGGGAAGTTGTAATGG
TCTCTGCTGCCCCCAAGCTGAGGAGCCTTAGACTCCAATACAAGGGAGGAAGGGGA
AGAGCAAGATTTTTATTCCCACTGAATAATGGCACCTGGACACAGCTGTGGCTTGT
TTCTGACTATCATGAGCACGGGTCCCTGTTTGATTATCTGAACCGGTACACAGTGA
CAATTGAGGGGATGATTAAGCTGGCCTTGTCTGCTGCTAGTGGGCTGGCACACCTG
CACATGGAGATCGTGGGCACCCAAGGGAAGCCTGGAATTGCTCATCGAGACTTAAA
GTCAAAGAACATTCTGGTGAAGAAAAATGGCATGTGTGCCATAGCAGACCTGGGCC
TGGCTGTCCGTCATGATGCAGTCACTGACACCATTGACATTGCCCCGAATCAGAGG
GTGGGGACCAAACGATACATGGCCCCCTGAAGTACTTGATGAAACCATTAATATGAA
ACACTTTGACTCCTTTAAATGTGCTGATATTTATGCCCTCGGGCTTGTATATTGGGA
GATTGCTCGAAGATGCAATTCTGGAGGAGTCCATGAAGAATATCAGCTGCCATATT
ACGACTTAGTGCCCTCTGACCCTTCCATTGAGGAAATGCGAAAGGTTGTATGTGAT
CAGAAGCTGCGTCCCAACATCCCCAACTGGTGGCAGAGTTATGAGGCACTGCGGGT
GATGGGGAAGATGATGCGAGAGTGTTGGTATGCCAACGGGCGCAGCCCGCCTGACGG
CCCTGCGCATCAAGAAGACCCTCTCCAGCTCAGCGTGCAGGAAGACGTGAAGATC
TAACTGCTCCCTCTCTCCACACGGAGCTCCTGGCAGCGAGAACTACGCACAGCTGC
CGCGTTGAGCGTACGATGGAGGCCTACCTCTCGTTTCTGCCAGCCCTCTGTGGCC
AGGAGCCCTGGCCCCGCAAGAGGGACAGAGCCCGGGAGAGACTCGCTCACTCCCATG
TTGGGTTTGAGACAGACACCTTTTCTATTTACCTCCTAATGGCATGGAGACTCTGA
GAGCGAATTGTGTGGGAGAACTCAGTGCCACACCTCGAACTGGTTGTAGTGGGAAGT
CCCGCGAAACCCGGTGCATCTGGCACGTGGCCAGGAGCCATGACAGGGGCGCTTGG
GAGGGGCCGGAGGAACCGAGGTGTTGCCAGTGCTAAGCTGCCCTGAGGGTTTCCTT
CGGGGACCAGCCACAGCACACCAAGGTGGCCCCGGAAGAACCAGAAGTGCAGCCCC
TCTCACAGGCAGCTCTGAGCCGCGCTTTCCCCTCCTCCCTGGGATGGACGCTGCCG
GGAGACTGCCAGTGGAGACGGAATCTGCCGCTTTGTCTGTCCAGCCGTGTGTGCAT
GTGCCGAGGTGCGTCCCCCGTTGTGCCTGGTTCTGTCCATGCCCTTACACGTGCGT
GTGAGTGTGTGTGTGTGTCTGTAGGTGCGCACTTACCTGCTTGAGCTTTCTGTGCA
TGTGCAGGTGCGGGGGTGTGGTCTGTCATGCTGTCCGTGCTTGTGGTGCCTCTTTTC
AGTAGTGAGCAGCATCTAGTTTCCCTGGTGCCCTTCCCTGGAGGTCTCTCCCTCCCC
CAGAGCCCCTCATGCCACAGTGGTACTCTGTGTCTGGCAGGCTACTCTGCCACCC
CAGCATCAGCACAGCTCTCCTCCTCCATCTCAGACTGTGGAACCAAAGCTGGCCCA
GTTGTCCATGACAAAAGAGGCTTTTGGGCCAAAATGTGAGGGTGGTGGGTGGGATG
GGCAGGGAAGGAATCCTGGTGGAAGTCTTGGGTGTTAGTGTCAGCCATGGGAAATG
AGCCAGCCCAAGGGCATCATCCTCAGCAGCATCGAGGAAGGGCCGAGGAATGTGAA
GCCAGATCTCGGGACTCAGATTGGAATGTTACATCTGTCTTTCATCTCCAGATCCT
GGAAACAGCAGTGTATATTTTTGGTGGTGGTGGGTTTGGGGTGGGGAAGGGAAGGG
CGGGCAAGGAGTGGGGAGGGAGTCTGGGGTGGGAGGGAGGCATCTGCATGGGTCTT
CTTTTACTGGACTGTCTGATCAGGGTGGAGGGAAGGTGAGAGGTTTGCATCCACTT
CAGGAGCCCTACTGAAGGGAACAGCCTGAGCCGAACATGTTATTTAACCTGAGTAT
AGTATTTAACGAAGCCTAGAAGCACGGCTGTGGGTGGTGATTGTTGAGCATATCT
TAGGTATATAATAACTTTGAAGCCATAACTTTTAACTGGAGTGGTTTGATTTCTTTT
TTTAATTTTATTGGGAGGGTTTGGATTTTAACTTTTTTTAATGTTGTTAAATATTAA
GTTTTTGTA AAAAGGAAAACCATCTCTGTGATTACCTCTCAATCTATTTGTTTTTAA
GAAATCCCTAAAAAATAATTATCCAATTGAACGCACATAGCTCAATCACACTGG
AAATGTTTGTCTTGCACCTGAGCCTGTTCCCACTCAGCAGTGAGAGTTCCTCTTTG
CCCTGAGGCTCAGTCTCTCTCGTATTTTGTCCCCACCCCAATTCCTTGAGTGGTTT
TTGCTCTAGGGCCCTTTCTTGCACCTGTCCAGCTGGTTGTACCCTCTCCAGGCATTTA
TTCAACAAATGTGGGTGAAGTGCCCTGCTGGGTGCCAGGTGCTGGGAATACATCTGT
GGACAAGACATGCTTGGGTCTACTCCTGGAGCACTGTAAAAAGAGCTGATTCAAG
TAAGTAGATGCCTGTTTTGAGACCAGAAGGTTTCATAATTGGTTCTACGACCCTTT

10

20

30

40

50

TGAGCCTAGAATTATTGTTCTTATATAAGATCACTGAAGAAAGAGGAACCCCCACA
ACCCCTCCACAAAGAGACCAGGGGCGGGTGATGAGACCTGGGGTTTAGAACCCCA
GGTGAGACCTCAAATCACTGCATTCACTCTGAGCCCCCTTCTGTCCCCAGGGGAG
GTGTATTGTGTATGTAGCCTTAGAGCATCTCTGCCTCCAACCCAGCAGTTCTCTGCC
AAAGCTTGTGGAGGAGGGAGAGCCCTGTCCCTGCCCTCAGGCTCCCCAGTGCTCCT
GGCCCTTCTATTTATTTGACTGATTATTGCTTCTTTCTTGCATTAAAGGAGATCTT
CCCCTAACCTTTGGGCCAATTTACTGGCCACTAATTTTCGTTTAAATACCATTTGTGTC
ATTGGGGGGACCGTCTTTACCCCTGCTGACCTCCCACCTATCCGCCCTGCAGCAGA
ACCTTGCGGTTTATAGGTAATGATGGAAGCTTAGACTCCTCTTCCCAGAGTCACAA
GTAGCCTCTGGGATCTGCCAACACACGTCCTACTCCCAAGCCACTAGCCCACTCCCC
AGTTGGCCCTTCTGCCCTTACCCACACACAGTCCAACCTCTTCCACCTCTGGGGAA
GATGGAGCAGGTCTTTGGGAAGCTCCACACCCACCTCTGCCACTCTTAACACTAA
GTGAGAGTTGGGGAGAACTGAAGCCGTGTTTTTGGCCCCCGAGGCTAACCTGA
TCCATAGTGCTACCTGCACCTCTGGATTCTGGATTACAGACCAAGTCCAAGCCCG
TTCTTACGTCGCCATAAAGGCCCCCGAACGGCATTCTCGGTACTTCTGTTTTGTTTTT
GTACATTTTATTAGAAAGGACTGTAAATAGCCACTTAGACACTTTACCTCTTCAG
TATGCAAATGTAAATAAATTGTAATATAGGAAATCTTTTGTTTTAAATATAAGAATG
AGCCTGTCCAATTTCTGCTGTACATTATTAAAGTTTTATTACAGAG(配列番号368)

10

【0378】

20

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスACVR1配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:11479;NCBI参照番号:NM_007395.4):

GAGGGAGGGAGGGAGAGAGGGCGCCGGGGGCGCGCGCGCGCTGGGGCGCTGCTGGG
CTGCGGCGGCGGTTACTATGGCGGAGTCGGCCGGAGCCTCCTCCTTCTTCCCCCTT
GTTGTCCTCCTGCTCGCCGGCAGCGGCGGGTCCGGGCCCCGGGGGATCCAGGCTCT
GCTGTGTGCGTGACCCAGCTGCCTACAGACCAACTACACCTGTGAGACAGATGGGG
CTTGCAATGGTCTCCATCTTTAACCTGGATGGCGTGGAGCACCATGTACGTACCTGC
ATCCCCAAGGTGGAGCTGGTTCCCTGCTGGAAAGCCCTTCTACTGCCTGAGTTTCA
GGATCTGCGCAACACACACTGCTGCTATATTGACTTCTGCAACAAGATTGACCTCA
GGGTCCCCAGCGGACACCTCAAGGAGCCTGCGCACCCCTCCATGTGGGGCCCTGTG
GAGCTGGTCGGCATCATCGCCGGCCCCGTCTTCCTCCTCCTTATCATTATCATC
GTCTTCCTGGTCATCAACTATCACCAGCGTGTCTACCATAACCGCCAGAGGTTGGA
CATGGAGGACCCCTCTTGCGAGATGTGTCTCTCCAAAGACAAGACGCTCCAGGATC
TCGTCTACGACCTCTCCACGTCAGGGTCTGGCTCAGGGTTACCCCTTTTTGTCCAGC
GCACAGTGGCCCGAACCATTTGTTTTACAAGAGATTATCGGCAAGGGCCGGTTTCGGG
GAAGTATGGCGTGGTCGCTGGAGGGGTGGTGACGTGGCTGTGAAAATCTTCTCTTC
TCGTGAAGAACGGTCTTGGTTCCGTGAAGCAGAGATCTACCAGACCGTCATGCTGC
GCCATGAAAACATCCTTGGCTTTATTGCTGCTGACAATAAAGATAATGGCACCTGG
ACCCAGCTGTGGCTTGTCTCTGACTATCACGAGCATGGCTCACTGTTTGTATTATCTG
AACCGCTACACAGTGACCATTGAGGGAATGATTAAGCTAGCCTTGTCTGCAGCCAG
TGGTTTGGCACACCTGCATATGGAGATTGTGGGCACTCAAGGGAAGCCGGGAATTG
CTCATCGAGACTTGAAGTCAAAGAACATCCTGGTGAAAAAAAATGGCATGTGTGCC
ATTGCAGACCTGGGCCTGGCTGTCCGTGATGATGCGGTCACTGACACCATAGACAT
TGCTCCAAATCAGAGGGTGGGGACCAACGATACATGGCTCCTGAAGTCCTTGACG
AGACAATCAACATGAAGCACTTTGACTCCTTCAAATGTGCCGACATCTATGCCCTC
GGGCTTGTCTACTGGGAGATTGCACGAAGATGCAATTCTGGAGGAGTCCATGAAGA
CTATCAACTGCCGTATTACGACTTAGTGCCCTCCGACCCCTTCCATTGAGGAGATGC
GAAAGGTTGTATGTGACCAGAAGCTACGGCCCAATGTCCCAACTGGTGGCAGAGT
TATGAGGCCTTGCGAGTGATGGGAAAGATGATGCGGGAGTGCTGGTACGCCAATGG

30

40

50

TGCTGCCCCGTCTGACAGCTCTGCGCATCAAGAAGACTCTGTCCCAGCTAAGCGTG
AGGAAGATGTGAAGATTTAAGCTGTTCTCTGCCTACACAAAGAACCTGGGCAGTG
AGGATGACTGCAGCCACCGTGCAAGCGTCGTGGAGGCCTACCTCTTGTTTCTGCCC
GGCCCTCTGGCCAGAGCCCTGGCCTGCAAGAGGGACAGAGCCTGGGAGACGCGCAC
TCCCGTTGGGTTTGAGACAGACACTTTTTATATTTACCTCCTGATGGCATGGAGAC
TCTGAGCAAATCATGTAGACAACCTCAATGCCACAACCTCAAACCTGCTTGCAGTGGGA
AGTACAGAGAGCCCCAGTGCATCTGGCGTGTTGCCAGGAGCGGTGAAGGGTGCTGGG
CTCGCCCAGGAGCGGCCCCCATAACCTTGTGGTCCACTGGGCTGCAGGTTTTCTCC
AGGGACCAGTCAACTGGCATCAAGATATTGAGAGGAACCGGAAGTTTCTCCCTCC
TTCCCGTAGGCAGTCCTGAGCCACACCATCCCTTCTCATGGACATCCGGAGGGGACT
GCCCCCTAGAGACACAACCTGCTGCCTGTCTGTCCAGCCAAGTGCGCATGTGCCGAG
GTGTGTCCACATTGTGCCTGGTCTGTGCCACGCCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
GAGTGAGTGTGTGTGTGTGTACTTAACCTGCTTGAGCTTTCTGTGCATGTGTAGGC
CAGGGTGTGGTGGCCATACTGTCTCTGAGTGCTGCTGCTTCTCAGTGAGCAGCATG
TAGTTAACCTGGTGCCCTCCTAGGTGTCTCCTGTCCCAGACCCCATCAGTCAGGG
AGGTTCTGTCTTCTCAGCAGGCTGCTTGCCACCCCTGTGTTCACAGGCCCTCCTCTTC
CATTTTCAGACCAGAACCAAAGCTGGCCCACTTGTCCATGGTAGGAGAAGCTTTTGG
GTCAAATGAGGGGGGACTTGATGAGCAGAGAGAGAATGTAGGTGGAAGTCTTGGGT
GCTGTGTTTCAGCATCAGCCATGGGAAATGAGCCAGCCCAAGGGCATCTTCCTTGA
CAGCTGTGAGGAAGGGCCGAGGAATCCGAAGCCAGAGCTTGGGACTCAGATTGGAA
TGTAACATCTGTTTATGTCCACCCAGATTCTGCAAACCTGCAGTGTATATTTTGG
TGGTGGGTTTGGGGTGGGAAGGGATGGGTTCAGGGCGTGGGGAGGGAGGCTGGGG
TGGGAGGGAGGCATCTGCATGGGCTTCTTGTACTGGATTCTCTGATCAGGGTAGAG
AAGAGGCAAGGCTTGCATCCACTTCAGGGTCCCTACTGAGGAGAGTGAGCGGTCCG
AGCTGAATATGGTGTTTAACTAAGTTTAGTATTTAATGAATTCTAGAAGCCTGGC
TGTGGGTGGTGATTGTTGCTCAGCATATCTTAGGTATATAATAACTTTGAAGCCATAA
CTTTTTAACTGGAGTGGTTTATTTTAATTGAGTTTATTTTATTTTATTTTGGGGGA
GGGTGAGGATTTTAACTTTAATATTGTTAAGTTTTGTAAAAGGAGAACCATCTCTG
TGACAATTACCTCTTAGTCTGTTTGTGTTTTTAAAGAAATCCCTAAAACAAACAAAAC
ACAAAAATTCTCCAGACTCAAACGCACATAGTTTCAGTCACTGGAAACGCTTGCTTT
TGACCTGAGCCTGATCCCGCTGAGCAGTGAGGGCTGCTTTTCCCATGGGGGCTT
GCTGTCTCGTACTCCCTGCACCCTCGGCCCCATCCCGTGAGCACCTCGGCCCTCTGC
ACATTGCCCGGCTGGTTGGACCCTTTCAGATACTTGCTCAGCAAATGTGGGCTGC
GAGCCTGCTGAGCGCTGGCCCCGGGAGGATCTCCTCAGGGTGGGGCAGGCTTGGGCG
CTGCTCTGCTCCTCTACCACTGGAGGGAATGGAATCATGCGATGGGCGAGCACCTG
CTGTGGAGACCAGAAGTGCTCATGGCTGGTCCTGAGAGCCTTGATGAGCTAGGATC
ACTGTTCTTAAAGACCACTGAAACTGGAAGGGGGACCTGTATCCCCTTGGGAAGAG
AAGCCCCCTGGCAAGCAGTGGGTCTGAGACTGGGTTCATTGTGAGCCTTTCCTGC
CAGGGGAGGCATGAGTCTTTGCAGGGGAACTGTCTCCTCCAGCTTCTCCTGCCTTG
GTCTCCCCATATTCTTAGCCTTTCTATTTATTTCTGGTGTATAACTTTCCTTGCTT
TAAAGGGATCTTCCTTTAATTCCTTGGGCCAATTTACTGGCCATTGAACAGTGTCC
CTTGAGTCCCAACTGTGTCTCTGGGGAACCTCCTTACCCACCCCTGCTGACCTCCCA
CTTCCACCCCTGCAGCTGAGTATCCGTGATTACAGGCGATTGAACTGTAGAGTCCT
CTCTGCCTCTGTACCTGCCAGCAGCAGCCTCACAGTGACCCCCACGCCACTGGACA
ACTCCAGGAGACCTGTGCGCTCCGTGCAGCTCAGCTCAGCCGCCTCTCAGGAAGC
CTGGAGCAGGTCTGGGGGACCCCCCCCCCATCACTCTTTACATTAAGCTGAGAGTT
GGGAGAAGCTGTGCTTTGGCTCCCTGAGGCCACCTGATCCACGGGGCACCCGCAC
CTCTGCGTTCTGGATTACAGACCAAGTCTAAAGCCCGTTTCGTTCTGAGTTGCCG
TCAAGGCCCTGAACGGTACTCTCGGTACTTCTGTTTGTGTTTTTGTACAATTTATTA
GAAAGGACTGTAAAATAGCCACTTAGACACTTTACCTCTCCAGTATGCAAATGTAA

10

20

30

40

50

ATATATTGTAATATAGGAAATTTTTGTTTTAATATAAGAATGAGCCTGTCCAGTTT
CTGCTGTACATTATTAAGTTTTATTACAGAACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAA(配列番号369)。

【0379】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ラットACVR1配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:29381;NCBI参照番号:NM_199230.1):

GGCGGCGGTTACTATGGCGGAGTCGGCCGGAGCCTCCTCCTTCTTCCCCCTTGTTG
TCCTCCTGCTCGCCGGCAGTGGCGGGTCCGGGGCCCCGGGGGATCCAGGCTCTGCTG
TGTGCATGCACCAGCTGCCTACAGACCAACTACACCTGCGAAACAGATGGGGCCTG
CATGGTCTCCATCTTTAACCTGGATGGCATGGAGCACACGTACGCACCTGCATCC
CCAAGGTGGAGCTTGTGCCTGCTGGGAAGCCCTTCTACTGCCTGAGTTCAGAGGAC
CTGCGCAACACGCACTGCTGCTATATTGACTTCTGCAACAAGATTGACCTGAGGGT
GCCCAGTGGACACCTCAAGGAGCCTGAGCACCCCTCCATGTGGGGCCCTGTGGAGC
TGGTGGCATCATTGCCGGTCCTGTCTTCTCCTCCTCCTCATCATCATCATCGTCT
TCCTGGTTCATCAACTATCATCAGCGTGTCTACCACAACCGCCAAAGACTGGACATG
GAGGACCCCTCATGTGAGATGTGTCTCTCCAAAGACAAGACGCTCCAGGATCTCGT
CTACGATCTCTCCACTTCAGGATCGGGCTCAGGGTTACCCCTTTTTGTCCAGCGCAC
AGTGGCCCGAACCATTGTTTTACAAGAGATTATCGGCAAGGGCCGGTTTGGGGAAAG
TATGGCGTGGCCGCTGGAGGGGTGGTGTGTGGCTGTGAAAATCTTCTTCCCGT
GAAGAGCGGTCGTGGTTCCGGGAGGCAGAGATCTACCAGACTGTCATGCTGCGCCA
TGAAAACATCCTTGGGTTTATTGCTGCTGACAATAAAGACAATGGCACCTGGACCC
AGCTGTGGCTTGTCTCTGACTATCACGAGCACGGCTCACTGTTTCGATTATCTGAAC
CGCTACACAGTGACCATTGAGGGGATGATTAAACTGGCCCTGTCTGCAGCCAGTGG
TTTGGCACACCTGCATATGGAGATTGTGGGCACTCAGGGGAAGCCTGGAATTGCTC
ATCGAGACTTGAAGTCAAAGAACATTCTGGTGAAGAAGAATGGCATGTGTGCCATT
GCAGACCTGGGCCTAGCTGTCCGTCACGATGCTGTCACTGACACCATAGACATTGC
TCCAAATCAGAGGGTGGGAACCAAACGATACATGGCTCCTGAAGTACTTGACGAGA
CCATCAACATGAAGCACTTTGACTCCTTCAAGTGTGCCGATATCTACGCCCTCGGG
CTTGTCTATTGGGAGATTGCTCGGAGGTGCAATTCTGGAGGAGTCCATGAAGAGTA
TCAACTGCCATATTATGATTTAGTGCCCTCTGACCCTTCCATTGAGGAAATGCGAA
AGGTGCTCTGTGACCAGAAGCTACGGCCCAATGTCCCAACTGGTGGCAGAGTTAT
GAGGCCTTGCGAGTGATGGGGAAAGATGATGCGGGAGTGCTGGTACGCCAATGGTGC
TGCCCGCCTGACAGCGCTGCGCATCAAGAAGACTTTGTCCAGCTAAGCGTGACAGG
AAGACGTGAAGATTTAAGCTGTTCTCTGCCTACGCAAAGAACCTGGGCAGTGAGG
ATGCCTGCAGCCACCGTGCAAGCGTGAGGCGCTACCTCTTGTTTCTGCCAGCCCT
CTGGCCAGAGCCCTGGTCTGCAAGAGGGACAGAGCCTGGGAGACGCACACTCCCTA
CTGGGTTTGAGACAGACACTTTTTATATTTACCTCCTGATGGCATGGAGACTCTGA
GAGCAAATCATGTAGATGACTCGATGCCACAACCTCGCACTGCGTGCAGTGGGAAGG
ACAGAAAGCCCAGTGATCTGGCATGTTGCCAGGAGTGGTGTATGGGTGCTGGGCTC
GCCTGGGAGCAGCCCCCATAACCGTGTTGTCCACTGGACTGCAGGTTTCCTCCAGGG
ACCAAGTCAACTGGCAGATACTGAGAGGAACCGGAAGTGTCCTCCCTTTTACCTGTG
GGCAGTCCTGAGCCACGCCATCCCTTCTCATCTGGAGGACCGCCCTAGAGACAC
AACCTGCTGCCTGTCTGTCCAGCCAAGTGCGCATGTGCCGAGGTGTGTCTCACATT
GTGCCTGGTCCGTGCCTCGCCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
GTAGGTGTGTGTGAGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
GTGTGAGTGTGGGTGTGTGAGAGTGTGTGTAGGTGTATGTGAGTGTGTAAGTGTGT
GTAGGTGTGTGAGTGTGTAGGTGTGTGAGTGTG(配列番号370)

【0380】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、参照によりその内容

10

20

30

40

50

全体が本明細書に組み込まれるSu,G.H.et al.Proc Natl Acad Sci U S A.2001 Mar 13;98(6):3254-3257.に報告されているように、ACVR1Bの変異体形態に対する相補性領域を有し得る。

【0381】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号367、配列番号368、配列番号369または配列番号370に記載のACVR1B配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号367、配列番号368、配列番号369または配列番号370に記載のACVR1B配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号367、配列番号368、配列番号369または配列番号370に記載のACVR1B配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号367、配列番号368、配列番号369または配列番号370に記載のACVR1B配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号367、配列番号368、配列番号369または配列番号370に記載のACVR1B配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号367、配列番号368、配列番号369または配列番号370に記載のACVR1B配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

【0382】

いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号343~366のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号343~366のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号343~366のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

【0383】

いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号のいずれか1つを含むACVR1B配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号221~268のいずれか1つを含むACVR1B配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号221~268のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0384】

いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号221~268のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領

」は、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオシドを示し、「fN」は、2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオシドを示し、2つのヌクレオシド間に「*」が存在しないことは、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0391】

いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、表16に列挙される配列番号343～366の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、表16に列挙される配列番号245～268の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチドは、表16に列挙されるsiRNAから選択されるsiRNAである。

【表14-1】

10

表 14. ACVR1B 標的配列

参照配列	参照配列の 対応する ヌクレオチド	ACVR1B 標的配列 (5'から 3')	配列番号
NM_004302.5 (配列番号 367)	572-591	ACAAGACGCTCCAGGATCT	221
NM_004302.5 (配列番号 367)	1034-1053	GAATTGCTCATCGAGACTT	222
NM_004302.5 (配列番号 367)	1418-1437	ACTGGTGGCAGAGTTATGA	223
NM_004302.5 (配列番号 367)	1294-1313	TGCAATTCTGGAGGAGTCC	224
NM_004302.5 (配列番号 367)	565-584	TCCAAAGACAAGACGCTCC	225
NM_004302.5 (配列番号 367)	2970-2989	ATAATAACTTTGAAGCCAT	226
NM_004302.5 (配列番号 367)	2984-3003	GCCATAACTTTTAACTGGA	227
NM_004302.5 (配列番号 367)	4463-4482	CTTTTGTTTTAATATAAGA	228
NM_004302.5 (配列番号 367)	582-601	CCAGGATCTTGTCTACGAT	229
NM_004302.5 (配列番号 367)	905-924	ACGGGTCCCTGTTTGATTA	230
NM_004302.5 (配列番号 367)	212-231	TTTTCAATCTGGATGGGAT	231
NM_004302.5 (配列番号 367)	4435-4454	AATGTAAATAAATTGTAAT	232
NM_004302.5 (配列番号 367)	473-491	TCATTGTTTTCTTGTCAT	233
NM_004302.5 (配列番号 367)	1535-1554	TCAGCGTGCAGGAAGACGT	234
NM_004302.5 (配列番号 367)	1784-1803	AGAGCGAATTGTGTGGAGA	235
NM_199230.1 (配列番号 370)	1401-1420	ATGAGGCCTTGCGAGTGAT	236
NM_199230.1 (配列番号 370)	964-983	CCTGCATATGGAGATTGTG	237
NM_199230.1 (配列番号 370)	2046-2065	TGCGCATGTGCCGAGGTGT	238
NM_199230.1 (配列番号 370)	1104-1123	CTGACACCATAGACATTGC	239
NM_199230.1 (配列番号 370)	293-312	CACTGCTGCTATATTGACT	240
NM_199230.1 (配列番号 370)	174-193	TCTCCATCTTTAACCTGGA	241
NM_199230.1 (配列番号 370)	1654-1673	GACAGAGCCTGGGAGACGC	242

20

30

40

50

【表 1 4 - 2】

NM_199230.1 (配列番号 370)	970-989	TATGGAGATTGTGGGCACT	243
NM_199230.1 (配列番号 370)	642-661	AAGAGATTATCGGCAAGGG	244

* 標的配列は T を含有するが、RNA および/または DNA への結合が企図される。

【0 3 9 2】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 15 に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

【表 1 5】

表 15. ACVR1B を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
AGACAAGACGCUCAGGAUCU	245	AGAUCUGGAGCGUCUUGUCUUU	343
UGGAAUUGCUCACGAGACUU	246	AAGUCUCGAUGAGCAAUCCAGG	344
CAACUGGUGGCAGAGUUAUGA	247	UCAUAACUCUGCCACCAGUUGGG	345
GAUGCAAUUCUGGAGGAGUCC	248	GGACUCCUCCAGAAUUGCAUCUU	346
UCUCCAAAGACAAGACGCUC	249	GGAGCGUCUUGUCUUUGGAGAGA	347
AUAUAAUAAUUAAGCCAU	250	AUGGCUUCAAAGUUAUUAUAC	348
AAGCCAUAAUUAACUGGA	251	UCCAGUUAUAAAGUUAUGGCUUCA	349
AUCUUUUGUUUAAUUAAGA	252	UCUUAUUAUAAACAAAAGAUUU	350
CUCAGGAUCUUGUCUACGAU	253	AUCGUAGACAAGAUCUGGAGCG	351
GCACGGGUCCUGUUUGAUUA	254	UAAUCAAAACAGGGACCCGUGCUC	352
CAUUUCAAUCUGGAUGGGAU	255	AUCCCAUCCAGAUUGAAAUGGA	353
CAAUGUAAAUAUUAUUGAAU	256	AUUACAAUUUAUUUACAUUUGCA	354
CAUCAUUGUUUCCUUGUCAU	257	AUGACAAGGAAAACAAUGAUGAU	355
GCUCAGCGUGCAGGAAGACGU	258	ACGUCUCCUGCACGCUGAGCUG	356
UGAGAGCGAAUUGUGUGGAGA	259	UCUCCACACAAUUCGCUCUCAGA	357
UUAUGAGGCCUUGCGAGUGAU	260	AUCACUCGCAAGGCCUCAUACU	358
CACCUGCAUAUGGAGAUUGUG	261	CACAAUCUCCAUAUGCAGGUGUG	359
AGUGCGCAUGUGCCGAGGUGU	262	ACACCUCGGCACAUGCGCACUUG	360
CACUGACACCAUAGACAUUGC	263	GCAAUGUCUAUGGUGUCAGUGAC	361
CACACUGCUGCUAUUUGACU	264	AGUCAAUUAGCAGCAGUGUGUG	362
GGUCUCCAUCUUUAACCUGGA	265	UCCAGGUUAAAGAUGGAGACCAU	363
GGGACAGAGCCUGGGAGACGC	266	GCGUCUCCAGGCUCUGUCCUC	364
CAUAUGGAGAUUGUGGGCACU	267	AGUGCCCACAAUCUCCAUAUGCA	365
ACAAGAGAUUAUCGGCAAGGG	268	CCCUUGCCGAUAAUCUCUUGUAA	366

【0 3 9 3】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 16 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【表 16 - 1】

表 16. ACVR1B を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号	修飾ガイド鎖/ アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsACVR1B-3	mAmGfAmCfAmAfGmAfCm GfCmUfCmCfAmGfGmAfU mCfU	245	fAfGmAfUmCfCmUfGmGf AmGfCmGfUmCfUmUfGm UfCmU*fU*mU	343
hsACVR1B-4	mUmGfGmAfAmUfUmGfCm UfCmAfUmCfGmAfGmAfC mUfU	246	fAfAmGfUmCfUmCfGmAf UmGfAmGfCmAfAmUfUm CfCmA*fG*mG	344
hsACVR1B-5	mCmAfAmCfUmGfGmUfGm GfCmAfGmAfGmUfUmAfU mGfA	247	fUfCmAfUmAfAmCfUmCf UmGfCmCfAmCfCmAfGm UfUmG*fG*mG	345
hsACVR1B-6	mGmAfUmGfCmAfAmUfUm CfUmGfGmAfGmGfAmGfU mCfC	248	fGfGmAfCmUfCmCfUmCf CmAfGmAfAmUfUmGfCm AfUmC*fU*mU	346
hsACVR1B-7	mUmCfUmCfCmAfAmAfGm AfCmAfAmGfAmCfGmCfU mCfC	249	fGfGmAfGmCfGmUfCmUf UmGfUmCfUmUfUmGfGm AfGmA*fG*mA	347
hsACVR1B-8	mAmUfAmUfAmAfUmAfAm CfUmUfUmGfAmAfGmCfC mAfU	250	fAfUmGfGmCfUmUfCmAf AmAfGmUfUmAfUmUfA mUfAmU*fA*mC	348
hsACVR1B-9	mAmAfGmCfCmAfUmAfAm CfUmUfUmUfAmAfCmUfG mGfA	251	fUfCmCfAmGfUmUfAmAf AmAfGmUfUmAfUmGfG mCfUmU*fC*mA	349
hsACVR1B-10	mAmUfCmUfUmUfUmGfUm UfUmUfAmAfUmAfUmAfA mGfA	252	fUfCmUfUmAfUmAfUmUf AmAfAmAfCmAfAmAfAm GfAmU*fU*mU	350
hsACVR1B-1	mCmUfCmCfAmGfGmAfUm CfUmUfGmUfCmUfAmCfG mAfU	253	fAfUmCfGmUfAmGfAmCf AmAfGmAfUmCfCmUfGm GfAmG*fC*mG	351
hsACVR1B-11	mGmCfAmCfGmGfGmUfCm CfCmUfGmUfUmUfGmAfU mUfA	254	fUfAmAfUmCfAmAfAmCf AmGfGmGfAmCfCmCfGm UfGmC*fU*mC	352
hsACVR1B-12	mCmAfUmUfUmUfCmAfAm UfCmUfGmGfAmUfGmGfG mAfU	255	fAfUmCfCmCfAmUfCmCf AmGfAmUfUmGfAmAfA mAfUmG*fG*mA	353
hsACVR1B-13	mCmAfAmAfUmGfUmAfAm AfUmAfAmAfUmUfGmUfA mAfU	256	fAfUmUfAmCfAmAfUmUf UmAfUmUfUmAfCmAfUm UfUmG*fC*mA	354
hsACVR1B-2	mCmAfUmCfAmUfUmGfUm UfUmUfCmCfUmUfGmUfC mAfU	257	fAfUmGfAmCfAmAfGmGf AmAfAmAfCmAfAmUfGm AfUmG*fA*mU	355
hsACVR1B-14	mGmCfUmCfAmGfCmGfUm GfCmAfGmGfAmAfGmAfC mGfU	258	fAfCmGfUmCfUmUfCmCf UmGfCmAfCmGfCmUfGm AfGmC*fU*mG	356
hsACVR1B-15	mUmGfAmGfAmGfCmGfAm AfUmUfGmUfGmUfGmGfA mGfA	259	fUfCmUfCmCfAmCfAmCf AmAfUmUfCmGfCmUfCm UfCmA*fG*mA	357
mmACVR1B-4	mUmUfAmUfGmAfGmGfCm CfUmUfGmCfGmAfGmUfG mAfU	260	fAfUmCfAmCfUmCfGmCf AmAfGmGfCmCfUmCfAm UfAmA*fC*mU	358
mmACVR1B-5	mCmAfCmCfUmGfCmAfUm AfUmGfGmAfGmAfUmUfG mUfG	261	fCfAmCfAmAfUmCfUmCf CmAfUmAfUmGfCmAfGm GfUmG*fU*mG	359

10

20

30

40

50

【表 16-2】

mmACVR1B-6	mAmGfUmGfCmGfCmAfUm GfUmGfCmCfGmAfGmGfU mGfU	262	fAfCmAfCmCfUmCfGmGf CmAfCmAfUmGfCmGfCm AfCmU*fU*mG	360
mmACVR1B-7	mCmAfCmUfGmAfCmAfCm CfAmUfAmGfAmCfAmUfU mGfC	263	fGfCmAfAmUfGmUfCmUf AmUfGmGfUmGfUmCfAm GfUmG*fA*mC	361
mmACVR1B-1	mCmAfCmAfCmUfGmCfUm GfCmUfAmUfAmUfUmGfA mCfU	264	fAfGmUfCmAfAmUfAmUf AmGfCmAfGmCfAmGfUm GfUmG*fU*mG	362
mmACVR1B-2	mGmGfUmCfUmCfCmAfUm CfUmUfUmAfAmCfCmUfG mGfA	265	fUfCmCfAmGfGmUfUmAf AmAfGmAfUmGfGmAfG mAfCmC*fA*mU	363
mmACVR1B-8	mGmGfGmAfCmAfGmAfGm CfCmUfGmGfGmAfGmAfC mGfC	266	fGfCmGfUmCfUmCfCmCf AmGfGmCfUmCfUmGfUm CfCmC*fU*mC	364
mmACVR1B-9	mCmAfUmAfUmGfGmAfGm AfUmUfGmUfGmGfGmCfA mCfU	267	fAfGmUfGmCfCmCfAmCf AmAfUmCfUmCfCmAfUm AfUmG*fC*mA	365
mmACVR1B-3	mAmCfAmAfGmAfGmAfUm UfAmUfCmGfGmCfAmAfG mGfG	268	fCfCmCfUmUfGmCfCmGf AmUfAmAfUmCfUmCfUm UfGmU*fA*mA	366

10

20

【0394】

d. MLCK1オリゴヌクレオチド

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはsiRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはショートヘアピン型RNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、miRNAに基づくshRNAである(例えば、miR-155、またはmiR-200cに基づく)。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、MLCK1を標的とするCRISPRガイドRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、MLCK1の発現または機能を阻害する。

30

【0395】

MLCK1を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるWeber M.et al. “MiRNA-155 targets myosin light chain kinase and modulates actin cytoskeleton organization in endothelial cells.” Am J Physiol Heart Circ Physiol.2014 Apr 15;306(8):H1192-203.; Thatcher S.E.et al. “Myosin light chain kinase/actin interaction in phorbol dibutyrate-stimulated smooth muscle cells.” J Pharmacol Sci.2011;116(1):116-27.; Kohama K.and Nakamura A. “Targeting of myosin light chain kinase in vascular smooth muscle cells, and its implication for drug discovery.” Nihon Yakurigaku Zasshi.2001 Oct;118(4):269-76.;および2010年4月15日に公開された「Modulation of MLCK-L expression and uses thereof」と題する米国特許出願公開第2010/0093830号に提供されている。

40

【0396】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトMLCK1配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:4638;NCBI参照番号:NM_053025.4):

GGGCTCCCCGCGCCGCGCCGGTTCGGCAGCAGGGCGCTGAGCGAGCTCGGAGCCCGCG
CTGTGCGCCTGCGGCCGCGGGCGCCCGAGCGCCGGTGCCTCGGCTCCCGGGCC
GCCTTCGCCGCGCGGGAAGGATTCTTCAAAATTAACAGAAACCAATTCGGGCCAGC
TGAAGAGAAAAATAAAGGTGGCTCCCGGCTGCCTCTGCTGCAGTTCAGAGCAACT

50

TCAGGAGCTTCCCAGCCGAGAGCTTCAGGACGCCTTTCCTGTCCCCTGGCCCAGT
TGCCACAACAAACAACAGAGAAGACGGTGACCATGGGGGATGTGAAGCTGGTTGCC
TCGTACACATTTCCAAAACCTCCCTCAGTGTGGATCCCTCAAGAGTTGACTCCAT
GCCCCTGACAGAGGCCCTGCTTTCATTTTGCCCCCTCGGAACCTCTGCATCAAAG
AAGGAGCCACCGCCAAGTTCGAAGGGCGGGTCCGGGGTTACCCAGAGCCCCAGGTG
ACATGGCACAGAAACGGGCAACCCATCACCAGCGGGGGCCGCTTCCTGCTGGATTG
CGGCATCCGGGGGACTTTTCAGCCTTGTGATTTCATGCTGTCCATGAGGAGGACAGGG
GAAAGTATACCTGTGAAGCCACCAATGGCAGTGGTGCTCGCCAGGTGACAGTGGAG
TTGACAGTAGAAGGAAGTTTTGCGAAGCAGCTTGGTCAGCCTGTTGTTTCCAAAAC
CTTAGGGGATAGATTTTTCAGCTCCAGCAGTGGAGACCCGTCTAGCATCTGGGGGG
AGTGCCCAACCAAGTTTGCTACCAAGCTGGGCGGAGTTGTGGTCAAAGAAGGACAG
ATGGGACGATTCTCCTGCAAGATCACTGGCCGGCCCCAACCGCAGGTACCTGGCT
CAAGGGAAATGTTCCACTGCAGCCGAGTGCCCGTGTGTCTGTGTCTGAGAAGAACG
GCATGCAGGTTCTGGAAATCCATGGAGTCAACCAAGATGACGTGGGAGTGTACACG
TGCCTGGTGGTGAACGGGTGCGGGAAGGCCTCGATGTGAGCTGAACTTTCCATCCA
AGGTTTGGACAGTGCCAATAGGTCATTTGTGAGAGAAACAAAAGCCACCAATTGAG
ATGTCAGGAAAGAGGTGACCAATGTAATCTCAAAGGAGTGAAGCTGGACAGTCTG
GAGGCTGCAGCCAAAAGCAAGAACTGCTCCAGCCCCCAGAGAGGTGGCTCCCCACC
CTGGGCTGCAAACAGCCAGCCTCAGCCCCCAAGGGAGTCCAAGCTGGAGTCATGCA
AGGACTCGCCCAGAACGGCCCCGCAGACCCCGGTCTTCAGAAGACTTCCAGCTCC
ATCACCTGCAAGGCCGCAAGAGTTCAGCCGGAACCAAGAGCACCAGGCCTGGGGGT
CCTATCACCTTCTGGAGAAGAGAGGAAGAGGCCAGCTCCTCCCCGTCCAGCCACCT
TCCCCACCAGGCAGCCTGGCCTGGGGAGCCAAGATGTTGTGAGCAAGGCTGCTAAC
AGGAGAATCCCCATGGAGGGGCCAGAGGGATTTCAGCATTCCCCAAATTTGAGAGCAA
GCCCCAAAGCCAGGAGGTCAAGGAAAATCAAACCTGTCAAGTTCAGATGTGAAGTTT
CCGGGATTCCAAAGCCTGAAGTGGCCTGGTTCTGGAAGGCACCCCCGTGAGGAGA
CAGGAAGGCAGCATTGAGGTTTATGAAGATGCTGGCTCCCATTTACCTCTGCCTGCT
GAAAGCCCCGGACCAGGGACAGTGGGACATACAGCTGCACTGCTTCCAACGCCCAAG
GCCAGCTGTCCTGTAGCTGGACCCTCCAAGTGGAAAGGCTTGCCGTGATGGAGGTG
GCCCCCTCCTTCTCCAGTGTCTGAAGGACTGCGCTGTTATTGAGGGCCAGGATTT
TGTGCTGCAGTGTCTCCGTACGGGGGACCCAGTGCCCCGGATCACTTGGCTGCTGA
ATGGGCAGCCCATCCAGTACGCTCGCTCCACCTGCGAGGCCGGCGTGGCTGAGCTC
CACATCCAGGATGCCCTGCCGGAGGACCATGGCACCTACACCTGCCTAGCTGAGAA
TGCCTTGGGGCAGGTGTCCTGCAGCGCCTGGGTACCGTCCATGAAAAGAAGAGTA
GCAGGAAGAGTGAGTACCTTCTGCCTGTGGCTCCCAGCAAGCCCACTGCACCCATC
TTCCTGCAGGGCCTCTCTGATCTCAAAGTCATGGATGGAAGCCAGGTCACTATGAC
TGTCCAAGTGTGAGGGAATCCACCCCCTGAAGTCATCTGGCTGCACAATGGGAATG
AGATCCAAGAGTCAGAGGACTTCCACTTTGAACAGAGAGGAACTCAGCACAGCCTT
TGTATCCAGGAAGTGTTCCCGGAGGACACGGGCACGTACACCTGCGAGGCCTGGAA
CAGCGCTGGAGAGGTCCGCACCCAGGCCGTGCTCACGGTACAAGAGCCTCACGATG
GCACCCAGCCCTGGTTTCATCAGTAAGCCTCGCTCAGTGACAGCCTCCCTGGGCCAG
AGTGTCCTCATCTCCTGCGCCATAGCTGGTGACCCCTTTCCTACCGTGCCTGGCTC
AGAGATGGCAAAGCCCTCTGCAAAGACACTGGCCACTTCGAGGTGCTTCAGAATGA
GGACGTGTTACCCCTGGTTCTAAAGAAGGTGCAGCCCTGGCATGCCGGCCAGTATG
AGATCCTGCTCAAGAACC GGTTGGCGAATGCAGTTGCCAGGTGTCACTGATGCTA
CAGAACAGCTCTGCCAGAGCCCTTCCACGGGGGAGGGAGCCTGCCAGCTGCGAGGA
CCTCTGTGGTGGAGGAGTTGGTGCTGATGGTGGTGGTAGTGACCGCTATGGGTCCC
TGAGGCCTGGCTGGCCAGCAAGAGGGGCAGGGTTGGCTAGAGGAGGAAGACGGCGAG
GACGTGCGAGGGGTGCTGAAGAGGCGCGTGGAGACGAGGCAGCACACTGAGGAGGC
GATCCGCCAGCAGGAGGTGGAGCAGCTGGACTTCCGAGACCTCCTGGGGGAAGAAGG

10

20

30

40

50

TGAGTACAAAGACCCTATCGGAAGACGACCTGAAGGAGATCCCAGCCGAGCAGATG
GATTTCCGTGCCAACCTGCAGCGGCAAGTGAAGCCAAAGACTGTGTCTGAGGAAGA
GAGGAAGGTGCACAGCCCCCAGCAGGTCGATTTTCGCTCTGTCCTGGCCAAGAAGG
GGACTTCCAAGACCCCCGTGCCTGAGAAGGTGCCACCGCCAAAACCTGCCACCCCG
GATTTTCGCTCAGTGCTGGGTGGCAAGAAGAAATTACCAGCAGAGAATGGCAGCAG
CAGTGCCGAGACCCTGAATGCCAAGGCAGTGGAGAGTTCCAAGCCCCTGAGCAATG
CACAGCCTTCAGGGCCCTTGAAACCCGTGGGCAACGCCAAGCCTGCTGAGACCCTG
AAGCCAATGGGCAACGCCAAGCCTGCCGAGACCCTGAAGCCCATGGGCAATGCCAA
GCCTGATGAGAACCTGAAATCCGCTAGCAAAGAAGAACTCAAGAAAGACGTTAAGA
ATGATGTGAACTGCAAGAGAGGCCATGCAGGGACCACAGATAATGAAAAGAGATCA
GAGAGCCAGGGGACAGCCCCAGCCTTCAAGCAGAAGCTGCAAGATGTTTCATGTGGC
AGAGGGCAAGAAGCTGCTGCTCCAGTGCCAGGTGTCTTCTGACCCCCCAGCCACCA
TCATCTGGACGCTGAACGGAAAGACCCTCAAGACCACCAAGTTCATCATCCTCTCC
CAGGAAGGCTCACTCTGCTCCGTCTCCATCGAGAAGGCACTGCCTGAGGACAGAGG
CTTATACAAGTGTGTAGCCAAGAATGACGCTGGCCAGGCGGAGTGCTCCTGCCAAG
TCACCGTGGATGATGCTCCAGCCAGTGAGAACACCAAGGCCCCAGAGATGAAATCC
CGGAGGCCCAAGAGCTCTCTTCCCTCCCGTGCTAGGAACTGAGAGTGATGCGACTGT
GAAAAAGAAACCTGCCCCCAAGACACCTCCGAAGGCAGCAATGCCCCCTCAGATCA
TCCAGTTCCCTGAGGACCAGAAGGTACGCGCAGGAGAGTCAGTGGAGCTGTTTGGC
AAAGTGACAGGCACTCAGCCCATCACCTGTACCTGGATGAAGTTCCGAAAGCAGAT
CCAGGAAGCGAGCACATGAAGGTGGAGAACAGCGAGAATGGCAGCAAGCTCACCA
TCCTGGCCGCGCGCCAGGAGCACTGCGGCTGCTACACACTGCTGGTGGAGAACAAG
CTGGGCAGCAGGCAGGCCCAGGTCAACCTCACTGTGCTGGATAAGCCAGACCCCC
AGCTGGCACACCTTGTGCCTCTGACATTCGGAGCTCCTCACTGACCCTGTCCTGGT
ATGGCTCCTCATATGATGGGGGCAGTGCTGTACAGTCCTACAGCATCGAGATCTGG
GACTCAGCCAACAAGACGTGGAAGGAACTAGCCACATGCCGCAGCACCTCTTTCAA
CGTCCAGGACCTGCTGCCTGACCACGAATATAAGTTCCGTGTACGTGCAATCAACG
TGTATGGAACCAAGTGAGCCAAGCCAGGAGTCTGAACTCACAAACGGTAGGAGAGAAA
CCTGAAGAGCCGAAGGATGAAGTGGAGGTGTCAGATGATGATGAGAAGGAGCCCGA
GGTTGATTACCGGACAGTGACAATCAATACTGAACAAAAAGTATCTGACTTCTACG
ACATTGAGGAGAGATTAGGATCTGGGAAATTTGGACAGGTCTTTGACTTGTAGAA
AAGAAAACCTCGAAAAGTCTGGGCAGGGAAGTTCTTCAAGGCATATTCAGCAAAAGA
GAAAGAGAATATCCGGCAGGAGATTAGCATCATGAACTGCCTCCACCACCCTAAGC
TGGTCCAGTGCTGTGGATGCCTTTGAAGAAAAGGCCAACATCGTCATGGTCCTGGAG
ATCGTGTGAGGAGGGGAGCTGTTTGGAGCGCATCATTGACGAGGACTTTGAGCTGAC
GGAGCGTGAGTGTCATCAAGTACATGCGGCAGATCTCGGAGGGAGTGGAGTACATCC
ACAAGCAGGGCATCGTGACCTGGACCTCAAGCCGGAGAACATCATGTGTGTCAAC
AAGACGGGCACCAGGATCAAGCTCATCGACTTTGGTCTGGCCAGGAGGCTGGAGAA
TGCGGGGTCTCTGAAGGTCCTCTTTGGCACCCCAGAATTTGTGGCTCCTGAAGTGA
TCAACTATGAGCCCATCGGCTACGCCACAGACATGTGGAGCATCGGGGTCATCTGC
TACATCCTAGTCAGTGGCCTTTCCCCCTTCATGGGAGACAACGATAACGAAACCTT
GGCCAACGTTACCTCAGCCACCTGGGACTTCGACGACGAGGCATTTCGATGAGATCT
CCGACGATGCCAAGGATTTTCATCAGCAATCTGCTGAAGAAAGATATGAAAAACCGC
CTGGACTGCACGCAGTGCCCTTCAGCATCCATGGCTAATGAAAGATACCAAGAACAT
GGAGGCCAAGAACTCTCCAAGGACCGGATGAAGAAGTACATGGCAAGAAGGAAAT
GGCAGAAAACGGGCAATGCTGTGAGAGCCATTGGAAGACTGTCCTCTATGGCAATG
ATCTCAGGGCTCAGTGGCAGGAAATCCTCAACAGGGTCACCAACCAGCCCGCTCAA
TGCAGAAAACTAGAATCTGAAGAAGATGTGTCCCAAGCTTTCTTGAGGCTGTTG
CTGAGGAAAAGCCTCATGTAAAACCTATTTCTCTAAGACCATTTCGCGATTTAGAA
GTTGTGGAGGGAAGTGCTGCTAGATTTGACTGCAAGATTGAAGGATACCCAGACCC

10

20

30

40

50

CGAGGTTGTCTGGTTCAAAGATGACCAGTCAATCAGGGAGTCCCGCCACTTCCAGA
TAGACTACGATGAGGACGGGAAGTCTCTTTAATTATTAGTGATGTTTGCGGGGAT
GACGATGCCAAGTACACCTGCAAGGCTGTCAACAGTCTTGGAGAAGCCACCTGCAC
AGCAGAGCTCATTGTGGAAACGATGGAGGAAGGTGAAGGGGAAGGGGAAGAGGAAAG
AAGAGTGAAACAAAGCCAGAGAAAAGCAGTTTCTAAGTCATATTAAGGACTATT
TCTCTAAAGTCAAAAAAAGGCTCAAGATAGTAAAGCACCTAGTGTGA
TAGATTATCGGTTAGGTCATTTGTGGGTTGATTCTTCAGAAACAGCAGTTGATACC
TAGCAGCGTTATTGATGGGCATTAATCTATGTTAGTTGGCACCTTAAGATACTAGT
GCAGCTAGATTTCAATTTAGGGAAATCACCAGTAACTTGAAGTACCAATTGATTTTA
GAGAGAAAGTAACCAAACCAATATTTATCTGGGCAAAGTCATAAATTCTCCACTT
GAATGCGCTCATGAAAAATAAGGCCAAAACAAGAGTTCTGGGGCCACAGCTCAGCCC
AGAGGGTTTCTGGGGATGGGAGGCCTCTCTCTCCCCACCCCCTGACTCTAGAGAAC
TGGGTTTTTCTCCAGTACTCCAGCAATTCATTTCTGAAAGCAGTTGAGCCACTTTAT
TCCAAAGTACACTGCAGATGTTCAAACCTCTCCATTTCTCTTTCCCCTTCCACCTGCC
AGTTTTTGTCTGACTCTCAACTTGTCTATGAGTGTAAGCATTAAAGGACATTATGCTTCTT
CGATTCTGAAGACAGGTCCCTGCTCATGGATGACTCTGGCTTCCTTAGGAAAATAT
TTTTCTTCCAAAATCAGTAGGAAATCTAAACTTATCCCCTCTTTGCAGATGTCTAGC
AGCTTCAGACATTTGGTTAAGAACCCTATGGGAAAAAATAATCCTTGCTAATGTGG
TTTCTTTGTAAACCAGGATTCTTATTTGTGCTGTTATAGAATATCAGCTCTGAACG
TGTGGTAAAGATTTTTGTGTTTGAATATAGGAGAAATCAGTTTGCTGAAAAGTTAG
TCTTAATTATCTATTGGCCACGATGAAACAGATTTCAACTGATAAAGAGCTGGAGA
ACTCCATGTACTTTGGAATCTCCTCCAAGATAGCCAGAGTTTAATACATCTTCATTC
TCAACACTCTCCAAAGAACTTGACCTACCTTATGGGTTCCATATTTTTCTTCTTAAA
TGTGCATCAATCATGCCTTGCCCCAACCTTTAAATATATTCTTAGACCTGGTAAAT
GCACTCAGACTTGCGTCTTTAGGAATTTTAACTTTCTTTCACTACATTGGCACTTA
AATTTTTTCTTTATAAAGCTTTTTGAAGGTCATAAACAAAGACCATAATTGATGAT
AGACCTAATACATTTCTCTGTGTGTGTGTGTGTAAACATTCCAAATACTTTTTTTTTCT
TTTCCACTGTTTGTAAGGTGCAACAATTTAATATTTTTTAAGGGACTTTTTTAAGAGTT
CCTTAAGAACCAATTTAAAATTACTTCAGTGCAATCCTACACAGTATCAACATTAG
AATTTTGATATTAGTCTTATGTTATCTTCCATTCTATTTTTATCTGCTTTTTTGCTGC
TAGTTTCAAACCTGCCAGTATTTTTCTTTTTGCTTTTAAAATAGTTACAATATTTTTCT
ATGATAGCCACAGTATTGCCACAGTTTATTATAATAAAGGGTTTTTATTTGATTTA
GCGCATTCAAAGCTTTTTTCTATCACTTTTGTGTTTCAAGATATAACCTTTGTGTGCG
TGTATGTTGTGTGTGTGTGCATGTGTGGCGTATATGTGTGTTACAGGTTAATGCCTTCT
TGGAAATTGTGTTAATGTTCTTGGTTTATTATGCCATCAGAATGGTAAATGAGAA
CACTACAACCTGTAGTCAGCTCACAATTTTTTAAATAAAGGATACCACAGTGCATGCT
GTTTGTTCAATCTTTGCAGACTTCTCTTTCTTTCCATGCTACCAGTTGTAAAGGACA
CAGCTATATCCTGGAAATGAAAAACAAACACTGTGGTGCCTAGATGTGAAGAAGTGC
GCTTATGTGGTTGTGTTTTGCTATGGAACAGAATGATTTAGGAAGTTCTTGTTTAT
ATAGGTAGCCGAATTTACACATTTAGTTCAAAATTTCTCTTGAGCATCAGCTTAGT
ACTATATCAATCATTCTAGAAGGATATCTTATAGAGCAGGTGTCCCCAACCCCCGG
TAAGTAGCCTGTTAGGAACCAGGTCACACATAAGGAGGTTAGCAGTGGGCAAGTGA
GCAAAGCATCATCTATATTTACAGCCGATCCCCATTGCTCGCATTACCGCCTGAGC
TCTGCCTCCTGTCAGATCAGCGGCAGCATCAGGTTCTCTCAGGAACGAAGTCTATT
GTGAAGTGTCTCATGTGAGGGATCTAGGTTTCACGCTCCTTATGAGAATCTAACACC
TGATGATCTGTCACTGTCTCCCATCACCCCTAGATGGGACAGTCTAGTTGCAGGAA
AACAAGCTCAGGGCTTCCACTGATTCTACATTATGATGAGTTGTATACTTATTTTAT
ATTATAATAAAATATATTATTACAATGTAATAATAAGAAATAAAATGCACAATA
CATGTAATGTGCTTGAATAATCCCAAACCAACCCCTCTCCTGGTCCATGGAAAAA
CTGTCTTCCATGAAAGTGGTCCCTGGTGCCAAAAGGTTAGGGACCACTGTTACAG

10

20

30

40

50

AGTATCAGGTCCTCAAGATGCTAAAATCTATATGACATTTTTTAACATGTGACATTA
TCATCATCATCATCATCATCACTGATGATACTATTTACCAGGGCATGGTTTGA
ATTGGTGACTTTGGTGCAGTTCATTATTGGCAGCCAAATGCTTTATCCATACCTTCA
TATTGAAGAATTTGTTATCAGGAACTACCAGTCCTGCTTTACAGGAAGTCTGTTA
TCAGATATCAGATGGCAAGTTCCTCATGTCTTCAGATGTTCAAACAATATTGTGGA
TGGTCTAGAAAGAGTTTAAAGACATGCTGTTAAATGTAGGGCTAGATAATTCTCTGA
TTCTTTGATGTAGTCTGGAAAGAAACAATCCATTGTCCAGTTAATAAATATTTAGT
GTTTTTCATTTTTTAAGACACTCACAATCCACAAATGTCCCTAACAATTTATTATTTTT
AAAGAAAATGACTTTTTTATTCCTTGCTAGTGAAAAATGTACAATTTATATGCTGCA
CTGAGAAAAATAACAGATATACTTTCTTCCATTCAATTTTCATCCCAAACATATAAA
AAATAATCCATTGATTGTTCTTGCATTGCATATCTTATTTAAAGATATTTCTCTACA
TGCAACTAATAAGACATGCTGACTGTTGTCAGCTCTAAATTTATGTAAAGATTTTTT
TATTTTTGTTAAAATGTTTGAAATTTGCTTTTTTGCTCCACACCTCACCTGTTTTTGA
TAAATCTGTGCTAATAAGTACATAGGAGGTAATAAATAATTGAGTTGTGAGAAACC
CAATTCTCCATTTTTTCAAGAAAACACAAGTAGCACTACTCTCTTTATCCCTTGGGAC
TCCTTCCTGTAATTTGAAAGGGGGGGCTAATGTTGGTGGCAGTTGTTGCTAAGGAT
CTCTGCACAGAGTTAGGGCTTCACTCTCGGCTTCCTGGTTAGATGGGGCCATGTGA
CTAGTCCTAGTCAGTGAGCTGTGACCAGAAGTGATGTATGTACCCTCGGGACCAGA
GCATTTATGTGCTGGTACAAGCCTCTCCATAATGACGGGCAACACATGAGATGGTG
GCTGCTGCAGCCATCTGGGTCTCTAGCCAACCCAAAATGGGGACATAACACAAGCA
AGAAATAAACATTTGTTCTTATAAATCACCAAGATTTTGGGGTTCTCAGTGGCTGC
AACATAACCTAGACTATCCTGATACAGGCTTATCACCATGTTCTGGATGTGTGGTG
ACCAGGATGGTAGCCACTACTCACAAGTGGCTATTTAAATTTAAGTTACTTTAAAA
AATAAAATAAAAAATTCAGTTCCTCAGTTGTATGAGTTACATTTCAAATGCTCGAC
AGTCACATGTACATCACTTTTCAAATTATGTGAAATTTAAACTGAAAAGCTTGTGT
GAAAGTCTAGAGAGTATGGTCTATAGTTTCATCAATTGTATTGGATAATATAGTCT
CGATACTCAA

(配列番号411)

【0397】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、その各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれるHalim D.et al. “Loss-of-Function Variants in MYLK Cause Recessive Megacystis Microcolon Intestinal Hypoperistalsis Syndrome.” Am J Hum Genet.2017 Jul 6;101(1):123-129;Hannuksela M.et al. “A novel variant in MYLK causes thoracic aortic dissections:genotypic and phenotypic description.” BMC Med Genet.2016 Sep 1;17(1):61;またはShalata,A.et al. “Fatal thoracic aortic aneurysm and dissection in a large family with a novel MYLK gene mutation:delineation of the clinical phenotype.” Orphanet J Rare Dis.2018 Mar 15;13(1):41に報告されているように、MLCK1の変異体形態に対する相補性領域を有し得る。

【0398】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号411に記載のMCLK1 mRNA配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも19または少なくとも20ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補性である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番

号411に記載のMLCK1 mRNA標的配列に相補的な(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)相補性領域を含む。

【0399】

e.ACVR1オリゴヌクレオチド

ACVR1を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるStar,G.P.et al., “ ALK2 and BMPR2 knockdown and endothelin-1 production by pulmonary microvascular endothelial cells ”, Microvasc Res.2013 Jan;85:46-53.;Karbiener M.et al., “ MicroRNA-30c promotes human adipocyte differentiation and co-represses PAI-1 and ALK2 ”, RNA Biol.2011 Sep-Oct;8(5):850-60.;米国特許出願第2018/0087110号、2018年3月29日公開、「Compositions and methods for xi chromosome reactivation」;米国特許出願第2009/0253132号、10/8/2009公開、「Mutated ACVR1 for diagnosis and treatment of fibrodyplasia ossificans progressiva(FOP)」;国際公開第2015/152183号、10/8/2015公開、「Prophylactic agent and therapeutic agent for fibrodysplasia ossificans progressive」;Lowery,J.W.et al, “ Allele-specific RNA Interference in FOP-Silencing the FOP gene ”, GENE THERAPY,vol.19,2012,pages 701-702;Takahashi,M.et al. “ Disease-causing allele-specific silencing against the ALK2 mutants,R206H and G356D,in fibrodysplasia ossificans progressiva ” Gene Therapy(2012)19,781-785;Shi,S.et al. “ Antisense-Oligonucleotide Mediated Exon Skipping in Activin-Receptor-Like Kinase 2:Inhibiting the Receptor That Is Overactive in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva ” Plos One,July 2013,Vol 8:7,e69096.;米国特許出願第2017/0159056号、6/8/2017公開、「Antisense oligonucleotides and methods of use thereof」;米国特許第8,859,752号、10/4/2014発行、「SIRNA-based therapy of Fibrodyplasia Ossificans Progressiva(FOP)」;11/4/2004公開、「Effective sirna knock-down constructs」と題する国際公開第2004/094636号;およびMaruyama,R.and T.Yokota, “ Morpholino-Mediated Exon Skipping Targeting Human ACVR1/ALK2 for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva ” Methods Mol Biol.2018;1828:497-502.に提供されている。

【0400】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトACVR1配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:90;NCBI参照番号:NM_001105.5):

```
CCTTTCCCCTGGAGATTTGAACGCTGCTTGCATGGGAGAAAAGCTACTTAGAGAAG
AAAACGTTCCACTTAGTAACAGAAGAAAAGTCTTGTTAAAAAGTTGTCATGAATT
TGGCTTTTGGAGAGAGGCAGCAAGCCTGGAGCATTGGTAAGCGTCACACTGCCAAA
GTGAGAGCTGCTGGAGAAGCTCATAATCCCAGGAACGCCTCTTCTACTCTCCGAGTA
CCCCAGTGACCAGAGTGAGAGAAGCTCTGAACGAGGGGCACGCGGCTTGAAGGACTG
TGGGCAGATGTGACCAAGAGCCTGCATTAAGTTGTACAATGGTAGATGGAGTGATG
ATTCTTCCTGTGCTTATCATGATTGCTCTCCCCTCCCCTAGTATGGAAGATGAGAAG
CCCAAGGTCAACCCCAAAGCTCTACATGTGTGTGTGTGAAGGTCTCTCCTGCGGTAA
TGAGGACCACTGTGAAGGCCAGCAGTGCTTTTCTCACTGAGCATCAACGATGGCT
TCCACGTCTACCAGAAAGGCTGCTTCCAGGTTTATGAGCAGGGAAAGATGACCTGT
AAGACCCCGCCGTCCCCTGGCCAAGCCGTGGAGTGCTGCCAAGGGGACTGGTGTAAC
CAGGAACATCACGGCCCAGCTGCCCACTAAAGGAAAATCCTTCCCTGGAACACAGA
ATTTCCACTTGGAGGTTGGCCTCATTATTCTCTCTGTAGTGTTTCGCAGTATGTCTTT
TAGCCTGCCTGCTGGGAGTTGCTCTCCGAAAATTTAAAAGGCGCAACCAAGAACGC
CTCAATCCCCGAGACGTGGAGTATGGCACTATCGAAGGGCTCATCACCACCAATGT
TGGAGACAGCACTTTAGCAGATTTATTGGATCATTCGTGTACATCAGGAAGTGGCT
```

CTGGTCTTCCTTTCTGGTACAAAGAACAGTGGCTCGCCAGATTACACTGTTGGAG
TGTGTCGGGAAAGGCAGGTATGGTGAGGTGTGGAGGGGCAGCTGGCAAGGGGAGAA
TGTTGCCGTGAAGATCTTCTCCTCCCGTGATGAGAAGTCATGGTTCAGGGAAACGG
AATTGTACAACACTGTGATGCTGAGGCATGAAAATATCTTAGGTTTCATTGCTTCA
GACATGACATCAAGACACTCCAGTACCCAGCTGTGGTTAATTACACATTATCATGA
AATGGGATCGTTGTACGACTATCTTCAGCTTACTACTCTGGATACAGTTAGCTGCC
TTCGAATAGTGCTGTCCATAGCTAGTGGTCTTGACACATTTGCACATAGAGATATTT
GGGACCCAAGGGAAACCAGCCATTGCCCATCGAGATTTAAAGAGCAAAAATATTCT
GGTTAAGAAGAATGGACAGTGTTCATAGCAGATTTGGGCCTGGCAGTCATGCATT
CCCAGAGCACCAATCAGCTTGATGTGGGGAAACAATCCCCGTGTGGGCACCAAGCGC
TACATGGCCCCCGAAGTTCTAGATGAAACCATCCAGGTGGATTGTTTCGATTCTTA
TAAAAGGGTCGATATTTGGGCCTTTGGACTTGTTTTGTGGGAAGTGGCCAGGCGGA
TGGTGAGCAATGGTATAGTGGAGGATTACAAGCCACCGTTCTACGATGTGGTTCCC
AATGACCCAAGTTTTGAAGATATGAGGAAGGTAGTCTGTGTGGATCAACAAAGGCC
AAACATACCCAACAGATGGTTCTCAGACCCGACATTAACCTCTCTGGCCAAGCTAA
TGAAAGAATGCTGGTATCAAAATCCATCCGCAAGACTCACAGCACTGCGTATCAAA
AAGACTTTGACCAAAATTGATAATTCCCTCGACAAATTGAAAACCTGACTGTTGACA
TTTTCATAGTGTCAAGAAGGAAGATTTGACGTTGTTGTTCATTGTCCAGCTGGGACC
TAATGCTGGCCTGACTGGTTGTCAGAATGGAATCCATCTGTCTCCCTCCCCAAATG
GCTGCTTTGACAAGGCAGACGTCGTACCCAGCCATGTGTTGGGGAGACATCAAAAC
CACCTAACCTCGCTCGATGACTGTGAACTGGGCATTTACGAACTGTTCACTG
CAGAGACTAATGTTGGACAGACACTGTTGCAAAGGTAGGGACTGGAGGAACACAGA
GAAATCCTAAAAGAGATCTGGGCATTAAAGTCAGTGGCTTTGCATAGCTTTCAAG
TCTCCTAGACACTCCCCACGGGAAACTCAAGGAGGTGGTGAATTTTTAATCAGCAA
TATTGCCTGTGCTTCTCTTTATTGCACTAGGAATTCTTTGCATTCTTACTTGC
ACTGTTACTCTTAATTTTAAAGACCCAACCTTGCCAAAATGTTGGCTGCGTACTCCA
CTGGTCTGTCTTTGGATAATAGGAATTCAATTTGGCAAACAAAATGTAATGTCAG
ACTTTGCTGCATTTTACACATGTGCTGATGTTTACAATGATGCCGAACATTAGGAA
TTGTTTATACACAACCTTTGCAAATTATTTATTACTTGTGCACTTAGTAGTTTTTACA
AACTGCTTTGTGCATATGTTAAAGCTTATTTTTATGTGGTCTTATGATTTTATTAC
AGAAATGTTTTTAACACTATACTCTAAAATGGACATTTTCTTTTATTATCAGTTAA
ATCACATTTTAAAGTGCTTCACATTTGTATGTGTGTAGACTGTAACTTTTTTTCAGTT
CATATGCAGAACGTATTTAGCCATTACCCACGTGACACCACCGAATATATTACTGA
TTTAGAAGCAAAGATTTAGTAGAATTTTAGTCCTGAACGCTACGGGGAAAATGCA
TTTTCTTCAGAATTATCCATTACGTGCATTTAACTCTGCCAGAAAAAAATAACTA
TTTTGTTTTAATCTACTTTTTGTATTTAGTAGTTATTTGTATAAATTAAATAAACTG
TTTTCAAGTCAAA(配列番号429)。

10

20

30

40

50

【0401】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例示的なマウスACVR1遺伝子配列(遺伝子ID 11477;NM_001110204.1)である、以下に記載の配列に対する相補性領域を有し得る:

CCGCCTCCCCGGGTTGAGCACCCGACCGCCGCTGGACCAGAGGAACAAAGGAGCTG
CCCCCGTGTCACCCAGCCCTTCAGTGGAAAGTCTGGAAAAGGAACAGAGGTGATATT
GCAGTGGATGAGCAGAGAGAAGCCGGCCTCTGGTGCTCTTGAGCTGGTCTGCCCAT
AGGGAGCCTGCTGGGAGAAGGTACAGCTTCCGGAAGACTCCTCCCGGAGCGCCTCT
CCCATCCTCCTCTCCCTTGGAGCAGTCAGTACCTCTCTGCTGGAGGATCTGGGCTG
GGTGTGCCGGGAGCTGGCTTTAACTGTAGCCCTGTCAGGCTTTCCCCGGACCTCGC
GGAAGAGCGTCACCAGCCCCACGGCTTTCCAACACATCACCTCTTTTCATGCCGT
TTGGCACAGATCGAATCTACAGGGATGAATGGATCCAGGGTCTGGTTTTAAGTTCT
ATGGTAGTCGTCCAAGGAGCCATTGGTATTCATCTAACGCAAACGATCAAGTTACA

TTCTGAAAGTAACATCCCACCAGAAACCCTCCAGCAGCAGTCACGTCTGTGTAAAG
CCAAGCCCTGGCATGCGCACTGCCAGGTCAGAGTGTGGTGGTACACGTGTTTAAACA
GGTCATTTGTCAACTGAAGGAAAGACCCCGGCTTGACTTACCTGTTATACAATGGT
CGATGGAGTAATGATCCTTCTGTGCTAATGATGATGGCTTTCCCTTCCCCGAGTG
TGGAAGATGAGAAGCCCAAGGTCAACCAGAACTTTACATGTGTGTGTGTGAGGGC
CTCTCCTGCGGGAACGAGGACCACTGTGAAGGCCAGCAGTGTTTTTCTTCTCTGAG
CATCAACGATGGCTTCCACGTCTACCAGAAGGGCTGCTTTTCAGGTTTATGAGCAGG
GGAAGATGACGTGTAAGACCCCGCCGTCACCTGGCCAGGCTGTGGAGTGCTGCCAA
GGGGACTGGTGTAACAGGAACATCACGGCCCAGCTGCCCACTAAAGGGAAGTCCTT
CCCCGGAACACAGAATTTCCACCTGGAAGTTGGCCTTATCATCCTCTCGGTGGTGT
TTGCAGTATGTCTTTTAGCTTGCATCCTTGGAGTTGCTCTCAGGAAGTTTAAGAGA
CGCAATCAAGAGCGCCTGAACCCCAGAGACGTGGAGTATGGTACCATTGAAGGGCT
CATCACCAACCAATGTGGGAGACAGCACTCTAGCGGAACCTACTAGATCACTCGTGTA
CATCAGGAAGTGGCTCCGGTCTTCCCTTTCTGGTACAGAGAACGGTGGCTCGCCAG
ATAACCCTGTTGGAGTGTGTCGGGAAGGGCCGGTATGGAGAAGTATGGAGGGGCGAG
CTGGCAAGGCGAAAATGTCGCTGTGAAGATCTTCTCCTCCCGAGACGAGAAGTCAT
GGTTCAGGGAGACGGAATTGTACAACACTGTGATGTTGAGGCATGAAAATATCTTA
GGTTTCATCGCTTCAGACATGACCTCCAGACACTCCAGTACCCAGCTGTGGCTCAT
CACACATTACCATGAAATGGGATCGTTGTATGACTACCTTCAGCTCACTACTCTGG
ATACGGTTAGCTGCCTTCGGATTGTACTGTCCATAGCCAGCGGCCTTGCCCATTTG
CACATAGAGATATTTGGGACCCAAGGGAAGTCCGCCATTGCCCATCGAGATCTGAA
GAGCAAAAACATCCTGGTGAAGAAGAATGGACAGTGCTGCATAGCAGATTTGGGCC
TGGCAGTCATGCATTCCCAGAGCACAAACCAGCTTGATGTGGGAAACAACCCCGT
GTGGGGACCAAGCGCTACATGGCTCCGGAAGTGCTCGATGAAACCATCCAAGTGGA
TTGCTTTGATTCTTATAAGAGGGTCGATATTTGGGCCTTTGGCCTTGTTCTGTGGGA
AGTGGCCAGGCGAATGGTGAGCAATGGTATAGTGGAAGATTACAAGCCACCATTCT
ATGATGTGGTTCCCAATGACCCAAGTTTTGAAGATATGAGGAAAGTTGTCTGTGTG
GATCAACAGAGGCCAAACATAACCTAACAGATGGTTCTCAGACCCGACATTAACCTC
TCTGGCGAAGCTGATGAAAGAGTGCTGGTATCAGAACCCATCCGCAAGACTCACAG
CTCTACGTATCAAAAAGACTTTGACCAAAATCGATAATTCCCTAGACAAATTAATA
ACTGACTGTTGACCTTGTACCCGGTGTCAAGAAGGAGAGTCAATGCTGTCCTTGTC
CAGCTGGGACCTAATGCTGGCCTGACTGGTTGTCAGAACAGAATCCATCTGACCCC
CTTCCCGAAGTGGCTGCTTTGACGGAAGCAGATGTCTCTTCCAGCCATGTTCCAG
GGGGAGACACCAAAACCACCCTAACCTCGCTCAAAAACCTGTGACTCGAGCCCTCGA
TGAACCTGTTACACCACAAAGACTTAACGGTGGGCAGGTCTGGTGGCAAGGGGGAG
GGAAGTGGAGGAACCCGGAAGATCCTGCAGGCGATCTGGGCATTAAGACAGTGGC
TCTCTGCGTATCTTTCGCGGGTCTCCTAGACACTCCCCACGGGAAGCTCAAGGAGG
CGGTGAATTCGTAATCAGCAATATCGGCTGCATCTACTCTTCGTTGCACTAGGAAT
TCTGTGCATTCTTACTTGCCTGTGGCCCTTAATCTTAAAGACCCAACCTTGCCAAA
ACATTGGCTGCGTACTCCACTGGCCTGTCTCTGGATAATAGGAATTCAATCTGGCA
ACACAAAAATGTACCGTTGGACTCTGCTGCATTTTACACACGTGCTGATGTTTACA
AGGATGCGAACATTAGGAATTGTTTAGACACAACCTTTGCAAATTATTTATTACTGG
TGCACTTAGCGGTTTGTGTTGAAACCGCCTCGTGCATATGTTAAAGCTTATTTTTATG
TGGTCTTATGATTTTATTACCGAAATGTTTTTAACACCCAACCTCTGAAACGGACAT
TTTCTTTTATTATCAGTTAAATTCACATTTAAGTGCTTCACATTTTTTTTTTAAAT
GTGTGTAGACTGTAACCTTTCTTTTCAGTTCGTATGCAGAACATATTTAGCCATTACC
CATGCAACACCACCCGATATATTACTGATTTAGAAGCAAAGATTTAGTAGAATTT
TAGTCCCAAACGCTGTGGGGGGAAATGCATCTTCTTCGGAATTATCCATTACGTGC
ATTTAAACTCTGCCAGAAAAAAAATAACTATTTTGTTTTAATCTACTTTTTGTATT
TAGTAGTTATTTGTATAAATTAAATAAACTGTTTTCAAGTCAAAAAAAAAAAAAAA

10

20

30

40

50

AA(配列番号430)

【0402】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号429または配列番号430に記載のACVR1配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号429または配列番号430に記載のACVR1配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号429または配列番号430に記載のACVR1配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号429または配列番号430に記載のACVR1配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号429または配列番号430に記載のACVR1配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号429または配列番号430に記載のACVR1配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

10

【0403】

いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号479~502のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号479~502のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号479~502のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

20

【0404】

いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号431~478のいずれか1つを含むACVR1配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号431~478のいずれか1つを含むACVR1配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号431~478のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

30

【0405】

いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号431~478のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

40

【0406】

いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様にお

50

【 0 4 0 7 】

10

【 0 4 0 8 】

20

【 0 4 0 9 】

30

【 0 4 1 0 】

40

40

【 0 4 1 1 】

50

【 0 4 1 2 】

いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、表19に列挙される配列番号479～502の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、表19に列挙される配列番号455～478の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、ACVR1標的化オリゴヌクレオチドは、表19に列挙されるsiRNAから選択されるsiRNAである。

【表17】

表 17. ACVR1 標的配列

配列 NM 001105.5 (配列番号 429) の対応する ヌクレオチド	ACVR1 標的配列	配列番号
877-895	TCGTGTACATCAGGAAGTG	431
878-896	CGTGTACATCAGGAAGTGG	432
1380-1398	TTTGGGCCTGGCAGTCATG	433
1573-1591	GTGAGCAATGGTATAGTGG	434
1486-1704	TGAGCAATGGTATAGTGGA	435
1574-1592	CCCAAGTTTGAAGATATG	436
1633-1651	CCAAGTTTGAAGATATGA	437
1693-1711	AACAGATGGTTCTCAGACC	438
1696-1714	AGATGGTTCTCAGACCCGA	439
1904-1922	ACCTAATGCTGGCCTGACT	440
2484-2502	TTGCAAATTATTTATTACT	441
2617-2635	TTTTCTTTTATTATCAGTT	442
2667-2685	TGTGTGTAGACTGTAACCTT	443
2742-2760	ATATTACTGATTTAGAAGC	444
2752-2770	TTTAGAAGCAAAGATTTCA	445
2757-2775	AAGCAAAGATTTTCAGTAGA	446
2758-2776	AGCAAAGATTTTCAGTAGAA	447
2759-2777	GCAAAGATTTTCAGTAGAAT	448
2760-2778	CAAAGATTTTCAGTAGAATT	449
2834-2852	CATTTAAACTCTGCCAGAA	450
2859-2877	AACTATTTTGTTTTAATCT	451
2882-2900	TTTGTATTTAGTAGTTATT	452
2912-2930	AATAAACTGTTTTCAAGTC	453
2913-2931	ATAAACTGTTTTCAAGTCA	454

* 標的配列は T を含有するが、RNA およびまたは DNA への結合が企図される。

【0413】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表18に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 18 - 1】

表 18. ACVR1 を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖 (RNA) / センス鎖	配列番号	ガイド鎖 (RNA) / アンチセンス鎖	配列 番号
AUUCGUGUACAUCAGGAAGUG	455	CACUUCCUGAUGUACACGAAUGA	479
UUCGUGUACAUCAGGAAGUGG	456	CCACUUCCUGAUGUACACGAAUG	480
GAUUUGGGCCUGGCAGUCAUG	457	CAUGACUGCCAGGCCCAAUCUG	481
UGGUGAGCAAUGGUUAUAGUGG	458	CCACUAUACCAUUGCUCACCAUC	482
GGUGAGCAAUGGUUAUAGUGGA	459	UCCACUAUACCAUUGCUCACCAU	483

10

【表 18 - 2】

GACCCAAGUUUUGAAGAU AUG	460	CAUAUCUUCAAAACUUGGGUCAU	484
ACCCAAGUUUUGAAGAU AUGA	461	UCAUAUCUUCAAAACUUGGGUCA	485
CCAACAGAUGGUUCUCAGACC	462	GGUCUGAGAACCAUCUGUUGGGU	486
ACAGAUGGUUCUCAGACCCGA	463	UCGGGUCUGAGAACCAUCUGUUG	487
GGACCUAAUGCUGGCCUGACU	464	AGUCAGGCCAGCAUUAGGUCCCA	488
CUUUGCAAAUUAUUUAUUACU	465	AGUAAUAAAUAAUUUGCAAAGUU	489
CAUUUUCUUUUUAUUAUCAGUU	466	AACUGAUAAUAAAAGAAAUGUC	490
UAUGUGUGUAGACUGUAACUU	467	AAGUUCAGUCUACACACAUACA	491
AUAUAUUAUCGAUUUAGAAGC	468	GCUUCUAAAUCAGUAAUUAUUC	492
GAUUUAGAAGCAAAGAUUUCA	469	UGAAAUCUUUGCUUCUAAAUCAG	493
AGAAGCAAAGAUUUCAGUAGA	470	UCUACUGAAAUCUUUGCUUCUAA	494
GAAGCAAAGAUUUCAGUAGAA	471	UUCUACUGAAAUCUUUGCUUCUA	495
AAGCAAAGAUUUCAGUAGAAU	472	AUUCUACUGAAAUCUUUGCUUCU	496
AGCAAAGAUUUCAGUAGAAUU	473	AAUUCUACUGAAAUCUUUGCUUC	497
UGCAUUUAAACUCUGCCAGAA	474	UUCUGGCAGAGUUUAAAUGCACG	498
AUAACUAUUUUGUUUUAUCU	475	AGAUUAAAACAAAUAAGUUAUUU	499
UUUUUGUAUUUAGUAGUUAUU	476	AAUAAUCUACUAAAUACAAAAGU	500
UAAAUAAACUGUUUUAAGUC	477	GACUUGAAAACAGUUUAUUUAAU	501
AAAUAAACUGUUUUAAGUCA	478	UGACUUGAAAACAGUUUAUUUAA	502

20

30

【0414】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表19に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

40

50

【表 19 - 1】

表 19. ACVR1 を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖	配列 番号	修飾ガイド鎖/アンチセンス鎖	配列 番号
hsACVR1-24	mAmUfUmCfGmUfGmUfAmCf AmUfCmAfGmGfAmAfGmUfG	455	fCfAmCfUmUfCmCfUmGfAm UfGmUfAmCfAmCfGmAfAm U*fG*mA	479
hsACVR1-14	mUmUfCmGfUmGfUmAfCmAf UmCfAmGfGmAfAmGfUmGfG	456	fCfCmAfCmUfUmCfCmUfGm AfUmGfUmAfCmAfCmGfAm A*fU*mG	480
hsACVR1-22	mGmAfUmUfUmGfGmGfCmCf UmGfGmCfAmGfUmCfAmUfG	457	fCfAmUfGmAfCmUfGmCfCm AfGmGfCmCfCmAfAmAfUmC *fU*mG	481
hsACVR1-23	mUmGfGmUfGmAfGmCfAmAf UmGfGmUfAmUfAmGfUmGfG	458	fCfCmAfCmUfAmUfAmCfCm AfUmUfGmCfUmCfAmCfCmA *fU*mC	482
hsACVR1-18	mGmGfUmGfAmGfCmAfAmUf GmGfUmAfUmAfGmUfGmGfA	459	fUfCmCfAmCfUmAfUmAfCm CfAmUfUmGfCmUfCmAfCmC *fA*mU	483
hsACVR1-13	mGmAfCmCfCmAfAmGfUmUf UmUfGmAfAmGfAmUfAmUfG	460	fCfAmUfAmUfCmUfUmCfAm AfAmAfCmUfUmGfGmGfUm C*fA*mU	484

10

20

30

40

50

【表 19-2】

hsACVR1-7	mAmCfCmCfAmAfGmUfUmUf UmGfAmAfGmAfUmAfUmGfA	461	fUfCmAfUmAfUmCfUmUfCm AfAmAfAmCfUmUfGmGfGm U*fC*mA	485
hsACVR1-20	mCmCfAmAfCmAfGmAfUmGf GmUfUmCfUmCfAmGfAmCfC	462	fGfGmUfCmUfGmAfGmAfAm CfCmAfUmCfUmGfUmUfGm G*fG*mU	486
hsACVR1-11	mAmCfAmGfAmUfGmGfUmUf CmUfCmAfGmAfCmCfCmGfA	463	fUfCmGfGmGfUmCfUmGfAm GfAmAfCmCfAmUfCmUfGm U*fU*mG	487
hsACVR1-16	mGmGfAmCfCmUfAmAfUmGf CmUfGmGfCmCfUmGfAmCfU	464	fAfGmUfCmAfGmGfCmCfAm GfCmAfUmUfAmGfGmUfCm C*fC*mA	488
hsACVR1-6	mCmUfUmUfGmCfAmAfAmUf UmAfUmUfUmAfUmUfAmCfU	465	fAfGmUfAmAfUmAfAmAfUm AfAmUfUmUfGmCfAmAfAm G*fU*mU	489
hsACVR1-8	mCmAfUmUfUmUfCmUfUmUf UmAfUmUfAmUfCmAfGmUfU	466	fAfAmCfUmGfAmUfAmAfUm AfAmAfAmGfAmAfAmAfUm G*fU*mC	490
hsACVR1-15	mUmAfUmGfUmGfUmGfUmAf GmAfCmUfGmUfAmAfCmUfU	467	fAfAmGfUmUfAmCfAmGfUm CfUmAfCmAfCmAfCmAfUmA *fC*mA	491
hsACVR1-21	mAmUfAmUfAmUfUmAfCmUf GmAfUmUfUmAfGmAfAmGfC	468	fGfCmUfUmCfUmAfAmAfUm CfAmGfUmAfAmUfAmUfAm U*fU*mC	492
hsACVR1-5	mGmAfUmUfUmAfGmAfAmGf CmAfAmAfGmAfUmUfUmCfA	469	fUfGmAfAmAfUmCfUmUfUm GfCmUfUmCfUmAfAmAfUm C*fA*mG	493
hsACVR1-10	mAmGfAmAfGmCfAmAfAmGf AmUfUmUfCmAfGmUfAmGfA	470	fUfCmUfAmCfUmGfAmAfAm UfCmUfUmUfGmCfUmUfCm U*fA*mA	494
hsACVR1-4	mGmAfAmGfCmAfAmAfGmAf UmUfUmCfAmGfUmAfGmAfA	471	fUfUmCfUmAfCmUfGmAfAm AfUmCfUmUfUmGfCmUfUm C*fU*mA	495
hsACVR1-3	mAmAfGmCfAmAfAmGfAmUf UmUfCmAfGmUfAmGfAmAfU	472	fAfUmUfCmUfAmCfUmGfAm AfAmUfCmUfUmUfGmCfUm U*fC*mU	496
hsACVR1-1	mAmGfCmAfAmAfGmAfUmUf UmCfAmGfUmAfGmAfAmUfU	473	fAfAmUfUmCfUmAfCmUfGm AfAmAfUmCfUmUfUmGfCm U*fU*mC	497
hsACVR1-17	mUmGfCmAfUmUfUmAfAmAf CmUfCmUfGmCfCmAfGmAfA	474	fUfUmCfUmGfGmCfAmGfAm GfUmUfUmAfAmAfUmGfCm A*fC*mG	498
hsACVR1-12	mAmUfAmAfCmUfAmUfUmUf UmGfUmUfUmUfAmAfUmCfU	475	fAfGmAfUmUfAmAfAmAfCm AfAmAfAmUfAmGfUmUfAm U*fU*mU	499
hsACVR1-2	mUmUfUmUfUmGfUmAfUmUf UmAfGmUfAmGfUmUfAmUfU	476	fAfAmUfAmAfCmUfAmCfUm AfAmAfUmAfCmAfAmAfAm A*fG*mU	500
hsACVR1-19	mUmAfAmAfUmAfAmAfCmUf GmUfUmUfUmCfAmAfGmUfC	477	fGfAmCfUmUfGmAfAmAfAm CfAmGfUmUfUmAfUmUfUm A*fA*mU	501
hsACVR1-9	mAmAfAmUfAmAfAmCfUmGf UmUfUmUfCmAfAmGfUmCfA	478	fUfGmAfCmUfUmGfAmAfAm AfCmAfGmUfUmUfAmUfUm U*fA*mA	502

10

20

30

40

【0415】

f.FBX032オリゴヌクレオチド

FBX032を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれる Cong et al., Hum Gene Ther. 2011 Mar; 22(3): 313-24; Castillero et al., Metabolism. 2013; Oct; 62(10): 1495-502; Wada et al., Nature Precedings 2008; Lagirand-Cantaloube et al., PLoS One. 2009; 4(3): e4973; 2012年1月17日に発行された「COMPOSITIONS AND METHODS FOR THE TREATMENT OF MUSCLE WASTING」と題する米国特許第8097596号; 2019年7月18日に公開された「PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR

50

TREATING MUSCULAR DISEASE OR CACHEXIA COMPRISING, AS ACTIVE INGREDIENT, MIRNA LOCATED IN DLK1-DIO3 CLUSTER OR VARIANT THEREOF」と題する国際公開第2019139351号;2008年12月24日に公開された「METHODS AND COMPOSITIONS FOR THE TREATMENT AND DIAGNOSIS OF STATIN-INDUCED MYOPATHY」と題する国際公開第2008156561号;および2019年6月13に公開された「COMPOSITIONS AND METHODS OF TREATING MUSCLE ATROPHY AND MYOTONIC DYSTROPHY」と題する国際公開第2019113393号に提供されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、FBX032を標的とするCRISPRガイドRNAである。

【0416】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトFBX032配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:114907;NCBI参照番号:NM_058229.4):

```
AGCACTCCCGGAGCCTGCAACGCTTGAGATCCTCTCCGCGCCCGCCACCCCGCAGG
GTGCCCCGCGCCGTTCCCGCCGCCCCGCGCCCCCGTCGCGGGGCCCTGCACCCCG
AGCATCCGCCCCGGGTGGCACGTCCCGAGCCACCAGGCCGGCCCCGTCTCCCA
TCCGTCTAGTCCGCTCGCGGTGCCATGCCATTCTCGGGCAGGACTGGCGGTCCCC
CGGGCAGAACTGGGTGAAGACGGCCGACGGCTGGAAGCGCTTCTGGATGAGAAGA
GCGGCAGTTTTCGTGAGCGACCTCAGCAGTTACTGCAACAAGGAGGTATACAATAAG
GAGAATCTTTTCAACAGCCTGAACTATGATGTTGCAGCCAAGAAGAGAAAGAAGGA
CATGCTGAATAGCAAAACCAAACTCAGTATTTCCACCAAGAAAAATGGATCTATG
TTCACAAAGGAAGTACTAAAGAGCGCCATGGATATTGCACCCTGGGGGAAGCTTTC
AACAGACTGGACTTCTCAACTGCCATTCTGGATTCCAGAAGATTTAACTACGTGGT
CCGGCTGTTGGAGCTGATAGCAAAGTCACAGCTCACATCCCTGAGTGGCATCGCCC
AAAAGAACTTCATGAATATTTTGGAAAAAGTGGTACTGAAAGTCCTTGAAGACCAG
CAAAACATTAGACTAATAAGGGAAGTACTCCAGACCCTCTACACATCCTTATGTAC
ACTGGTCCAAAGAGTCGGCAAGTCTGTGCTGGTCGGGAACATTAACATGTGGGTGT
ATCGGATGGAGACGATTCTCCACTGGCAGCAGCAGCTGAACAACATTCAGATCACC
AGGCCTGCCTTCAAAGGCCTCACCTTCACTGACCTGCCTTTGTGCCTACAACTGAA
CATCATGCAGAGGCTGAGCGACGGGCGGGACCTGGTCAGCCTGGGGCCAGGCTGCCC
CCGACCTGCACGTGCTCAGCGAAGACCGGCTGCTGTGGAAGAACTCTGCCAGTAC
CACTTCTCCGAGCGGCAGATCCGCAAACGATTAATTCTGTCAGACAAAGGGCAGCT
GGATTGGAAGAAGATGTATTTCAAACCTTGTCGATGTTACCCAAGGAAAGAGCAGT
ATGGAGATACCCTTCAGCTCTGCAAACACTGTACATCCTTTCTGGAAGGGCACT
GACCATCCGTGCACTGCCAATAACCCAGAGAGCTGCTCCGTTTCACTTTACCCCA
GGACTTTATCAACTTGTTCAAGTTCTGAATCCCAGCACATGACAACACTTCAGAAG
GGTCCCCCTGCTGACTGGAGAGCTGGGAATATGGCATTGTTGACACTTCATTTGTAA
ATAGTGTAATTTTAAACATTGGCTCGAAACTTCAGAGATAAGTCATGGAGAGGAC
ATTGGAGGGGAGAAATGCAGTTGCTGACTGGGAATTTAAGAATGTGAACCTTCTCAC
TAGAATTGGTATGGAAAAGCAAATACTGTAAATAAACTTTTTTTCTAACAATTTG
CCAGCAAGACTATAAGGGCAATAATTCTATTTTCAGCGGTGAAAATGGAGTCCTCTT
AATGGTCACAGAACTCTCTTATAGTTCCCTAGGAAGAAAAAGGCCAAAACCTCAAT
ACAAAATAGGACGCTTTGTTTACAATGTGAAAATTTGTTTAGAAAAGAAAAAATGA
AGAAGGAAAACCTATATAGGAGAAATTCCTGGGCTTTGGGGTTTGATCTGGTGTTG
TTTTGAGAAGGGCGAAGGAAGCGCCACCCATCCTAAACCTGCATGGGCACAGAGCCT
TACCCTACAGAGATACCACACAATGGTCTACCTCTAAAAGCGTAGAGTGCCCTCTC
TGACAACGCATGTGATCCAGTAGGCAGTGTCTGTTTTTCTCGTAAGTGTTTTTCATC
ACTATAAAAAGTGATTTAAATGGAAAGGGATATTGGAGGCAATCCTCTGGTTTTCA
CACTTCCTTTTTCAGGCAAACAGGGCCCTCCTTAGAGTTATCTGTTACCCAGAACAA
CCCAAAGCACATGTTCTTTTTTCTGTCATGTTGTAGCTCATTTGGGGGAAAAG
```

10

20

30

40

50

AAGGCCAACTTAAAACAGTCCCAGGGGAGGATTGCTTGAGCCCAGGAGTCTGAGGT
TTGCAGTGAGCTATGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGTCTCCAAAACAAAACAA
AACAAAACAAAAGCCGTCCCAGAGGAAGTCCTGCTGCAGAAAAGATGATAGAATTG
GTCACCCAATCAATAGCTGTGAAGACTTCCTTATTCCTGCTGAACTTCCTTCCTTGG
ATATCTTCATGGATAAGCCTGTGTCTGTGGACAGAGTGGGGCCCAAGTGCTGAGGC
TCGAAAGACAGGTTTTACAATCAGCCAATTAACATCTTACCAGTTGCTGTACCCC
TTGCCAAGGGGATGAGCTGAGGAGCTTCTTTTCTTTAGGTCCAACATCAAAATGAG
TCCATCTGAGCTAGGGCTTTTTTGCAAAGGTGATTAAAAATCAAGGCTGGAGTTCCA
GCCAATAGGGAGGAGAGGTACCACAAGTTCATCTTAACTTGCTTCCGGGCTGGG
TAGTTAAAACAGGAAGATCCCAAGGGGATCTTACGAGGCAAATATCAGCAGGTAAC
TGTGGAAGAAAGGAAATCTCAGGACCTAATGAGTTCGTTGTAAATATTCTTGGGA
ATAGATGGGGGATCTACTCCCAGTTTTTTTACTTTTTTACAGAATATTGTTGCTTTCCT
ACAACAATGTACATATATTTGCAGTTGTATATGCTTTTTTTTTTTTCCAAATAAACTT
GTCACCCTGCATGCCCTTGCCAAATAAGTGAAGCAGAAATAGGAACACAGTCCACA
TTCAAGTTGAGGAACAGTGATCTTTAAGAGCTGAGCTTTGGGTGACCTGGAAAGG
GGGAAAGATGGCTAAGCATGGAGAGAAACGAGGCAAGAGACAAGCTATGATACAAC
ACCGCTTCAGCCCCTGCCCTCAATAGCACACAACCCACATATCAGCTTTCTGAAGA
GAAGGAACCTACTGTTTAGTGCTCCTCACTTTGCAATGTTTGTGCTACGCCAGAAT
TTCTCCAGTTTTTTTTTCAATTATCATCCCCCTGAGAAAAAAATTACATTGAATTTAAAT
TTTCCCTAATAAGAGAAATTAATATGAAAGAATAGGATTTTGTGTTGGGTAAGATTG
AGCTTTGGAAGGTCACGAACCATTATTCTATCTAAGGTGTGTGTTTTGTTTTGTTTT
TTTTTGTTTTTTTTTTTTGAATCCCTCTCCCCCTGAACCAATTTACATTGGGAATGC
AGGACCTAGACTGCTGAATAAAAAGCTACTTCTTCTATAATTGTCAGGTTCTCTCC
AATTTCTCAGCTTCCTCAAAGACATGGGGTGGAGTTGGGTGTGCCATCACTGAGAG
AGCTCTGGAACTTTTGACTCTTAGTGACATTTTTTAGATTTAGGGGTTTCATGGCCTTC
CACATGTTGCCACCAACTGGTGATCTCTGCCCTTCATGCTGATCAAGAAAGTAGA
AACTCCTCGTCGCCTTCAGGTTTGCAGTCGCAGAAACATTGCCTGCTGTGGACTGT
CAGCACAAAACCTGGGACACTGGTGTCATTTAGACTGTCAGCAGTGCACATGATTGT
ACGATAGACTCCAGGCAACCATGTGCATCTGTGCAAGATGACCTCTGCCCCAAGAG
AAGGGTTACGGTCTAATTAATGTTTACCAAGATGGTACCAGTGGGCTCTCCCCGT
GTCCTTTGGTGTTATTGGAGCTGGTGATGACAGACTCAAGGAAATTTTTTAAAGGA
AAATGAAGAAGAAATCAACCTTTATGGTTCTCTTTCATTGGAAGAGGAGAATAAGG
AAAGAAATGGCAGGTAGAGAGGGAGGGGGAAAGGAATAGAAATGGCATGTCTTTGA
TGCTGTGGCTTGTGTGGGGACAATGGGAAGAGCACAGCAGGCACAACATATCTGTG
TTAGTGCCACGTGGTATCTGTAAAGTATGGCCAGAGCCTCACATATAAGTGAAGAG
AGTTAAGACAATTCTTGCTCTTTGAACAATAATAGTCTATAGAATTTCTATTGGCA
AACCATCCCAGACAACCTGACCTATCAAACAAAAGCAAATAATCCCTGTCTCAGAA
CTGCTGGTCTAAAAGCTAGAAGGGGCATGATAATGGAAATTGCTAGAAAAGAGAGA
ATGCTCTACTCTCTTTCCTGTGCCTACCTACCCCCATCCTAAACCCTGTAAAACAGA
ATTTCAAATAGATGTCAAATATGAAGTAATTCAGACTTCCAAAGAAGGAAAGAGT
TCTGCCCAGGGCAGTATGAGCAAATCCACAGGGATGTAAAGATTTGGTCCAACTCA
AAGGTTTATGGGCAGTGAGCCTAGAGTCTCTTGAGAGTAAACCCTTGCAATTTGGGA
CAAGGAGAATATGTGAAGTTCAGGAGTGCTCACACTAGAGCAAGATCCAGAAAAAA
AAAAATCCAATGGCATTTTTAACTAGATTGCATTATCACTCAATGCTGTTACTTTG
AGCAGACAAATCAGTTGAATGGGAGGGCAAATGGCAGAAATGAACAAAAGCTATTA
GGTGAAAGCATCCCCAATGTATCAGTTGTGAGATGATTTTTGTTTAATGATGATCA
GGTTTACATTGAAGTGGCTTGGAAGACGTATTTTCAGAGGGGACTGGGTTTGTACTGC
AAAACCTCTGAACACTAGAGCAGGTTCTACTAGCACTTGGGCAGTAAGGTAGCGGGT
GTGTATTATGCTATTGCCATAGTTCTCGTCTTTGTGGATTACATACCCTTTCCCAT
GAGGAGCTTGCTACTAACAGCCTCCTGTTTCTGTTGTTTTTATATGGGAGAAGAGA

10

20

30

40

50

AAGAGCTTGGAATTTCAATTGTCTAAACAATTGGTATGATTTACAAGAAGGCCAAAC
CATTGAGGAGATGTTCAACAGTGTATCATTCTTAGCATTCAATACAATGTTTATTA
TAAAATATACACCTGAGTTTATGTTTTCTGCCAGGCTGAAGGGCAATAATGTCTT
GCTATGCCAAACACTCTATTTTATGTGTGAATTTTTTAACTGTAATTTTATGTGTGA
ATTTTTTTAACTAACTCTATCATCATTTTCTATGTTGACATCTTTTTTTTTTTTTT
AATCTGTTTCCAACCTCTGAGTCTGTGAACTATCTCTTCTGACTGGATGCTGGCCTAA
AATCCTATTAGTGCTTAAACAGACCTCAAAACACTCTGAACCTGTAGGCCAATACA
GAGATGTTGTTCTTTGATATATCTTGGGTCCTTGATGGCTTCAACAAACAAGGTCA
TAATTTGTTTAAATTCAGTGTCTTCTGTAGATACCTTCTTCTCAGTTTCATTAAGAA
GAGTAACCATCTTTGGTTTTCCAAAGAATGGAACTCCTACCCTAGACTTTAGACT
TAGAGCGTCTGCCTTTTACGATGAGTAAGAGATCCAGAATGTTTAGGGGATGTGCG
TCAGCCCACCTGGTACAGTGGCAAAGCTGAATGCGAACTTGAGGCCTCCTGAGGCC
TGACCTTCTATGCCCCAGCCCTCCACCCCAAGCACCTTTTGGTGTGGCTGGAAAC
ACATGACATTGGATGTGATTTTTCTCAAGCCCTTCACTGTGGAAGGCATGGGAGAC
TGCCCAGCATTGGGCATGTGGCTGTAAACGTTTCCATTTCAAGTCCCTGATTCTTAC
TGGAGAAGTTAAGGAGCCACTTAATGTTTTTACAGACCTCTGATTCTGTTGTGAAT
GTGGCATTCCAGTGAGTACAACCTGCTTGCTATAAAGAAAGCAGCATATTTTGACA
ATTTTATTTCTTCCCTGGGTACTTACATTTTTATTACAAAAATGGCCGTTATAAAAA
AAGACAGAAGGGCTGGGCAGTGGCTTGCTCCCTAGAACTGAGATTCCGAAGCAGG
TGTTTCCTCTCCCCTAGACTCAGAGGTACATTTAATCCATCTTCTCCATTTCTCCT
TCAGGACCAGCTATGAGATTCAGTGCATTTCTAGCCCAGCGGATGTTTCAATCTCCA
CTAAACTTCATCTTTTACTAAGCAAAGGGGGATTATTCCATGAGGCAGCCAGGAGC
AAGGGGCCATGATATTCATGACTTTGTCTGCTGGGCATTTTTTCAAAGTGTCTTGA
ATTCATCAGCAAACAAAGCTTTCTGGAGAATCTCTCAAACTTAGGCCCTGCTCC
ATTTGGCCAAAAATGATGGCTGCTCCAAACTCTGAACCTTCTTAAACTCCATCTG
CTACATTATTTCTGGAGTTTAAACATGACTTTTTTCTGTCTTTGAGTATAGATGTGTT
TGTTTAATTAACGAAGCACAAAGTCTGTAAAGCAGAAGGCTCCAAGCTGTATTCTAT
ACTTGGGAATCCTTGGTGCCATCTTTATTCTACCAAGTGCCAATCACCATGGCTAA
AGTGGGCGTATATTACAGCCTGTGTCCTAAGCTTAGAAGCTTTAATGTACTTTTTT
AAATGAAAAGTATTAGAGGGGGTTGAACATTGTAAGTAAAGCATAAAGTTAGACCA
ATTACATGCAGAGATGTTTATTTAATATTGTGTGAGCTGAGTCCTTCTGTATAAAT
TATTTGCACACTTTTCTTGCATGATGAACTGATTTTTTTATAGTTGTTTGTACCAGAC
GGTGGCATATTTTTGTAAAAAACTTTTGACACTGAATTGCAATAAATGTTTTTCCA
ACAACA(配列番号505)。

10

20

30

40

50

【0417】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスFBX032配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:67731;NCBI参照番号:NM_026346.3)

GACGGGGCAGCGGCCCGGGATAAATACTGCGCTCGGGCAGCCGCTCAGCATTCCCA
GAGTCAGGAGGCGACCTTCCCCAACGCCTGCGCCCTGTGAGTGCAAGGATCCCCG
CGCCCACCCAGGATCCGCAGCCCTCCACACTAGTTGACCCACTCTTGTCCCGGTCTG
CCGCCTGCGTCGTTCCCCAGCATCTTCCCAACGCGCCGCATACCCTGGGCAAGCCA
GGCCGGTTTCTTGGCTGTCAATCCGTCCCGTCCGTGCGTCCGCGCTCTGTACC
ATGCCGTTTCTTGGGCAGGACTGGCGGTCCCCGGGCCAGAGCTGGGTGAAGACGGC
GGACGGCTGGAAGCGCTTCTTGGATGAGAAAAGCGGCAGCTTCGTGAGCGACCTCA
GCAGTTACTGCAACAAGGAGGTATACAGTAAGGAGAATCTGTTTACGAGCCTGAAC
TACGACGTGCGAGCCAAGAAGAGAAAGAAAGACATTCAGAACAGCAAAACCAAAAC
TCAGTACTTCCATCAAGAAAAGTGGATCTATGTTTCAAAAGGAAGTACGAAGGAGC
GCCATGGATACTGTACTTTGGGGGAAGCTTTCAACAGACTGGACTTCTGACTGCC
ATCCTGGATTCCAGAAGATTCAACTACGTAGTAAGGCTGTTGGAGCTGATAGCAA

GTCACAGCTCACATCCCTGAGTGGCATCGCCCCAAAAGAACTTCATGAACATTTTGG
AAAAAGTGGTACTGAAAGTTCTTGAAGACCAGCAAAACATAAGACTTATACGGGAA
CTTCTCCAGACTCTCTACACATCCTTATGCACACTGGTGCAGAGAGTCGGCAAGTC
TGTGCTGGTGGGCAACATTAACATGTGGGTGTATCGGATGGAGACCATTCTACACT
GGCAGCAGCAGCTGAATAGCATCCAGATCAGCAGGCCTGCCTTCAAAGGCCTCACG
ATCACCGACCTGCCTGTGTGCTTACAACTGAACATCATGCAGAGGCTGAGTGACGG
GCGGGACCTGGTCAGCCTGGGCCAGGCAGCCCCAGACCTGCATGTGCTCAGTGAGG
ACCGGCTACTGTGGAAGAGACTCTGCCAGTACCACTTCTCAGAGAGGCAGATTTCGC
AAGCGTTTGATCTTGTCTGACAAAGGGCAGCTGGATTGGAAGAAGATGTATTTTAA
GCTTGTACGATGTTACCCAAGAAGAGAGCAGTATGGGGTCACCCTGCAGCTTTTGCA
AACACTGCCACATTCTCTCCTGGAAGGGCACTGACCATCCGTGCACGGCCAACAAC
CCAGAGAGCTGCTCCGTCTCACTTTCCCCTCAAGACTTTTATCAATTTGTTCAAGTTC
TGAATAATCCCAGCACACGACAACACTTCAGAAGGCTTCTAATTGGATGGCTGGGA
GTCGGGACACTTCATTTGTAAATAGTGTACATTTTAAGCATTGGCTTGAAACTGCG
GGGGATACGTCATTGAGGAGACGTTGGCGGGGAAGAGATGCAGTTGCCGATGGAAA
TTTACAAATGTGAATTCCACATGAGAACTGGTACAGAAAAGCAGAAATACTGTAAA
TAGACTTTTTTATTTTCCCTAACGATTTGCAAGCAAGACTATAAAGGCAAGAACTCT
ATGTCAGCCATGGAAACGGAGTCCTCTTGAGTTCCCTAGGAAGAAAAAGGCCAAAAA
GCTCAAAAACAAGATGGAACACTCTGTTTACAATGTGAAAATGTTGTTAAGACAAA
AATAAGGAAGAAGGAAGATGAACGCTGTCATTGAGAAACCCTTGGGCTTTGGGTTT
GGATTCGGGGTTTGTTTTTCAGCAGGCCAAGAAGTATATCCACCTGAAATCTGCACG
GGCTTAAGTCCTTATCCTATGAAGATGCCACACAATGGTCTACCTCTAAAAGCATA
GCGTGTTCTCTGGCAACATACTTTATCTGGGAGGCAATGTCTGTGTTTTCATGTAAG
TTCTATACTCTGTGAAGTGATCTAAGATGGGAAGGCTGTTAGGAAAAAAAAAAAAA
GCCCTCTCTTGTTCTGACTTCCTGTCCCCCAGTCCCTCTCAGTCCCTGCACCTCT
TCTCCTTTTCATGTTGTCACCTCTGTAGGGAACCGGGAGGCCAGCTAAAGAACAGCA
GAAGTCATGAAGAGAGAATTAGGCACCTGTGCATGCTCAGAACTTTCCATTTAACT
CTTCCTTCTTCTAGCCTGACTTCTAGGCTTGTCCGGGCTTCCTTGAGTGTCTTCATG
GATAAGTGGATGTCTGGGACCTTAGGAGAGCCCCAAGAACTGAGGCTTGAGAGACAC
AGTTTCTCACACTAGCCAGTTAAACATTCTGCCAGCTGCTGTTTCCCCTCGGCAGG
CCAATGAGCTGAGGCACTGTCTGTTCTGTAGGCCCAGCATCCAACCTCAAGTCACCC
TGAACCGGGACTTTTTTCACAAGCATGATTTCAAAGAAAGCCTGATAGATGTGTTTCG
TCTTAAACTTGTTTTCAGGACTGAGTTAGAGCAAAGATAAAGAGTCCCGGGGGTCT
TGTGAGACAGAGACATGAACACTGTGGAAGAAAGGAGAAGGAGATCTCAGGGCTTA
AGGAGTTAATTCTGGGGTGGGGGAAATGTTTTTATATTTTACTTTTTTACAGATTG
TTGCTTTTCTACAATGTACATATATTTGCAATTGTATTTGCTGTTTTTTTTTAAAT
CTCCAAATAAAATTGCCACTATGCATGCTCTTGGCAAACAAGCAGAAATAGGAATT
TGTTCCATGTAAATGTTAAGGTGTGGTGTGACCTGAAGCATTGATGCGTGGGGTAG
TCCTAGGAGGAGAGGAAAGATGGCTGAGCGTGAACAAGAACAAGGCCGGGGCAGTG
AACACTTCTTCCTTCAGTCGTAGAGCACCTCGGGTTGGTACTGTACAGGCGGATG
GAGTCTGTGGGGCTCCCTGATTTGCAGGGTCTTACATCTGTGCTTACACCAGAAGT
TCTCCATGTTTTCTTTATCAGCACCATCTCCTGGTGGCCAAATTAAGTTGAATTTAA
AGGTTTCGTAATGAGAAAAGGGATGTGTAAAAGAACAAGATTTCTTTTACATGGAAA
AGTTAAAAGTCTAAAGCTGAACCTTGGAGATTACAAACATTGTAACAGAGAAGAGT
TTCCTGTTTGCTTTGGGATTTTGAATCTTCTCCCCAGAAACAATTTTACATTAAG
AATGTAGGGCCTTGGGGCTGGAGAGGTGGCTCAGCAGTTAAGAGCACTGACTGCTC
TTCTGAAGGTCTGAGTTCAATTCTTAGCAACCACATGGTGGCTCATAACCATCCA
TAATGAGATCTGATGGCCTCTTCTGGTGAGTCTGAAGACAGCTACAGTGTACTTAC
ATATAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATC
TATCTTTAAAAGAAAAAGAATGTAGGACCTAGGTGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGG

10

20

30

40

50

50

TGTTTCATCCTTGTTTTGTAATAAGCAGAATTTATCCTGTAAGGCAAGGGGTGGTGAT
AGCCATAATTTTTGTCTGGCTGGGCTTTTTTCAAAGTGTCTTGAATTCAGCAAGCA
AACCTTCTTTGAGAAAGCTCTCTAAACTTAGTCTCTCTCCATTTGGCTGGAAATAAT
GGATGGCCACATCCAAACTCCAAATTTCTGGATGTGTTCATATGCCTCAGCACTACA
GAATCTGACTCTCTCTTTGAGTATAGACATGCGTGTTAACTATGCACAGGGCTGTT
TAACAGATGGCTCCAATCCCTGCTCCATACTTGGGAGCCTTTGGTTCCATCTTTATA
CCAAATGCCAATCACACTGGCTACAGAGAGTGTTATTATAGTCTGTGTCTAAGCTTA
GAAGCTTTAAATGTATGTTTTAAAGAAAAAATACTAGAGTGGGTTGAACACTTTAA
CTAAACTTGGAAGGTTGGACAGATTATGTGCAAAGATGATTGTTTGTTTAATAATG
AATAATCTGAATCCTGTATAACTTATTTGCACACCTTTCTTGCATGATGAACTGAC
ATTTTTATAGTTGTTTGTATAAGACAGTGGCATATTTTTGTAAACATTTTTTTTGACA
CTGAACTTCAATAAATGTTTTTCCTACAACACA(配列番号506)。

10

20

30

40

50

【0418】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号505または配列番号506に記載のFBX032配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号505または配列番号506に記載のFBX032配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号505または配列番号506に記載のFBX032配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号505または配列番号506に記載のFBX032配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号505または配列番号506に記載のFBX032配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号505または配列番号506に記載のFBX032配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

【0419】

いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号555~578のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号555~578のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号555~578のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

【0420】

いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号507~554のいずれか1つを含むFBX032配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号507~554のいずれか1つを含むFBX032配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号507~554のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0421】

いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号507~55

10

10

10

10

20

20

30

30

40

40

40

50

で、「mN」は、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオシドを示し、「fN」は、2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオシドを示し、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を示し、2つのヌクレオシド間に「*」が存在しないことは、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0427】

いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、以下(5'から3')の構造を含み:

mNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfN、ここで、「mN」は、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオシドを示し、「fN」は、2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオシドを示し、2つのヌクレオシド間に「*」が存在しないことは、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

【0428】

いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、表22に列挙される配列番号555~578の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、表22に列挙される配列番号531~554の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、FBX032標的化オリゴヌクレオチドは、表22に列挙されるsiRNAから選択されるsiRNAである。

20

30

40

50

【表 20 - 1】

表 20. FBXO32 標的配列

参照配列	参照配列の 対応する ヌクレオチド	FBXO32 標的配列 (5'から 3')	配列番号
NM_058229.4 (配列番号 297)	1063-1081	CTGGATTGGAAGAAGATGT	507
NM_058229.4 (配列番号 297)	1055-1073	AAGGGCAGCTGGATTGGAA	508
NM_058229.4 (配列番号 297)	1064-1082	TGGATTGGAAGAAGATGTA	509
NM_058229.4 (配列番号 297)	1056-1074	AGGGCAGCTGGATTGGAAG	510
NM_058229.4 (配列番号 297)	1052-1070	ACAAAGGGCAGCTGGATTG	511
NM_058229.4 (配列番号 297)	5127-5145	TCATCATTTTCTATGTTGA	512
NM_058229.4 (配列番号 297)	2295-2313	TGGATATCTTCATGGATAA	513
NM_058229.4 (配列番号 297)	5217-5235	CTAAAATCCTATTAGTGCT	514
NM_058229.4 (配列番号 297)	842-860	GGCCTGCCTTCAAAGGCCT	515
NM_058229.4 (配列番号 297)	1516-1534	GCAAGACTATAAGGGCAAT	516
NM_058229.4 (配列番号 297)	1022-1040	GGCAGATCCGCAAACGATT	517
NM_058229.4 (配列番号 297)	1448-1466	ACTTCTCACTAGAATTGGT	518
NM_058229.4 (配列番号 297)	2756-2774	TACATATATTTGCAGTTGT	519
NM_058229.4 (配列番号 297)	5299-5317	CTTGGGTCCTTGATGGCTT	520
NM_058229.4 (配列番号 297)	4887-4905	CTTGGAATTTC AATTGTCT	521
NM_026346.3 (配列番号 298)	742-760	TGAAAGTTCTTGAAGACCA	522
NM_026346.3	966-984	CCTGTGTGCTTACAACCTGA	523

10

20

30

40

50

【表 20 - 2】

(配列番号 298)			
NM_026346.3 (配列番号 298)	655-673	TGTTGGAGCTGATAGCAAA	524
NM_026346.3 (配列番号 298)	621-639	CTGGATTCCAGAAGATTCA	525
NM_026346.3 (配列番号 298)	628-646	CCAGAAGATTCAACTACGT	526
NM_026346.3 (配列番号 298)	697-715	GCATCGCCCAAAGAAGACTT	527
NM_026346.3 (配列番号 298)	620-638	CCTGGATTCCAGAAGATTC	528
NM_026346.3 (配列番号 298)	740-758	ACTGAAAGTTCTTGAAGAC	529
NM_026346.3 (配列番号 298)	1080-1098	AAGAGACTCTGCCAGTACC	530

* 標的配列はTを含有するが、RNA および/またはDNA への結合が企図される。

【0429】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表21に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

【表 2 1 - 1】

表 21. FBXO32 を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
AGCUGGAUUGGAAGAAGAUGU	531	ACAUCUUCUCCAAUCCAGCUGC	555
CAAAGGGCAGCUGGAUUGGAA	532	UUCCAAUCCAGCUGCCCUUUGUC	556
GCUGGAUUGGAAGAAGAUGUA	533	UACAUCUUCUCCAAUCCAGCUG	557
AAAGGGCAGCUGGAUUGGAAG	534	CUUCCAAUCCAGCUGCCCUUUGU	558
AGACAAAGGGCAGCUGGAUUG	535	CAAUCCAGCUGCCCUUUGUCUGA	559
UAUCAUCAUUUUCUAUGUUGA	536	UCAACAUAGAAAAUGAUGAUAGA	560
CUUGGAUAUCUUCAUGGAUAA	537	UUAUCCAUGAAGAUAUCCAAGGA	561
GCCUAAAAUCCUAUUAGUGCU	538	AGCACUAAUAGGAUUUUAGGCCA	562
CAGGCCUGCCUUCAAAGGCCU	539	AGGCCUUUGAAGGCAGGCCUGGU	563
CAGCAAGACUAUAAGGGCAAU	540	AUUGCCCUUAUAGUCUUGCUGGC	564
GCGGCAGAUCCGCAAACGAUU	541	AAUCGUUUGCGGAUCUGCCGCUC	565
GAACUUCUCACUAGAAUUGGU	542	ACCAAUUCUAGUGAGAAGUUCAC	566
UGUACAUAUAUUUGCAGUUGU	543	ACAACUGCAAAUAUAUGUACAUU	567
AUCUUGGGUCCUUGAUGGCUU	544	AAGCCAUCAAGGACCCAAGAUAU	568
AGCUUGGAAUUUCAAUUGUCU	545	AGACAAUUGAAAUUCCAAGCUCU	569
ACUGAAAGUUCUUGAAGACCA	546	UGGUCUUCAAGAACUUUCAGUAC	570
UGCCUGUGUGCUUACAACUGA	547	UCAGUUGUAAGCACACAGGCAGG	571

【表 2 1 - 2】

GCUGUUGGAGCUGAUAGCAAA	548	UUUGCUAUCAGCUCCAACAGCCU	572
UCCUGGAUUCAGAAAGAUUCA	549	UGAAUCUUCUGGAAUCCAGGAUG	573
UUCAGAAAGAUUCAACUACGU	550	ACGUAGUUGAAUCUUCUGGAAUC	574
UGGCAUCGCCCAAAGAACUU	551	AAGUUCUUUUGGGCGAUGCCACU	575
AUCCUGGAUUCAGAAAGAUUC	552	GAAUCUUCUGGAAUCCAGGAUGG	576
GUACUGAAAGUUCUUGAAGAC	553	GUCUUCAAGAACUUUCAGUACCA	577
GGAAGAGACUCUGCCAGUACC	554	GGUACUGGCAGAGUCUCUCCAC	578

【0 4 3 0】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 22 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 1】

表 22. FBXO32 を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsFBXO32-1	mAmGfCmUfGmGfAmUfUmG fGmAfAmGfAmAfGmAfUmGf U	531	fAfCmAfUmCfUmUfCmUfUmC fCmAfAmUfCmCfAmGfCmU*f G*mC	555
hsFBXO32-2	mCmAfAmAfGmGfGmCfAmG fCmUfGmGfAmUfUmGfGmAf A	532	fUfUmCfCmAfAmUfCmCfAmG fCmUfGmCfCmCfUmUfUmG*f U*mC	556
hsFBXO32-3	mGmCfUmGfGmAfUmUfGmG fAmAfGmAfAmGfAmUfGmUf A	533	fUfAmCfAmUfCmUfUmCfUmU fCmCfAmAfUmCfCmAfGmC*f U*mG	557
hsFBXO32-4	mAmAfAmGfGmGfCmAfGmC fUmGfGmAfUmUfGmGfAmAf G	534	fCfUmUfCmCfAmAfUmCfCmA fGmCfUmGfCmCfCmUfUmU*f G*mU	558
hsFBXO32-5	mAmGfAmCfAmAfAmGfGmG fCmAfGmCfUmGfGmAfUmUf G	535	fCfAmAfUmCfCmAfGmCfUmG fCmCfCmUfUmUfGmUfCmU*f G*mA	559
hsFBXO32-6	mUmAfUmCfAmUfCmAfUmU fUmUfCmUfAmUfGmUfUmGf A	536	fUfCmAfAmCfAmUfAmGfAmA fAmAfUmGfAmUfGmAfUmA*f G*mA	560
hsFBXO32-7	mCmUfUmGfGmAfUmAfUmC fUmUfCmAfUmGfGmAfUmAf A	537	fUfUmAfUmCfCmAfUmGfAmA fGmAfUmAfUmCfCmAfAmG*f G*mA	561
hsFBXO32-8	mGmCfCmUfAmAfAmAfUmC fCmUfAmUfUmAfGmUfGmCf U	538	fAfGmCfAmCfUmAfAmUfAmG fGmAfUmUfUmUfAmGfGmC*f C*mA	562
hsFBXO32-9	mCmAfGmGfCmCfUmGfCmCf UmUfCmAfAmAfGmGfCmCf U	539	fAfGmGfCmCfUmUfUmGfAmA fGmGfCmAfGmGfCmCfUmG*f G*mU	563
hsFBXO32-10	mCmAfGmCfAmAfGmAfCmU fAmUfAmAfGmGfGmCfAmAf U	540	fAfUmUfGmCfCmCfUmUfAmU fAmGfUmCfUmUfGmCfUmG*f G*mC	564
hsFBXO32-11	mGmCfGmGfCmAfGmAfUmC fCmGfCmAfAmAfCmGfAmUf U	541	fAfAmUfCmGfUmUfUmGfCmG fGmAfUmCfUmGfCmCfGmC*f U*mC	565

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 2】

hsFBXO32-12	mGmAfAmCfUmUfCmUfCmA fCmUfAmGfAmAfUmUfGmGf U	542	fAfCmCfAmAfUmUfCmUfAmG fUmGfAmGfAmAfGmUfUmC*f A*mC	566
hsFBXO32-13	mUmGfUmAfCmAfUmAfUmA fUmUfUmGfCmAfGmUfUmGf U	543	fAfCmAfAmCfUmGfCmAfAmA fUmAfUmAfUmGfUmAfCmA*f U*mU	567
hsFBXO32-14	mAmUfCmUfUmGfGmGfUmC fCmUfUmGfAmUfGmGfCmUf U	544	fAfAmGfCmCfAmUfCmAfAmG fGmAfCmCfCmAfAmGfAmU*f A*mU	568
hsFBXO32-15	mAmGfCmUfUmGfGmAfAmU fUmUfCmAfAmUfUmGfUmCf U	545	fAfGmAfCmAfAmUfUmGfAm AfAmUfUmCfCmAfAmGfCmU *fC*mU	569
mmFBXO32-1	mAmCfUmGfAmAfAmGfUmU fCmUfUmGfAmAfGmAfCmCf A	546	fUfGmGfUmCfUmUfCmAfAmG fAmAfCmUfUmUfCmAfGmU*f A*mC	570
mmFBXO32-2	mUmGfCmCfUmGfUmGfUmG fCmUfUmAfCmAfAmCfUmGf A	547	fUfCmAfGmUfUmGfUmAfAm GfCmAfCmAfCmAfGmGfCmA *fG*mG	571
mmFBXO32-3	mGmCfUmGfUmUfGmGfAmG fCmUfGmAfUmAfGmCfAmAf A	548	fUfUmUfGmCfUmAfUmCfAmG fCmUfCmCfAmAfCmAfGmC*f C*mU	572
mmFBXO32-4	mUmCfCmUfGmGfAmUfUmC fCmAfGmAfAmGfAmUfUmCf A	549	fUfGmAfAmUfCmUfUmCfUmG fGmAfAmUfCmCfAmGfGmA*f U*mG	573
mmFBXO32-5	mUmUfCmCfAmGfAmAfGmA fUmUfCmAfAmCfUmAfCmGf U	550	fAfCmGfUmAfGmUfUmGfAm AfUmCfUmUfCmUfGmGfAmA *fU*mC	574
mmFBXO32-6	mUmGfGmCfAmUfCmGfCmC fCmAfAmAfAmGfAmAfCmUf U	551	fAfAmGfUmUfCmUfUmUfUm GfGmGfCmGfAmUfGmCfCmA *fC*mU	575
mmFBXO32-7	mAmUfCmCfUmGfGmAfUmU fCmCfAmGfAmAfGmAfUmUf C	552	fGfAmAfUmCfUmUfCmUfGmG fAmAfUmCfCmAfGmGfAmU*f G*mG	576
mmFBXO32-8	mGmUfAmCfUmGfAmAfAmG fUmUfCmUfUmGfAmAfGmAf C	553	fGfUmCfUmUfCmAfAmGfAmA fCmUfUmUfCmAfGmUfAmC*f C*mA	577
mmFBXO32-9	mGmGfAmAfGmAfGmAfCmU fCmUfGmCfCmAfGmUfAmCf C	554	fGfGmUfAmCfUmGfGmCfAmG fAmGfUmCfUmCfUmUfCmC*f A*mC	578

10

20

30

【0 4 3 1】

g.TRIM63オリゴヌクレオチド

TRIM63を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるRodriguez et al., Mol Cell Endocrinol.2015 Sep 15;413:36-48;Castillero et al., Metabolism.2013 Oct;62(10):1495-502;Clarke et al., Cell Metab.2007 Nov;6(5):376-85;Wada et al., J Biol Chem.2011 Nov 4;286(44):38456-65;およびFiles et al., Am J Respir Crit Care Med.2012 Apr 15;185(8):825-34に提供されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、TRIM63を標的とするCRISPRガイドRNAである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、TRIM63発現を抑制することが示されているmiR-23aである。

40

【0 4 3 2】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトTRIM63配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:84676;NCBI参照番号:NM_032588.3):

AGACAGAATTCTGGGCACCAAGGAGAAGGAAGCCAACAGGATCCGACCCGGTGTTTTG

50

TGACAAAGGCAAGACCCCCAGGTCTACTTAGAGCAAAGTTAGTAGAGGAGGCAGCT
AGGCGTGGCTCTCATTCTTCCACAGAATGGATTATAAGTCGAGCCTGATCCAGG
ATGGGAATCCCATGGAGAACTTGGAGAAGCAGCTGATCTGCCCTATCTGCCTGGAG
ATGTTTACCAAGCCAGTGGTCATCTTGCCGTGCCAGCACAACTGTGCCGGAAGTG
TGCCAATGACATCTTCCAGGCTGCAAATCCCTACTGGACCAGCCGGGGCAGCTCAG
TGTCATGTCTGGAGGCCGTTTCCGCTGCCCCACCTGCCGCCACGAGGTGATCATG
GATCGTCACGGAGTGACGGCCTGCAGAGGAACCTGCTGGTGGAGAACATCATCGA
CATCTACAAACAGGAGTGCTCCAGTCGGCCGCTGCAGAAGGGCAGTCACCCCATGT
GCAAGGAGCACGAAGATGAGAAAATCAACATCTACTGTCTCACGTGTGAGGTGCC
ACCTGCTCCATGTGCAAGGTGTTTGGGATCCACAAGGCCTGCGAGGTGGCCCCATT
GCAGAGTGCTTCCAGGGACAAAAGACTGAACTGAATAACTGTATCTCCATGCTGG
TGGCGGGGAATGACCGTGTGCAGACCATCATCACTCAGCTGGAGGATTCCCGTCTGA
GTGACCAAGGAGAACAGTCACCAGGTAAAGGAAGAGCTGAGCCAGAAGTTTGACAC
GTTGTATGCCATCCTGGATGAGAAGAAAAGTGAGTTGCTGCAGCGGATCACGCAGG
AGCAGGAGAAAAAGCTTAGCTTCATCGAGGCCCTCATCCAGCAGTACCAGGAGCAG
CTGGACAAGTCCACAAAGCTGGTGGAACTGCCATCCAGTCCCTGGACGAGCCTGG
GGGAGCCACCTTCCTCTTGACTGCCAAGCAACTCATCAAAAGCATTGTGGAAGCTT
CCAAGGGCTGCCAGCTGGGGAAGACAGAGCAGGGCTTTGAGAACATGGACTTCTTT
ACTTTGGATTTAGAGCACATAGCAGACGCCCTGAGAGCCATTGACTTTGGGACAGA
TGAGGAAGAGGAAGAATTTCATTGAAGAAGAAGATCAGGAAGAGGAAGAGTCCACAG
AAGGGAAGGAAGAAGGACACCAGTAAGGAGCTGGATGAATGAGAGGCCCCCAGATG
CAGAGAGACTGGAGAGGGTGGGGAGGGGCCAGCGGCCTTGGTGACAGGCCCAGGG
TGGGAGGGGTCTGGGGCCCCCTGGAGGGGCAATGGGGAGGTGATGTCTTCTCTGCT
CAGAGAGCAGGGACTAGGGTAGGACCCTCACCGCTGCGTCCAGCAGACACTGAACC
AGAATTGGAAACGTGCTTGAAACAATCACACAGGACACTTTTCTACATTGGTGCAA
AATGGAATATTTTGTACATTTTAAATGTGATTTTGTATATACTTGTATATGTAT
GCCAATTTGGTGCTTTTTGTAAAGGAACTTTTGTATAATAATGCCTGGTCGTTGGG
TGACCTGCGATTGTGAGAAAGAGGGGAAGGAAGCCAGGTTGATACAGCTGCCCACT
TCCTTTCCTGAGCAGGAGGATGGGGTAGCACTCACAGGGACGATGTGCTGTATTT
AGTGCCTATCCCAGACATACGGGGTGGTAAGTGTGTTATATGTTGTTTTA
ATAAATGCACAATGCTCTCTTCCTGTTCTTCAA(配列番号579)。

10

20

30

【0433】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスTRIM63配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:433766;NCBI参照番号:NM_001039048.2)

AGAAGTCGGGGGTCAGGGGACGAAGACAAAGAGGATCCGAGTGGGTTTGGAGACAA
AGACTTGGTGTGACGCAGGTGGGCGAGACAGTCGCATTTCAAAGCAATATGGATTA
TAAATCTAGCCTGATTCTGATGGAAACGCTATGGAGAACCTGGAGAAGCAGCTGA
TCTGCCCCATCTGCCTGGAGATGTTTACCAAGCCTGTGGTCATCCTGCCCTGCCAAC
ACAACCTCTGCCGGAAGTGCGCAACGACATCTTCCAGGCTGCGAATCCCTACTGG
ACCAACCGCGGTGGCTCAGTGTCCATGTCTGGAGGTCGTTTCCGTTGCCCTCGTG
CCGCCATGAAGTGATCATGGACCGGCACGGGGTGTACGGCCTGCAGAGGAACCTGC
TGGTGGAAAACATCATTGACATCTACAAGCAGGAGTGCTCCAGTCGGCCCCCTGCAG
AAAGGCAGCCACCCGATGTGCAAGGAACACGAAGACGAGAAAATCAACATCTACTG
TCTCACGTGTGAGGTGCCTACTTGCTCCTTGTGCAAGGTGTTTGGGGCTCACCAGG
CCTGTGAGGTTGCCCTTTGCAAAGCATCTTCCAAGGACAGAAGACTGAGCTGAGT
AACTGCATCTCCATGCTGGTGGCGGGCAACGACCGAGTGACAGACGATCATCTCTCA
GCTGGAGGACTCCTGCAGAGTGACCAAGGAGAATAGCCACCAGGTGAAGGAGGAGC
TGAGTCAGAAGTTTGACACCCTCTACGCCATCCTGGACGAGAAGAAGAGCGAGCTG
CTGCAGCGGATCACGCAGGAGCAGGAGGAGAAGCTGGGCTTCATCGAGGCTCTGAT

40

50

CCTCCAGTACAGGGAGCAGCTGGAAAAGTCCACCAAACCTTGTGGAGACCGCCATCC
AGTCCCTGGATGAGCCCGGAGGGGCTACCTTCTCTCAAGTGCCAAGCAGCTCATC
AAGAGCATTGTAGAAGCCTCCAAGGGCTGCCAGCTGGGGAAGACAGAGCAAGGCTT
TGAGAACATGGACTACTTTACTCTGGACTTAGAACACATAGCAGAGGCCTTGAGGG
CCATTGACTTTGGGACAGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGTTTACAGAAGAGGAG
GCTGATGAGGAAGAGGGCGTGACCACAGAGGGTAAAGAAGAACACCAATGAAGAAG
GAGATGAGTGAGACACGCTCTGGACGCAGAGACGGGGGAGGTGGGGGCAGGCCCAT
CTCGGGAGGGGGTTAGGGCTCCTTGGGGGGTACAATAGGGAAGTGTGTCTTCTCTC
TGCTCAGAGAGCAGGGACTAGCATAGGGCTCCCCACCACTGTGTCCAGCAGCTGCT
GAAACACAATTGGAAATGTATCCAAAACGTACAGGACACTTTTCTACGTTGGTGCTC
GAAATGAAATATTTTGTATGTTTTTAAAATGTGATTTTTTGTATATACTTGTATATGT
ATGCCAATTTGGTGCTTTTTTGTACGAGAACTTTTGTATGATCACGCCTGGTCATTGT
GTGACTGGCGATTGTACAAAGTGGGAAGGAAGCCAAGACAATAGAGATGCCTACT
TCCTTTCCTTGGTGGGAGGGCTGGGTCTCACTCGGTGGCCTAGAGAGGGGGCAATGT
ACTGTACAGTGCCCATCCCCAAACATGGGGATAGGACTGAATTTGTGTTATATGTT
GTTTTGCACAAGGGGCTGGGCCCTTGGGGCACACACCCTTTGATCCCAGCACTCTGG
AGGCAGAGGCAGTTGGATCTCTATGAGTTCAAGGCCAGCCTGGTCTACATGGAGAG
TTACAGGCCAGCCAGAGCTACATAGAGAGACTCTGCCTCAAAAATAAAAATGAAAA
AGAATAAAAAATAAACTCACAAATGCTCTTTTCTCTG(配列番号580)。

10

【0434】

20

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号579または配列番号580に記載のTRIM63配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号579または配列番号580に記載のTRIM63配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号579または配列番号580に記載のTRIM63配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号579または配列番号580に記載のTRIM63配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号579または配列番号580に記載のTRIM63配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号579または配列番号580に記載のTRIM63配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

30

【0435】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

40

【0436】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号581~628のいずれか1つを含むTRIM63配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号581~628のいずれか1つを含むTRIM63配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の

50

ヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号581~628のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0437】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号581~628のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

10

【0438】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号605~628のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖をさらに含む。

20

【0439】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号605~628のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)は、1以上の修飾ヌクレオシド(例えば、2'-修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、1以上の修飾ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される。

30

【0440】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号605~628のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖内の各ヌクレオシド、および/または(例えば、および)センス鎖内の各ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される2'-修飾ヌクレオシドである。

【0441】

いくつかの態様において、TRIM63標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号629~652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号605~628のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖内の各ヌクレオシド、およびセンス鎖内の各ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される2'-修飾ヌクレオシドであり、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)センス鎖は、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結をそれぞれ含む。いくつかの態様において、センス鎖は、いかなるホスホロチオアートヌクレオシド間連結も含まず(センス鎖内のあらゆるヌクレオシド間連結は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結である)、アンチセンス鎖は、1、2または3つのホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、2つのホスホロチオ

40

50

50

【表 2 3 - 2】

(配列番号 661)			
NM_032588.3 (配列番号 661)	138-156	AGAATGGATTATAAGTCGA	587
NM_032588.3 (配列番号 661)	157-175	GCCTGATCCAGGATGGGAA	588
NM_032588.3 (配列番号 661)	87-105	GAGCAAAGTTAGTAGAGGA	589
NM_032588.3 (配列番号 661)	574-592	GCAAGGTGTTTGGGATCCA	590
NM_032588.3 (配列番号 661)	748-766	ACCAGGTAAAGGAAGAGCT	591
NM_032588.3 (配列番号 661)	1386-1404	AGCAGACACTGAACCAGAA	592
NM_032588.3 (配列番号 661)	565-583	GCTCCATGTGCAAGGTGTT	593
NM_001039048.2 (配列番号 662)	1667-1685	AATTTGTGTTATATGTTGT	594
NM_001039048.2 (配列番号 662)	1662-1680	GA CTGAATTTGTGTTATAT	595
NM_001039048.2 (配列番号 662)	522-540	CCTACTTGCTCCTTG TGCA	596
NM_001039048.2 (配列番号 662)	469-487	GCAAGGAACACGAAGACGA	597
NM_001039048.2 (配列番号 662)	1009-1027	TTGAGAACATGGACTACTT	598
NM_001039048.2 (配列番号 662)	1660-1678	AGGACTGAATTTGTGTTAT	599
NM_001039048.2 (配列番号 662)	526-544	CTTGCTCCTTG TGCAAGGT	600
NM_001039048.2 (配列番号 662)	237-255	CGGAAGTGTGCCAACGACA	601
NM_001039048.2 (配列番号 662)	493-511	TCAACATCTACTGTCTCAC	602
NM_001039048.2 (配列番号 662)	952-970	TCAAGAGCATTGTAGAAGC	603
NM_001039048.2 (配列番号 662)	1447-1465	ACTTGTATATGTATGCCAA	604

* 標的配列は T を含有するが、RNA およびまたは DNA への結合が企図される。

【0 4 4 5】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 2 4 に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 2 4】

表 24. TRIM63 を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
UAUAUGUAUGCCAAUUUGGUG	605	CACCAAUUGGCAUACAUAUACA	629
UCAACAUCUACUGUCUCACGU	606	ACGUGAGACAGUAGAUGUUGAU U	630
UGUAUAUGUAUGCCAAUUUGG	607	CCAAAUUGGCAUACAUAUACAAG	631
UGAGUUUGUGUUUAUUGUUGU	608	ACAACAUAUAACACAAACUCAGU	632
GUAAAGGAACUUUUGUAUAAU	609	AUUUAUACAAAAGUCCUUUACAA	633
UUAUAUAAUGCACAAUGCUCU	610	AGAGCAUUGUGCAUUUAUUAAA A	634
ACAGAAUGGAUUUAUAGUCGA	611	UCGACUUAUAAUCCAUUCUGUGG	635
GAGCCUGAUCCAGGAUGGGAA	612	UUCCCAUCCUGGAUCAGGCUCGA	636
UAGAGCAAAGUUAGUAGAGGA	613	UCCUCUACUAACUUUGCUCUAAG	637
GUGCAAGGUGUUUGGGAUCCA	614	UGGAUCCCAAACACCUUGCACAU	638
UCACCAGGUAAAGGAAGAGCU	615	AGCUCUCCUUUACCUGGUGACU	639
CCAGCAGACACUGAACCAGAA	616	UUCUGGUUCAGUGUCUGCUGGAC	640
CUGCUCCAUGUGCAAGGUGUU	617	AACACCUUGCACAUGGAGCAGGU	641
UGAAUUUGUGUUUAUUGUUGU	618	ACAACAUAUAACACAAAUUCAGU	642
AGGACUGAAUUUGUGUUUAU	619	AUAUAACACAAAUUCAGUCCU	643
UGCCUACUUGCUCUUGUGCA	620	UGCACAAGGAGCAAGUAGGCACC	644
GUGCAAGGAACACGAAGACGA	621	UCGUCUUCGUGUCCUUGCACAU	645
CUUUGAGAACAUGGACUACUU	622	AAGUAGUCCAUGUUCUCAAGCC	646
AUAGGACUGAAUUUGUGUUAU	623	AUAACACAAAUUCAGUCCUAUCC	647
UACUUGCUCUUGUGCAAGGU	624	ACCUUGCACAAGGAGCAAGUAGG	648
GCCGGAAGUGUGCCAACGACA	625	UGUCGUUGGCACACUCCGGCAG	649
AAUCAACAUCUACUGUCUCAC	626	GUGAGACAGUAGAUGUUGAUUU U	650
CAUCAAGAGCAUUGUAGAAGC	627	GCUUCUACAAUGCUCUUGAUGAG	651
AUACUUGUAUAUGUAUGCCAA	628	UUGGCAUACAUAUACAAGUAU	652

【0 4 4 6】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 25 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 2 5 - 1】

表 25. TRIM63 を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA)	配列 番号	修飾ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA)	配列 番号

【表 2 5 - 2】

hsTRIM63-1	mUmAfUmAfUmGfUmAfU mGfCmCfAmAfUmUfUmGf GmUfG	605	fCfAmCfCmAfAmAfUmUfGmGf CmAfUmAfCmAfUmAfUmA*fC *mA	629
hsTRIM63-2	mUmCfAmAfCmAfUmCfUm AfCmUfGmUfCmUfCmAfC mGfU	606	fAfCmGfUmGfAmGfAmCfAmGf UmAfGmAfUmGfUmUfGmA*fU *mU	630
hsTRIM63-3	mUmGfUmAfUmAfUmGfU mAfUmGfCmCfAmAfUmUf UmGfG	607	fCfCmAfAmAfUmUfGmGfCmAf UmAfCmAfUmAfUmAfCmA*fA *mG	631
hsTRIM63-4	mUmGfAmGfUmUfUmGfU mGfUmUfAmUfAmUfGmUf UmGfU	608	fAfCmAfAmCfAmUfAmUfAmAf CmAfCmAfAmAfCmUfCmA*fG *mU	632
hsTRIM63-5	mGmUfAmAfAmGfGmAfA mCfUmUfUmUfGmUfAmUf AmAfU	609	fAfUmUfAmUfAmCfAmAfAmAf GmUfUmCfCmUfUmUfAmC*fA *mA	633
hsTRIM63-6	mUmUfAmAfUmAfAmAfU mGfCmAfCmAfAmUfGmCf UmCfU	610	fAfGmAfGmCfAmUfUmGfUmGf CmAfUmUfUmAfUmUfAmA*fA *mA	634
hsTRIM63-7	mAmCfAmGfAmAfUmGfG mAfUmUfAmUfAmAfGmUf CmGfA	611	fUfCmGfAmCfUmUfAmUfAmAf UmCfCmAfUmUfCmUfGmU*fG *mG	635
hsTRIM63-8	mGmAfGmCfCmUfGmAfUm CfCmAfGmGfAmUfGmGfG mAfA	612	fUfUmCfCmCfAmUfCmCfUmGf GmAfUmCfAmGfGmCfUmC*fG *mA	636
hsTRIM63-9	mUmAfGmAfGmCfAmAfA mGfUmUfAmGfUmAfGmAf GmGfA	613	fUfCmCfUmCfUmAfCmUfAmAf CmUfUmUfGmCfUmCfUmA*fA *mG	637
hsTRIM63-10	mGmUfGmCfAmAfGmGfU mGfUmUfUmGfGmGfAmUf CmCfA	614	fUfGmGfAmUfCmCfCmAfAmAf CmAfCmCfUmUfGmCfAmC*fA *mU	638
hsTRIM63-11	mUmCfAmCfCmAfGmGfUm AfAmAfGmGfAmAfGmAfG mCfU	615	fAfGmCfUmCfUmUfCmCfUmUf UmAfCmCfUmGfGmUfGmA*fC *mU	639
hsTRIM63-12	mCmCfAmGfCmAfGmAfCm AfCmUfGmAfAmCfCmAfG mAfA	616	fUfUmCfUmGfGmUfUmCfAmGf UmGfUmCfUmGfCmUfGmG*fA *mC	640
hsTRIM63-13	mCmUfGmCfUmCfCmAfUm GfUmGfCmAfAmGfGmUfG mUfU	617	fAfAmCfAmCfCmUfUmGfCmAf CmAfUmGfGmAfGmCfAmG*fG *mU	641
mmTRIM63-1	mUmGfAmAfUmUfUmGfU mGfUmUfAmUfAmUfGmUf UmGfU	618	fAfCmAfAmCfAmUfAmUfAmAf CmAfCmAfAmAfUmUfCmA*fG *mU	642
mmTRIM63-2	mAmGfGmAfCmUfGmAfA mUfUmUfGmUfGmUfUmAf UmAfU	619	fAfUmAfUmAfAmCfAmCfAmAf AmUfUmCfAmGfUmCfCmU*fA *mU	643
mmTRIM63-3	mUmGfCmCfUmAfCmUfUm GfCmUfCmCfUmUfGmUfG mCfA	620	fUfGmCfAmCfAmAfGmGfAmGf CmAfAmGfUmAfGmGfCmA*fC *mC	644
mmTRIM63-4	mGmUfGmCfAmAfGmGfA mAfCmAfCmGfAmAfGmAf CmGfA	621	fUfCmGfUmCfUmUfCmGfUmGf UmUfCmCfUmUfGmCfAmC*fA *mU	645
mmTRIM63-5	mCmUfUmUfGmAfGmAfA mCfAmUfGmGfAmCfUmAf CmUfU	622	fAfAmGfUmAfGmUfCmCfAmUf GmUfUmCfUmCfAmAfAmG*fC *mC	646
mmTRIM63-6	mAmUfAmGfGmAfCmUfG mAfAmUfUmUfGmUfGmUf UmAfU	623	fAfUmAfAmCfAmCfAmAfAmUf UmCfAmGfUmCfCmUfAmU*fC *mC	647
mmTRIM63-7	mUmAfCmUfUmGfCmUfCm CfUmUfGmUfGmCfAmAfG mGfU	624	fAfCmCfUmUfGmCfAmCfAmAf GmGfAmGfCmAfAmGfUmA*fG *mG	648

10

20

30

40

50

【表 25-3】

mmTRIM63-8	mGmCfCmGfGmAfAmGfUmGfUmGfCmCfAmAfCmGfAmCfA	625	fUfGmUfCmGfUmUfGmGfCmAfCmAfCmUfUmCfCmGfGmC*fA*mG	649
mmTRIM63-9	mAmAfUmCfAmAfCmAfUmCfUmAfCmUfGmUfCmUfCmAfC	626	fGfUmGfAmGfAmCfAmGfUmAfGmAfUmGfUmUfGmAfUmU*fU*mU	650
mmTRIM63-10	mCmAfUmCfAmAfGmAfGmCfAmUfUmGfUmAfGmAfAmGfC	627	fGfCmUfUmCfUmAfCmAfAmUfGmCfUmCfUmUfGmAfUmG*fA*mG	651
mmTRIM63-11	mAmUfAmCfUmUfGmUfAmUfAmUfGmCfCmAfA	628	fUfUmGfGmCfAmUfAmCfAmUfAmUfAmCfAmAfGmUfAmU*fA*mU	652

10

【0447】

h. MEF2Dオリゴヌクレオチド

MEF2Dを標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるLi et al., Am J Cancer Res.2019;9(5):887-905;Hu et al., Oncotarget.2017 Nov 3;8(54):92079-92089;Martis et al., BMC Cancer volume 18, Article number:1217(2018);Estrella et al., The Journal of Biological Chemistry, 290, 24367-24380, 2015;Ma et al., Cancer Res;74(5) March 1, 2014;およびSacilotto et al., Genes&Dev. October 15, 2016 vol.30 no.20 2297-2309に提供されている。

20

【0448】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトMEF2D配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:4209;NCBI参照番号:NM_005920.4):

GAGTTACCTTTGGAGCCCGAAAGGAGGAAGGAAGCAAAATATCAACAACAGCCGAG
GCGGCTCAGGCGCTCGGCCCCGGTTCCCCGCTTGCTGCCGCCCGCCTGCTGGCCC
CCGCGCCACGACGGGGGCCAGGCCCTCACGGCGCCGCCAGGGCCCGCGCGGACG
CCGGCCTCATTTATTATTCTCCCCGCCCGGAGCTGCGGCTTCCCGGTGTTGAAGATC
CCCCGGACCAGGGGCGAGGGCTACCCGCTCTTTGCCGTGACAACACCGTTCCCCCA
GCCGGGCTGGAGGCTGTGCAGAAGGTATCCTGCAGACCATGAAGTGAAGTGAAGT
CCAGACCGTTCATGAGCACAGTGTAAGGTGTGCCGAGACCCACCCAGCGAGCC
CCTCCCCTCCGTAGCACTGAGGACCCCCGGAGAAGATGGGGAGGAAAAAGATTGAG
ATCCAGCGAATCACCGACGAGCGGAACCGACAGGTGACTTTACCAAGCGGAAGTT
TGGCCTGATGAAGAAGGCGTATGAGCTGAGCGTGCTATGTGACTGCGAGATCGCAC
TCATCATCTTCAACCACTCCAACAAGCTGTTCCAGTACGCCAGCACCGACATGGAC
AAGGTGCTGCTCAAGTACACGGAGTACAATGAGCCACACGAGAGCCGCACCAACGC
CGACATCATCGAGACCCCTGAGGAAGAAGGGCTTCAACGGCTGCGACAGCCCCGAGC
CCGACGGGGAGGACTCGCTGGAACAGAGCCCCCTGCTGGAGGACAAGTACCGACGC
GCCAGCGAGGAGCTCGACGGGCTCTTCCGGCGCTATGGGTCAACTGTCCCGGCCCC
CAACTTTGCCATGCCTGTACGGTGCCCGTGTTCCAATCAGAGCTCACTGCAGTTCA
GCAATCCCAGCGGCTCCCTGGTCAACCCCTTCCCTGGTGACATCATCCCTCACGGAC
CCGCGGCTCCTGTCCCCCAGCAGCCAGCACTACAGAGGAACAGTGTGTCTCCTGG
CCTGCCCCAGCGGCCAGCTAGTGCGGGGGCCATGCTGGGGGGTGACCTGAACAGTG
CTAACGGAGCCTGCCCCAGCCCTGTTGGGAATGGCTACGTGAGTGTCTCGGGCTTCC
CCTGGCCTCCTCCCTGTGGCCAATGGCAACAGCCTAAACAAGGTCATCCCTGCCAA
GTCTCCACCCCCACCTACCCACAGCACCCAGCTTGGAGCCCCCAGCCGCAAGCCCG
ACCTGCGAGTCATCACTTCCCAGGCAGGAAAGGGGTTAATGCATCACTTGACTGAG
GACCATTTAGATCTGAACAATGCCAGCGCCTTGGGGTCTCCAGTCTACTCATTC
GCTCACCAACCCAGTGTTTCTGTGGCAACGCCGAGTTTACTCAGCCAGGGCCTCC

30

40

50

CCTTCTCTTCCATGCCCACTGCCTACAACACAGATTACCAGTTGACCAGTGACAGAG
CTCTCCTCCTTACCAGCCTTTAGTTACCTGGGGGGCTGTCGCTAGGCAATGTCACT
GCCTGGCAACAGCCACAGCAGCCCCAGCAGCCGCAGCAGCCACAGCCTCCACAGCA
GCAGCCACCGCAGCCACAGCAGCCACAGCCACAGCAGCCTCAGCAGCCGCAACAGC
CACCTCAGCAACAGTCCCACCTGGTCCCTGTATCTCTCAGCAACCTCATCCCCGGGC
AGCCCCCTGCCCCACGTGGGTGCTGCCCTCACAGTCACCACCCACCCCCACATCAG
CATCAAGTCAGAACC GGTTGCCCAAGCCGTGAGCGCAGCCCTGCGCCTCCCCCTC
CAGCTGTGTTCCAGCTGCCCGCCCTGAGCCTGGCGATGGTCTCAGCAGCCCAGCC
GGGGGATCCTATGAGACGGGAGACCGGGATGACGGACGGGGGGGACTTCGGGGCCAC
ACTGGGCCTGCTGCGCCCAGCCCCAGAGCCTGAGGGCTGAGGGCTCAGCTGTGAAGA
GGATGCGGGCTTGATACCTGGACATTAAAGTGACGATTCCCACTCCCCTCCTCTCAG
CCTCCCTGATGAAGAGTTGACAATCTCACCGCCCCGCCCTTCCCTGCCCCGGGCTCCT
CCCGCTCGACCCCCACTTCCTTTCTTGTGCTTCGTGTCTCTGTTGACGGTTACATTTG
TGTATAATTATTATATTATTATTATTATTATTATTTTTTTTTAATTTGGATTCTCG
CTTTGGAGAGGGGGATGCTCTCATCCCCTCTTTCTGTACCCCCACCATTTTCACTG
GCTGGGGGGCTCTCTTTTTTCGCGGGAAGGGGGGACACTTTGCACGTTGTACACATA
TGCTGCAGGAAGGGGGTGGGGGGGCCAATAAGGCCTTTGGGAAAGGACAGGTGCCG
AGCCCTGCATGTGGAGCCCTCCACCCCCACCCCCAGATAGAGGGAAATAACCAAAA
AACTACCAAACAACAGAAACCCACACTCTAGACTGAAACCCCAAAGTGGGCTTGAT
GGGTGGGTTTTGTGTTTCAAGGGGAAAGTGAGGCAGAGGTTCTGAAAAGGGTCTCTG
TTTTTGTGTTTCATGTAGCCATAGGCACATGGAGCAGAATACTTAAGCCTGGCCCCC
AAATGCCCCCTGCACACACACGTGCCACACCTGCGCTGATTCTTGTGTGTGCTGCAC
CCCCAAGGTGTGTGGGTGCTGGCTGAGCTTTGGGCCGGGAAGGCAGCCTGGGAATC
TGAGGCTGGAGACAGGGGTTTTGAGGTGGGGGCCTCTCTGGAAGCACATTTGGAGGG
AAAGACAAGAGAGCCATGAGGAGAGGGCTGAGGAGGGCAGAAGGGCTAGGCAGGG
GGCAAATTGAGCCCCCTCCCTTCCCCAGTTTTTCTCTAAGATATACAGTGCAATAGC
TCCCCACCCCTCAGTTGACGCCAGCCCTGTAAAGCTGGCCACAGTGTGCAGGGAGA
ATGGGGAGAGGGTCTTCAGTGAGGTGGCTGGGGCGAGAGTCGGCCTGGACTTCCCT
GGGGTGCTCCAGGCCAGAGCTCTTTCATTGGGGCGAGTGTGGTGAGGGGACGTCTCT
TGGTCTTGACGCACACTACCTGGGGGAGTCAACACTGGGATGGTCTGTGGGGTGG
GAGGGCCTACGGATGGGTCCGTAGAGGTCCACCTCCCTCATTCCTCCTTGGCCCC
TCTCCCTAGCTTCTCCTGTTAGCTCCTTCTGCTCCTGACCCACCTCCTTGCTCTTG
GCGCCCCCTATTGTCTCTGGCTACCTCCTTGTCCCACCACCTCCAGGCTGCATCCCAC
CTTCCCTCTTGGCTACTGTAATTGTAAATAGCGACCTTTGGAAAACGTTAGCGGTG
TAACAGTCCAGGAAACTGTTTTTTTTTGTGTTGTTGTTGTTGATTGATATGAAATGAGATT
CTATTTTTTGTCAAAGTATATTGTAATAATAATGACTCAAACGGCCCGTACTGTACA
GACGAGATTCTTCTGCTGTTGTTCTTGCTCCCCTCCCCTCCTCTGAGTCCGCCCCCTC
CCTGCTGCCTCCTCAGTGGGGCAGTGGGGCAAGGGGGCCAGGGGCAGCCGAAGCACG
GGGTCTGAGACCTCAGGCAGGATTGGAGATCAAACCAGAGGGGGCAGGCCCCCAG
CCTGCTCTCTAGGATACCCCCCGCCCTAAGGGGCCTGGCCTGGGGTGACGTGGCC
AGGCAGACTGTCTGCCCCACTCCTTCACACAAGCCCAGCTCCTCTGCCCCAAGGGGT
GCGGCGCCCCCTTGGGGTTTTCTCCAGTTGGAGAGTAGAGTTAAGACAAGGCCCA
GTTTTGTGTTAGCCGACCGTCTTTGCCACCTCTATGACCCAGCCTCTTGCAGTATT
CCCATACTTGATGCAGGGAAGGAACCAGAAGCAGAGGGGCCTCTACGCAGGTACAC
ACGTGTACCTGAGTGTGTTTCATGAGGGCATCTGGTGTGTTTATGTGTCTGAGTGTAGC
TTTGTATTTATGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTATGTCTGATTGCACGGGTGTACTTTTGTAT
TTATGTGTGTGTGTGGTTGCACGGGTGTGCCTCTGTGTGTCTCTGACCCTGGCTGG
GTGTGTGTGCAAATCTGTGTGACTGGAGCTCTAGGGGCATCTCTGTGTCTGAGTGT
GCCTGGTGTGTGTTTACAAAGGGAGAGTTGGCTGCTCCAGCTCCACAGCCCTGGGA
CCCCAACTCCTGTCTTCCCTGCTCCTTTCCCTGTGTTACCCCTCAGCTCTGACACAT

10

20

30

40

50

TGAACTGCAGTTGGGGGGATTGGCAGTTAGCCCTCTGTGCTTCTCCCTGCAGCCCT
ACCTCTGCCAAGGTCTCTCCCTCCAGGGACCTCTGCTTCCACCCACATATGTCCACT
TAGTCACCCACACTTGACACAGTTCCTGGAGTACCCTCTTCCCCCAACCCAGACC
TGCTTTCAGAGCAAACTCAAGTCCCTCTTCCCTCCGTGAAGCTTCTCCCTCAGCTGA
GCAGTGATCACTTACTCACTCTTAACCCCAATCCGCTGACTGGGTGGGGACAGCAC
GTCCAGCCTTCCACCTCTCCTGCAGGCTTCTAGACGGAGTTTCAAAAAGTATGA
GCCTCGATCCAGGGCTTGAAAGAAGCCAGGGTGTAACTTGTTCATGCATGCGTCC
CCAGAGCCTCGCCCAGTGCTTGGCACATAGTAGGCACTCAATAAATGCTGAATGGG
TGAATAGTTGAATGATAGGTGCTCAATAAATGAATGAATGGCCTTCCCTTCTCAGG
CTATTCCCACCATTAGTCTGCCACCTTTCTAGGCTGGGCTTGGCCACCATTAAACA
CGGGGTGGGGGTGAGGGCCCTGCAATTCACGGTGCAATATTCACCAGTTTTGCC
TCTGCCTCATAAAGGCCAAACCTGGCTTTTGATTACCATGTGTGGATGTTTCAGTGT
CCTTTCTTCTCTGTCCCTGGGGATGGGGTGGTCTGTGAATATGTGACATTTCTGCAG
TTCAGTATCCGAAGGTTTCTCTTGGGGGTAGGGGCTCCTGGGCGGCCAGATGAATG
GGTCCCTGGGAACCCAGACCTCAGATGAGGACTTAATGTCTTCTTCTCTCAAGCC
AAATTCGCCTCCACCCACTCCCTCTGAAGAACTGGGCATTTGCCAAAGTAACCACT
GGAGTCATCTAATGGCCCTCCCCCTCCCCAGGTTTCCCACAGCTTTCAGGGACAGT
GGGCAAGAGGACACCCCCCCCCACCACCTCAGTGGAAACACACCATTCTCCCCCCT
CAACAGCACACTCAGTGCAGCAAGACTGACCCCTGACCCCTCCCAGCCCTCCCTA
CCTTGGACAGGAAGGAAGTAATGCACCTTCTCTTGTGATTATTTATTTGTTTGGA
GAGACAGAAATGTAAAAGTGTATCTAGAAATATCTATATCTCTATATTTTTTAAC
TGACTCTTTGGAATCCCCTGGGGTGGGGTGAAGTTTAGGCTTTTCGCGGAG
GGGAGGAGACATGGAGCCTGGGAACTCCTTGTCTCTCCCTCTGCTGCCTCTCCCA
CCCCTTAAAGCAGTTGGTAGAAGGAATGGTATTTGTATGGGGGGAGGGAGGCTGGA
ATGGAGAATCTGGATTCTCTCCTCTTCCCCATTCTCCAGAGGGAGGGAGGTGGTGA
GGAAGAGGAAGGGAGGGGCGAGGATGGGCCATGGAGGTGCCCCACCCCCACACCTGA
CAATCACCCACACTCCTGGGGCTCTTCTTGGGTCCTGGGGCAGGGCGAGTCCAAGT
GTGAGGCTGTTGATTTGTTTTCAATATTTCTTTTCGTGCTGTATGGTGATGCTTTCT
TAGTATTCTACACAATAAGAAAAGACAAAGTCCTCGAGATTCTTATGAGTTTTGT
TGAAAAGTCTTTCACTATATTTGTTGTAAAGAGGTTTACTATTAAAAGAAAAGAA
TACACGTTTCTGATA(配列番号664)。

10

20

30

【0449】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトMEF2D配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:4209;NCBI参照番号:NM_001271629.2):

ATACCGTGTGCTCCCTTGGCAAGTCGGTTCCTGTCCCTTAAGCTGAGACTGCAGG
GCCTGCCCCCATTTGAGTTCTTAGGGTGCCTGGGGCCTGAGACCACCCCTGCCCT
AGGCCCAGCTTTCCTGGACTGCCTGCCCCACAAACCAACAGCCCGCCCCCAGGTC
CCCAGTCGAAGGTATCCTGCAGACCATGAACTGAGCACTGTTCCCAGACCGTTTCA
GAGCACAGTGTAAGGTGTGCCGAGACCCACCCAGCGAGCCCTCCCCTCCGTA
GCACTGAGGACCCCCGGAGAAGATGGGGAGGAAAAAGATTGAGATCCAGCGAATCA
CCGACGAGCGGAACCGACAGGTGACTTTCACCAAGCGGAAGTTTGGCCTGATGAAG
AAGGCGTATGAGCTGAGCGTGCTATGTGACTGCGAGATCGCACTCATCATCTTCAA
CACTCCAACAAGCTGTTCCAGTACGCCAGCACCGACATGGACAAGGTGCTGCTCA
AGTACACGGAGTACAATGAGCCACACGAGAGCCGACCAACGCCGACATCATCGAG
ACCCTGAGGAAGAAGGGCTTCAACGGCTGCGACAGCCCCGAGCCCGACGGGGAGGA
CTCGCTGGAACAGAGCCCCCTGCTGGAGGACAAGTACCGACGCGCCAGCGAGGAGC
TCGACGGGCTCTTCCGGCGCTATGGGTCAACTGTCCCGGCCCCCAACTTTGCCATG
CCTGTACGGTGCCCGTGTCCAATCAGAGCTCACTGCAGTTCAGCAATCCAGCGG
CTCCCTGGTCACCCCTTCCCTGGTGACATCATCCCTCACGGACCCGCGGCTCCTGTC

40

50

CCCCAGCAGCCAGCACTACAGAGGAACAGTGTGTCTCCTGGCCTGCCCCAGCGGC
CAGCTAGTGCGGGGGCCATGCTGGGGGGTGACCTGAACAGTGCTAACGGAGCCTGC
CCCAGCCCTGTTGGGAATGGCTACGTCAGTGCTCGGGCTTCCCCTGGCCTCCTCCCT
GTGGCCAATGGCAACAGCCTAAACAAGGTCATCCCTGCCAAGTCTCCACCCCCACC
TACCCACAGCACCCAGCTTGGAGCCCCCAGCCGCAAGCCCGACCTGCGAGTCATCA
CTTCCCAGGCAGGAAAGGGGTAAATGCATCACTTGAACAATGCCAGCGCCTTGGG
GTCTCCCAGTCTACTCATTGCTCACCACCCAGTGTTTCTGTGGCAACGCCGAGT
TACTCAGCCAGGGCCTCCCCTTCTCTTCCATGCCCACTGCCTACAACACAGATTAC
CAGTTGACCAGTGCGAGAGCTCTCCTCCTTACCAGCCTTTAGTTACCTGGGGGGCT
GTCGCTAGGCAATGTCACTGCCTGGCAACAGCCACAGCAGCCCCAGCAGCCGCAGC
AGCCACAGCCTCCACAGCAGCAGCCACCGCAGCCACAGCAGCCACAGCCACAGCAG
CCTCAGCAGCCGCAACAGCCACCTCAGCAACAGTCCACCTGGTCCCTGTATCTCT
CAGCAACCTCATCCCGGGCAGCCCCCTGCCCCACGTGGGTGCTGCCCTCACAGTCA
CCACCCACCCCCACATCAGCATCAAGTCAGAACCAGGTGTCCCCAAGCCGTGAGCGC
AGCCCTGCGCCTCCCCCTCCAGCTGTGTTCCAGCTGCCCGCCCTGAGCCTGGCGAT
GGTCTCAGCAGCCCAGCCGGGGGATCCTATGAGACGGGAGACCGGGATGACGGACG
GGGGGACTTCGGGCCCACACTGGGCCTGCTGCGCCCAGCCCCAGAGCCTGAGGCTG
AGGGCTCAGCTGTGAAGAGGATGCGGCTTGATACCTGGACATTAAAGTGACGATTC
CACTCCCCTCCTCTCAGCCTCCCTGATGAAGAGTTGACAATCTCACCGCCCGCCCT
TCCCTGCCCCGGGCTCCTCCCGCTCGACCCCCACTTCCTTTCTTGCTTCGTGTCC
TGTTGACGGTTACATTTGTGTATAATTATTATATTATTATTATTATTATATTTT
TTTTAATTTGGATTCTCGCTTTGGAGAGGGGGATGCTCTCATCCCCTCTTTCTGTAC
CCCCACCATTTTCACTGGCTGGGGGGCTCTCTTTTTCGCGGGAAGGGGGGACACT
TTGCACGTTGTACACATATGCTGCAGGAAGGGGGTGGGGGGCCCAATAAGGCCTTT
GGGAAAGGACAGGTGCCGAGCCCTGCATGTGGAGCCCTCCACCCACCCCCAGAT
AGAGGGAAATAACCAAAAACTACCAAAACAACAGAAACCCACACTCTAGACTGAAA
CCCCAAAGTGGGCTTGATGGGTGGGTTTGTGTTTCAAGGGGAAGTGAGGCAGAGG
TTCTGAAAAGGGTCTCTGTTTTTGTGTTTATGTAGCCATAGGCACATGGAGCAGAA
TACTTAAGCCTGGCCCCCAAATGCCCTGCACACACACGTGCCACACCTGCGCTGA
TTCTTGTTGTGTGCTGCACCCCCAAGGTGTGTGGGTGCTGGCTGAGCTTTGGGCCGG
GAAGGCAGCCTGGGAATCTGAGGCTGGAGACAGGGGTTTGGAGTGGGGGCCTCTCT
GGAAGCACATTTGGAGGGAAAGACAAGAGAGCCATGAGGAGAGGGCTGAGGAGGGC
AGAAGGGCTAGGCAGGGGGCAAATTGAGCCCTCCCTTCCCCAGTTTTTCTCTAAG
ATATACAGTGCAATAGCTCCCCACCCCTCAGTTGACGCCAGCCCTGTAAAGCTGGC
CACAGTGTCAGGGAGAATGGGGAGAGGGTCTTCAGTGAGGTGGCTGGGGCGAGAG
TCGGCCTGGACTTCCCTGGGGTGCTCCAGGCCAGAGCTCTTTCATTGGGGCGAGTG
TGGTGAGGGGACGTCCTTGGTCTTGACGCACACTACCTGGGGGAGTCAACACTGG
GATGGTCTGTGGGGTGGGAGGGCCTACGGATGGGTCCGTAGAGGTCCACCTCCCT
CATTCCTCCTTGGCCCCCTCTCCCTAGCTTCTCCTGTTAGCTCCTTCTGCTCCTGACC
CCACCTCCTTGCTCTTGGCGCCCCCTATTGTCTCTGGCTACCTCCTTGTCCCACCACC
TCCAGGCTGCATCCCACCTTCCCTCTTGGCTACTGTAATTGTAAATAGCGACCTTTG
GAAAACGTTAGCGGTGTAACAGTCCAGGAAACTGTTTTTTTTTGTGTTGTTGTAT
TGATATGAAATGAGATTCTATTTTTGTCAAAGTATATTGTAATAATAATGACTCAA
ACGGCCCGTACTGTACAGACGAGATTCTTCTGCTGTTGTTCTTGCTCCCCTCCCCTC
CTCTGAGTCCGCCCCCTCCCTGCTGCCTCCTCAGTGGGGCAGTGGGCAAGGGGCCCA
GGGGCAGCCGAAGCACGGGGTCTGAGACCTCAGGCAGGATTGGAGATCAAACCAG
AGGGGGCAGGCCCCCAGCCTGCTCTCTAGGATCACCCCCCGCCCTAAGGGGGCCTGG
CCTGGGGTGACGTGGCCAGGCAGACTGTCTGCCCCACTCCTTCACACAAGCCCAGC
TCCTCTGCCCAAGGGGTGCGGCGCCCCCTTGGGGTTTCTCCAGTTGGAGAGTAG
AGTTAAGACAAGGCCCAGTTTTGTGTTAGCCGACCGTCTTTGCCACCTCTATGAC

10

20

30

40

50

CCAGCCTCTTGCAGTATTCCCATACTTGATGCAGGGAAGGAACCAGAAGCAGAGGG
GCCTCTACGCAGGTACACACGTGTACCTGAGTGTGTTTCATGAGGGCATCTGGTGTT
TATGTGTCTGAGTGTAGCTTTGTATTTATGTGTGTGTGTGTGTGTATGTCTGATTGC
ACGGGTGTACTTTTGTATTTATGTGTGTGTGTGGTTGCACGGGTGTGCCTCTGTGTG
TCTCTGACCCTGGCTGGGTGTGTGTGCAAATCTGTGTGACTGGAGCTCTAGGGGCA
TCTCTGTGTCTGAGTGTGCCTGGTGTGTGTTTACAAAGGGAGAGTTGGCTGCTCCA
GCTCCACAGCCCTGGGACCCCAACTCCTGTCTTCCCTGCTCCTTTCCCTGTGTTTAC
CCTCAGCTCTGACACATTGAACTGCAGTTGGGGGGATTGGCAGTTAGCCCTCTGTG
CTTCTCCCTGCAGCCCTACCTCTGCCAAGGTCTCTCCCTCCAGGGACCTCTGCTTCC
ACCCACATATGTCCACTTAGTCAACCCACACTTGACACAGTTCCTGGAGTACCCTCTT
CCCCCAACCCAGACCTGCTTTTACAGAGCAAACTCAAGTCCCTCTTCCCTCCGTGAA
GCTTCTCCCTCAGCTGAGCAGTGATCACTTACTCACTCTTAACCCCAATCCGCTGAC
TGGGTGGGGACAGCACGTCCAGCCTTCCCACCTCTCCTGCAGGCTTCTAGACGGAG
TTTCAAAAACCTGATGAGCCTCGATCCAGGGCTTGAAAGAAGCCAGGGTGTAATCTT
GTTTCATGCATGCGTCCCCAGAGCCTCGCCAGTGCCCTGGCACATAGTAGGCACTCA
ATAAATGCTGAATGGGTGAATAGTTGAATGATAGGTGCTCAATAAATGAATGAATG
GCCTTCCCTTCTCAGGCTATTCCCACCATTAGTCTGCCACCTTTCTAGGCTGGGCT
TGGCCACCATTAACACGGGGTGGGGGTGAGGGCCCCTGCAATTCACGGTGCAATA
TTCACCAGTTTTTGCCTCTGCCTCATAAAGGCCAAACCTGGCTTTTGATTACCATGTG
TGGATGTTTCAGTGTCTTTCTTCTCTGTCCCTGGGGATGGGGTGGTCTGTGAATAT
GTGACATTTCTGCAGTTCAGTATCCGAAGGTTTCTCTTGGGGGTAGGGGCTCCTGG
GCGGCCAGATGAATGGGTCCCTGGGAACCCAGACCTCAGATGAGGACTTAATGTCT
TCTTCCCTCTCAAGCCAAATTGCGCTCCACCCACTCCCTCTGAAGAACTGGGCATTTG
CCAAAGTAACCACTGGAGTCATCTAATGGCCCTCCCCCTCCCCAGGTTTCCCACAG
CTTTCAGGGACAGTGGGCAAGAGGACACCCCCCCCCACCACCTCAGTGGAACACAC
CATTCTCCCCCCTCAACAGCACACTCAGTGCAGCAAGACTGACCCCTGACCCCT
CCCAGCCCTCCCTACCTTGGACAGGAAGGAAGTAATGCACCTTCTCTTGCTGATTA
TTTATTTGTTTGGAGAGACAGAAATGTAAAAGTGTATCTAGAAATATCTATATCTC
TATATATTTTTAACTGACTCTTTGGAATCCCCTGGGGTGGGGTGAGGGGTAAGTTT
AGGCTTTCGCGGAGGGGAGGAGACATGGAGCCTGGGAACCTCCTTGTTCTCCCTCT
GCTGCCTCTCCCCACCCCTTAAAGCAGTTGGTAGAAGGAATGGTATTTGTATGGGG
GGAGGGAGGCTGGAATGGAGAATCTGGATTCTCTCCTCTTCCCCATTCTCCAGAGG
GAGGGAGGTGGTGAGGAAGAGGAAGGGAGGGGCGAGGATGGGCCATGGAGGTGCCCC
ACCCCCACACCTGACAATCACCCACACTCCTGGGGCTCTTCCCTGGGTCCTGGGGCA
GGGCGAGTCCAAGTGTGAGGCTGTTGATTTGTTTTCAATATTTCTTTTCGTGCTGTA
TGGTGATGCTTTCTTAGTATTCTACACAATAAGAAAAGACAAAGTCCTCGAGATTC
TTATGAGTTTTGTTTGAAAACCTCTTTCACCTATATTTGTTGTAAAGAGGTTTACTATT
AAAAGAAAAAGAATACACGTTTCTGATA(配列番号665)

10

20

30

40

50

【0450】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスMEF2D配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:17261;NCBI参照番号:NM_001310587.1)

TGCGCGGTGCCTACGTCGGCCTCGAGTCTGGGGCTGGAGGAGTTGCCTTTGGAGCC
CGAAAGGAGGAAGGAAGCAAAATATCAACAACCGTCGAGGGCGGCTTGGGCGCTCGG
CTGCGTGCCTGCCGCCCGCCGCCGCCGCCCGCGCGCACCAAGGGGGTCCCGGCC
TGTGGCGCCGCCAGGCCGCGTGGACGCGGCGCCTTCGCTGTTTCCCGTCGGAGCT
GCGGCTTCGCGTAACCGAGGATTCGGCGGACCGGGCCGAGGCTCCGGGCGCCGTGA
CACCCCGTCCCCCCCACGGGCTGGAGGCTGTGCATAGGTGTTCTGCAGACCATGAA
CTGATCACTAGTCCCCAGACATTCATGAGCACAGTGTGAGGCTCCTGATCACCACC
CAGCAGCCCCCTTCTCTCTGGCACTAAGGACCCCCGGAGAAGATGGGGAGGAAAAA

GATTCAGATCCAGCGAATCACTGATGAACGGAACCGCCAGGTGACCTTCACCAAGC
GGAAGTTTGGACTGATGAAGAAGGCCTACGAGCTGAGTGTGCTGTGCGACTGCGAG
ATCGCGCTCATCATCTTCAACCACTCCAACAAGCTGTTCCAGTATGCCAGCACCGA
CATGGACAAGGTGCTGCTCAAGTACACCGAGTACAACGAGCCACACGAGAGCCGCA
CCAATGCTGACATCATCGAGACCCTGAGGAAGAAGGGTTTCAACGGCTGTGACAGC
CCAGAGCCGGATGGGGAGGACTCACTGGAGCAGAGCCCCCTGCTGGAGGACAAGTA
CCGGCGGGGCCAGTGAGGAGCTGGATGGGCTCTTCAGGCGCTATGGGTATCTGTTT
CGGCCCCCAACTTTGCCATGCCTGTACAGTGCCCGTGTCCAATCAGAGCTCCATG
CAGTTCAGCAATCCAAGTAGCTCTCTGGTCACTCCTTCCCTGGTGACATCATCCCTT
ACGGACCCACGGCTCCTGTCCCCCAGCAGCCAGCACTACAGAGAAACAGTGTTTC
TCCAGGCTTGCCCCAGCGGCCTGCTAGTGAGGAGCCATGCTGGGTGGAGACCTCA
ACAGTGCTAATGGAGCCTGCCCCAGCCCCGTTGGGAATGGCTATGTCAGTGCCCGA
GCTTCCCCTGGCCTCCTCCCTGTGGCCAATGGCAACAGCCTAAACAAAGTCATCCC
TGCCAAGTCTCCGCCCCCACCCACCCACAACACCCAGCTTGGAGCCCCCAGCCGCA
AGCCTGATCTGCGGGTCATCACTTCCCAGGGAGGCAAAGGGTTAATGCATCATTTG
ACTGAGGACCATTTAGATCTGAACAATGCCAGCGCCTTGGGGTCTCCCAGTCTAC
CCTCGCTCACCACCCAGTGTTTCCGTGGCAACACCAAGTTTACTCAGCCAGG
GCCTCCCCTTCTCCTCCATGCCCACTGCCTACAACACAGATTACCAGCTGCCCAGTG
CAGAGCTATCCTCCTTACCAGCCTTCAGTTCACCTGCAGGGCTGGCACTAGGCAAT
GTCACCGCCTGGCAGCAGCCCCAGCCGCCCCAGCAGCCACAACCGCCACAACCGCC
ACAGTCACAGCCACAGCCACCACAGCCACAGCCACAGCAGCCACCTCAGCAACAGC
CCCCTTGGTCCCCGTTTCTCTCAGCAACCTCATCCCTGGCAGCCCCCTTGCCTCAGC
TGGGTGCTGCTCTCACAGTCACTACCCACCCCCACATCAGCATCAAGTCAGAACCA
GTGTCCCCAAGTCGTGAACGCAGCCCTGCACCTCCTCCACCAGCTGTGTTCCCAGC
TGCCCGCCCTGAGCCTGGCGAAGGTCTCAGCAGCCAGCTGGAGGATCCTATGAGA
CCGGGGACCGGGATGATGGACGGGGGGACTTTGGGCCACACTAGGCCTGCTGCGC
CCAGCCCCAGAGCCTGAGGCTGAGGGCTCAGCTGTGAAGAGGATGCGGCTGGATAC
TTGGACATTAAAGTGATGGTTCCCACTCCCTCCTTTCAGCCTCCCTGATGAAGAGTT
GACAATCTCACCGCCCCACCCCTCCTTATCCTGGGCTCCTCCCGCTCGACCCCACTT
CCTTTCTTCTGCTCCATGTCCTGTTGATGGTTACATTTGTGTATAATTATATTATTA
TTATTGTTATTATTATTATTATATTTTTAAATTCTGAATTCTCGCTTTAGAGAGAGGG
ATGCTCTTGCCCCCTTTCTTGCCCCCACCATTTTCACTGATGGGGACTCTCTTTATTG
CGGGAAAGGGGGGACACTTTGCACGTTGTACACATATGCTGCAGGAAGGAGGGAGG
CGGTAGGCCTTGGAGAAGGACAGGTGCCGAGCCCTGCATGTGGAGCCCTCCCATCC
CATTCCCAGATAGACGTAAAGAACCAAAAACCTACCCAACAACAAAACCCAGATAGT
GGACTGAAACCCAAAGCTGGCTTGACGATGGGCTTGTGTCTCAGGGGATAGGAGGA
GGCAGTTTCTGCTTCTGGGCTGTTACGGCTAATACCCATCCTGGTCCCTCCAGCTT
CCTGCATACGTATCACACTCTCTGATCCTGTGTGTTACACCCAAGATCTGGGTGA
TAGAAAGGCTGCCTAGGAATCTGAGGCCAGGGAAGGGGCTTGAGGTTGGAATCTCT
AGAGATAACATGGAGAGAGACAGCTGTAGAAAGAGGGCTGATGAGGACAGAAGGAC
TGGGTGTGGTGAATTGGGACCCTACCCCCAGCTTTTCTTTGAGATGTACAGTGCA
ATAGCTCCCCGTCTTTAGCCTACCCCAATCCTAAAGAAAGCTGGCCATGTACTGG
GAGATTTGGGAGAGGACCTTCATTGAAGTGGCTCCAGGATGGGCCAGAGTCGTCTT
TTGGTTCCCTGGGGCACTGAGAGCAGGAGGCTTGTGAGGGGCAGGGTGAGGAGGGC
ACCTCTTGGCTTTGTGCACCTGTGTCCAGAAGAGTACTTACTGGGCACATGGAGGC
TCCTGTAGATGAGGCCCGGGCCCTTCCCCAGGCCTCTGAGCTCCTGCCCCTGACCC
ACCTCCCAGCTCTCTGCGTGCTCCTTGTCTCGCTACCTCCTGTCCCTCCACCTCCAG
GCCACATCCCAAACCTGCCCTCTTGCTACTGTAATTGTAAATAGAGACCTTTCAA
TGTTAGTGGTGTAAACCGTCCAGGAAACTGTTGTGTTTGTGTTGTTGTTGATTGATAT
GAAATGAGATTCTATTTTTGTCAAAGTATATTGTAATAATAATGACTCAAATGGCC

10

20

30

40

50

CGTACTGTACAGATGAGATTCTTCTGCTGTGTTCTTGCCTTCCTCTCCAGACTAATG
CTTTGTTGCCTCCTCAGTGGGGCTGCAGCAAGCACCAGGGGCAGTGGAAGAAGCAT
TGGGTCCTTGGACCTCTTGCTGGATCTGAGGTCAGACTGGAGGGAATAGTTTGCCC
CCTCCCCAGCCTGCTGTCAACACCCCTGCCCTTCCTCTGCTTCCCCACCTGGGGAAA
GGGGATGGGAGACAGCACACACTCCCTTGGAGTTCCTCCCAGCTGGAGGGGTAGAGT
TAGACAAGGCTCAGTGTTGTAGTACGATGGTCTTTGCCACCTGTGACCCAGCCTT
TTGTAGTATTTTGACACTTGATGCAGGGAAGGAGCCAGAAGCAGAGGGGTGTGAGC
ATGCTCGTGGAGGCGTATCTGGGTTCAACCTGTATTTATGTGTTTGTGTGCAGCTGT
GCGGATGTACCTTTGAGTGA CTCAAGCTCCAAGGGCCTCTGTGTGAGCTGGGTGTG
TTTACAAGGGATCAGCGCCTTCCAACCTCTGTGGCTTCACCCCTCCCCGGGCTGCTC
TCAGTCCCAAAACATTTTACTAAAGTCATGGGGGACGGGTGCTAGTTGGCCTTCCT
GTTTCTCCCCACAGCCTACCTCCACCAGGGCTTCACATTTGGAGCTCTGCCTCCATA
TGGCTGTCCACTAGCCCCACCCAGGCATGGTTTCATCCCTGGAGTTCTGACTTGTTTA
TGGAGCCAACTCAAGTTCTTCTTGCCCGGAGCTTTGCCTTTTGTAAGGCAGGGACC
CTCCCTTAACCAGAGTTTACCCAGTAGCTGACCAAGCATGGGGTGCTACCCACAT
GCCTCACCTTCCCACTCCTCCTCACAAAGTCCTGGAGGGAGTTTTAAGACTTGCTTAT
GGCCTTGAAAGAAGCCAGGGTTGTAGCCCTGTGCTCCCCTTGAAGTAGCTGGCACA
TTGTAGGCCCTCAGTAAATGCTGAATGGGTGGATGACAGGTGCTCAATAAATGTGG
ATTCACGGCCTCATCTCAGGCCCATCCTTCAAGGCTGAGCTTGGCCACCATTACAG
TTGTGGGTGAAGCCCCTATAGTTTACAGTGTGCTACTCAACAGTTTGCCATCTGCT
TCCCGAAAGCAAACCTGGCTTGTGATTGCCATGTACGGATGCGTGCATGCACTGTG
TGTGTGTGTGCGTGCGTGCTGTGTCTGTGTCTGCACACACACGTATGAGTTCTTG
TGTGTCTCTGTCCCTGACTGAAGGGGCAGTCTGTGAATGAGTATGTGACATTTCTG
CAGTTTAGTATCCCCAGGTTTCTCCTGGGGCTATGCAGGGGCTTCTGGCTGGCCAG
GTAAATGGATCCCTGGGAACCTAGACCTCAAATGGGGACTTATTTTCTTCCTCTCA
CAAGCCAAATTTGCCTACTCTCCACTCCCTATACAGAACTGGGTATTTGCCAAAGT
AGCCTCTGGCGTCATCCAGTGCCCTTCCCACCCAGGTTCCTCTGCTTTCAGGGAT
AGTGGGACCGAGGGCCACCCCCACATGCCTCAGTTTAGCACATTTCTCCATCCCC
AGCAGTGCATCCACCCACCTCCCCAACTCCAACAGGAAGGAAGAAAGAAATGCAC
CTTCTCTTGCTCGTTATTTATTTGTTTGGAGAGACAGAAATGATGGAAAAGTATCT
AAATCTATCTCTCTCTATTTTTACCTAACTCTCTGGAACCCCTGTGGGGGAATGT
AGGCTCTCCTAAGAGGCTGGGAGCTCCTTGTTCTACCCTGTCTGCCTCTACATAAG
CAGAAGGGGTGGGATGTAATGGGGCAGGAGGGCTGAGATTCCCAAGGAGAATCTGA
ATTCTCTACCCCCATTCAAGTCCCAGAAAGAGGGGAAGAAGGGAGGGATGGGCCAGC
CAAGAGCTGACCCGTCCCCAACTTGACAATCACCCACACTCCTGGCTCCTGGGTC
TGGGTGAGTCCAAGTGTGTGGCTGTTGTTTTGTTTTTATTATTTCTTTCCGTGCTGT
ACGGTGATGCTTTCTAGTATTCTGCACATTAAGAAAAGTCCTCGAGATTCTTACGA
GTTTGGTTTGAAAACCTTTTCACTATATTTGTTGTAAAGAGGTTTACTATTAAG
AAAAAAAAAAAAACATGTTTCTGATACCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAA(配列番号6
66)。

10

20

30

40

【0451】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスMEF2D配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:17261;NCBI参照番号:NM_133665.4)

TGCGCGGTGCCTACGTCGGCCTCGAGTCTGGGGCTGGAGGAGTTGCCTTTGGAGCC
CGAAAGGAGGAAGGAAGCAAAATATCAACAACCGTCGAGGCGGCTTGGGCGCTCGG
CTGCGTGCCTGCCGCCCCGCCGCCGCCCGCGCGCACCCAGGGGGTCCCGGCC
TGTGGCGCCGCCAGGCCGCGTGACGCGCGCCTTCGCTGTTTCCCGTCGGAGCT
GCGGCTTCGCGTAACCGAGGATTCGGCGGACCGGGCCGAGGCTCCGGGCGCCGTGA
CACCCCGTCCCCCCCCACGGGCTGGAGGCTGTGCATAGGTGTTCTGCAGACCATGAA

50

CTGATCACTAGTCCCCAGACATTTCATGAGCACAGTGTGAGGCTCCTGATCACCACC
CAGCAGCCCCCTTCCTCTCTGGCACTAAGGACCCCCGGAGAAGATGGGGAGGAAAAA
GATTCAGATCCAGCGAATCACTGATGAACGGAACCGCCAGGTGACCTTCACCAAGC
GGAAGTTTGGACTGATGAAGAAGGCCTACGAGCTGAGTGTGCTGTGCGACTGCGAG
ATCGCGCTCATCATCTTCAACCACTCCAACAAGCTGTTCCAGTATGCCAGCACCGA
CATGGACAAGGTGCTGCTCAAGTACACCGAGTACAACGAGCCACACGAGAGCCGCA
CCAATGCTGACATCATCGAGACCCTGAGGAAGAAGGGTTTCAACGGCTGTGACAGC
CCAGAGCCGGATGGGGAGGACTCACTGGAGCAGAGCCCCCTGCTGGAGGACAAGTA
CCGGCGGGCCAGTGAGGAGCTGGATGGGCTCTTCAGGCGCTATGGGTCTATCTGTTT
CGGCCCCCAACTTTGCCATGCCTGTACAGTGCCCGTGTCCAATCAGAGCTCCATG
CAGTTCAGCAATCCAAGTAGCTCTCTGGTCACTCCTTCCCTGGTGACATCATCCCTT
ACGGACCCACGGCTCCTGTCCCCCAGCAGCCAGCACTACAGAGAAACAGTGTTTC
TCCAGGCTTGCCCCAGCGGCCTGCTAGTGCAAGGAGCCATGCTGGGTGGAGACCTCA
ACAGTGCTAATGGAGCCTGCCCCAGCCCCGTTGGGAATGGCTATGTCAAGTGCCCGA
GCTTCCCCTGGCCTCCTCCCTGTGGCCAATGGCAACAGCCTAAACAAAGTCATCCC
TGCCAAGTCTCCGCCCCCACCACCCACAACACCAGCTTGGAGCCCCCAGCCGCA
AGCCTGATCTGCGGGTCACTCTCCAGGGAGGCAAAGGGTTAATGCATCATTTG
AACAATGCCCAGCGCCTTGGGGTCTCCCAGTCTACCCACTCGCTCACCACCCAGT
GGTTTCCGTGGCAACACCAAGTTTACTCAGCCAGGGCCTCCCCTTCTCCTCCATGCC
CACTGCCTACAACACAGATTACCAGCTGCCAGTGCAAGAGCTATCCTCCTTACCAG
CCTTCAGTTCACCTGCAGGGCTGGCACTAGGCAATGTCACCGCCTGGCAGCAGCCC
CAGCCGCCCCAGCAGCCACAACCGCCACAACCGCCACAGTCACAGCCACAGCCACC
ACAGCCACAGCCACAGCAGCCACCTCAGCAACAGCCCCACTTGGTCCCCGTTTCTC
TCAGCAACCTCATCCCTGGCAGCCCCCTTGCCTCACGTGGGTGCTGCTCTCACAGTC
ACTACCCACCCCCACATCAGCATCAAGTCAGAACCAGTGTCCCCAAGTCGTGAACG
CAGCCCTGCACCTCCTCCACCAGCTGTGTTCCAGCTGCCCGCCCTGAGCCTGGCG
AAGGTCTCAGCAGCCCAGCTGGAGGATCCTATGAGACCGGGGACCGGGATGATGGA
CGGGGGGACTTTGGGGCCCACTAGGCCTGCTGCGCCCAGCCCCAGAGCCTGAGGC
TGAGGGGCTCAGCTGTGAAGAGGATGCGGCTGGATACTTGGACATTAAAGTGATGGT
TCCCACTCCCTCCTTTAGCCTCCCTGATGAAGAGTTGACAATCTCACCGCCCCACCC
CCTCCTTATCCTGGGCTCCTCCCGCTCGACCCCACTTCTTTTCTTCTGCTCCATGTC
CTGTTGATGGTTACATTTGTGTATAATTATATTATTATTATTATTATTATTATT
ATATTTTTAAATTTCGAATTCTCGCTTTAGAGAGAGGGATGCTCTTGCCCCCTTTCTTG
CCCCACCATTTTCACTGATGGGGACTCTCTTTATTGCGGGAAAGGGGGGACACTT
TGCACGTTGTACACATATGCTGCAGGAAGGAGGGAGGCGGTAGGCCTTGGAGAAGG
ACAGGTGCCGAGCCCTGCATGTGGAGCCCTCCCATCCCATTCAGATAGACGTAA
AGAACCAAAACTACCCAACAACAAAACCCAGATAGTGGACTGAAACCCAAAGCTG
GCTTGACGATGGGCTTGTGTCTCAGGGGATAGGAGGAGGCAGTTTCTGCTTCTGGG
CTGTTACGGCTAATACCCATCCTGGTCCCTCCAGCTTCTGCTATACGATACACT
CTCTGATCCTGTGTGTACACCCCAAGATCTGGGTGATAGAAAGGCTGCCTAGGAA
TCTGAGGCCAGGGAAGGGGCTTGAAGTTGGAATCTCTAGAGATAACATGGAGAGAG
ACAGCTGTAGAAAGAGGGCTGATGAGGACAGAAGGACTGGGTGTGGTGAATTGGGA
CCCTACCCCCAGCTTTTCTTTGAGATGTACAGTGCAATAGCTCCCCGTCTTTAGC
CTACCCCAATCCTAAAGAAAGCTGGCCATGTACTGGGAGATTTGGGAGAGGACCTT
CATTGAAGTGGCTCCAGGATGGGCCAGAGTCGTCCTTTGGTTCCCTGGGGCACTGA
GAGCAGGAGGCTTGTGAGGGGCAGGGTGAGGAGGGCACCTCTTGGCTTTGTGCACC
TGTGTCCAGAAGAGTACTTACTGGGCACATGGAGGCTCCTGTAGATGAGGCCCGGG
CCCTTCCCCAGGCCTCTGAGCTCCTGCCCTGACCCACCTCCAGCTCTCTGCGTGC
TCCTTGTCTCGCTACCTCCTGTCCCTCCACCTCCAGGCCACATCCCAAACCTGCCCT
CTTGCTACTGTAATTGTAAATAGAGACCTTTCAAATGTTAGTGGTGTAACCGTCCA

10

20

30

40

50

GGAAACTGTTGTGTTTGTGTTGTTGTATTGATATGAAATGAGATTCTATTTTTGTCT
AAAGTATATTGTAATAATAATGACTCAAATGGCCCGTACTGTACAGATGAGATTCT
TCTGCTGTGTTCTTGCCTTCCTCTCCAGACTAATGCTTTGTTGCCTCCTCAGTGGGG
CTGCAGCAAGCACCCAGGGGCAGTGGGAAGAAGCATTGGGTCCCTGGACCTCTTGCTG
GATCTGAGGTCAGACTGGAGGGGAATAGTTTGGCCCCCTCCCCAGCCTGCTGTCACCA
CCCCTGCCCTTCCTCTGCTTCCCCACCTGGGGGAAAGGGGATGGGAGACAGCACACA
CTCCCTTGAGATTCTCTCCAGCTGGAGGGTAGAGTTAGACAAGGCTCAGTGTTGTA
GTACGATGGTCTTTGCCACCTGTGACCCAGCCTTTTGTAGTATTTTGACACTTGAT
GCAGGGAAGGAGCCAGAAGCAGAGGGGTGTGAGCATGCTCGTGGAGGCGTATCTGG
GTTACACCTGTATTTATGTGTTTGTGTGTCAGCTGTGCGGATGTACCTTTGAGTGACT
CAAGCTCCAAGGGCCTCTGTGTGAGCTGGGTGTGTTTACAAGGGATCAGCGCCTTC
CAACTCTGTGGCTTCACCCCCCTCCCCGGGCTGCTCTCAGTCCCAAACATTTTACTA
AAGTCATGGGGGACGGGTGCTAGTTGGCCTTCCTGTTTCTCCCCACAGCCTACCTC
CACCAGGGCTTCACATTTGGAGCTCTGCCTCCATATGGCTGTCCACTAGCCCCACC
CAGGCATGGTTCATCCCTGGAGTTCTGACTTGTTTATGGAGCCAACTCAAGTTCTT
CTTGCCCGGAGCTTTGCCCTTTTGTAAAGGCAGGGACCCTCCCTTAACCAGAGTTTAC
CCCAGTAGCTGACCAAGCATGGGGTGCTACCCACATGCCTCACCTTCCCACCTCCTC
CTCACAAGTCCTGGAGGGGAGTTTTAAGACTTGCTTATGGCCTTGAAAGAAGCCAGG
GTTGTAGCCCTGTGCTCCCCCTTGAAGTAGCTGGCACATTGTAGGCCCTCAGTAAAT
GCTGAATGGGTGGATGACAGGTGCTCAATAAATGTGGATTACGGCCTCATCTCAG
GCCCATCCTTCAAGGCTGAGCTTGGCCACCATTACAGTTGTGGGTGAAGCCCCTAT
AGTTCACAGTGTGCTACTCAACAGTTTGGCATCTGCTTCCCGAAAGCAAACCTGGC
TTGTGATTGCCATGTACGGATGCGTGCATGCACTGTGTGTGTGTGTGCGTGCGTGT
GCGTGTCTGTGTCTGCACACACACGTATGAGTTCTTGTGTGTCTCTGTCCCTGACTG
AAGGGGCAGTCTGTGAATGAGTATGTGACATTTCTGCAGTTTAGTATCCCCAGGTT
TCTCCTGGGGCTATGCAGGGGCTTCTGGCTGGCCAGGTAAATGGATCCCTGGGAAC
CTAGACCTCAAATGGGGACTTATTTTCTTCCTCTCACAAGCCAAATTTGCCTACTCT
CCACTCCCTATACAGAACTGGGTATTTGCCAAAGTAGCCTCTGGCGTCATCCAGTG
CCCTTCCCACCCAGGTTCCCTCTGCTTTTCAGGGATAGTGGGACCGAGGGGCCACCC
CCACATGCCTCAGTTTAGCACATTTCTCCATCCCCAGCAGTGCATCCACCCACCCT
CCCCAACTCCAACAGGAAGGAAGAAAGAAATGCACCTTCTCTTGCTCGTTATTTAT
TTGTTTGGAGAGACAGAAATGATGGAAAAGTATCTAAATCTATCTCTCTCTATT
TTTACCTAACTCTCTGGAACCCCTGTGGGGGAATGTAGGCTCTCCTAAGAGGCTGG
GAGCTCCTTGTTCTACCCTGTCTGCCTCTACATAAGCAGAAGGGGTGGGATGTAAT
GGGGCAGGAGGGCTGAGATTCCCAAGGAGAATCTGAATTCTCTACCCCCATTCAAG
TCCAGAAAGAGGGGAAGAAGGGAGGGATGGGCCAGCCAAGAGCTGACCCGTCCCCA
AACTTGACAATCACCCACACTCCTGGCTCCTGGGTCTGGGTGAGTCCAAGTGTGTG
GCTGTTGGTTTGTTCATTATTTCTTTCCGTGCTGTACGGTGATGCTTTCTAGTAT
TCTGCACATTAAGAAAAGTCCTCGAGATTCTTACGAGTTTGGTTTGAAGAACTCTTT
CACTATATTTGTTGTAAAGAGGTTTACTATTAAAGAAAAAAGAAAAAATGTTT
CTGATACCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA(配列番号667)

10

20

30

40

【0452】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれるMartin et al., Mol Cell Biol., Mar.1994, p.1647-1656に報告されているように、MEF2Dのアイソフォームに対する相補性領域を有し得る。

【0453】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号664～667のいずれか1つに記載のMEF2D配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号664～667のいずれか1つに記載のMEF2D配列に少なくとも80%

50

、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号664~667のいずれか1つに記載のMEF2D配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号664~667のいずれか1つに記載のMEF2D配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号664~667のいずれか1つに記載のMEF2D配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号664~667のいずれか1つに記載のMEF2D配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

10

【0454】

いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号716~223のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号716~223のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号716~223のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

20

【0455】

いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号668~715のいずれか1つを含むMEF2D配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号668~715のいずれか1つを含むMEF2D配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号668~715のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

30

【0456】

いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号668~715のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

40

【0457】

いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号716~223のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MEF2D標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号692~715のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖をさらに含む。

【0458】

50

【 0 4 5 9 】

10

20

30

【 0 4 6 2 】

40

【 0 4 6 3 】

50

【表 2 6 - 1】

表 26. MEF2D 標的配列

参照配列	参照配列の対応する ヌクレオチド	MEF2D 標的配列 (5'から 3')	配列番号
NM_005920.4 (配列番号 664)	445-463	TTCAGATCCAGCGAATCAC	668
NM_005920.4 (配列番号 664)	616-634	ACAAGGTGCTGCTCAAGTA	669
NM_005920.4 (配列番号 664)	1423-1441	CCTACAACACAGATTACCA	670
NM_005920.4 (配列番号 664)	2027-2045	ATGAAGAGTTGACAATCTC	671
NM_005920.4 (配列番号 664)	2280-2298	ACACTTGCACGTTGTACA	672
NM_005920.4 (配列番号 664)	2289-2307	ACGTTGTACACATATGCTG	673
NM_005920.4 (配列番号 664)	2355-2373	GCCGAGCCCTGCATGTGGA	674
NM_005920.4 (配列番号 664)	3385-3403	ATATTGTAATAATAATGAC	675
NM_005920.4 (配列番号 664)	3387-3406	ATTGTAATAATAATGACTC	676
NM_005920.4 (配列番号 664)	3349-3367	TATTGATATGAAATGAGAT	677
NM_005920.4 (配列番号 664)	3376-3394	TGTCAAAGTATATTGTAAT	678
NM_005920.4 (配列番号 664)	3375-3393	TTGTCAAAGTATATTGTAA	679
NM_005920.4 (配列番号 664)	3341-3359	TGTTGTTGTATTGATATGA	680
NM_005920.4 (配列番号 664)	1147-1165	GCAACAGCCTAAACAAGGT	681
NM_005920.4 (配列番号 664)	1428-1446	AACACAGATTACCAGTTGA	682
NM_005920.4 (配列番号 664)	2461-2479	TGGGCTTGATGGGTGGGTT	683
NM_005920.4 (配列番号 664)	2840-2858	CTAAGATATACAGTGCAAT	684

10

20

30

40

50

【表 2 6 - 2】

NM_005920.4 (配列番号 664)	2844-2862	GATATACAGTGCAATAGCT	685
NM_005920.4 (配列番号 664)	2924-2942	AGAGGGTCTTCAGTGAGGT	686
NM_005920.4 (配列番号 664)	613-625	CCGACATGGACAAGGTGCT	687
NM_133665.4 (配列番号 667)	894-912	ATGCAGTTCAGCAATCCAA	688
NM_133665.4 (配列番号 667)	902-920	CAGCAATCCAAGTAGCTCT	689
NM_001310587.1 (配列番号 666)	1377-1395	GCAACACCAAGTTTACTCA	690
NM_001310587.1 (配列番号 666)	1955-1973	GCTGGATACTTGGACATTA	691

* 標的配列は T を含有するが、RNA および/または DNA への結合が企図される。

【 0 4 6 4 】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 27 に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 27-1】

表 27. MEF2D を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
GAUUCAGAUCCAGCGAAUCAC	692	GUGAUUCGCGUGGAUCUGAAUCUU	716
GGACAAGGUGCUGCUCAAGUA	693	UACUUGAGCAGCACCUUGUCCA	717
UGCCUACAACACAGAUUACCA	694	UGGUAAUCUGUGUUGUAGGCAGU	718
UGAUGAAGAGUUGACAAUCUC	695	GAGAUUGUCAACUCUUAUCAGG	719
GGACACUUUGCACGUUGUACA	696	UGUACAACGUGCAAAGUGUCCCC	720
GCACGUUGUACACAUAUGCUG	697	CAGCAUAUGUGUACAACGUGCAA	721
GUGCCGAGCCUGCAUGUGGA	698	UCCACAUGCAGGGCUCGGCACCU	722
GUAUAUUGUAAUAAUAAUGAC	699	GUCAUUAUUAUACAAUAUACUU	723
AUAUUGUAAUAAUAAUGACUC	700	GAGUCAUUAUUAUACAAUAUAC	724
UGUAUUGAUUGAAAUGAGAU	701	AUCUCAUUUCAUAUCAAUACAAC	725
UUUGUCAAAAGUAUAAUGUAAU	702	AUUACAUAUACUUUGACAAAAA	726
UUUUGUCAAAAGUAUAAUGUAA	703	UUACAUAUACUUUGACAAAAAU	727
GUUGUUGUUGUAUUGAUUGA	704	UCAUAUCAUAUACAACAACAACA	728
UGGCAACAGCCUAAACAAGGU	705	ACCUUGUUUAGGCUGUUGCCA	729
ACAACACAGAUUACCAGUUGA	706	UCAACUGGUAAUCUGUGUUGUAG	730
AGUGGGCUUGAUGGGUGGGUU	707	AACCCACCCAUCAAGCCCACUUU	731
CUCUAAGAUUAACAGUGCAAU	708	AUUGCACUGUAUAUCUUAGAGAA	732
AAGAUUAACAGUGCAAUAGCU	709	AGCUAUUGCACUGUAUAUCUUAG	733

【表 27-2】

GGAGAGGGUCUUCAGUGAGGU	710	ACCUCACUGAAGACCCUCUCCCC	734
CACCGACAUGGACAAGGUGCU	711	AGCACCUUGUCCAUGUCGGUGCU	735
CCAUGCAGUUCAGCAAUCCAA	712	UUGGAUUGCUGAACUGCAUGGAG	736
UUCAGCAAUCCAAGUAGCUCU	713	AGAGCUACUUGGAUUGCUGAACU	737
UGGCAACACCAAGUUUACUCA	714	UGAGUAAACUUGGUGUUGCCACG	738
CGGCUGGAUACUUGGACAUUA	715	UAAUGUCCAAGUAUCCAGCCGCA	739

【0465】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 28 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオチド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 28 - 1】

表 28. MEF2D を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/ アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsMEF2D-1	mGmAfUmUfCmAfGmAfU mCfCmAfGmCfGmAfAmUf CmAfC	692	fGfUmGfAmUfUmCfGm CfUmGfGmAfUmCfUm GfAmAfUmC*fU*mU	716
hsMEF2D-2	mGmGfAmCfAmAfGmGfU mGfCmUfGmCfUmCfAmAf GmUfA	693	fUfAmCfUmUfGmAfGm CfAmGfCmAfCmCfUm UfGmUfCmC*fA*mU	717
hsMEF2D-3	mUmGfCmCfUmAfCmAfAm CfAmCfAmGfAmUfUmAfC mCfA	694	fUfGmGfUmAfAmUfCm UfGmUfGmUfUmGfUm AfGmGfCmA*fG*mU	718
hsMEF2D-4	mUmGfAmUfGmAfAmGfA mGfUmUfGmAfCmAfAmUf CmUfC	695	fGfAmGfAmUfUmGfUm CfAmAfCmUfCmUfUm CfAmUfCmA*fG*mG	719
hsMEF2D-5	mGmGfAmCfAmCfUmUfUm GfCmAfCmGfUmUfGmUfA mCfA	696	fUfGmUfAmCfAmAfCm GfUmGfCmAfAmAfGm UfGmUfCmC*fC*mC	720
hsMEF2D-6	mGmCfAmCfGmUfUmGfUm AfCmAfCmAfUmAfUmGfC mUfG	697	fCfAmGfCmAfUmAfUm GfUmGfUmAfCmAfAm CfGmUfGmC*fA*mA	721
hsMEF2D-7	mGmUfGmCfCmGfAmGfCm CfCmUfGmCfAmUfGmUfG mGfA	698	fUfCmCfAmCfAmUfGm CfAmGfGmGfCmUfCm GfGmCfAmC*fC*mU	722
hsMEF2D-8	mGmUfAmUfAmUfUmGfU mAfAmUfAmAfUmAfAmUf GmAfC	699	fGfUmCfAmUfUmAfUm UfAmUfUmAfCmAfAm UfAmUfAmC*fU*mU	723
hsMEF2D-9	mAmUfAmUfUmGfUmAfA mUfAmAfUmAfAmUfGmAf CmUfC	700	fGfAmGfUmCfAmUfUm AfUmUfAmUfUmAfCm AfAmUfAmU*fA*mC	724
hsMEF2D-10	mUmGfUmAfUmUfGmAfU mAfUmGfAmAfAmUfGmAf GmAfU	701	fAfUmCfUmCfAmUfUm UfCmAfUmAfUmCfAm AfUmAfCmA*fA*mC	725
hsMEF2D-11	mUmUfUmGfUmCfAmAfA mGfUmAfUmAfUmUfGmUf AmAfU	702	fAfUmUfAmCfAmAfUm AfUmAfCmUfUmUfGm AfCmAfAmA*fA*mA	726
hsMEF2D-12	mUmUfUmUfGmUfCmAfA mAfGmUfAmUfAmUfUmGf UmAfA	703	fUfUmAfCmAfAmUfAm UfAmCfUmUfUmGfAm CfAmAfAmA*fA*mU	727

10

20

30

40

50

【表 28-2】

hsMEF2D-13	mGmUfUmGfUmUfGmUfU mGfUmAfUmUfGmAfUmAf UmGfA	704	fUfCmAfUmAfUmCfAm AfUmAfCmAfAmCfAm AfCmAfAmC*fA*mA	728
hsMEF2D-14	mUmGfGmCfAmAfCmAfGm CfCmUfAmAfAmCfAmAfG mGfU	705	fAfCmCfUmUfGmUfUm UfAmGfGmCfUmGfUm UfGmCfCmA*fU*mU	729
hsMEF2D-15	mAmCfAmAfCmAfCmAfGm AfUmUfAmCfCmAfGmUfU mGfA	706	fUfCmAfAmCfUmGfGm UfAmAfUmCfUmGfUm GfUmUfGmU*fA*mG	730
hsMEF2D-16	mAmGfUmGfGmGfCmUfU mGfAmUfGmGfGmUfGmGf GmUfU	707	fAfAmCfCmCfAmCfCm CfAmUfCmAfAmGfCm CfCmAfCmU*fU*mU	731
hsMEF2D-17	mCmUfCmUfAmAfGmAfUm AfUmAfCmAfGmUfGmCfA mAfU	708	fAfUmUfGmCfAmCfUm GfUmAfUmAfUmCfUm UfAmGfAmG*fA*mA	732
hsMEF2D-18	mAmAfGmAfUmAfUmAfC mAfGmUfGmCfAmAfUmAf GmCfU	709	fAfGmCfUmAfUmUfGm CfAmCfUmGfUmAfUm AfUmCfUmU*fA*mG	733
hsMEF2D-19	mGmGfAmGfAmGfGmGfU mCfUmUfCmAfGmUfGmAf GmGfU	710	fAfCmCfUmCfAmCfUm GfAmAfGmAfCmCfCm UfCmUfCmC*fC*mC	734
mmMEF2D-1	mCmAfCmCfGmAfCmAfUm GfGmAfCmAfAmGfGmUfG mCfU	711	fAfGmCfAmCfCmUfUm GfUmCfCmAfUmGfUm CfGmGfUmG*fC*mU	735
mmMEF2D-2	mCmCfAmUfGmCfAmGfUm UfCmAfGmCfAmAfUmCfC mAfA	712	fUfUmGfGmAfUmUfGm CfUmGfAmAfCmUfGm CfAmUfGmG*fA*mG	736
mmMEF2D-3	mUmUfCmAfGmCfAmAfUm CfCmAfAmGfUmAfGmCfU mCfU	713	fAfGmAfGmCfUmAfCm UfUmGfGmAfUmUfGm CfUmGfAmA*fC*mU	737
mmMEF2D-4	mUmGfGmCfAmAfCmAfCm CfAmAfGmUfUmUfAmCfU mCfA	714	fUfGmAfGmUfAmAfAm CfUmUfGmGfUmGfUm UfGmCfCmA*fC*mG	738
mmMEF2D-5	mCmGfGmCfUmGfGmAfUm AfCmUfUmGfGmAfCmAfU mUfA	715	fUfAmAfUmGfUmCfCm AfAmGfUmAfUmCfCm AfGmCfCmG*fC*mA	739

10

20

30

【0466】

i. KLF15オリゴヌクレオチド

KLF15を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるSchoger, E. et al. “CRISPR-Mediated Activation of Endogenous Gene Expression in the Postnatal Heart.” Circ Res. 2019 Nov 15.; Jiang J. et al. “miR-190a-5p participates in the regulation of hypoxia-induced pulmonary hypertension by targeting KLF15 and can serve as a biomarker of diagnosis and prognosis in chronic obstructive pulmonary disease complicated with pulmonary hypertension.” Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2018 Nov 20;13:3777-3790.; Mamet, J. et al., “Intrathecal administration of AYX2 DNA-decoy produces a long-term pain treatment in rat models of chronic pain by inhibiting the KLF6, KLF9 and KLF15 transcription factors.” Mol Pain. 2017 Jan-Dec;13:1744806917727917.; Tang, Q. et al. “Absence of miR-223-3p ameliorates hypoxia-induced injury through repressing cardiomyocyte apoptosis and oxidative stress by targeting KLF15.” Eur J Pharmacol. 2018 Dec 15;841:67-74.; および Horie, T. et al., “MicroRNA-133 regulates the expression of GLUT4 by targeting KLF15 and is involved in metabolic control in cardiac myocytes.” Biochem Biophys Res Commun. 2009 Nov 13;389(2):315-20. に提供されている。

40

50

【0467】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトKLF15配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:28999;NCBI参照番号:NM_014079.4):

```
AGTGCTCCGCCGACGCGACCCGCGGGCCGGCGGGCGATCGAGCCAGCGCAGGACCC
GCGGCTCGGGCCCCCGGCCGCGCCGGACCGAGAGTCTAGCCGCCGCCCCAGCCCA
GCCCCGCCCGGCCGACGCGCCGGGGCCTGGCCGCCGGTCCGGCGTGCGCCAAGT
TCAGCCGCCACCGGCACGGCCAGGCCAGCATGGTGGACCACTTACTTCCAGTGGAC
GAGAACTTCTCGTCGCCAAAATGCCCAGTTGGGTATCTGGGTGATAGGCTGGTTGG
CCGGCGGGCATATCACATGCTGCCCTCACCCGTCTCTGAAGATGACAGCGATGCCT
CCAGCCCCCTGCTCCTGTTCCAGTCCCGACTCTCAAGCCCTCTGCTCCTGCTATGGTG
GAGGCCTGGGCACCGAGAGCCAGGACAGCATCTTGGACTTCCTATTGTCCCAGGCC
ACGCTGGGCAGTGGCGGGGGCAGCGGCAGTAGCATTGGGGCCAGCAGTGGCCCCGT
GGCCTGGGGGGCCCTGGCGAAGGGCAGCGGCCCTGTGAAGGGGGAGCATTTCTGCT
TGCCCGAGTTTCTTTGGGTGATCCTGATGACGTCCACGGCCCTTCCAGCCTACCC
TGGAGGAGATTGAAGAGTTTCTGGAGGAGAACATGGAGCCTGGAGTCAAGGAGGTC
CCTGAGGGCAACAGCAAGGACTTGGATGCCTGCAGCCAGCTCTCAGCTGGGGCCACA
CAAGAGCCACCTCCATCCTGGGTCCAGCGGGAGAGAGCGCTGTTCCCTCCACCAG
GTGGTGCCAGTGCAGGAGGTGCCCAGGGCCCAGGTGGGGGGCCCCACGCCTGATGGC
CCCATCCCAGTGTTGCTGCAGATCCAGCCCGTGCTGTGAAGCAGGAATCGGGCAC
AGGGCCTGCCTCCCCTGGGCAAGCCCCAGAGAATGTCAAGGTTGCCCAGCTCCTGG
TCAACATCCAGGGGCAGACCTTCGCACTCGTGCCCCAGGTGGTACCCTCCTCCAAC
TTGAACCTGCCCTCCAAGTTTGTGCGCATTGCCCTGTGCCCATTTGCCGCCAAGCCT
GTTGGATCGGGACCCCTGGGGCCTGGCCCTGCCGGTCTCCTCATGGGCCAGAAGTT
CCCCAAGAACCAGCCGCAGAACTCATCAAAATGCACAAATGTACTTTCCCTGGCT
GCAGCAAGATGTACACCAAAAGCAGCCACCTCAAGGCCACCTGCGCCGGCACACG
GGTGAGAAGCCCTTCGCCTGCACCTGGCCAGGCTGCGGCTGGAGGTTCTCGCGCTC
TGACGAGCTGTGCGGGCACAGGCGCTCGCACTCAGGTGTGAAGCCGTACCAGTGTC
CTGTGTGCGAGAAGAAGTTTCGCGCGGAGCGACCACCTCTCCAAGCACATCAAGGTG
CACCGCTTCCCGCGGAGCAGCCGCTCCGTGCGCTCCGTGAACTGAAAGCGCCCTGA
ACCCAGCCTGTCCGTACCCCGGATCCCCACCCCATCCCCATTTTTTTAAGCAATA
ATTTATTTGCCTCCTCCAGAGGGACATGGCAATGTTACCAGCCCACCTTCTGAAGC
CTGGGAGGTGTGAACCCAGGGCCCCGCCAACCGCTGCCTTTCTCGGGAGTACTTAGA
GCCTCGAACC CGCGTCCCTGGGGGCTGGGGCCCCAGGCGCACGGGGCTGGAGGCAGG
CCTTCGTGCCTTCGTGCCTTCCCGCGGTGGCCAGGCCTCTGCTGCAGCC
GCTGGTTGCAGGCAGAGTTTTGGGGACCTGGCCCTTCTCCCACTGGGCTCCCCCAT
CCTGGGCCAAGGCCAGAACTTTAGTGCTAGGGGAAGATGAAATGTGCAGTTTTGAA
ATGTTGGGTTTCCAGAGAGAGTCATGCTGGAGGAGAAGGAAGTAGGCCAGAAGTCC
AGGGCTGCACTGTGGTGTGAGGGTGGCTTTGTCTAAGATGCCTGCTCAGCATGATC
ACCAGAGGGTGTGGGCAGGTCCCTGGAGCCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
GCAGGACCGGGCCGCTGGGCCCTCATGTGGGAGAGAGGTGAAAAGCGTCCCCCACT
AGGGGGCTGGCAGTGCATGTGCTTGAGTTAAATGTGCAGGGCAGACAGAGCCAGAA
GGGCCTGTACCCAGGGGCTCGTCCCCTCCTCCGGTTTCCAGACAAATCCAGACAC
CAGCCTTTAGGGTGGCCTTGGGAGGAGAGGGCCAGGCTGTCCTGGGTGTGAGAGAA
CTAGATAGAGCCTCCCAACCCTGATTTAGAAATGCATTCTTATTTTGTCTAGAAA
TTAATAAATGAACTAGCTTGTTTTGACAGGTTTATTTACATCCTATGAATGTATGT
AAATAAAGTGTACATAGGTCCATCCACATAAAATATCTTTTAATAACATATCAACA
TTTGTGTAAATTTGAAATTTAAAAAAATCTATGAAGCTGGTGTACATATGTTACAA
TTACGTATATTTTCTTTGGTCCTTCATAAAAATATATTTTACTTTGCCAATAAAAAGA
AAAAGAACTCACA(配列番号740)
```

10

20

30

40

50

【0468】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、マウスKLF15配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID:66277;NCBI参照番号:NM_023184.4)

GTGAGCGGCCGGAGAGCGGGGAGAGCGGCGAGCGGCGAGCGCCCAGCTCGGCCGCA
GGGAGTGCGGGCTGCGGCCAGGAGCGCTGGACGCGCGGCCGCATACGGAGCCGGGC
CGCACGCGCGAGGCCGCGCCAGGCGACGCGGAGTCCAGTCACCACAGGCTCGGCCA
GGCCAGCATGGTGGACCACCTGCTTCCAGTGGACGAGACCTTCTCGTCACCGAAAT
GCTCAGTGGGTTACCTAGGGGACAGGCTGGCCAGCCGGCAGCCATACCACATGTTG
CCCTCGCCCATCTCGGAGGATGACAGCGATGTCTCCAGCCCCCTGCTCTTGTGCCAG
CCCTGACTCGCAAGCCTTCTGTTCTGCTACAGTGGGGTCCAGGCCCTGAGGCC
AGGGCAGCATCTTGATTTCCTCCTGTCCCGGGCCACACTGGGCAGTGGTGGTGGC
AGTGGAGGTATTGGAGATAGCAGTGGCCCTGTGACCTGGGGATCATGGAGGAGAGC
CTCTGTGCCTGTGAAGGAGGAACATTTCTGCTTCCCTGAATTTCTGTGAGGGGACA
CTGATGACGTCTCCAGGCCCTTCCAGCCTACCCTGGAGGAGATTGAAGAATTCCTG
GAAGAGAACATGGAGGCTGAGGTCAAGGAGGCCCCAGAGAACGGTAGCAGGGACCT
GGAGACCTGTAGCCAGCTCTCAGCTGGGTACACCCGGAGCCACCTTCATCCAGAGT
CTGCTGGGAGAGAGCGCTGTACCCACCCAGGTGGCACGAGTGGGGGTGGTGGC
CAAAGTGCAGGTGAGGGGCCAGCACATGATGGCCCCGTGCCGGTGTACTGCAGAT
CCAGCCTGTTGCTGTGAAGCAGGAGGCAGGTACAGGGCCAGCCTCCCCAGGGCAGG
CCCCAGAGAGCGTCAAGGTCGCCAGCTTCTAGTCAACATCCAGGGGCAGACCTTT
GCACTCCTGCCTCAAGTGGTACCATCCTCCAACCTGAACCTGCCCTCAAAGTTTGT
GCGAATTGCGCCTGTGCCCATTTGCCGCCAAACCTATTGGCTCAGGATCCCTAGGGC
CCGGCCCTGCTGGCCTCCTTGTGGGCCAGAAAGTTTCCCAAGAACCCAGCAGCAGAA
CTTCTCAAATGCACAAATGCACTTTCCAGGCTGCAGCAAGATGTACACCAAGAG
CAGCCACCTCAAGGCCACCTGCGTCGGCACACAGGCGAGAAGCCCTTTGCCTGCA
CCTGGCCAGGCTGCGGCTGGAGGTTTTCCCGCTCAGATGAGTTGTCAAGGCACCGG
CGATCTCACTCGGGTGTGAAGCCGTACCAGTGTCCCGTGTGCGAGAAGAAATTCGC
GCGGAGTGACCACCTCTCAAACACATCAAAGTGCATCGCTTCCCACGAAGCAGCC
GCGCAGTACGCGCCATCAACTGAGCGCAGTGGCCGCCCTTCCCTCCCCAGCTCCA
CGTTTTGTTTTTAAATGCAATAACTTATTGCCTCTTTTCAGAAGGATGTGACAATAT
TACCAGCCCCCTCCCCCTTCTGAATCTTAGGAGGTATGACCCAGAGCCACCATGGC
TGCCTTTCTGGGGAAGACCTAGAGTCCCTATGGTCCCTGGGGGCTGGTTCCCCGGT
GGCCCAGGTGGCCCAGGCAGGCCTGTGCCCTTGTGCCTTTGTGCCTTCCTGCCAGC
TGGAAGCAGTGTTTGGGGGGCCCTTGCCCTCTTCCCACTGGGCTCCCTACCTGGGC
CAAAGTCAACATCATTGCTGGGGAAGAAAGTGTTTTGGCTGTGTCAAATAGTAGCT
CCCAGAGGAAGCAAGCCATGCTGGGAAAAAGGAAGTGGGTCAAAAAAGCGTAGGGC
TGCACTGTGATGTGAGGACCGCCATATGCAAGAGGCCTTTGAGGGTCCAGGAGGAT
GGCCACCCTCGCTCTAGGCCGTAATGCATGTGCTTAAATGCAAGACAAATGGAGCC
ATAGCCAGCCGTACCCAGCCTGGCTCACCTCCTCCAGACACCAGACACCAGCCTC
CTGGTTGTGGTGAGAGGAGAAGGGAAACAGGTCTGGTGGATGCCAAGCAACTAGTTA
GTGCCTCCAGTCTGACCTAGATTTGCATTCTCATCAGGACTAGAAATTAGTACC
AATTGAACTAGCTTTGTTTTGACAGGTCTATTTACATCCTATGAATGTATGTAAAT
AACTGTACATAGGTACGCATCTACATAAAATATCTTTTAATAACAGTTGACATT
TGTGTAAATTTGAAATTTAAAAAAATTTCTATAAAGTTGGTGTACATATGTTACAAT
TATGTATATTTTCTTTGGTCCTTCATAAAAAATATATTTACTTTGCCAATAAAAAAGA
GGAAAAAAAAGAACTC(配列番号741)

【0469】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号740または配列番号741に記載のKLF15配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌク

10

20

30

40

50

レオチドは、配列番号740または配列番号741に記載のKLF15配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号740または配列番号741に記載のKLF15配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号740または配列番号741に記載のKLF15配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号740または配列番号741に記載のKLF15配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号740または配列番号741に記載のKLF15配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

10

【0470】

いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号790~813のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号790~813のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号790~813のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

20

【0471】

いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号742~789のいずれか1つを含むKLF15配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号742~789のいずれか1つを含むKLF15配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号742~789のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

30

【0472】

いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号742~789のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

40

【0473】

いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号790~813のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、KLF15標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号766~789のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖をさらに含む。

50

【 0 4 7 5 】

10

20

30

【 0 4 7 8 】

40

【 0 4 7 9 】

50

オリゴヌクレオチドは、表 31 に列挙される siRNA から選択される siRNA である。

【表 29 - 1】

表 29. KLF15 標的配列

参照配列	参照配列の対応する ヌクレオチド	KLF15 標的配列 (5'から 3')	配列 番号
NM_014079.4 (配列番号 740)	1180-1199	GCAGCAAGATGTACACCAA	742
NM_014079.4 (配列番号 740)	2350-2369	AATGTATGTAAATAAACTG	743
NM_014079.4 (配列番号 740)	2352-2371	TGTATGTAAATAAACTGTA	744
NM_014079.4 (配列番号 740)	2354-2372	TATGTAAATAAACTGTACA	745
NM_014079.4 (配列番号 740)	2358-2377	TAAATAAACTGTACATAGG	746
NM_014079.4 (配列番号 740)	2476-2495	TATATTTTCTTTGGTCCTT	747
NM_014079.4 (配列番号 740)	2503-2522	TATATTTACTTTGCCAATA	748
NM_014079.4 (配列番号 740)	240-259	CCAAAATGCCCAGTTGGGT	749
NM_014079.4 (配列番号 740)	619-638	TGGAGGAGATTGAAGAGTT	750
NM_014079.4 (配列番号 740)	1511-1530	GCAATAATTTATTTGCCTC	751
NM_014079.4 (配列番号 740)	2379-2398	CATCCACATAAAATATCTT	752
NM_014079.4 (配列番号 740)	688-707	GCAAGGACTTGGATGCCTG	753
NM_014079.4 (配列番号 740)	1340-1359	CCAGTGTCTGTGTGCGAG	754
NM_014079.4 (配列番号 740)	1615-1634	CGGGAGTACTTAGAGCCTC	755
NM_014079.4 (配列番号 740)	2330-2349	GGTTTATTTACATCCTAT	756
NM_023184.4 (配列番号 741)	1532-1551	TCTGAATCTTAGGAGGTAT	757

10

20

30

40

50

【表 2 9 - 2】

NM_023184.4 (配列番号 741)	2204-2223	CATCTACATAAAATATCTT	758
NM_023184.4 (配列番号 741)	1160-1179	AAGATGTACACCAAGAGCA	759
NM_023184.4 (配列番号 741)	997-1016	CTCAAAGTTTGTGCGAATT	760
NM_023184.4 (配列番号 741)	2118-2137	GAAATTAGTACCAATTGAA	761
NM_023184.4 (配列番号 741)	393-412	AGGGCAGCATCTTGGATTT	762
NM_023184.4 (配列番号 741)	2231-2250	ACGTTGACATTTGTGTAAA	763
NM_023184.4 (配列番号 741)	2120-2139	AATTAGTACCAATTGAACT	764
NM_023184.4 (配列番号 741)	263-282	CAGCCATACCACATGTTGC	765

* 標的配列は T を含有するが、RNA およびまたは DNA への結合が企図される。

【 0 4 8 0 】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 30 に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 30-1】

表 30. KLF15 を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
CUGCAGCAAGAUGUACACCAA	766	UUGGUGUACAUCUUGCUGCAGCC	790
UGAAUGUAUGUAAAUAACUG	767	CAGUUUAUUUACAUACAUUCAUA	791
AAUGUAUGUAAAUAACUGUA	768	UACAGUUUAUUUACAUACAUUCA	792
UGUAUGUAAAUAACUGUACA	769	UGUACAGUUUAUUUACAUACAUU	793
UGUAAAUAACUGUACAUAGG	770	CCUAUGUACAGUUUAUUUACAUUA	794
CGUAUAUUUUCUUUGGUCCUU	771	AAGGACCAAAGAAAAUAUACGUA	795
AAUAUAUUUACUUUGCCAAUA	772	UAUUGGCAAAGUAAAUAUAUUUU	796
CGCCAAAUGCCCAGUUGGGU	773	ACCCAACUGGGCAUUUUGGCGAC	797
CCUGGAGGAGAUUGAAGAGUU	774	AACUCUCAAUCUCCUCCAGGGU	798
AAGCAAUAUUUAUUUGCCUC	775	GAGGCAAUAAAUAUUGCUUAA	799
UCCAUCCACAUAUUUAUCUU	776	AAGAUUUUUUAUGUGGAUGGACC	800
CAGCAAGGACUUGGAUGCCUG	777	CAGGCAUCCAAGUCCUUGCUGUU	801
UACCAGUGUCCUGUGUGCGAG	778	CUCGCACACAGGACACUGGUACG	802
CUCGGGAGUACUUAGAGCCUC	779	GAGGCUCUAAGUACUCCCGAGAA	803
CAGGUUUUAUUUCACAUCUAU	780	AUAGGAUGUGAAAUAACCUGUC	804
CUUCUGAAUCUUAGGAGGUAU	781	AUACCUCCUAAGAUAUCAGAAGGG	805

【表 30-2】

CGCAUCUACAUAUUUAUCUU	782	AAGAUUUUUUAUGUAGAUGCGUA	806
GCAAGAUGUACACCAAGAGCA	783	UGCUCUUGGUGUACAUCUUGCUG	807
CCCUCAAAGUUUGUGCGAAUU	784	AAUUCGCACAAACUUUGAGGGCA	808
UAGAAAUUAGUACCAAUUGAA	785	UUCAAUUGGUACUAAUUUCUAGU	809
CCAGGGCAGCAUCUUGGAUUU	786	AAAUCCAAGAUGCUGCCUGGGC	810
ACACGUUGACAUUUUGUGUAAA	787	UUUACACAAAUGUCAACGUGUUA	811
GAAAUUAGUACCAAUUGAACU	788	AGUUCAAUUGGUACUAAUUUCUA	812
GGCAGCCAUAACCACAUGUUGC	789	GCAACAUGUGGUAUGGCUGCCGG	813

【0481】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 31 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1】

表 31. KLF15 を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/ アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsKLF15-1	mCmUfGmCfAmGfCmAfAm GfAmUfGmUfAmCfAmCfC mAfA	766	fUfUmGfGmUfGmUfAmCfAm UfCmUfUmGfCmUfGmCfAmG *fC*mC	790
hsKLF15-2	mUmGfAmAfUmGfUmAfU mGfUmAfAmAfUmAfAmAf CmUfG	767	fCfAmGfUmUfUmAfUmUfUm AfCmAfUmAfCmAfUmUfCmA *fU*mA	791
hsKLF15-3	mAmAfUmGfUmAfUmGfU mAfAmAfUmAfAmAfCmUf GmUfA	768	fUfAmCfAmGfUmUfUmAfUm UfUmAfCmAfUmAfCmAfUmU *fC*mA	792
hsKLF15-4	mUmGfUmAfUmGfUmAfA mAfUmAfAmAfCmUfGmUf AmCfA	769	fUfGmUfAmCfAmGfUmUfUm AfUmUfUmAfCmAfUmAfCmA *fU*mU	793
hsKLF15-5	mUmGfUmAfAmAfUmAfA mAfCmUfGmUfAmCfAmUf AmGfG	770	fCfCmUfAmUfGmUfAmCfAmG fUmUfUmAfUmUfUmAfCmA*f U*mA	794
hsKLF15-6	mCmGfUmAfUmAfUmUfU mUfCmUfUmUfGmGfUmCf CmUfU	771	fAfAmGfGmAfCmCfAmAfAmG fAmAfAmAfUmAfUmAfCmG*f U*mA	795
hsKLF15-7	mAmAfUmAfUmAfUmUfU mAfCmUfUmUfGmCfCmAf AmUfA	772	fUfAmUfUmGfGmCfAmAfAm GfUmAfAmAfUmAfUmAfUmU *fU*mU	796
hsKLF15-8	mCmGfCmCfAmAfAmAfUm GfCmCfCmAfGmUfUmGfG mGfU	773	fAfCmCfCmAfAmCfUmGfGmG fCmAfUmUfUmUfGmGfCmG*f A*mC	797
hsKLF15-9	mCmCfUmGfGmAfGmGfAm GfAmUfUmGfAmAfGmAfG mUfU	774	fAfAmCfUmCfUmUfCmAfAmU fCmUfCmCfUmCfCmAfGmG*f G*mU	798
hsKLF15-10	mAmAfGmCfAmAfUmAfA mUfUmUfAmUfUmUfGmCf CmUfC	775	fGfAmGfGmCfAmAfAmUfAm AfAmUfUmAfUmUfGmCfUmU *fA*mA	799
hsKLF15-11	mUmCfCmAfUmCfCmAfCm AfUmAfAmAfAmUfAmUfC mUfU	776	fAfAmGfAmUfAmUfUmUfUm AfUmGfUmGfGmAfUmGfGmA *fC*mC	800

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2】

hsKLF15-12	mCmAfGmCfAmAfGmGfAmCfUmUfGmGfAmUfGmCfCmUfG	777	fCfAmGfGmCfAmUfCmCfAmAfGmUfCmCfUmUfGmCfUmG*fU*mU	801
hsKLF15-13	mUmAfCmCfAmGfUmGfUmCfCmUfGmUfGmUfGmCfGmAfG	778	fCfUmCfGmCfAmCfAmCfAmGfGmAfCmAfCmUfGmGfUmA*fC*mG	802
hsKLF15-14	mCmUfCmGfGmGfAmGfUmAfCmUfUmAfGmAfGmCfCmUfC	779	fGfAmGfGmCfUmCfUmAfAmGfUmAfCmUfCmCfCmGfAmG*fA*mA	803
hsKLF15-15	mCmAfGmGfUmUfUmAfUmUfUmCfAmCfAmUfCmCfUmAfU	780	fAfUmAfGmGfAmUfGmUfGmAfAmAfUmAfAmAfCmCfUmG*fU*mC	804
mmKLF15-1	mCmUfUmCfUmGfAmAfUmCfUmUfAmGfGmAfGmGfUmAfU	781	fAfUmAfCmCfUmCfCmUfAmAfGmAfUmUfCmAfGmAfAmG*fG*mG	805
mmKLF15-2	mCmGfCmAfUmCfUmAfCmAfUmAfAmAfAmUfAmUfCmUfU	782	fAfAmGfAmUfAmUfUmUfUmAfUmGfUmAfGmAfUmGfCmG*fU*mA	806
mmKLF15-3	mGmCfAmAfGmAfUmGfUmAfCmAfCmCfAmAfGmAfGmCfA	783	fUfGmCfUmCfUmUfGmGfUmGfUmAfCmAfUmCfUmUfGmC*fU*mG	807
mmKLF15-3	mCmCfCmUfCmAfAmAfGmUfUmUfGmUfGmCfGmAfAmUfU	784	fAfAmUfUmCfGmCfAmCfAmAfAmCfUmUfUmGfAmGfGmG*fC*mA	808
mmKLF15-5	mUmAfGmAfAmAfUmUfAmGfUmAfCmCfAmAfUmUfGmAfA	785	fUfUmCfAmAfUmUfGmGfUmAfCmUfAmAfUmUfUmCfUmA*fG*mU	809
mmKLF15-6	mCmCfAmGfGmGfCmAfGmCfAmUfCmUfUmGfGmAfUmUfU	786	fAfAmAfUmCfCmAfAmGfAmUfGmCfUmGfCmCfCmUfGmG*fG*mC	810
mmKLF15-7	mAmCfAmCfGmUfUmGfAmCfAmUfUmUfGmUfGmUfAmAfA	787	fUfUmUfAmCfAmCfAmAfAmUfGmUfCmAfAmCfGmUfGmU*fU*mA	811
mmKLF15-8	mGmAfAmAfUmUfAmGfUmAfCmCfAmAfUmUfGmAfAmCfU	788	fAfGmUfUmCfAmAfUmUfGmGfUmAfCmUfAmAfUmUfUmC*fU*mA	812
mmKLF15-9	mGmGfCmAfGmCfCmAfUmAfCmCfAmCfAmUfGmUfUmGfC	789	fGfCmAfAmCfAmUfGmUfGmGfUmAfUmGfGmCfUmGfCmC*fG*mG	813

10

20

30

【0482】

j. MED1オリゴヌクレオチド

MED1を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるCai, Q. et. al. “ MicroRNA-1291 mediates cell proliferation and tumorigenesis by downregulating MED1 in prostate cancer ” Oncol Lett. 2019 Mar; 17(3):3253-3260.; Zhang, L. et. al. “ Silencing MED1 Sensitizes Breast Cancer Cells to Pure Anti-Estrogen Fulvestrant In Vitro and In Vivo ” PLoS One. 2013, 8(7):e70641.; Mouillet J. F. et. al. “ MiR-205 silences MED1 in hypoxic primary human trophoblasts ” FASEB J. 2010 Jun; 24(6):2030-9.; および Ndong, J. de. L. et al. “ Down-regulation of the expression of RB 18A/MED1, a cofactor of transcription, triggers strong tumorigenic phenotype of human melanoma cells ” Int J Cancer. 2009, 124(11):2597-606. に提供されている。

40

【0483】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、以下に提供されるように、ヒトMED1配列に対する相補性領域を有し得る(遺伝子ID: 5469; NCBI参照番号: N

50

M_004774.4):

GAAGTTCCGTTGGGGAAGATGGCGGCGGCCTCGAGCACCCCTTCTCTTCTTGCCGCC
GGGGACTTCAGATTGATCCTTCCCGGGAAGAGTAGGGACTGCTGGTGCCCTGCGTC
CCGGGATCCCGAGCCAACTTGTTTCCCTCCGTTAGTGGTGGGGAAGGGCTTATCCTT
TTGTGGCGGATCTAGCTTCTCCTCGCCTTCAGGATGAAAGCTCAGGGGGAAACCGA
GGAGTCAGAAAAGCTGAGTAAGATGAGTTCTCTCCTGGAACGGCTCCATGCAAAAT
TTAACCAAAATAGACCCTGGAGTGAAACCATTAAAGCTTGTGCGTCAAGTCATGGAG
AAGAGGGTTGTGATGAGTTCTGGAGGGCATCAACATTTGGTCAGCTGTTTGGAGAC
ATTGCAGAAGGCTCTCAAAGTAACATCTTTACCAGCAATGACTGATCGTTTGGAGT
CCATAGCAAGACAGAATGGACTGGGCTCTCATCTCAGTGCCAGTGGCACTGAATGT
TACATCACGTCAGATATGTTCTATGTGGAAGTGCAGTTAGATCCTGCAGGACAGCT
TTGTGATGTAAAAGTGGCTCACCATGGGGAGAATCCTGTGAGCTGTCCGGAGCTTG
TACAGCAGCTAAGGGAAAAAAATTTTGATGAATTTTCTAAGCACCTTAAGGGCCTT
GTTAATCTGTATAACCTTCCAGGGGACAACAACTGAAGACTAAAATGTACTTGGC
TCTCCAATCCTTAGAACAAGATCTTTCTAAAATGGCAATTATGTACTGGAAAGCAA
CTAATGCTGGTCCCTTGGATAAGATTCTTCATGGAAGTGTTGGCTATCTCACACCA
AGGAGTGGGGGTCATTTAATGAACCTGAAGTACTATGTCTCTCCTTCTGACCTACT
GGATGACAAGACTGCATCTCCCATCATTTTGCATGAGAATAATGTTTCTCGATCTT
TGGGCATGAATGCATCAGTGACAATTGAAGGAACATCTGCTGTGTACAAACTCCCA
ATTGCACCATTAATTATGGGGTCACATCCAGTTGACAATAAATGGACCCCTTCTCTT
CTCCTCAATCACCAGTGCCAACAGTGTTGATCTTCTGCTGTTTCTTCTTGAAATT
TCCCCAGCCAATCCCAGTATCTAGAGCATTGTGTTGAGAACTGCAGAACTGCACAG
GAATTCCATTGTTTGAAACTCAACCAACTTATGCACCCCTGTATGAACTGATCACT
CAGTTTGAAGCTATCAAAGGACCCTGACCCCATACCTTTGAATCACAACATGAGATT
TTATGCTGCTCTTCTGCTGCTCAGCAGCACTGCTATTTCTCAACAAGGATGCTCCTCT
TCCAGATGGCCGAAGTCTACAGGGAACCCCTTGTTAGCAAAATCACCTTTCAGCACC
CTGGCCGAGTTCCTCTTATCCTAAATCTGATCAGACACCAAGTGGCCTATAACACC
CTCATTGGAAGCTGTGTCAAAAGAACTATTCTGAAAGAAGATTCTCCTGGGCTTCT
CCAATTTGAAGTGTGTCTCTCTCAGAGTCTCGTTTCAGCGTATCTTTTCAGCACCC
TGTGAATGACTCCCTGGTGTGTGTGGTAATGGATGTGCAGGACTCAACACATGTGA
GCTGTAACTCTACAAAGGGCTGTGCGGATGCACTGATCTGCACAGATGACTTCATT
GCCAAAGTTGTTCAAAGATGTATGTCCATCCCTGTGACGATGAGGGCTATTCTGGAG
GAAAGCTGAAACCATTCAAGCCGACACCCAGCACTGTCCCTCATTGCAGAGACAG
TTGAAGACATGGTGAAAAAGAACCTGCCCCCGGCTAGCAGCCCAGGGTATGGCATG
ACCACAGGCAACAACCCAATGAGTGGTACCACTACACCAACCAACACCTTTCGGG
GGGTCCCATTACCACCTTGTTTAATATGAGCATGAGCATCAAAGATCGGCATGAGT
CGGTGGGCCATGGGGAGGACTTCAGCAAGGTGTCTCAGAACCAATTCTTACCAGT
TTGTTGCAAATCACAGGGAACGGGGGGTCTACCATTGGCTCGAGTCCGACCCCTCC
TCATCACACGCCGCCACCTGTCTCTTCGATGGCCGGCAACACCAAGAACCACCCGA
TGCTCATGAACCTTCTTAAAGATAATCCTGCCCAGGATTTCTCAACCCTTTATGGA
AGCAGCCCTTTAGAAAGGCAGAACTCCTCTTCCGGCTCACCCCGCATGGAAATATG
CTCGGGGAGCAACAAGACCAAGAAAAAGAGTCATCAAGATTACCACCTGAGAAAC
CAAAGCACCAAGACTGAAGATGACTTTTCAAGAGGGAGCTATTTTCAATGGATGTTGAC
TCACAGAACCCTATCTTTGATGTCAACATGACAGCTGACACGCTGGATACGCCACA
CATCACTCCAGCTCCAAGCCAGTGTAGCACTCCCCCAACAACCTTACCCACAACCAG
TACCTCACCCCCAACCCAGTATTCAAAGGATGGTCCGACTATCCAGTTCAGACAGC
ATTGGCCCAGATGTAACTGACATCCTTTTCAAGACATTGCAGAAGAAGCTTCTAAACT
TCCCAGCACTAGTGATGATTGCCCAGCCATTGGCACCCCTCTTCGAGATTCTTCAA
GCTCTGGGCATTCTCAGAGTACCCTGTTTGACTCTGATGTCTTTCAAACCTAACAAAT
AATGAAAATCCATACACTGATCCAGCTGATCTTATTGCAGATGCTGCTGGAAGCCC

10

20

30

40

50

CAGTAGTGACTCTCCTACCAATCATTTTTTTTCATGATGGAGTAGATTTCAATCCTGA
TTTATTGAACAGCCAGAGCCAAAGTGGTTTTTGGAGAAGAATATTTTGATGAAAGCA
GCCAAAGTGGGGATAATGATGATTTCAAAGGATTTGCATCTCAGGCACTAAATACT
TTGGGGGTGCCAATGCTTGGAGGTGATAATGGGGAGACCAAGTTTAAGGGCAATAA
CCAAGCCGACACAGTTGATTTTCAGTATTATTTTCAGTAGCCGGCAAAGCTTTAGCTC
CTGCAGATCTTATGGAGCATCACAGTGGTAGTCAGGGTCCTTTACTGACCACTGGG
GACTTAGGGGAAAGAAAAGACTCAAAAGAGGGTAAAGGAAGGCAATGGCACCAGTAA
TAGTACTCTCTCGGGGCCCCGGATTAGACAGCAAACCAGGGAAGCGCAGTCGGACCC
CTTCTAATGATGGGAAAAGCAAAGATAAGCCTCCAAAGCGGAAGAAGGCAGACACT
GAGGGAAAGTCTCCATCTCATAGTTCTTCTAACAGACCTTTTACCCACCTACCAG
TACAGGTGGATCTAAATCGCCAGGCAGTGCAGGAAGATCTCAGACTCCCCCAGGTG
TTGCCACACCACCCATTCCCAAATCACTATTTCAGATTCTTAAGGGAACAGTGATG
GTGGGCAAGCCTTCCTCTCACAGTCAGTATACCAGCAGTGGTTCTGTGTCTTCCTC
AGGCAGCAAAAGCCACCATAGCCATTCTTCCTCCTCTTCCTCATCTGCTTCCACCTC
AGGGAAGATGAAAAGCAGTAAATCAGAAGGTTTCATCAAGTTCCAAGTTAAGTAGCA
GTATGTATTCTAGCCAGGGGTCTTCTGGATCTAGCCAGTCCAAAAATTTCATCCAG
TCTGGGGGGAAGCCAGGCTCCTCTCCCATAACCAAGCATGGACTGAGCAGTGGCTC
TAGCAGCACCAAGATGAAACCTCAAGGAAAGCCATCATCACTTATGAATCCTTCTT
TAAGTAAACCAACATATCCCCCTTCTCATTCAAGGCCACCTGGAGGCTCTGACAAG
CTTGCCTCTCCAATGAAGCCTGTTCTGGAACCTCCTCATCCTCTAAAGCCAAGTCC
CCTATCAGTTCAGGTTCTGGTGGTTCTCATATGTCTGGAAGTAGTTCAAGCTCTGGC
ATGAAGTCATCTTCAGGGTTAGGATCCTCAGGCTCGTTGTCCCAGAAAACCTCCCC
ATCATCTAATTCTGTACGGCATCTTCCTCCTCCTTTTCTCAAGTGGCTCTTCCAT
GTCATCCTCTCAGAACCAGCATGGGAGTTCTAAAGGAAAATCTCCCAGCAGAAACA
AGAAGCCGTCCTTGACAGCTGTCATAGATAAACTGAAGCATGGGGTTGTACCAGT
GGCCCTGGGGGTGAAGACCCACTGGACGGCCAGATGGGGGTGAGCACAAATTCTTC
CAGCCATCCTATGTCCTCCAAACATAACATGTCAGGAGGAGAGTTTCAGGGCAAGC
GTGAGAAAAGTGATAAAGACAAATCAAAGGTTTCCACCTCCGGGAGTTCAGTGGAT
TCTTCTAAGAAGACCTCAGAGTCAAAAAATGTGGGGAGCACAGGTGTGGCAAAAAT
TATCATCAGTAAGCATGATGGAGGCTCCCCTAGCATTAAAGCCAAAGTGACTTTGC
AGAAACCTGGGGAAAGTAGTGGAGAAGGGCTTAGGCCTCAAATGGCTTCTTCTAAA
AACTATGGCTCTCCACTCATCAGTGGTTCCACTCCAAAGCATGAGCGTGGCTCTCC
CAGCCATAGTAAGTCACCAGCATATACCCCCAGAATCTGGACAGTGAAAGTGAGT
CAGGCTCCTCCATAGCAGAGAAATCTTATCAGAATAGTCCCAGCTCAGACGATGGT
ATCCGACCACTTCCAGAATACAGCACAGAGAAACATAAGAAGCACAAAAAGGAAAA
GAAGAAAGTAAAAGACAAAGATAGGGACCGAGACCGGGACAAAGACCGAGACAAG
AAAAAATCTCATAGCATCAAGCCAGAGAGTTGGTCCAAATCACCCATCTCTTCAGA
CCAGTCCTTGTCTATGACAAGTAACACAATCTTATCTGCAGACAGACCTCAAGGC
TCAGCCCAGACTTTATGATTGGGGAGGAAGATGATGATCTTATGGATGTGGCCCTG
ATTGGGAATTAGGAACCTTATTTCTTAAAGAAACAGGGCCAGAGGAAAAAAACT
ATTGATAAGTTTATAGGCAAACCACCATAAGGGGTGAGTCAGACAGGTCTGATTTG
GTTAAGAATCCTAAATGGCATGGCTTTGACATCAAGCTGGGTGAATTAGAAAGGCA
TATCCAGACCTATTAAAGAAACCACAGGGTTTGATTCTGGTTACCAGGAAGTCTT
CTTTGTTCTGTGCCAGAAAGAAAGTTAAATACTTGCTTAAGAAAGGGAGGGGGG
TGGGAGGGGTGTAGGGAGAGGGGAAGGGAGGGGAACAGTTTTGTGGGAAATATTCAT
ATATATTTTCTTCTCCCTTTTTTCCATTTTTTAGGCCATGTTTTAACTCATTTTAGTG
CATGTATATGAAGGGCTGGGCAGAAAATGAAAAAGCAATACATTCCTTGATGCATT
TGCATGAAGGTTGTTCAACTTTGTTTGAGGTAGTTGTCCGTTTGAGTCATGGGCAA
ATGAAGGACTTTGGTCAATTTTGACACTTAAGTAATGTTTGGTGTCTGTTTCTTAG
GAGTGACTGGGGGAGGGAAGATTATTTTAGCTATTTATTTGTAATATTTTAACCT

10

20

30

40

50

TTATCTGTTTGT TTTTATACAGTGTTTCGTTCTAAATCTATGAGGTTTAGGGTTCAA
AATGATGGAAGGCCGAAGAGCAAGGCTTATATGGTGGTAGGGAGCTTATAGCTTGT
GCTAATACTGTAGCATCAAGCCCAAGCAAATTAGTCAGAGCCCGCCTTTAGAGTTA
AATATAATAGAAAAACCAAATGATATTTTTATTTTAGGAGGGTTTAAATAGGGTT
CAGAGATCATAGGAATATTAGGAGTTACCTCTCTGTGGAGGTATTGACTTGTAAATC
TCATTTTTCCTTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCTAAGGTGGCTTGTGGGATGTAAAC
ATGTTTTTCAGATGCAGTAAGGTTTAGTG TAGGACAGCCTTCCTGACCCAGTGGCAT
GAAAACCATTACAGGATTAATAGTTCTCCTACTTCCACAATGTGCCAAAAGTCTGC
ATCCCAGCATTTTGT TTTGCAGGAGAACTGATGCCATTCTTAAGAGCTGGACTCACT
GTTTCTCTTCATCACAAGGAGAAGGAGTCCAAACTTTAATCACTCCACTGTATGCT
CCCTGAGATAAAACAGTAAAAAATCCGCAGCCATAGTTCACTTAAAACAATTTCAA
GCTCACTTTTGAAGTAATGGGGGCCTGGAATGCTAGGTGAGCATGAAGATAAACCC
TTGCTACTATGTAGCAACCCAATTGGACCTTTTTGGAGAAATAGGTCTGAGTCTGG
ATTCTGGGGGACATCAATAAGAGCCCTTCACATAAAAATATAGAAATCCAGGAGAC
TGTTTCGAGTGCAACAGAAGTTCTCAGTATTTGGAGGGTCCTCTCAAAAATTCTGC
GGCCTTACTTTGATATTGACACCTGCACTGTGCCATTCTGATTATTCCATTCAGGA
TCTGTATCAGCGGGATGGGGCATGGTCCCCAGCACAACCTCTTCTGGGTTAAAAAAA
AAAAGCCAGGTGATTCCTTTGTGTGTTATGTCGTAAGTGGAGTGACTTCATCATAT
ATGGAAGAAGATTTCTATATTCAGCTTTTTCTGCAGGTTGGAGTCAGCATAGAGTT
GGAAAATCAGCTTTGGCTTTCTTTCTGTCTCATTTCTCTAGTGTTCTCCTTTTTTA
TTGTCATCAGCTCTCAACAACCTTGCCACTTTTGTGTCCCAAGGTAATAAGATGTA
GGAAACAAAACATTGTAAAGTGGAGCAAGAAAAGTTATCAATTAACCACATCAGAG
TCAAATGTCTTGGGTGACACTAAGGAGGATATGGGCAGGTGATACCAGAGTGCTTT
ATCTTGTGATGTTGATACAGTAGCAGCCTCTCAGACATTCAGCCAGGTTGGATTTCT
TCATGAGTTTGTACCTAGTTTTGAATCCTATCCCGTTGGTTTCTGCAGGAAAAAA
AAAAAAATTTATGTGGTTTTTAAAATTTGTTCTGAGTGGGGAGAATCTTAGGGGGA
ATGTACTGAATAGTATCATGGGCTCAGCTCCCCCATGCAGGGCCAACAAATACCAA
AATGAGTAAACTGGGAAGCTTTTCTCTCTTTCTGTCTTCATCCCAGATCAAAGAAT
CCCGAGTTAGGATCTGGATGAAGGATAAGCCCCTGAATTGTCGATGGGCTCACCCC
CACACTGACCCAGCATCTGAACTTGCTTAACAGGGAGCCGGGGCTAAACTGCTTCA
CCCTGCCTGAGAACCAGGGAGCACTGCATTTCTCCACAGGGTGGAGGAGAAGAGGC
AGAATAAACCAAGCCTGGGACACCTCCCTCCTGTCTAGGTGTA CTATTCTTCTGT
TTCAAAAGAAGGCAAGGACATGAAGTCAACTTCTACCTATCTTCTGCTGCTGGTGT
CTTATGTATTCTCAGTTTGACCTGATTCTCTTCTGTCTTTTGACTTAACATTAGGG
GTTCTTGGTCATAACCTGCTCTGATGTACATAAAGATTTAGGTTCAATATCAATG
TGTCTTAAACAGAAAGTATTTTAGCGGGTGGGGGGTGGGGTGGTGGGGACAAACAA
CGCAGGATATAATTGCCAAAACCAGGCTTGAGGTTGGTGACTCTTGAAAGATTTTC
TTTCTTCAGGCCTAGATCAGAAAATTAAGTGCAGCAATATCATGAATTCTCAGAAAG
CCCTTTCAGGGAGCCAGTGAGTCATACAGTATCCACAGTTGAGTCACTTAAAGATG
TCAGTATACGAAACATTATTCACAATCCTTGGGCAATCTCATTTTTTTTTCTTCTC
CCCTCCTCCCCTGCCCCCATACATTTCTATCCTTGAGTTAGTTTTGGAGGGGCGAGG
AAGTACTTAACATCTCAGAAAGCTAGATTGGGAAACATGCTCAGCTATAAGAAGTGA
GCTTTAAATTTTGAGTTTAAAAATGTACATCAGGAGCAGCTGGGGAGGGTCTTTTT
TTAAAAAAATCTTTCAAATTTGGTTTTCTGTGCATATGGCCGTTTTGTAAATACTTT
GGGGTTTTTTCATTTTTTTGAAAGTAGATGAAATCTGTTGTGGGATTTTTTTCCCGAA
ACATTACAAAATAACCTGTTTATTTACATGCAAATAAACTTCTTTGATAAAAAGTA
A (配列番号814)

10

20

30

40

50

【0484】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、遺伝子ID:19014;
NCBI参照番号:NM_001080118.1によって以下に提供されるように、マウスMED1配

列に対する相補性領域を有し得る：

GATCTTTGGGAAGTTCCGTTGGGGAAGATGGCGGCGGCCGCGAGCACCTTCTCTT
CTTGCCGCCGGGGACTTCAGACTGAGCCTTCCCCGGAAGAGTCGGGGCCGCTGGTG
CGCCGCTTCCCCGGAGCCCAGGCTAACTTGGTTCCCTCTGAGTGGCGGGGAAAGG
CTCCCCGGCTCGTGGCGGACCCAAGACCTCCCCGCTGTCAGGATGAAGGCTCAGGG
GGAAACCGAGGACTCAGAGAGGCTGAGTAAGATGAGCTCCCTCCTGGAACGGCTCC
ATGCAAAATTTAACCAGAACAGACCTTGGAGTGAAACCATTAAAGCTTGTGCGTCAA
GTAATGGAGAAGAGGGTCGTAATGAGTTCTGGAGGGCATCAGCATTTGGTCAGCTG
TTTGGAGACATTGCAGAAGGCTCTCAAAGTAACATCTTTGCCAGCAATGACTGATC
GTTTGGGAATCTATAGCCAGACAGAATGGACTGGGCTCTCACCTCAGTGCCAGTGGC
ACTGAGTGTTACATCACGTCAGATATGTTCTATGTGGAAGTGCAGTTAGATCCTGC
AGGACAGCTTTGTGATGTCAAAGTGGCTCACCATGGGGAGAATCCTGTGAGCTGTC
CAGAGCTTGTACAGCAGTTAAGGGAAAAGAATTTTGAGGAATTTTCCAAGCATCTT
AAGGGTCTTGTTAATCTGTATAATCTCCCAGGGGACAACAACTGAAGACTAAAT
GTATCTGGCTCTCCAATCCTTAGAACAGGACCTTTCTAAATGGCTATTATGTACT
GGAAGGCAACCAACGCCGCTCCCTTGGATAAGATTCTTCATGGAAGTGTGGTTAT
CTCACCCCGCGGAGTGGGGGTCATTTAATGAATATGAAATACTATGCCTCTCCATC
TGACCTGCTGGATGATAAGACTGCCTCTCCTATCATTTTGCATGAAAAGAATGTTT
CTCGGTCTTTGGGAATGAATGCCTCAGTGACAATTGAAGGAACCTCTGCTATGTAC
AAACTCCCAATTGCCCCATTAATTATGGGGTCACACCCAGCTGACAACAAATGGAC
CCCTTCTTTCTCCGCAGTCACTAGTGCCAACAGTGTTGATCTTCCTGCGTGTTTCTT
CTTGAAATTTCCCCAGCCAATTCCAGTATCTAAAGCATTTGTTTCAGAAACTGCAAA
ATTGCACAGGAATCCCGTTGTTTGAGACTCCGCCCACTTACCTGCCCCTGTATGAA
CTCATCACTCAGTTTGAGCTGTCAAAGGATCCTGACCTTTACCTTTGAATCACAA
CATGCGATTTTACGCTGCTCTTCCAGGTGAGCAGCACTGCTATTTTCTCAATAAAG
ATGCTCCTCTTCCTGATGGTCAGAGCCTGCAGGGAACACTGGTCAGCAAAATCACC
TTCCAGCACCTTGGCCGAGTTCCTCTTATCTTGAATATGATCAGACACCAAGTGGC
CTATAACACTCTAATTGGAAGCTGTGTCAAAGAAGCTATTTTAAAAGAAGATTCTC
CTGGGCTCCTCCAGTTTGAAGTGTGTCTCTCTCAGAATCTCGCTTCAGTGTATCTT
TTCAGCACCTGTGAATGACTCCCTTGTGTGTGTGGTGATGGATGTGCAAGACTCA
ACACATGTGAGCTGTAACTCTACAAGGGGCTGTCAGATGCACTAATCTGTACAGA
CGACTTCATTGCCAAAGTTGTTCAAAGATGTATGTCCATTCTGTGACGATGAGGG
CTATTCGGAGGAAGGCTGAAACCATACAGGCTGACACCCCAGCACTGTCTCTCATT
GCAGAGACAGTTGAAGACATGGTGAAAAAGAACCTGCCCCCGGCTAGCAGCCCAGG
GTATGGCATGACCACAGGCAACAACCCAATGAGTGGTACCACTACACCAACCAACA
CCTTTCCGGGGGGTCCCATTAACACCTTGTTTAATATGAGCATGAGCATCAAAGAT
CGGCATGAGTCGGTGGGCCATGGGGAGGACTTCAGCAAGGTGTCTCAGAACCCAAT
TCTTACCAGTTTGTGCAATCACAGGGAACGGGGGGTCTACCATTGGCTCGAGTC
CGACCCCTCCTCATCACACGCCGCCACCTGTCTCTTCGATGGCCGGCAACACCAAG
AACCACCCGATGCTCATGAACCTTCTTAAAGATAACCCTGCCCAGGATTTCTCAAC
CCTTTATGGAAGCAGCCCTTTAGAAAGGCAGAACTCCTCTTCCGGATCACCCCGGA
TGGAATGTGCTCGGGGAGCAACAAGGCCAAGAAGAAGAGTCGTCAAGAGTCCCA
CCTGACAAACCCAAGCACCAAGACTGAAGACGATTTCCAGAGGGGAGCTCTTTTCCAT
GGATGTCGACTCACAGAACCCTATGTTTGACGTCAGCATGACCGCTGACGCGCTGG
ATACACCTCATATCACCCAGCTCCAAGCCAGTGAGCACTCCCCAGCAACGTAC
CCACAGCCAGTGTCTCACCCCCAGCCCAGTATTAGAGGATGGTCCGACTGTCCAG
TTCAGACAGCATTGGCCCAGATGTAACCTGATATTCTTTAGATATTGCCGAAGAAG
CTTCAAAGCTTCCCAGCACGAGTGATGACTGCCACCAATTGGCACCCCTGTTTGA
GATTCCTCAAGTTCTGGGCATTCTCAGAGTGCCCTCTTTGATTCTGATGTCTTTCAA
ACTAATAATAATGAAAATCCATACACTGATCCAGCTGACCTTATTGCAGATGCTGC

10

20

30

40

50

TGGAAGCCCCAATAGTGATTCTCCTACCAATCATTTTTTCCCTGATGGAGTAGATTT
CAATCCTGATTTGTTGAACAGCCAAAGCCAAAGTGGTTTTGGAGAGGAGTATTTTG
ATGAAAGTAGTCAGAGTGGGGATAATGATGATTTCAAAGGATTTGCATCTCAGGCA
TTAAATACATTGGGGATGCCAATGCTTGGAGGTGACAATGGGGAGCCAAAATTTAA
GGGCAGCAGCCAGGCTGACACGGTGGACTTCAGTATTATATCAGTAGCCGGTAAGG
CTTTGGGTGCTGCAGATCTGATGGAGCACCACAGTGGGAGTCAGAGTCCTTTACTG
ACCACTGGAGAATTAGGGAAAGAAAAAACTCAAAGAGGGTGAAGGAAGGCAACGG
CACAGGTGCTAGCAGTGGATCAGGTCCAGGGTCAGACAGCAAGCCAGGCAAGCGCA
GCCGCACTCCCTCCAATGATGGGAAGAGCAAGGATAAGCCTCCAAAGCGGAAGAAG
GCAGACACTGAGGGGAAGTCCCCATCTCACAGTTCTTCTAATAGACCTTTACCCCC
ACCTACCAGCACGGGTGGGTCCAAATCCCCAGGCAGTTCAGGACGATCTCAGACGC
CCCCAGGTGTTGCCACCCCGCCCATTTCCCAAGATTACCATTCAGATTCTTAAAGGG
ACAGTGATGGTGGGCAAGCCCTCCTCTCACAGTCAGTACACTAGCAGTGGTTCTGT
GTCTTCCTCTGGCAGCAAAAGCCACCATAGTCATTCTTCCTCCTCCTCTTCTTAGC
TTCTGCTTCCACCTCAGGCAAGGTGAAAAGCAGTAAATCTGAAGGCTCATCAAGTT
CCAAGCTCAGTGGCAGTATGTATGCTAGCCAAGGGTCTTCTGGATCCAGCCAGTCC
AAAAATTCTCTCAGACTGGGGGGAAGCCAGGCTCCTCTCCCATTTACCAAACATGG
ACTGAGCAGTGGGTCCAGCAGTACCAAGATGAAACCTCAAGGCAAGCCATCCTCCC
TTATGAACCTTCTATAAGTAAGCCAAACATATCCCCTTCCCATTTCAAGGCCTCCC
GGAGGCTCAGATAAGCTTGCCTCTCCAATGAAGCCTGTTCTGGAACCCCCCATC
CTCTAAAGCCAAGTCCCCTATCAGTTCAGGTTCCAGTGGTTCTCATGTGTCAGGAA
CTAGTTCAAGCTCTGGTATGAAGTCATCTTCAGGGTCAGCATCCTCAGGCTCAGTG
TCTCAAAAAACCCCTCCAGCATCTAATTCTTGTACACCATCTTCTCTTCGTTTTTC
TCAAGTGGTTCTTCCATGTCATCCTCTCAGAATCAACATGGCAGTTCCAAAGGGAA
ATCTCCCAGTAGGAATAAGAAGCCTTCTTGACAGCTGTCATAGATAAATTGAAGC
ATGGGGTGGTTACCAGTGGGCCTGGGGGTGAGGATCCAATAGACAGTCAGATGGGC
GCAAGCACAAATTCTTCTAACCATCCCATGTCCTCCAAACATAACACGTCAGGAGG
GGAGTTCCAGAGCAAACGTGAGAAAAGTGATAAAGACAAATCCAAGGTCTCTGCTT
CTGGGGGGTCAGTGGATTCTCTAAGAAGACTTCAGAGTCAAAAAATGTGGGGAGC
ACGGGGGTGGCAAAAATCATTATCAGCAAGCACGACGGAGGCTCCCCGAGCATCAA
AGCCAAAGTGACGCTACAGAAACCTGGAGAAAGTGGTGGAGATGGGCTCAGGCCAC
AGATAGCCTCATCAAAGAACTATGGCTCTCCACTTATCAGTGGTTCCACTCCAAAG
CACGAACGGGGTTCTCCCAGCCACAGTAAGTCGCCAGCATATACACCACAGAATGT
GGACAGTGAAAGTGAGTCAGGCTCCTCCATAGCAGAGAGATCCTACCAGAACAGTC
CCAGCTCAGAGGATGGTATCCGACCACTTCCAGAGTACAGCACTGAGAAGCATAAG
AAGCACAAAAAGGAAAAGAAAGTCAAGAGACAAAGACAGAGACAAGAAGAAGT
CTCACAGCATGAAGCCAGAGAACTGGTCGAAATCCCCATTTCTTTCAGATCCGACG
GCGTCTGTGACAAATAACCCTATCTTATCTGCAGACAGGCCTTCTAGGCTCAGCCC
TGACTTCATGATTGGGGAGGAAGATGATGATCTCATGGATGTGGCCCTGATTGGCA
ATTAGCCTAACTTTCTAAACAGACACGTCCAGAGGAGAACTAATGATATATGTAA
ACCAACCCGAGGGGTGAGTCAGACAGGCCCTGTCAGTGCTTAAGAGCCCTAAAGGG
CATGGCCTCTACACCAAGCTGGGTACATTTATAAACATACATCTAGACCCTGCTGC
CGAAACCATGTGGTTGGTTGTTTCAGAAACAAGTCATATTTCTTTGCCAGAAAGCAA
TGAATAAATTACTTGCTTAAGGGGAGAGGGGTGGTGGGAGAGGGTGTAGAGAGGGA
GGGGTGGGAAATTGTTGTGGGAAATATTCATATATTTTTCTCCCTTTTTTCCATTTTC
AGGACATGCTTTAACTCATTTTAGTGATGTATTTGAAGGGCTGGGCAGAAAATG
AAAAAGCAATACATTCCTTGATGCATTCGCATGAAGGTTGCTCACCTGTGGGAGAT
GCCCATTTGGAAGCATGGGCACGGGAAGGACTTTGACAGTTCTGGACACTGAAAGCA
ATGTTTGGTGTCTGTTTCTTAGGAGTGATGGGGGAGGGAAAATTATTTTAGTTATT
TATTTGTAATATTTTAATCCTTGATGTTTGTTTTATGCAATGTTTGTTCCTAAATC

10

20

30

40

50

TATGAAGGTTATGGTTCAGAACAGTAGGAGGCAGGTAGCAAGGCTCGCCTGGTGGG
GAGCTCGCAGCCTGTGCTGACGCTGCAGCACCAGTCCCACAGAGCTAATCACAGCC
TGTCTTTGGAGTTGAATAGAAAAACCAAACCTATTATCTTTGGAGGTTTTTCACAG
GGTTCAGACACCATAGGAATATTAGGAGTGAGTTACCTCCCTATGCAGATAAAAGA
TTTATCTTCTTTTCATTAAAAAGGAAGGGTGGCTTTGGGGGGTATACATTTGTTTTTC
AGAGTCTATACCCTATCGTATAAAAAATCAGTATAGAATTAATAGTTCTCCTACTTC
CACAATGTGCCAAAAGTCTACATCCCAGCATTTTTGTTTGCAGGAGAGCTGATGCCA
TTCCTAAGAGCTGGACTCTTTGTTTCTCTTCATCACAAGAAGAAGGAGTTCAGACT
TAAATCACTCCACTGTATGCTCCCCGAGATAAACAGTTAAAAAAGGCAGC
CATAGTTCACCTTAAAACAATTTCAAGCTCACTTGAAGTGATTAGGGCCTGGAATGC
TAAGTGAGCATGAAGATAACCCCTTGCTACCGTGTAGCACACAGTCGGACCTTTTTTG
GAGAAACAGGTCTGAGTCTGGATTCTGAGGGACATCAAAGGAAGACCTCATAAATA
GAGAAATGCAGGAGACCGTTTTTGAGTGCAACAGAAGTTCTCAGTATTTGGAGGGTC
CTCTCAAAAGTCCGCGGCCTTACTTTGATTTACCACCTGCACTGTGCCATTCTCTGA
TGATTCCGTTTGGGATCTGTATCAGCGGGGTGGGGGTGGGGCGTGATCCCCAGCAC
AACTCTTCTGGATTACAAAACAAGCAAAAGCCAGGTGATTCATGTTTGTGTGTGTT
ATAAGTGAGTGACTTCATCAGATACGGACGATTTCTACATCCAACACTGCAGGTT
GTTGGAGTTAGCAT(配列番号815)

10

【0485】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、MED1の変異体形態に対する相補性領域を有し得る。

20

【0486】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号814または配列番号815に記載のMED1配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号814または配列番号815に記載のMED1配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号814または配列番号815に記載のMED1配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号814または配列番号815に記載のMED1配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号814または配列番号815に記載のMED1配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号814または配列番号815に記載のMED1配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

30

【0487】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

40

【0488】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号816~863のいずれか1つを含むMED1配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号816~863のいずれか1つを含むMED1配列に

50

相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号816~863のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0489】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号816~863のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

10

【0490】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号840~863のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖をさらに含む。

20

【0491】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号840~863のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)は、1以上の修飾ヌクレオシド(例えば、2'-修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、1以上の修飾ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される。

30

【0492】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号840~863のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖内の各ヌクレオシド、および/または(例えば、および)センス鎖内の各ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される2'-修飾ヌクレオシドである。

【0493】

いくつかの態様において、MED1標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号864~887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号840~863のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖内の各ヌクレオシド、およびセンス鎖内の各ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される2'-修飾ヌクレオシドであり、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)センス鎖は、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結をそれぞれ含む。いくつかの態様において、センス鎖は、いかなるホスホロチオアートヌクレオシド間連結も含まず(センス鎖内のあらゆるヌクレオシド間連結は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結である)、アンチセンス鎖は、1、2または3つのホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、2つのホスホロチオア

40

50

10

20

30

40

50

【表 3 2 - 1】

表 32. MED1 標的配列

参照配列 NM_004774.4 (配列番号 814)	参照配列の対応する ヌクレオチド	MED1 標的配列 (5'から 3')	配列番号
NM_004774.4	503-521	GTTACATCACGTCAGATAT	816
NM_004774.4	508-526	ATCACGTCAGATATGTTCT	817
NM_004774.4	515-533	CAGATATGTTCTATGTGGA	818
NM_004774.4	1432-1450	ATCAGACACCAAGTGGCCT	819
NM_004774.4	1676-1692	ACTTCATTGCCAAAGTTGT	820
NM_004774.4	1688-1706	AAGTTGTTCAAAGATGTAT	821
NM_004774.4	1693-1711	GTTCAAAGATGTATGTCCA	822
NM_004774.4	1837-1855	CCAGGGTATGGCATGACCA	823
NM_004774.4	1923-1941	CTTGTTTAATATGAGCATG	824
NM_004774.4	2126-2144	ACCCGATGCTCATGAACCT	825
NM_004774.4	2786-2804	GAGTAGATTTCAATCCTGA	826
NM_004774.4	3454-3472	AGCAGTGGTTCTGTGTCTT	827
NM_004774.4	2005-2023	CCAATTCTTACCAGTTTGT	828
NM_004774.4	1978-1996	GAGGACTTCAGCAAGGTGT	829
NM_004774.4	4601-4619	CAGGCTCCTCCATAGCAGA	830
NM_004774.4	5482-5500	GTGTCTGTTTCTTAGGAGT	831
NM_004774.4	400-418	AAGGCTCTCAAAGTAACAT	832
NM_004774.4	1940-1958	TGAGCATCAAAGATCGGCA	833

【表 3 2 - 2】

NM_004774.4	5363-5381	GCAATACATTCCTTGATGC	834
NM_004774.4	6157-6175	AAAACAATTTCAAGCTCAC	835
NM_004774.4	1937-1955	GCATGAGCATCAAAGATCG	836
NM_004774.4	995-1013	TGTACAAACTCCCAATTGC	837
NM_004774.4	4600-4618	TCAGGCTCCTCCATAGCAG	838
NM_004774.4	5483-5501	TGTCTGTTTCTTAGGAGTG	839

* 標的配列は T を含有するが、RNA および/または DNA への結合が企図される。

【0 4 9 7】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 33 に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 3 3】

表 33. MED1 を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
AUGUUACAUCACGUCAGAUAU	840	AUAUCUGACGUGAUGUAACAUUC	864
ACAUCACGUCAGAUUAUGUUCU	841	AGAACAUAUCUGACGUGAUGUAA	865
GUCAGAUUAUGUUCUAUGUGGA	842	UCCACAUAGAACAUAUCUGACGU	866
UGAUCAGACACCAAGUGGCCU	843	AGGCCACUUGGUGUCUGAUCAGA	867
UGACUUCAUUGCCAAAGUUGU	844	ACAACUUUGGCAAUGAAGUCAUC	868
CAAAGUUGUUCAAAGAUGUAU	845	AUACAUCUUUGAACAAACUUUGGC	869
UUGUUCAAAGAUGUAUGUCCA	846	UGGACAUACAUCUUUGAACAAACU	870
GCCCAGGGUAUGGCAUGACCA	847	UGGUCAUGCCAUAACCCUGGGCUG	871
ACCUUGUUUAAUAUGAGCAUG	848	CAUGCUCUAUUAACAAGGUGG	872
CCACCCGAUGCUCUAUGAACCU	849	AGGUUCAUGAGCAUCGGGUGGUU	873
UGGAGUAGAUUCAAUCCUGA	850	UCAGGAUUGAAAUCUACUCCAUC	874
CCAGCAGUGGUUCUGUGUCUU	851	AAGACACAGAACCACUGCUGGUA	875
ACCCAAUUCUUACCAGUUUGU	852	ACAAACUGGUAAGAAUUGGGUUC	876
GGGAGGACUUCAGCAAGGUGU	853	ACACCUUGCUGAAGUCCUCCCCA	877
GUCAGGCUCCUCCAUAAGCAGA	854	UCUGCUAUGGAGGAGCCUGACUC	878
UGGUGUCUGUUUCUUAAGGAGU	855	ACUCCUAAGAAACAGACACCAAA	879
AGAAGGCUCUCAAGUAACAU	856	AUGUUACUUUGAGAGCCUUCUGC	880
CAUGAGCAUCAAAAGAUCCGCA	857	UGCCGAUCUUUGAUGCUCUAUGCU	881
AAGCAAUACAUCUCCUUGAUGC	858	GCAUCAAGGAAUGUAUUGCUUUU	882
UUAAAACA AUUCAAGCUCAC	859	GUGAGCUUGAAAUUGUUUUAAGU	883
GAGCAUGAGCAUCAAAAGAUCG	860	CGAUCUUUGAUGCUCUAUGCUCAU	884
UGUGUACAAACUCCCAAUUGC	861	GCAAUUGGGAGUUUGUACACAGC	885
AGUCAGGCUCCUCCAUAAGCAG	862	CUGCUAUGGAGGAGCCUGACUCA	886
GGUGUCUGUUUCUUAAGGAGUG	863	CACUCCUAAGAAACAGACACCAA	887

【 0 4 9 8】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 34 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 3 4 - 1】

表 34. MED1 を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号	修飾ガイド鎖/ アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsMED1-1	mAmUfGmUfUmAfCmAfU mCfAmCfGmUfCmAfGmAf UmAfU	840	fAfUmAfUmCfUmGfAmCfGmUfG mAfUmGfUmAfAmCfAmU*fU*mC	864
hsMED1-2	mAmCfAmUfCmAfCmGfU mCfAmGfAmUfAmUfGmU fUmCfU	841	fAfGmAfAmCfAmUfAmUfCmUfG mAfCmGfUmGfAmUfGmU*fA*mA	865
hsMED1-3	mGmUfCmAfGmAfUmAfU mGfUmUfCmUfAmUfGmU fGmGfA	842	fUfCmCfAmCfAmUfAmGfAmAfC mAfUmAfUmCfUmGfAmC*fG*mU	866
hsMED1-4	mUmGfAmUfCmAfGmAfC mAfCmCfAmAfGmUfGmGf CmCfU	843	fAfGmGfCmCfAmCfUmUfGmGfU mGfUmCfUmGfAmUfCmA*fG*mA	867
hsMED1-5	mUmGfAmCfUmUfCmAfU mUfGmCfCmAfAmAfGmUf UmGfU	844	fAfCmAfAmCfUmUfUmGfGmCfA mAfUmGfAmAfGmUfCmA*fU*mC	868
hsMED1-6	mCmAfAmAfGmUfUmGfU mUfCmAfAmAfGmAfUmG fUmAfU	845	fAfUmAfCmAfUmCfUmUfUmGfA mAfCmAfAmCfUmUfUmG*fG*mC	869
hsMED1-7	mUmUfGmUfUmCfAmAfA mGfAmUfGmUfAmUfGmU fCmCfA	846	fUfGmGfAmCfAmUfAmCfAmUfC mUfUmUfGmAfAmCfAmA*fC*mU	870
hsMED1-8	mGmCfCmCfAmGfGmGfU mAfUmGfGmCfAmUfGmA fCmCfA	847	fUfGmGfUmCfAmUfGmCfCmAfU mAfCmCfCmUfGmGfGmC*fU*mG	871
hsMED1-9	mAmCfCmUfUmGfUmUfU mAfAmUfAmUfGmAfGmC fAmUfG	848	fCfAmUfGmCfUmCfAmUfAmUfU mAfAmAfCmAfAmGfGmU*fG*mG	872
hsMED1-10	mCmCfAmCfCmCfGmAfU mGfCmUfCmAfUmGfAmAf CmCfU	849	fAfGmGfUmUfCmAfUmGfAmGfC mAfUmCfGmGfGmUfGmG*fU*mU	873
hsMED1-11	mUmGfGmAfGmUfAmGfA mUfUmUfCmAfAmUfCmCf UmGfA	850	fUfCmAfGmGfAmUfUmGfAmAfA mUfCmUfAmCfUmCfCmA*fU*mC	874
hsMED1-12	mCmCfAmGfCmAfGmUfG mGfUmUfCmUfGmUfGmU fCmUfU	851	fAfAmGfAmCfAmCfAmGfAmAfC mCfAmCfUmGfCmUfGmG*fU*mA	875
hsMED1-13	mAmCfCmCfAmAfUmUfC mUfUmAfCmCfAmGfUmUf UmGfU	852	fAfCmAfAmAfCmUfGmGfUmAfA mGfAmAfUmUfGmGfGmU*fU*mC	876
hsMED1-14	mGmGfGmAfGmGfAmCfU mUfCmAfGmCfAmAfGmGf UmGfU	853	fAfCmAfCmCfUmUfGmCfUmGfA mAfGmUfCmCfUmCfCmC*fC*mA	877
hsMED1-15	mGmUfCmAfGmGfCmUfC mCfUmCfCmAfUmAfGmCf AmGfA	854	fUfCmUfGmCfUmAfUmGfGmAfG mGfAmGfCmCfUmGfAmC*fU*mC	878

10

20

30

40

50

【表 3 4 - 2】

hsMED1-16	mUmGfGmUfGmUfCmUfGmUfUmUfCmUfUmAfGmGfAmGfU	855	fAfCmUfCmCfUmAfAmGfAmAfAmCfAmGfAmCfAmCfCmA*fA*mA	879
hsMED1-17	mAmGfAmAfGmGfCmUfCmUfCmAfAmAfGmUfAmAfCmAfU	856	fAfUmGfUmUfAmCfUmUfUmGfAmGfAmGfCmCfUmUfCmU*fG*mC	880
hsMED1-18	mCmAfUmGfAmGfCmAfUmCfAmAfAmGfAmUfCmGfGmCfA	857	fUfGmCfCmGfAmUfCmUfUmUfGmAfUmGfCmUfCmAfUmG*fC*mU	881
hsMED1-19	mAmAfGmCfAmAfUmAfCmAfUmUfCmCfUmUfGmAfUmGfC	858	fGfCmAfUmCfAmAfGmGfAmAfUmGfUmAfUmUfGmCfUmU*fU*mU	882
hsMED1-20	mUmUfAmAfAmAfCmAfAmUfUmUfCmAfAmGfCmUfCmAfC	859	fGfUmGfAmGfCmUfUmGfAmAfAmUfUmGfUmUfUmUfAmA*fG*mU	883
hsMED1-21	mGmAfGmCfAmUfGmAfGmCfAmUfCmAfAmAfGmAfUmCfG	860	fCfGmAfUmCfUmUfUmGfAmUfGmCfUmCfAmUfGmCfUmC*fA*mU	884
hsMED1-22	mUmGfUmGfUmAfCmAfAmAfCmUfCmCfCmAfAmUfUmGfC	861	fGfCmAfAmUfUmGfGmGfAmGfUmUfUmGfUmAfCmAfCmA*fG*mC	885
hsMED1-23	mAmGfUmCfAmGfGmCfUmCfCmUfCmCfAmUfAmGfCmAfG	862	fCfUmGfCmUfAmUfGmGfAmGfGmAfGmCfCmUfGmAfCmU*fC*mA	886
hsMED1-24	mGmGfUmGfUmCfUmGfUmUfUmCfUmUfAmGfGmAfGmUfG	863	fCfAmCfUmCfCmUfAmAfGmAfAmAfCmAfGmAfCmC*fA*mA	887

10

20

【0 4 9 9】

k. MED13オリゴヌクレオチド

MED13を標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるXu, M. et al. “ MicroRNA-499-5p regulates skeletal myofiber specification via NFATc1/MEF2C pathway and Thrap1/MEF2C axis ” Life Sci.2018,215:236-245.;およびGrueter, C.E., et al. “ A cardiac microRNA governs systemic energy homeostasis by regulation of MED13 ” Cell.2012,149(3):671-83.に提供されている。

30

【0 5 0 0】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、遺伝子ID:9969;NCBI参照番号:NM_005121.3によって以下に提供されるように、ヒトMED13配列に対する相補性領域を有し得る:

CTCTCTCTGGTCGGAGGCGGCGGTAATGGCGGATGGTGGGTTGTGGCGCCGGCGGC
GGCTGCTGTGAGGGACGATGAGTGCCTCCTTCGTGCCGAACGGGGCCAGCCTGGAA
GATTGTCACCTGTAACCTCTTCTGCCTGGCTGACTTGACAGGAATTAAGTGGAAAAA
ATATGTATGGCAAGGCCCAACTTCTGCCCTATTCTGTTTCCTGTGACAGAAGAAG
ACCCCATTTTGAAGCAGTTTTAGTCGCTGCCTTAAGGCAGATGTACTTGGTGTGTTGG
CGGCGAGATCAAAGACCTGGAAGAAGAGAATTGTGGATATTTTGGTGGGGTGAAGA
CCCCAGTTTTGCTGACCTTATTCACCATGACTTATCAGAAGAAGAAGATGGAGTGT
GGGAGAATGGACTTTTCTATGAATGCCGTACTCTGCTTTTCAAAGCAGTTCACAAT
CTATTGGAACGGTGTGTTAATGAACAGGAATTTTGTACGTATTGGCAAGTGGTTTGT
AAAGCCTTATGAAAAAGATGAAAAACCTATAAATAAAAGTGAACACTTGTCTGCT
CCTTCACCTTTTTCTTGCATGGAGACAGCAATGTTTGTACCAGTGTGGAAATTAAC
CAACATCAACCTGTATACCTTCTCAGTGAAGAGCATATCACCTTGCTCAACAGTC
TAATAGCCCATTTCAAGTTATCTTATGCCCATTTGGACTAAATGGCACTCTCACAG
GACAGGCATTCAAGATGTCTGATTCAGCTACAAAAAATTAATTGGTGAATGGAAA

40

50

CAGTTCTATCCTATCTCATGTTGCTTGAAGGAGATGTCTGAAGAAAAACAGGAAGA
TATGGATTGGGAAGATGATTCTTTAGCTGCAGTAGAAGTTCTTGTTGCTGGTGTCC
GAATGATCTACCCAGCATGCTTTGTTCTAGTCCCTCAGTCAGACATTCTACTCCTA
GCCCTGTGGGATCCACTCACTGTTTCATCTTCTTGCTTGGGTGTCCACCAAGTGCCTG
CTTCCACAAGAGATCCTGCTATGTCTTCGGTTACGCTTACACCACCTACGTCTCCTG
AGGAAGTCCAAACAGTTGATCCTCAGTCTGTCCAGAAGTGGGTCAAATTTTCTTCA
GTATCTGATGGCTTCAACTCCGATAGTACTAGCCACCATGGTGGGAAAATACCCAG
AAAATTAGCAAATCATGTGGTGGATAGAGTTTGGCAAGAATGCAATATGAACAGAG
CACAGAACAAGAGGAAGTATTCTGCTTCATCAGGTGGTCTATGCGAAGAAGCGACA
GCTGCTAAAGTGGCATCCTGGGATTTTGTGTTGAAGCCACACAAAGAACAATTTGCAG
TTGTTTGGAGGCACAAAAATCTCAAGTCAAGAAATGCTGGACAACAAGGACAGGCAC
CATCTTTAGGTGAGCAACAACAATACTTCCTAAGCACAAGACCAATGAGAAGCAA
GAAAAGAGTGAAAAGCCACAGAAACGCCCTTGACTCCTTTTACCATCGTGTGTC
TGTTAGTGATGATGTTGGCATGGACGCAGATTTCAGCCAGCCAAAGACTTGTGATCT
CTGCTCCAGACAGTCAAGTGAGATTTTCAAATATCCGAACTAATGATGTAGCAAAG
ACTCCTCAGATGCATGGCACCGAAATGGCAAATTCACCTCAACCACCCCACTTAG
TCCTCACCTTGTGATGTGGTTGATGAAGGAGTGAATAAACACCTTCAACTCCTC
AGAGTCAACATTTTTATCAAATGCCAACACCAGATCCCTTGGTTCCTTCTAAACCA
ATGGAAGATAGGATAGACAGTTTGTCCCAGTCTTTCCACCTCAATATCAGGAAGC
TGTAGAACCTACAGTATATGTTGGTACAGCAGTAACTTGGGAAGAAGATGAAGCCA
ATATAGCCTGGAAGTATTACAAGTTCCCAAAGAAAAAAGATGTAGAGTTTTTACCA
CCTCAACTTCCAAGTGATAAATTCAAGGATGATCCAGTTGGACCTTTTGGACAGGA
AAGTGTAACATCAGTTACAGAGTTAATGGTGCAATGTAAGAAACCTTTAAAGTTT
CTGATGAATTAGTGCAGCAATATCAAATTA AAAACCAGTGTCTTTCAGCAATAGCA
TCTGATGCAGAACAAGAACCTAAAATTGATCCATATGCATTTGTTGAAGGAGATGA
GGAATTCCTTTTCTGATAAAAAAGATAGACAAAATAGTGAGAGAGAAGCTGGAA
AAAAACACAAGGTAGAAGATGGGACATCTAGTGTAACAGTGTTATCACATGAAGAA
GATGCTATGTCATTATTTAGTCCCTCTATCAAGCAAGATGCTCCACGCCCTACTAGT
CATGCCCCGTCTCCATCAACAAGTTTGAATTTATGACTCAGACCTGGCTGTCTCTTAT
ACTGACCTTGATAATCTCTTCAATTCTGATGAAGATGAACTAACACCTGGATCTAA
AAAATCAGCAAATGGATCAGATGATAAAGCCAGCTGCAAGGAATCAAAGACAGGAA
ATCTGGACCCGTTATCTTGCATAAGCACTGCAGATCTTCATAAAATGTATCCTACA
CCACCATCATTGGAACAACATATTATGGGATTTTCCCAATGAATATGAATAATAA
AGAATATGGTAGTATGGATACAACACCTGGAGGAACTGTTCTAGAAGGAAATAGTT
CTAGTATAGGAGCGCAGTTCAA AATTGAGGTTGATGAGGGATTCTGTAGCCCCAAA
CCTTCTGAAATTAAAGATTTTTCTTATGTCTATAAGCCTGAAAATTGTCAAATTCTA
GTGGGATGTTCCATGTTTGCACCTCTAAAACTCTACCAAGCCAATATCTGCCCCC
TATCAAATTGCCAGAAGAGTGTATTTACCGTCAGAGTTGGACTGTTGGAAAATTGG
AATTGCTTTCTTCAGGGCCTTCAATGCCATTTCATCAAAGAGGGTGATGGAAGTAAT
ATGGATCAAGAATATGGCACTGCTTATACACCTCAA ACTCATACTTCTTTTGGGAT
GCCTCCTAGCAGTGCACCTCCTAGTAACAGCGGAGCAGGAATTCTTCCTTCTCCAT
CCACCCCTCGGTTTCCA ACTCCAAGGACTCCAAGGACTCCTCGGACTCCTCGTGGA
GCTGGTGGACCTGCTAGTGCTCAAGGTT CAGTCAAATATGAAAATTCAGACTTGTA
TTCACCAGCTTCTACCCCATCTACATGCAGACCCCTTAATTCTGTTGAACCTGCAAC
TGTCCCTTCCATCCCTGAAGCACACAGTCTTTATGTAAACCTCATCCTTTCAGAATC
AGTTATGAATTTGTTTAAAGACTGTAAC TTTGATAGTTGTTGCATCTGTGTTTGCA
ACATGAACATCAAGGGTGCCGATGTTGGAGTTTACATTCCAGATCCAACGCAGGAA
GCACAATATAGGTGTACCTGTGGCTTCAGTGCTGT CATGAACAGAAAATTTGGAAA
CAATTCAGGATTATTTCTTGAAGATGAACTAGATATCATAGGACGCAATACAGACT
GTGGCAAAGAAGCAGAAAAACGTTTTTGAAGCTCTCAGGGCTACCTCTGCTGAACAT

10

20

30

40

50

GTTAATGGAGGACTAAAGGAATCTGAAAAATTATCTGATGATTTGATATTATTGCT
ACAAGATCAGTGCACATAATTTATTTTCACCCTTTGGAGCAGCAGACCAAGATCCTT
TTCCTAAAAGTGGTGTAAATTAGCAATTGGGTACGTGTTGAAGAGCGTGACTGTTGC
AATGACTGCTACCTTGCATTAGAACATGGGCGTCAGTTCATGGATAACATGTCAGG
AGGAAAAGTTGATGAAGCACTTGTGAAAAGTTCATGCTTACACCCCTGGTCCAAAA
GAAACGATGTGAGTATGCAGTGCTCACAGGATATACTTCGAATGCTCCTCTCTCTT
CAGCCAGTTCTTCAGGATGCCATTGAGAAAAAAGAACAGTAAGACCTTGGGGTGT
TCAGGGTCCTCTCACTTGGCAACAATTTATATAAATGGCTGGCCGAGGCTCTTATG
GAACTGATGAATCCCCAGAACCACTGCCAATCCCCACATTTTGTGGGTTATGAT
TATGATTATCTGGTGTCTTTCTCCATTTGCTCTTCCTTATTGGGAGAGACTTATGCTG
GAACCCTATGGATCTCAAAGAGATATAGCCTATGTTGTACTGTGTCCAGAAAATGA
AGCCTTGTTAAATGGAGCAAAAAGCTTTTTTATAGAGATCTTACTGCAATATATGAGT
CCTGTCGATTAGGTCAACATAGACCTGTTTCTCGACTGTTAACAGATGGGATCATG
AGAGTTGGATCTACTGCATCAAAGAACTATCAGAAAAGTTGGTAGCAGAATGGTT
TTCTCAGGCAGCTGACGGTAACAATGAAGCATTTTCTAAACTCAAGCTTTATGCAC
AAGTCTGCAGATATGACCTAGGTCCTTATCTTGCTTCCCTGCCATTGGACAGCTCTC
TACTTTCCAGCCAAATTTAGTTGCCCTACAAGTCAGTCTTTGATTACTCCACCTC
AGATGACAAATACTGGAAATGCTAATACTCCATCTGCCACCTTAGCATCTGCAGCG
AGCAGCACTATGACAGTGACTTCAGGTGTTGCCATATCTACTTCAGTTGCCACAGC
TAATTCAACTTTGACCACAGCTTCAACTTCATCTTCATCATCCTCCAACCTGAATAG
TGGAGTATCATCAAATAAACTACCTTCGTTTCCACCCTTTGGCAGTATGAACAGTA
ATGCTGCAGGATCCATGTCTACACAAGCAAATACAGTTCAGAGTGGTCAGCTAGGA
GGGCAACAGACATCAGCTCTACAGACAGCTGGGATTTCTGGAGAATCATCTTCACT
TCCCACTCAGCCGCATCCTGATGTGTCTGAAAGCACGATGGATCGGGATAAAGTGG
GAATCCCCACAGATGGTGATTACATGCAGTCACGTATCCACCTGCAATTGTTGTT
TATATAATTGATCCTTTTACATACGAAAATACAGACGAGAGCACTAACTCTTCTAG
TGTGTGGACATTGGGGCTACTTCGATGCTTTCTAGAAATGGTCCAGACTCTTCCTC
CTCATATCAAGAGTACTGTTTCTGTACAGATTATTCCTTGTCAGTACCTGTTGCAAC
CTGTGAAGCATGAAGATAGAGAAATCTATCCCCAGCATTTTAAAATCCCTGGCTTTT
TCGGCCTTTACCCAGTGTCGGAGGCCACTTCCAACATCAACCAATGTGAAAACATT
GACTGGCTTTGGTCCAGGTTTATGCCATGGAAACTGCCCTTAGAAGTCCTGATAGAC
CAGAGTGTATTGACTTTATGCACCTCCTTTTATTCTGGCTCCAGTGAAGGACAAA
CAGACAGAGCTAGGAGAAACATTTGGAGAACTGGACAGAAATATAATGTTCTTTT
TGTGGGATACTGTTTATCACATGATCAAAGGTGGATTCTTGCATCTTGCACAGATC
TATATGGAGAACTTTTAGAACTTGTATCATTAACATCGATGTTCCAAATAGGGCT
CGTCGGAAAAAAGTTCTGCTAGAAAATTTGGTCTACAGAACTTTGGGAGTGGTG
CTTAGGACTTGTACAAATGAGTTCATTGCCATGGAGAGTTGTAATTGGTCGTCTAG
GAAGGATTGGTCATGGAGAATTGAAAGATTGGAGCTGTTTGCTGAGTCGTCGAAAC
TTGCAGTCTCTAAGTAAAAGGCTCAAAGACATGTGTAGAATGTGTGGTATATCTGC
TGCAGACTCCCCTAGCATTCTCAGTGCTTGCTTGGTGGCAATGGAGCCGCAAGGCT
CTTTTGTATTATGCCAGATTCTGTGTCAACTGGTTCTGTATTTGGAAGAAGCACG
ACTCTAAATATGCAGACATCTCAGCTAAATACCCACAGGATACATCATGTACTCA
TATACTTGTGTTTCTACTTCTGCTTCTGTGCAAGTAGCTTCAGCTACTTATACCAC
TGAAAATTTGGATTTAGCTTTCAATCCCAACAATGATGGAGCAGATGGAATGGGTA
TCTTTGATTTGTTAGACACAGGAGATGATCTTGACCCTGATATCATTAATATCCTTC
CTGCTTCTCCAACCTGGTTCTCCTGTACATTCTCCAGGATCTCATTACCCCATGGAG
GTGATGCGGGCAAGGGTCAGAGTACTGATCGGCTACTATCAACAGAACCTCATGAG
GAAGTACCTAATATTCTTCAGCAACCATTGGCCCTTGGTTACTTTGTATCAACTGCC
AAAGCAGGTCCATTACCTGACTGGTTCTGGTCAGCATGTCCTCAAGCACAAATATCA
GTGTCCCCTTTTTCTTAAGGCCTCTTTGCACCTCCACGTGCCTTCAGTGCAATCTGA

10

20

30

40

50

CGAGCTGCTTCACAGTAAACACTCCCACCCACTTGACTCAAATCAGACTTCAGATG
TCCTCAGGTTTGTGTTTGGAACAGTACAATGCACTCTCCTGGCTAACCTGTGACCCTG
CAACCCAGGACAGACGCTCATGTCTCCCAATTCATTTTGTGGTGCTGAATCAGTTA
TATAACTTTATTATGAATATGCTGTGATCTTCATTTGATGGAACCTGTGCAAGAAAA
GAACAAGGAAAAAATGGATGTTTTCGCTGCAGGATTAAGTTACAATTATCTTCTCAGT
GAAGGTCATTTGTGATGGGGTCTAATTCTTATTACTTCAACAAATATTGTTTTGACT
TGGGGGGGAGGGGCTATAACCCCTGCTATTTTTTCATTGACTCTATTGAACTCTTTAGG
ATGATGACTGATCATACAAAACGTATTATAACATTTTCGTAGCAAAATTAACCTTT
TTTTTTTCCAGTCACAGTATTTGTGAAAAGTAATGAGCCATAGTACCCAGTCATGT
TAAATGAATATTA AAAAGCATGGAGAGGAAACATGAGGAACAATGAATTTCAACATA
TGGCTTCAGAACATGAAGATGTTCTTGTATGGATTATAGTATCTAGTATTCAAAAA
TGCCTGCATCTCTTCTCTTATTTATTGTAAGTTTTTAAATGTATAAATTGTCTTATA
TTTCTTAACCTCTTTTATAAAAAATTTTCTAGAAAGGTTTATACTGCCTTCTTGCTTT
AAAGCAATTGGTCTAAAATATATGTAATCGTCTTAATTA AAAAGTTGCAGTAGGGT
TGCTTTT TAGAGTATTATTTTTTTTGTAAAGGGGGTGGGTGGGACAGTAAATTTGTATT
GTCTCGATGTACAGTTTAAACGGGGATAGAGGGGGAATAATGTCCATACCATTGTGT
GTGGAGGATTTACAGCTAAGCTGTAGTTGCAGAGTACATGTACAGTAATGAAGTTC
ACTGTGTTTATAAATTGAAAAGGTACCAGGTCTTACAGCATTTTATATATCACATC
TTTACAGAATAACATGATGGCAATATACAAGTGGTATTGTTAGGTGGTTTAACTTA
GAATAAAATGAGAATTCTTCAGTTATATTTTGTACTATGGTTTAGGGCTATGACTA
ATATTTTCAGGCCATTTCCGGTGAAAGAACTTAGTTTTACAAGAAAAACCATTTGC
TACTGAATGCTTAAACTAATTTTAGTGTTTAATGTTACATGCTTAAATTTTTTTTCAG
TTTTAACAGTGGCATATTTAGGCATGGAAATATTATTATGAAATTTATTTTTCAGGA
TCTGCTATAAGGTTGAAATTTAGCCCAGCTCTAGGCATTTTACAAATTATTTTTTCAA
GCAGTCATTCTTGATTGTTTGACTTTTTTTTTTAAATTAAGATTGGGAATGTATGT
GAGAGTATGCATATGTATGGGTGTGTGTGTGTGCGCGCAATCAAACCTGTGGTGTA
ATAGATTCTCAGTGAATTCTGGTATTCAGACTCTATTCCACTAGTGAAAGAACCAT
TTTTTAAACTTCCCTTGCCTTTTTTATTTATTTAATTTCTTGGTTTGGAGATGTCA
GTCCCAAACACCAGAGTCTGTACTTTTTCTATAACACAGCTCAGATTAAGGTAGGGC
ATATGCCAAGGAGGTTCTCACCTCCCTAAAGAAGGGACTTGAATTTTAGGGACTTT
AATTCACCCCTCCTTCAATACAACCTTTCCCCCTTCTTGTTTGCACATGCCAAGATAA
CTGCTTTTATGCAGGCTGTACCCCTTGAAAAATCCTTTCTACAGTGCTGCTCACAA
AAGAGCCCAAGTTCGCCTCCTACCTGCATTGCTGACTTGAATTCACAGTCGCCGAG
TCTACCTAGCTTTCTTGGAAGCAGTCTAGCAAAATTTCTATTTGTACGTTCACTAAT
TATCTACAAGGACAAAATCAGTTGTATTTACAAAACCTCTACTTCAGTGTTTGT
AGTTTTTTTTTTTACTGAACTTGTTTTTGTGAATACTCTGTGCTTAGAATTAATA
TCACTTTCTTATGAACAACATAACTTCTTCAGATTGTGTATATGAAAACATTAGCA
AGTCTTGTTTTTTCTATGAAGCAAACACAATTGGTGACAAAGGTTGTCAATCATTT
CTTCAAAATTATAATGCAGTTCTAATGGTCAGCATATTTTGATATTAAATTTAAAG
ATCACCTCTCTGCATTTGTTTTTAAATTATGCTAATACCCACACATTATGTTGGTA
TGTTTTGTTCTGTACTTTCTTTAAAAA AAAAAAAAAAACTTGTCTGAGATTTGAAG
GAAAATGTGCTTATTTGGAATTTCCATAAAAAGAGTATCCTTTTTATACACTTAAT
AGTGACTTTACAAAATAAAAGTTATATTCTCAGTTGTTTAAAATCACTAACCTATG
ATAACCACACCTCAATTTGAAAGTAGATTTAAAATTATTCCCTGACAGGTTATTTA
ATATGGAGCCATAAGGAGGGAACCCAGTACACAATTATTTTTTATTGGGAATCAG
GGAATAGTTCCCAAATATACAGGATTTATTGATAAGATTTTTTTTCTTCCCTTCATA
TATCCATTCAAACCTCAATGGAAAGTTATTAAATAACCATTAGAAAAGCTCAGTAGA
CTTATTTGAGAAATTAAGCCTTGTCAGGATGATGGATTTGACTTACTAATGTACT
GTCACAGACAAATATGGGTAGTTTTGTTTAAATAGGTAAGCAAAATATTATACTTT
ATAGCAGTGGATTACCAACACCTTGACTTCTTTGTTACAGTGCTAACATCTTTTTTT

10

20

30

40

50

TTGTGCAGGTATCCATGATTATTAAGCAGGGTGGGAAGTTCAGTATTTTGTCAATTTA
AAAAGATTAGTTATATAATGTCTGCTTCCAGCCAGTGAGAAACATCTAGCCATACC
TTTCTTATGCAAGCCATTGAGTTATCAGGACTGTGAATTAACACTGTATGAATAAA
TTTCTGTACACCTTATTGTTTGGCCAGAAGGCCACCAAGTGTACTTATATGTAATCC
TTAAATTTTAAAGTAGCTGTAATTTTAAATATTTCTAAACTTTTCTTAAACCACTA
AAATTAAGCTCTTACTACTTAGTCAACTATCCTCAGCTGTATTCTGTACTCAATTGTC
AGTATGGCACAGATTACTGTATTAAATATTCTCCTTTTCGTCTTCATATTTACCTTC
TGAGGTAATTTTTTAACTTAATGTGTTACTACAAAGATTTGCAGATCTTTAATCAA
GCACTATGTTAATACTGTAATATCAGAATACTATGTTGCATTATTTAAAATGTTCA
AATTGAATAGATTAAAAAGTTTTTAAATGCTATTGCATCATATAATTTGCTATTCA
TCCACTATGGCATTGCATATCAATCAGTTAATACACTTAATGTTGCATGAGTGATA
TTTTGGTCTGGGTTTCTCTTAAGATTTTAGTTTTGTCTGAATTAAGGAAAAATGTTT
TTAATATACATTCTTATTTTGTCCCACCCCTCCAGAAATAAGCTGGAAATCTTAACT
TTTTGGGGGGTCTTTTTTGGTGTTTTAAATGGGCCCAGAAGTGTGGTTTAAATTTTTA
TGTATGTATTTTCTTTTTTGTGGAGTATAAATTTAAAAACTGGATTTGGGACCTAA
AATACTCCTCAGGTTGATGTATTCATGAAGTTTTTAAACATCTTTAGTTTTTCAAAG
TAAACTGGATATGTGGACCTTAAAGTTATTGAGTTTAAAGCTACAAATTGTAACGTC
ATTACTGGACATGTCAGCATCAACCCTCTCAAATAGCTTGGTCACTTTATGAAGG
GGCGTTTTA
AAGTTGTTGTTTAGCAGTGACATTTAATATGGTCCAATTGCTTTTCTTTTTAACGTG
ACAAAAAGAGAATAAGGAACAAACACTATTGCTGCCGAATGCCATAACACTGAGTT
GTACAAATTGTGATTGAGGAAATGAAAAGGTTTATACTTTTTAAAAAAAAAAAAAAC
AAAAACAAAAACAAACTTCAAATGGAATAAATTATTCATGAAGCCTTCA(配列番
号888)

10

20

【0501】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、遺伝子ID:327987
;NCBI参照番号:NM_001080931.2によって以下に提供されるように、マウスMED13
配列に対する相補性領域を有し得る:

CTCTCTGGTCGGAGGCGGCGGTAATGGCGGATGGTGGGTTGTGGCGCCGGCGGCGG
CTGCTGTGAGGGACGATGAGTTCCTCCTTCGTGTGCGAACGGGGCCAGCCTGGAAGA
TTGTCACTGTAACCTCTTCTGCCTGGCCGACTTGACAGGAATTAAGTGGAAAAGAT
ATGTATGGCAAGGCCCAACTTCCGCCCCTATTCTGTTTCCGGTGACAGAAGAAGAC
CCCATTTTGAGCAGTTTTAGTCGATGCCTTAAGGCAGATGTACTTGGTGTGTTGGCG
GCGAGATCAAAGACCTGGAAGAAGAGAATTGTGGATATTTTGGTGGGGTAAAGATC
CCAATTTTGTGACCTTATTCACCATGACTTATCAGAAGAGGAAGATGGAGTATGG
GAGAATGGCCTTTCCTATGAATGCCGTACTTTGCTTTTCAAAGCAGTTCACAATCT
GTTGGAGCGATGTTTGATGAACCGAACTTTGTACGAATTGGCAAGTGGTTTGTGA
AGCCATATGAGAAAGATGAAAAACCTATAAATAAAAGTGAACACTTGTCTCTGCTCT
TTCACCTTTTTTCTTGCATGGAGACAGCAATGTTTGTACCAGTGTGGAAATTAACCA
ACATCAACCTGTATACCTTCTCAGTGAAGAGCATGTCACCCTTGCTCAACAGTCTA
ATAGCCCATTTCAAGTTATCTTAAGTCCATTTGGACTAAATGGCACTCTCACGGGA
CAGGCTTTCAAGATGTCTGATTCAGCTACGAAAAAATTAATTGGTGAATGGAAACA
GTTCTATCCTATTTTCATGTGGTTTGAAGGAGATGTCTGAGGAGAAACAGGACGATA
TGGATTGGGAAGACGATTCTTTGGCTGCGGTGGAAGTTCTTGTTGCGGGTGTCCGA
ATGATCTACCCAGCATGCTTTGTGCTAGTCCCTCAGTCAGACATTCTGCTCCTAGC
TCTGTGGGAGCTTCTCACTGTTTCACTTCTTGCTTGGGTATCCATCAAGTGCCTGCT
TCCACAAGAGATCCTGCTATGTCTTCAGTTACTCTCACTCCACCTACATCTCCTGAG
GAAGTCCAAACAGTTGATCCTCAGTCCGCACAGAAGTGGGTCAAATTTTCTTCAGT
ATCCGATGGCTTCAGCACTGACAGTACTAGCCATCATGGTGGGAAAATACCCAGAA
AATTAGCAAATCATGTGGTGGATAGAGTCTGGCAAGAATGTAATATGAACAGATTA

30

40

50

CAGAACAAGAGGAAGTATTCTGCTACATCCAGCGGCCTGTGTGAGGAAGAGACTGC
CGATAAAATAGGATGCTGGGACTTTGTTGAAGCCACACAAAGAACAAGCTGCAGTT
GTTTGAGGCATAAAAGTCTCAAGACAAGAAATACTGGGCAACAAGGACAGGCACCA
TCTTTAGGGCAGCAACAGCAAGTACTTCTAAGCACAAAGACCAATGAGAAGCAAGA
CAAGAGTGAGAAGCCACAGAAGCGCCCTTGACTCCCTTTTACCATCGTGTATCAG
TTAGTGATGAGATTGGCATGGACACAGATTCAGCCAGCCAAAGACTTGTGATCTCT
GCTGCAGATAGTCAAGTGAGGTTTTTCAAACATCCGAACATAATGATGTAGCAAAGAC
TCCTCAGATGCATGGCACTGAACTGGCAAATTCACCTCAGCCTCCCCACTTAGTC
CTCATCCTTGTGATGTGGTTGATGAAGGAGTGACTAAAACACCTTCAACTCCGCAG
AGTCAACATTTTTTATCAAATGCCAACACCGGATCCCTTGGTTCCTACCAAACCAAT
GGAAGATAGGATAGACAGTTTTGTCCCAGTCTTTCCCACCTCCATTTTCAGGAAGCTG
TAGAACCTACCGTGTATGTTGGTACAGCAGTAAGCTTGGGAAGAAGATGAAGCTAAT
GTAGCCTGGAAGTATTACAAAGTCCCAAAGAAAAAAGATGTAGAATTTTTTACCACC
TCAACTTCCAAATGATAAATTCAAGGATGATCCAGTTGGACCTTTTGGACAGGAAA
GTGTAACATCAGTTACAGAGTTAATGGTGCAGTGTAAGAAGCCTTTAAAAGTTTCT
GATGAAATAGTCCAGCAATATCAAATTAATAAATCAGTATCTTTTCAGCAATAGCATC
TGATACAGAACAAGAACCCTAAAATTGATCCATATGCATTTGTTGAAGGAGATGAGG
AATTCATTTTTTACTGATAAAAAAGATAGACAAAATAGCGAGAGAGAAGCTGGGAAG
AAACACAAGGTGGAAGATGGGACATCTGCTGTACAGTGTTATCACACGAAGAAGA
TGCTATGTCATTATTTAGTCCCTCTAAACAAGATGCTCCACGCCCTACAAATCATG
CCCGTCCTCCATCAACCAGTTTGATTTATGACTCAGATTTGGCTGTGTCTTACACTG
ACCTTGATAACCTCTTCAATTCTGATGAAGATGAATTAACACCTGGATCTAAAAAG
TCAGCAAGTGGATCAGATGATAAAGCCAGCTCCAAAGAATCAAAGACAGGAAATCT
GGATCCGTTGTCCTGCATAAGCACTGCAGACCTCCACAAAATGTACCCACAGCCAC
CCTCACTGGAACAGCACATTATGGGCTTCTCTCCAATGAATATGAATAACAAAGAA
TACGGTAGTGTTGGACACAGCACCCGGAGGGACTGTCCTGGAAGGAAATAGCTCTAG
TGTAGGAACGCAGTTCAGAATCGAGGTCGAGGAAGGATTCTGTAGCCCTAAACCGT
CTGAAATTAAAGATTTTTTCTTATGTCTATAAGCCCGAAAATTGTCAAGTCTAGTA
GGATGTTCCATGTTTGACCTTTTAAAAACTCTACCAAGCCATTGTCTGCCTCCTATC
AAATTGCCAGAAGAGTGTTGTTTACCGGCAGAGCTGGACTGTTGGAAAATTGGACTT
GCTTCCTTCAGGCCCTTCAATGCCATTTCATCAAGGAGGGTGATGGCAGTAATTTGG
ATCAGGACTATGGCCCCGCCTACACACCGCAAACCCATGCTTCTTTTGGGATGCCT
CCGAGCAGCGCACCTCCTAGTAATGGTGGTGCAGGAATTCTTCCTTCCCCATCCAC
CCCTAGGTTTTCAAACCTCAAAGGACTCCAAGGACTCCAAGGACCCCTCGTGGGGCTG
GTGGGCCTGCTAGTGCTCAAGGTTTCAGTCAAGTATGAGAATTCAGACTTGTATTCA
CCAGCTTCCACCCCATCTACATGCCGACCCCTCAATTCTGTTGAACCTGCAACTGTT
CCTTCCATCCCTGAAGCGCACAGTCTTTATGTAAACCTCATCCTTTCAGAATCAGTA
ATGAATTTGTTTAAAGACTGTAATTTTGATAGTTGCTGTATTTGTGTCTGCAATATG
AATATCAAGGGTGCCGATGTTGGAGTTTACATTCCAGACCCAACCCAAGAAGCACACA
GTATCGGTGCACCTGTGGCTTCAGTGCTGTCATGAACCGAAAATTTGGAAATAATT
CAGGATTATTTCTTGAAGATGAACTTGACATCATAGGACGTAACACAGACTGTGGG
AAAGAAGCAGAAAAACGTTTTGAAGCTCTCAGGGCTTCTCTGTGGAGAATGTTAA
TGGAGGCCTGAAGGAATCTGAAAAGGTGCCTGATGAATTAATATTACTGCTACAAG
ATCAATGCACTAATTTATTTTACCCCTTTGGAGCAGCAGACCAAGATCCTTTTCCCA
AAGTGGGTATAAGTAGCAATTGGGTGCGTGTTGAGGAGCGGGACTGTTGTAGTGAC
TGCTGCCTCGCCTTAGAACATGGGCGTCAGTTCATGGATAATATGTCAGGAGGGAA
AGTTGATGAAGCACTTGTGAGAAGCTCATGCTTACATCCGTGGGCCAAGCAAAATG
ATGCGAGCGTGCAGTGTTACAGGATATACTTCGGATGCTCCTTTCTCTTCAGCCA
GTTCTTCAAGATGCTATTCAGAAAAAAGAACAGTGAGGCCTTGGGGTGTTCAAGG
TCCTCTCACATGGCAACAATTTCATAAAATGGCTGGCCGAGGCTCTTATGGAAGT

10

20

30

40

50

ATGAATCTCCGGAACCACTGCCGATTCCCACGTTTTTGTGGGTTATGATTACGATT
TTCTGGTGCTTTCTCCATTTGCTCTCCCTTACTGGGAGAACTTATGCTGGAACCCT
ATGGATCTCAAAGAGATATAGCCTATGTTGTACTCTGTCCAGAGAATGAAGCTTTG
TTAAATGGAGCCAGAAGCTTTTTTAGAGATCTCACTGCAATATATGAGTCCTGTCG
ATTAGGCCAACACAGACCTATTTCTCGATTGTTGACGGATGGGATCATGAAAGTGG
GAGCTACTGCATCAAAGAACTTTCAGAAAAGTTTGTAACAGAATGGTTTTCTCAG
GCAGCTGATGGTAACAATGAAGCATTTTCCAAATTGAAGCTGTATGCACAAGTCTG
CAGATATGATTTAGGTCCATATCTTGCTTCTCAGCCGTTGGACAGCTCTCTGCTCTC
CCAGCCAAATTTAGTTGCCCTCCAAATCAGTCTTTGGTTACTGCACCTCAGATGA
CAAATACTGGAAACGCTAATGCTCCATCTGCCACCTTAGCATCTGCGGCAAGTAGC
ACTATGACAATGACTTCAGGTGTTCCCATATCTACTTCAGTTGCCACAGCTAATTC
AACTTTGACCACAACCTTCATCTTCATCATCTTCCAGTCTGAGTAGTGGAGTATCATC
AAATAAACTGCCTTCGTTTCCACCCTTTGGCAGTATGAACACTAGTGGTACAGGAT
CCATGTCTGCACAAGCAAGTACGGTTCAGAGTGGCCAGCTAGGAGGACAGCAGTCG
TCATCTCTGCAGGCAGCAGGAATATCAGGGGAGTCAGCTTCTCTTCCCACTCAGCC
ACATCCTGATGTGTCTGAAAGCACAAATGGATCGTGATAAAGTGGGGATTCCCACAG
ATGGTGATTCACATGCAATTACCTACCCTCCTGCAATTGTTGTTTATATAATCGATC
CTTTTACATATGAAAATAAAGACGAGAGCACTAACTCTTCTAATGTATGGACTTTG
GGGCTCCTTCGATGCTTCTTGGAATGGTCCAACTCTTCTCCTCATATCAAGAG
CACTGTTTCTGTGCAGATTGTTCTTGTGAGTACCTGTTACAACCTGTGAAACACG
ACGACAGACAGATCTACTCCCAGCATTTAAATCTTTGGCTTTTTTCGGTGTTTACCC
AGTGTCGGAGACCACTTCCAACATCAACCAATGTAAAAACACTGACTGGGTTTGGT
CCAGGCTTAGCTATGGAACTGCTCTTAAAGTCTGTAGACCAAGAGTGTATTG
ACTTTATACACCACCTTTTATTCTGGCTCCGGTGAAGGACAAACAAACAGAGCTAG
GAGAGACCTTTGGAGAAGCTGGACAGAAATACAATGTTCTTTTTGTGGGCTACTGT
TTATCACATGATCAAAGGTGGATTCTTGCATCTTGCACAGATCTATATGGAGAACT
CCTAGAAACATGTATCATTAAACATCGATGTTCCAAATAGGGCCCGTCGGAAAAAGG
GTTCTGCTAGAAGATTTGGTCTACAGAACTGTGGGAGTGGTGCTTGGGACTTGTT
CAGATGAGCTCTTTACCATGGAGAGTTGTGATTGGTCGCCTGGGAAGGATTGGACA
TGGAGAGTTGAAAGATTGGAGTTGTTTGCTGAGTCGTCGAACTTGCAATCTCTAA
GCAAAAGGCTCAAAGACATGTGTAGGATGTGTGGCATATCTGCTGCAGACTCTCCA
AGTATCCTTAGTGCTTGTTTGGTTGCAATGGAACCCCAAGGTTCTTTTGTATCATG
CCAGATTCTGTGTCAACTGGTTCTGTTTTTGGAAAGAAGTACCACTCTAAATATGCA
GACGCCTCAGCTAAATACCCCAACAAGATACATCCTGTACTCATATACTTGTGTTCC
CTACTTCTGCTTCTGTGCAAGTAGCTTCAGCTACTTACACCACTGAAAATTTGGATT
TAGCTTTCAATCCCAACAATGATGGAGCAGACGGAATGGGTATCTTTGATTTATTA
GACACAGGAGATGATCTTGATCCTGATATCATTAAATATCCTTCCTGCATCTCCAAC
TGCATCTCCTGTACATTCTCCAGGCTCTCATTACCCCATGGAGGTGATGCTGGCA
AGGGTCAGGGTACTGATCGGCTACTTTCAACAGAATCGCATGATGAAGTAACTAAT
ATTCTTCAACAACCAATTGGCCCTTGGATACTTTGTATCAACTGCCAAAGCGGGTCC
ATTACCTGACTGGTTCTGGTCAGCATGCCCTCAAGCACAATATCAATGCCCCCTTTT
TCTTAAGGCCTCTTTGCACCTCCACGTGCCTTCAGTGCAATCTGACGAGCTGCTTCA
CAGCAAACTCCCACCCACTGGACTCAAATCAGACTTCAGATGTCCTCAGGTTTG
TTTTGGAACAGTACAATGCACTCTCATGGCTAACCTGTGACCCTGCAGTCCAGGAC
AGACGCTCATGTCTCCAGTTCATTTTGTGGTGCTGAATCAGTTATATAACTTCATC
ATGAATATGCTGTGATCCTCGTTTGATGGAATTACGCAAGGAAAGAACGGGAAGAA
AGGATATTTTGTGCAAGATTAAAGTTACAGTTCTCAGTGGAAGTCATTTGTGATGG
GGTCTAATTCTTATTACTTCAACAAATATTGTTTTGACTTGGGGGGCGGGGCTATA
ACCCTATTTTTTCAATTGACTTTACTGAGCTCTTTAGGATGATGACTGATTATTCAAAA
CGTATTATAACACTTTCGTAGCAAAAATTAACCTTTTTTTTCCAGTCACAGTATTTG

10

20

30

40

50

TGAAAAGTAATGAGCCATAGTACCCATTAATGTTAAAGAATATTTAAAGCATGGAGA
GGAACATGAGGAACAATGAATTCCAACATATGGCTTTAGAACATCAGGATGTTCTT
GTATTGGATATAGTATCTAGTATTCAAAAATGCCTGCATCTCTTATTTATTGTAAGT
TTTTAAATGTATAAATTGTCTTATATTTCTTAACCTCTTTTATAAAAATTTTCCTAG
AAGGTTTATACTGCCTTCTTGCTTTAAAGCAATTGGTCTAAAATATATGTAATCGT
CTTAATTTAAACGTTGCAGTAGGGTTGCTTTTAGAGTATTATTTTTTTGTAAGGGG
GTGGGGTGGACAGTAAATTTGTATTGTCTCAATGTACAGTTTAAACAGGGATAGAGG
GGAAATAATGTCCATGCCATTGTGTGTGGAAGATTTACAGCTAAGCTGTAGTTGCA
GAGTACATGTACAGTAATGAAGTTCAGTGTGTTTATAAACTGAAAAGGTACCGGGT
CTTACAGCATTTTATATATCACACCTTTACAGAATAACATGATGGCAATATACATA
CGTGATATTGTTAGGTGGAATAACTTAGAATAAAATGAGAATTCTTGAGTTATATT
TTGTACTATGGTTTGGGCTATGACTAATATTTTCAGGCCATTTCCAGTGAAAGAAA
CTTAGTTTTACAAGAAAACATTTGCTACTGAATGCTTACACTAATCTTGGTGTTTA
ATGTTACATGCTTAAATTCTTTTCAGTTTTACAGTGGCACATTTAGGCATGGGGA
TAGTACTAATTATGAAATTTCTGTCAGGATCTGTTCTAAGGTTGAAATTTAGCCCA
GCTCTAGGCATTTTACAAATTATTTTAAGAACAGTCACTCTTGATTGTTTTACTTTT
TATTTTTAAATTAAAGATTGGGAATGCGTGTGAGAGTATGCATAAGCATGGCAGGA
AGAGAGGGGGGAGAGAGAAAGAGAGAGAGAGTGAAGAAAGAGAGAGTGAAGAG
TGTGTGTGTATATGTGTGTGTGTGTGCAATCAAACCTGTGGTGTAATAGATCCTCA
GTGAATTCTGGTATTCAGACTCTGTTCCACTAGTGAATGAACCATTTTCTAAACGT
TTCCCTTTGACTTTTTTATTTATTGAATTTTCTTGGTTTGGAGATGGCAGTCCCAA
CACCAGAGTCTGTACTTTTTCTATGACACAGCTCAAATTAAGTAGGGGCACATGCCA
AGGAGGTTCTCACCTCCCTAAAGAAGGGACTTGAATTTTAGGGACTTTAATTCACC
CTTTCCTTCAATCCAGCTTTCCCCCTTCTTGTTTGCACATGCCAAGATAACTGCTTT
TATGCAGGCTTTACCCCTGAAAACTCCTTTCTACAGTGCTGCTCACGAGAGCCCA
GCCAGTCTCATGCCTGCATTGCTGACTTGAACCTCACAGTCGCCAAGTCTACCTATC
TTTCTTGGAAGCAGTCTTTCAAAATTCCTACTTGTATATTCATCCATTGTTGACAAG
GACAAAATCAGTTGTATTTACAAAACCTTTAACTCGGTATTTTTTTTTTAACTGA
ATCCTGTTTTGTAAATAATATACATTTAATGTTGCTTAGCATAAAAAATACTTTCTT
ACAGTAATCTTCTTTAAATTGGGTATATGAAAACATTACCAACTCTTGTTTTTCTAT
AAAGAAATACAGTTAATAACAAGGTTTCAAATTATTCCTTTAACATTAATAGAACA
ATCCAAATGTTGAGCATATTTTGATATTAACTAAAGATCACGTCTCTGTTTTTAA
ATTATGCTAACACCACACAGATTATGTTGACGTATTTTCTTCTGTATTTTCTTGGT
GGGACTTGAGATTTGAGGAAAAAAGATGCTTATTTGGAATTTCTATTAAGAACTAT
CCTTGTTATTTTCTTAGCTCAATAATTACTCAAGAAAAATAAAAGATTATAATCTC
AGTTTAAATTAATAATGTGTGACAACCATACCTCAGTTTGAATAGATTTAACA
GATTATTCCTGACATTTTCTTCCATGTAGCCATAAGCAGGGACCCAGCATACAAT
TCTTCTTACCTAGGAATCAGGAACTAGTCCCAAATATACAGGATTGAGTCATGGTT
TGCTTTTTTTTTTTTTTCTTTCTTTTTTTCTCCCTTTACACATCAGATTTTGCTC
AAATAGGAGGTAACATAAATAGCCATTAGAAGAAGAAGTGAAGCCTTTTCATGCAGGA
TGATAGATCTAACTTATCAATGTACTGTCACAGTACATTAATCGTTTTATTGAGT
AGGTAAACAAATTTGCACACTTTTCCCAGTGAATTTCCCAACACCTTGACTTCCTC
ATTTACAGTGCTAATAACCTGTTTTGTGTGCAGTTAATCCATTCTGAAGCAGGTGAA
AGGTGAGTATTTTAGCATTTTAAAAGATGAGTTATATAATGTCTGCTTCCAGCCAG
TCTGCAACATCTAGCCATACCTTTCTTATGCAAGCCATTGAGTTATCAGGACTGTG
AATTAACACTGTATGAATACATTTCTGTACACCTTATTGTTTGGCCAGAGGGCCAC
CAAGTGTAATTTATATGTAATCCTTAAATTTTAACTAGCTTGTGATTTTAAATATT
TCTAAACTTTTCTTAAACCACTAAAATTAAGCTCTTACTACTTAGTCAACTATCCTC
AGCTGTATTCGTCTTCAATTGTCAGTATGGCACAGATCACTGTATTAAATGCTCT
TTCGTCTTCATATTTACCTTCTGAGGTCATTTTTTAACTTAATGTGTTACTACAAAG

10

20

30

40

50

ATTTGCAGATCTTTAATCAAGCACTATGTTAATACTGTAATATCAAAATACTATGT
CGAATTATTTTCAGATGTTTCAGATTGAATAGGGTAAAAGAAAGTCTTTAAATGCTAT
CGCATCCTAGACCCTCTTCCCACCTACTATGGCATTGCATATTAGTCTGTTGAGACA
TTCATTGTTGCTTGACTGACATTTTGGTCTGGGTTTTCTTTTAATATTTTATTTTAA
TTAAAATTAGGAAAAAATGTGTTCAACAATTTTTTTTTTTGTCCCATCTTCTCCAAAT
CAGTGGGAAAAAGCTTACCTTTTGGTATATCTTAGTGTTTTTCATGGGCCCAGAACTG
TGGTTTAAATTTTTATATGTATTCTCATTCTCATATTCACTCATACTCACTCTTTTT
CTCTCTCTCCCTCTCTCTCCCTCTCTCCCCCCCCCTTCTCTTTTGTGGAGTATAAAT
TAAAAAACTGGATTTGGGACCTACAATACTCCTCAGGTTGAGATATTCTTGAAGT
TTTAAATAGCTTTAGTTTTTAAAGTAAACTGGATTTGTGGACCTTAAAGTTACTG
AGTTTAAACT
ACAAATTGTAACATCATTACTGAACATGTCCGCATCAACCCTCTGAGAATAACTTG
GTCACTTTATGAAGGGGCGTTTTTAAGTTGTTTAGCAGTGACATTTAATATGGTCC
AATTGCTTTTCTTTTAAACATGACAAACAATTTTAAAAGAGACTAAGGAACAAACA
CTATTGCGCCGAATGCCATAACACTGAGTTGTACAAATTGTGATTGAGGAGATGAA
AAAGTTTATACTTTTAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
AATTATTCATGAAGCCTTC(配列番号889)

10

【0502】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、Snijders Blok L., et.al, “De novo mutations in MED13, a component of the Mediator complex, are associated with a novel neurodevelopmental disorder” Hum. Genet. 2018, 137:375-388に報告されているように、MED13の疾患対立遺伝子に対する相補性領域を有し得る。

20

【0503】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号888または配列番号889に記載のMED13配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号888または配列番号889に記載のMED13配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号888または配列番号889に記載のMED13配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号888または配列番号889に記載のMED13配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号888または配列番号889に記載のMED13配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号888または配列番号889に記載のMED13配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

30

40

【0504】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938~961のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938~961のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938~961のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

【0505】

50

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号890～937のいずれか1つを含むMED13配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号890～937のいずれか1つを含むMED13配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号890～937のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0506】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号890～937のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8～20、10～20、または15～20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

【0507】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号914～937のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖をさらに含む。

【0508】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号914～937のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)は、1以上の修飾ヌクレオシド(例えば、2'-修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、1以上の修飾ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される。

【0509】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号914～937のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖内の各ヌクレオシド、および/または(例えば、および)センス鎖内の各ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される2'-修飾ヌクレオシドである。

【0510】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖にハイブリダイズし、配列番号914～937のいずれか1つのヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む二本鎖オリゴヌクレオチド(例えば、siRNA)であり、ここで、アンチセンス鎖内の各ヌクレオシド、およびセンス鎖内の各ヌクレオシドは、2'-O-Meおよび2'-F修飾ヌクレオシドから選択される2'-修飾ヌクレオシドであり、アンチセンス鎖および/または(例えば、および)センス鎖は、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結をそれぞれ含む。いくつかの態様において、センス鎖は、いかなるホスホロチオアートヌクレオシド間

10

20

30

40

50

連結も含まず(センス鎖内のあらゆるヌクレオシド間連結は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結である)、アンチセンス鎖は、1、2または3つのホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、2つのホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含み、任意に、ここで、アンチセンス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結であり、アンチセンス鎖内の残りのヌクレオシド間連結は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結である。

【 0 5 1 1 】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、以下(5'から3')の構造を含み:

fNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmN*fN*mN、こ
で、「mN」は、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオシドを示し、「fN」は、2'-フル
オロ(2'-F)修飾ヌクレオシドを示し、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連
結を示し、2つのヌクレオシド間に「*」が存在しないことは、ホスホジエステルヌクレ
オシド間連結を示す。

【 0 5 1 2 】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、以下(5'から3')の構造を含み:

mNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmN、ここで、「mN」は、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオシドを示し、「fN」は、2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオシドを示し、2つのヌクレオシド間に「*」が存在しないことは、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【 0 5 1 3 】

いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、表37に列挙される配列番号938~961の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、表37に列挙される配列番号914~937の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、MED13標的化オリゴヌクレオチドは、表37に列挙されるsiRNAから選択されるsiRNAである。

【表 3 5 - 1】

表 35. MED13 標的配列

参照配列 NM_005121.3 (配列番号 888)	参照配列の対応する 第 1 のヌクレオチド	MED13 標的配列 (5'から 3')	配列番号
NM_005121.3	351	ACCTTATTCACCATGACTT	890
NM_005121.3	1018	AAGAGATCCTGCTATGTCT	891
NM_005121.3	1109	GTCAAATTTTCTTCAGTAT	892
NM_005121.3	2143	ACAAGAACCTAAAATTGAT	893
NM_005121.3	2296	AGAAGATGCTATGTCATTA	894
NM_005121.3	3154	TGCTAGTGCTCAAGGTTCA	895
NM_005121.3	4006	ACAATTTCATAAAATGGCT	896
NM_005121.3	5851	GCCAGATTCTGTGTCAACT	897
NM_005121.3	6380	CACGTGCCTTCAGTGAAT	898
NM_005121.3	6444	ATCAGACTTCAGATGTCCT	899
NM_005121.3	6722	AACAAATATTGTTTTGACT	900
NM_005121.3	7056	TAAATGTATAAAATGTGCTT	901

【表 3 5 - 2】

NM_005121.3	7070	GTCTTATATTTCTTAACCT	902
NM_005121.3	7098	AAATTTTCCTAGAAGGTTT	903
NM_005121.3	7147	CTAAAATATATGTAATCGT	904
NM_005121.3	1987	CAAGGATGATCCAGTTGGA	905
NM_005121.3	6552	TTGTGGTGCTGAATCAGTT	906
NM_005121.3	303	GAAGAGAATTGTGGATATT	907
NM_005121.3	280	GCGGCGAGATCAAAGACCT	908
NM_005121.3	1555	CCAAAGACTTGTGATCTCT	909
NM_005121.3	4173	GAGATATAGCCTATGTTGT	910
NM_005121.3	1186	AGCAAATCATGTGGTGGAT	911
NM_005121.3	4027	CCGAGGCTCTTATGGAACCT	912
NM_005121.3	5454	ACTGTTTATCACATGATCA	913

*標的配列はTを含有するが、RNA およびまたはDNA への結合が企図される。

【0 5 1 4】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表36に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 3 6 - 1】

表 36. MED13 を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
UGACCUUAUUCACCAUGACUU	914	AAGUCAUGGUGAAUAAGGUCAGC	938
ACAAGAGAUCCUGCUAUGUCU	915	AGACAUAGCAGGAUCUCUUGUGG	939
GGGUCAAUUUUUCUUCAGUAU	916	AUACUGAAGAAAAUUUGACCCAC	940
GAACAAGAACCUA AAAUUGAU	917	AUCAAUUUUAGGUUCUUGUUCUG	941
GAAGAAGAUGCUAUGUCAUUA	918	UAAUGACAUAGCAUCUUCUUCAU	942
CCUGCUAGUGCUC AAGGUUCA	919	UGAACCUUGAGCACUAGCAGGUC	943
CAACAAUUUCAU AAAAUGGCU	920	AGCCAUUUUAUGAAA UGUUGCC	944
AUGCCAGAUUCUGUGUCAACU	921	AGUUGACACAGAAUCUGGCAUAA	945
UCCACGUGCCUUCAGUGCAAU	922	AUUGCACUGAAGGCACGUGGAGG	946
AAAUCAGACUUCAGAUGUCCU	923	AGGACAUCUGAAGUCUGAUUUGA	947
UCAACAAAU AUUGUUUUGACU	924	AGUCAAAACAAU AUUUGUUGAAG	948
UUUAAAUGUAU AAAUUGUCUU	925	AAGACAAUUUAUACA UUUAAAAA	949
UUGUCUUAU AUUUCUUAACCU	926	AGGUUAAGAAAUAUAAGACAAUU	950
AAAAAUUUUCCUAGAAGGUUU	927	AAACCUUCUAGGAAAAU UUUUAU	951
GUCUAAAAUAUAUGUAAUCGU	928	ACGAUUACAUAUAU UUUAGACCA	952
UUCAAGGAUGAUCCAGUUGGA	929	UCCAACUGGAUCAUCCUUGAAUU	953
UUUUGUGGUGCUGAAUCAGUU	930	AACUGAUUCAGCACCACAAA AUG	954
AAGAAGAGAAUUGUGGAUAUU	931	AAUAUCCACAAUUCUCUUCUCC	955
UGGCGGCGAGAUCAAAGACCU	932	AGGUCUUUGAUCUCGCCGCCAAA	956
AGCCAAAGACUUGUGAUCUCU	933	AGAGAUCAACAAGUCUUUGGCUGG	957

【表 3 6 - 2】

AAGAGAUAUAGCCUAUGUUGU	934	ACAACAUAGGCUAU AUCUCUUUG	958
UUAGCAAUAUGUGGUGGAU	935	AUCCACCACAUGAUUUGCUAAUU	959
GGCCGAGGCUCUUAUGGAACU	936	AGUCCAU AAGAGCCUCGGCCAG	960
AUACUGUUUAUCACAUGAUCA	937	UGAUCAUGUGAUAAACAGUAUCC	961

【0 5 1 5】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 37 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0 5 1 6】

10

20

30

40

50

【表 37-1】

表 37. MED13 を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/ アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsMED13-1	mUmGfAmCfCmUfUmAfU mUfCmAfCmCfAmUfGmAf CmUfU	914	fAfAmGfUmCfAmUfGmGfUm GfAmAfUmAfAmGfGmUfCmA *fG*mC	938
hsMED13-2	mAmCfAmAfGmAfGmAfU mCfCmUfGmCfUmAfUmGf UmCfU	915	fAfGmAfCmAfUmAfGmCfAmG fGmAfUmCfUmCfUmUfGmU*f G*mG	939
hsMED13-3	mGmGfGmUfCmAfAmAfU mUfUmUfCmUfUmCfAmGf UmAfU	916	fAfUmAfCmUfGmAfAmGfAm AfAmAfUmUfUmGfAmCfCmC *fA*mC	940
hsMED13-4	mGmAfAmCfAmAfGmAfA mCfCmUfAmAfAmAfUmUf GmAfU	917	fAfUmCfAmAfUmUfUmUfAm GfGmUfUmCfUmUfGmUfUmC *fU*mG	941
hsMED13-5	mGmAfAmGfAmAfGmAfU mGfCmUfAmUfGmUfCmAf UmUfA	918	fUfAmAfUmGfAmCfAmUfAm GfCmAfUmCfUmUfCmUfUmC *fA*mU	942
hsMED13-6	mCmCfUmGfCmUfAmGfU mGfCmUfCmAfAmGfGmUf UmCfA	919	fUfGmAfAmCfCmUfUmGfAmG fCmAfCmUfAmGfCmAfGmG*f U*mC	943
hsMED13-7	mCmAfAmCfAmAfUmUfU mCfAmUfAmAfAmAfUmG fGmCfU	920	fAfGmCfCmAfUmUfUmUfAmU fGmAfAmAfUmUfGmUfUmG*f C*mC	944
hsMED13-8	mAmUfGmCfCmAfGmAfU mUfCmUfGmUfGmUfCmAf AmCfU	921	fAfGmUfUmGfAmCfAmCfAmG fAmAfUmCfUmGfGmCfAmU*f A*mA	945
hsMED13-9	mUmCfCmAfCmGfUmGfC mCfUmUfCmAfGmUfGmCf AmAfU	922	fAfUmUfGmCfAmCfUmGfAmA fGmGfCmAfCmGfUmGfGmA*f G*mG	946
hsMED13-10	mAmAfAmUfCmAfGmAfC mUfUmCfAmGfAmUfGmU fCmCfU	923	fAfGmGfAmCfAmUfCmUfGmA fAmGfUmCfUmGfAmUfUmU*f G*mA	947
hsMED13-11	mUmCfAmAfCmAfAmAfU mAfUmUfGmUfUmUfUmG fAmCfU	924	fAfGmUfCmAfAmAfAmCfAmA fUmAfUmUfUmGfUmUfGmA*f A*mG	948
hsMED13-12	mUmUfUmAfAmAfUmGfU mAfUmAfAmAfUmUfGmU fCmUfU	925	fAfAmGfAmCfAmAfUmUfUm AfUmAfCmAfUmUfUmAfAmA *fA*mA	949
hsMED13-13	mUmUfGmUfCmUfUmAfU mAfUmUfUmCfUmUfAmA fCmCfU	926	fAfGmGfUmUfAmAfGmAfAm AfUmAfUmAfAmGfAmCfAmA *fU*mU	950

10

20

30

40

50

【表 3 7 - 2】

hsMED13-14	mAmAfAmAfAmUfUmUfU mCfCmUfAmGfAmAfGmGf UmUfU	927	fAfAmAfCmCfUmUfCmUfAmG fGmAfAmAfAmUfUmUfUmU*f A*mU	951
hsMED13-15	mGmUfCmUfAmAfAmAfU mAfUmAfUmGfUmAfAmU fCmGfU	928	fAfCmGfAmUfUmAfCmAfUmA fUmAfUmUfUmUfAmGfAmC*f C*mA	952
hsMED13-16	mUmUfCmAfAmGfGmAfU mGfAmUfCmCfAmGfUmUf GmGfA	929	fUfCmCfAmAfCmUfGmGfAmU fCmAfUmCfCmUfUmGfAmA*f U*mU	953
hsMED13-17	mUmUfUmUfGmUfGmGfU mGfCmUfGmAfAmUfCmAf GmUfU	930	fAfAmCfUmGfAmUfUmCfAmG fCmAfCmCfAmCfAmAfAmA*f U*mG	954
hsMED13-18	mAmAfGmAfAmGfAmGfA mAfUmUfGmUfGmGfAmU fAmUfU	931	fAfAmUfAmUfCmCfAmCfAmA fUmUfCmUfCmUfUmCfUmU*f C*mC	955
hsMED13-19	mUmGfGmCfGmGfCmGfA mGfAmUfCmAfAmAfGmA fCmCfU	932	fAfGmGfUmCfUmUfUmGfAm UfCmUfCmGfCmCfGmCfCmA* fA*mA	956
hsMED13-20	mAmGfCmCfAmAfAmGfA mCfUmUfGmUfGmAfUmCf UmCfU	933	fAfGmAfGmAfUmCfAmCfAmA fGmUfCmUfUmUfGmGfCmU*f G*mG	957
hsMED13-21	mAmAfGmAfGmAfUmAfU mAfGmCfCmUfAmUfGmUf UmGfU	934	fAfCmAfAmCfAmUfAmGfGmC fUmAfUmAfUmCfUmCfUmU*f U*mG	958
hsMED13-22	mUmUfAmGfCmAfAmAfU mCfAmUfGmUfGmGfUmG fGmAfU	935	fAfUmCfCmAfCmCfAmCfAmU fGmAfUmUfUmGfCmUfAmA*f U*mU	959
hsMED13-23	mGmGfCmCfGmAfGmGfC mUfCmUfUmAfUmGfGmA fAmCfU	936	fAfGmUfUmCfCmAfUmAfAmG fAmGfCmCfUmCfGmGfCmC*f A*mG	960
hsMED13-24	mAmUfAmCfUmGfUmUfU mAfUmCfAmCfAmUfGmAf UmCfA	937	fUfGmAfUmCfAmUfGmUfGm AfUmAfAmAfCmAfGmUfAmU *fC*mC	961

10

20

【0517】

30

I. PPP1R3Aオリゴヌクレオチド

PPP1R3Aを標的とするためのオリゴヌクレオチドの例は、その内容全体が本明細書に組み込まれるCordero P, et al., Pathologic gene network rewiring implicates PPP1R3A as a central regulator in pressure overload heart failure. Nat Commun. 2019 Jun 24;10(1):2760. doi:10.1038/s41467-019-10591-5に記載されている。

【0518】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、遺伝子ID:5506;NCBI参照番号:NM_002711.4によって以下に提供されるように、ヒトPPP1R3A配列に対する相補性領域を有し得る:

40

ATCAGAGAGCCCAATGGAGCCTTCTGAAGTACCTAGTCAGATTAGCAAAGATAATT
TTTTAGAAGTTCTTAATTTATCTGACTCTCTTTGTGAAGATGAAGAAGTTACTTTCC
AACCTGGTTTTCTCCCCTCAACCAAGTAGACGAGGTTCTGATTCTTCTGAAGACATA
TACCTGGATACCCCATCTTCAGGTAAGAGAGTTTCATTTGCTGATTCCTTTGGA
TTCAATCTTGTGTCTGTTAAAGAATTTGATTGCTGGGAATTACCGAGTGCTTCAAC
CACTTTTGACTTAGGGACGGACATTTTCCACACAGAAGAATATGTTTTAGCCCCAC
TGTTTGACTTGCTTCTTCAAAGAAGATCTTATGCAACAACCTCAAATACAGAAA
GCAATACTGGAGTCAACTGAGTCTCTTCTTGGGTCTACAAGTATCAAGGGTATTAT
TCGAGTTTTGAATGTTTCTTTTGAGAAGTTAGTATATGTAAGAATGTCTTTAGATG
ACTGGCAGACACATTATGACATTTTAGCAGAATATGTTCTAATTCATGTGATGGT

50

GAAACTGACCAGTTCTCCTTTAAGATTGTATTGGTTCCTCCTTATCAAAAAGATGG
CAGTAAAGTTGAGTTTTGTATACGTTATGAAACTTCTGTTGGTACATTTTGGTCAA
ATAATAATGGCACAAATTATACATTCATTTGTCAAAAAGAAAGAACAAAGAGCCGGAG
CCTGTAAAACCATGGAAAGAAGTTCCTAACAGACAAATAAAAGGCTGCTTAAAGGT
AAAATCAAGTAAAGAAGAATCATCAGTAACATCAGAAGAAAATAACTTTGAGAATC
CAAAGAATACAGATACCTATATCCCAACAATCATTTGTTCTCATGAGGACAAGGAA
GATTTGGAAGCCAGTAATCGAAATGTAAAAGATGTAAACAGGGGAACATGATGAACA
TAATGAAAAAGAATTAGAGTTGATGATAAATCAACACTTAATAAGAACCAGAAGTA
CTGCTTCCAGAGATGAAAGGAATACATTTTCAACAGATCCAGTCAATTTTCCAAAT
AAAGCAGAGGGGTTAGAGAAGAAGCAAATCCATGGTGAAATATGTACTGACTTGTT
CCAAAGGTCTCTGTCTCCAAGTTCATCAGCAGAAAGCTCCGTAAAGGGAGATTTTT
ACTGCAATGAAAAATATTCTCAGGAGATGACTGTACACATCAACCTTCAGAGGAA
ACTACTTCAAATATGGGAGAAATCAAGCCATCATTGGGAGATACTAGTAGTGATGA
ACTAGTGCAATTACATACTGGCAGCAAAGAAGTCCTGGATGATAATGCTAATCCAG
CCCATGGCAATGGCACAGTGCAAATACCTTGCCCTCTTCAGATCAACTAATGGCA
GGAAACCTTAATAAAAAACATGAAGGAGGAGCTAAAAATATTGAAGTAAAAGATTT
GGGATGTTTACGAAGAGATTTCCATTTCAGATACGTCGGCATGTCTCAAAGAATCAA
CAGAAGAAGGATCTTCTAAGGAAGATTATTATGGCAATGGTAAGGATGATGAAGAA
CAAAGAATATATTTAGGTGTTAATGAAAAACAAAGAAAAAATTTCCAAACAATCTT
ACATGACCAAGAAAGGAAGATGGGTAACCCTAAAATAAGTGTGGCAGGGATTGGAG
CTAGTAACAGAGACCTGGCTACTCTGCTGAGCGAACATACCGCAATCCCCACCCGG
GCAATCACAGCAGATGTGTCTCATTACCAAGGACAAATTTAAGTTGGGAAGAAGC
TGTGTTAACCCAGAGCATCATCATTTGACTAGTGAAGGCAGCGCTTTAGGAGGGA
TAACTGGTCAAGTTTGTTCATCAAGAACTGGAAATGTTTTGAGGAATGATTATCTT
TTCCAAGTTGAAGAAAAATCAGGTGGGATTAATTCTGAAGATCAGGATAATAGCCC
ACAGCATAAACAAAGTTGGAATGTTCTGGAAAGTCAGGGAAAATCAAGAGAGAATA
AGACAAACATAACAGAGCATATCAAAGGACAAACAGATTGTGAAGACGTGTGGGGA
AAAAGAGATAATACGAGGAGTTTGAAAGCTACTACAGAAGAATTGTTTACCTGCCA
AGAAACAGTGTGCTGTGAACTGTCTTCTCTAGCTGATCATGGCATTACTGAGAAAG
CAGAAGCTGGTACAGCCTATATAATTAAGACAACATCAGAAAGTACTCCAGAAAGC
ATGTCTGCTAGAGAAAAAGCAATAATTGCTAAGCTACCTCAAGAGACAGCACGAAG
TGACAGGCCCATCGAGGTAAAGGAAACAGCGTTTGATCCACATGAAGGGAGAAATG
ATGATTCACATTATACCTTTGTCAACGAGATACAGTAGGTGTAATCTATGACAAT
GATTTTGAAGAAGGAATCACGTTTAGGTATTTGTAATGTACGTGTAGATGAAATGGA
GAAGGAAGAAACCATGTCTATGTACAATCCTAGGAAGACACATGACAGGGAGAAAT
GTGGCACTGGAAATATAACATCTGTGGAAGAATCCTCATGGGTCATTACAGAATAT
CAAAAAGCAACTTCAAACTGGATTTACAGTTGGGAATGTTACCAACAGACAAAAC
TGTATTTTCAGAAAACAGAGATCTTAGGCAGGTTCAAGAATTATCAAAGAAAACAG
ACTCGGATGCCATTGTGCATTCTGCTTTTAACTCAGACACTAATAGAGCTCCTCAG
AATAGCTCTCCTTTTTCCAAACATCATACTGAAATTTCAGTGTCAACTAATGAGCA
GGCAATTGCTGTAGAGAATGCAGTTACTACCATGGCTAGCCAACCTATTTCTACGA
AATCAGAAAAATATTTGTAATTCAACAAGAGAAATCCAGGGTATTGAGAAGCACCTT
TATCCTGAGTCTAAACCTGAAGAAGTTTCCAGAAGTTCAGGAATAGTGACATCAGG
TAGTAGAAAAGAAAGATGCATAGGCCAGATTTTCCAAACAGAAGAGTATAGTGTGG
AAAAATCTCTAGGGCCAATGATTTTAAATCAACAACCTCTTGAGAATATGGAAGAA
GCAAGGCATGAAAATGAAGGATTAGTAAGCTCTGGGCAATCACTATACACTTCAGG
TGAAAAGGAATCTGACAGCTCTGCTTCTACTAGTCTTCTGTTGAGGAAAGTCAAG
CTCAAGGCAACGAATCTTTGTTTTCAAATATACCAACTCTAAAATACCTTATTTT
CTTTTGTCTTCTGATATTTCTTATAACTGTCTACCATTATGACTTAATGATTGGCTTG
ACATTCTACGTTTTGTCATTGTCCTGGCTATCCTGGGAAGAGGGTAGACAAAAAGA

10

20

30

40

50

GTCTGTCAAAAAGAAGTAACCTCAGCACTACTATTCTCTCTTAAAAGATAAGCTAT
TTAACCCCAAACATTTGGATTGGTGAATGGGACTATTCATTGTTCAAAGATCCAGT
GCAGTTTTTCTCTTGAAGGATCATTTAAAAAGGGACGCGAATAAGTTTGCTCCTTC
ATATAAGTAATTATTCTATATAGGACCATTATGTTTGGATCATTAATACCTATAT
GAATATGAGATCTGAAGCACGTCAAGTTGAAATTAGGTACAGCTGTTGCTCCTTAG
CAGGCTATGAAGTTGCAATGCTTCACATCTCTTCACTACTTAAAGTGCTATTTCTTG
CATTCATTTCTCTTGCAATAAAGCTTCATTTTTTTTTTCCCCTTGAGAGTATATATTT
TCCCCTACGGTTTTTAAAAAACAGATAAAACATGGACAATGGCAGAGGACTTTTTTG
GTCTTTTAGTATTGAACATGAAATTTGTTCAATTTATCATTTATCAGGATTCAATTGA
TCAAATATTTCAACCTTTTCATATTTTTTAAGAAAACACCCATATATATTGAAATGCA
AACTTAAACATATTCTGTTCACTTGAGTGTAATACTTGATGCATGCACACACACAC
ACACATACCTTCTTTATAGCTACAAAGTCAGGGCGTTTCATAGGCCAAAATCTGACAA
GACTGAAACAATTGGGAGATTATCTTTCAATTCTGAAAAATTCTGTGGGTGGCCTG
TCTTTAAGCAATGCTTTTCTCTTGTGAGGGAAGACTGTAACACAGCTGAACTATTT
CAGTGTCAACTATTGAGAATTGAAAATGTAAATTTAAATTTCCACAAGCATTGCTT
CAGAATGAATTTGTACCTATAAAGCATAAGGCATTAAATGACAATAAAAATTCCAA
ATGGACTATTTGTTCCACATTGTATTTTTGTCTTCAAATATTTTCTAAGAGAATGAA
TTATCCCCC(配列番号962)

10

【0519】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例を挙げると、遺伝子ID:140491
;NCBI参照番号:NM_080464.2によって以下に提供されるように、マウスPPP1R3A配
列に対する相補性領域を有し得る:

20

ACTCTTATTTGATAAATCAGAGAGACCAATGGAGCCCGCTGAAGAACCTGGTCAGA
TTAGCAAAGATAACTTTTTAGAAGTTCCTAATCTGTCTGATTCTGTGTGTGAGGAT
GAAGAAGTTAAGGCGACCTTCAAGCCTGGCTTCTCCCCTCAGCCAAGCAGACGCGG
GTCAGGATCTTCGGAAGACATGTATCTGGACACTCCAACCTCAGCTTCCCGGAGAG
TTTCCTTTGCTGACAGCCTGGGATTGAGCCTTGTGTCTGTTAAAGAATTTGATTGCT
GGGAACCTACCCAGTGTTTTCAACTGATTTTGACTTAAGTGGGGATGTTTTCCACACA
GATGAATATGTTTTATCTCCACTGTTTGACTTGCCCTTCTTCAAAGAAAAGCTTATG
GAACAACCTCCAAGTCCAGAAAGCCGTGCTGGAGTCCGCTGAACACCTTCCCGGGTC
AAGCATGAAGGGCATTATTCGAGTCCTGAACATTTCTTTTGAGAAGTTAGTGTATG
TGCGCATGTCTTTGGATGACTGGCAGACACATTATGACATTTTAGCAGAATATGTT
CCTAACTCGTGCGACGGTGAGACTGACCAATTCTCTTTAAGATTTCAATTGGTTCC
ACCTTATCAAAAAGAGGGCGGTAAAGTGGAGTTTTGTATACGCTATGAACTTCTG
CTGGCACATTTTGGTCAAATAATAATGGCACAAATTATATATTGGTTTGTCAAAG
AAGAGGAAGGAGCCAGAGCCTGTAAAGCCATTGGAAGAAGCACCTAGCAGACAAAT
AAAAGGCTGCTTAAAGGTAAAATCACGCAGTAAAGAAGAACCATTGCTAGCACCAG
AAGAAAATAAATTTGAGACTTTAAAGTTCACAGAGTCCTACATCCCAACAATCATT
TGTTCTCACGAGGACAAGGATGACTTGGGAGCCAATCATCAAATGTAGACGATAT
CAACAAGAAGCATGACGAACACAATGGAAAGGAGCTAGACTTGATGATAAACCAAC
GGTTAATAACTTCCCAGGATGAAAAGAATACATTTGCAACAGATACAGTCAATTTT
ACAAATAAAGCTGAAGGGTCAGAGAAGAAGCAAGCTTACCATGAAATCAACACTGA
CTTGTTTCATGGGGCCTTTGTCTCCAAGTTTATCAGCAGAAAGTTCCTTAAAGCGAG
ATTTCTATCATAGCAGAAGTTCTTCCCAGGAAATGAATATGGTCATCCACATTCA
GAAGAAATTATTTAGATATGGGAGAAAAAGGTCCATCACTGGGAGACACTAGTTC
TGATGAGTTAATGCAATTGGAACCTCTGCAGCAAGGAAGACCTGGATGATAATGCCA
ACCCAGCCAATGGGAGTGGCAGAGTGTGCTCTTCCTTCGATCAAAGAATGGCATGT
GGTCTCAAGAATAATGAAGCAGGAATCAAGAAAAGTGAATACAAGATTACAAATA
TTCACATGGAGATTCCACAAAATTGGAAGAGTCAAATGCATCTTCCAGAGATGATT
ATGCCAAAGTCGATAATAAAAAGGAGAAGCAAACATGCTTAGGTGTTAATGAAAAC

30

40

50

CCAAGCAAGAATTTTCAATCAGTATTCCAGACCCAAGAGGGACACATGGGGTACCC
AAAAATAAGCACTGAAGGGGATAAAGCTAATAACCAAGACTTGACAAGTCTACTGA
GCAAAGATATTACAGCTAACACCTGGGCGGTGACAGTGGATCCCTGTCCTTCCACA
AATGCAAAAAGGAGTTGGAGAGAAGTTGGAAGTGGTAGCAATTTAGAACCAGGAAC
TAGTGATCTTAGTTCTCCAAGGAATTTTCAGCCCTCTGACTGATGATCATCTTTTTTCA
AGCTGACAGGGGAAAACCTCAGACTCTAGCAATCCTGAAAATCAGAATATGAACACAC
GACATAGAAAAAAATGGAACGTTCTGGAAACCCAGTCAGAAACAAGTGAGACTGAA
TCAGATATAGCCAAGCATACCAAAGAACAAGCAGAGTATAAAGACATGTGGGAAAA
AACAGATAACAGTAGGAATCTGAAAGCTACTCCTACAGAACACTTGTTTACCTGCC
GAGAGACAGAATGCTACGGACTGTCTTCTCTTGCTGATCATGGTATTACTGAGAAA
GCACAAGCAGTTACAGCTTATATAATTAAGACAACATTAGAAAGTACTCCAGAAAG
CGCGTCTGCTAGAGGAAAAGCAATAATTGCTAAGCTACCTCAAGAGACAGCAGGAA
ATGACAGGCCCATCGAGGTAAAAGAAACAGCGTTTGATCCACATGAAGGGAGGAAA
GATGATTACATTATTCCCTTTGTTCATGGAGATACAGCAGGTGTAATCCATGACAA
TGATTTTGAAGGGAGTCACATTTAGATATTTGTAATTTACGTGTGGATGAAATGA
AGAAGGAGAAAACCACATCTACGTGCTTTCTCAGAAAGACATATGACAAGGAGAAA
CATGGAATTGGAAGTGTAACATCTATAGACGAACCTTCACAGGTCATTACAGGCAA
TCAAAAAGCTACGTCAAAACTGGATTTACATTTGGGAGTGTTACCAACAGACAGAG
CAATATTCCAAGCAAATGCAGATCTTGAGCTGCTTCAAGAATTATCAAGGAGAACA
GACTTCAACGCCGTTCCCTCTGCATTTAACTCAGACACTGCCAGCGCTTCTCGGGA
CAGCTCTCAAGTTTACAGACACTGCTCTAAAAAATCAGTACCTTCTTACGGTGAAG
AGAAAGCAGTTACTAACACAACCCTCCAGTCTATTCCTACCAAATCAGAATATAAT
TGGCACCCAGAAAGTGAGGTCTTGGGCCATGCCATGTCTAAACCTGAAGATGTTTT
CAAAAGTTTCAAGAAATAATGAAATCAGGTAGTGGAGGAGAACGAGGCGGGGGTCCGA
TTCTCCAACAAAAAGAAGGTAGCTTGGAAAACCTCCAGGGGCCGATGTTTTTTTACC
AATGAGCCTCTTGAGAATCTGGATGAAGCAAGTTCTGAAAATGAAGGGTTAATGCA
TTCTGGACAGTCACAGTGTTATCTGGGTGACAAAGGATTAGTGAGCTCTGCTTCTG
CTACTGTCTCTACGCAGGAACTCGAAGCTCAAGGCAGGGAGTCTCTGCTTTCAATA
TCCACCAACTCTAAAATACCATATTTCTTTTTGTTTTCTGATATTTCTTGCAACTGTC
TACTACTATGACTTAATGATAGGCTTGGCGTTCTACCTTTTTTTCATTATACTGGTTG
TACTGGGAAGGGGGGAGGCAAGAGAGTCTGTAAAGAAAAAGTGAGCTTGGCACAG
TTGCTATTCTCTCTTGAAAGATAAGCTATTTAGTCCCAACATTTGGAATGGCAGG
AGAGACTATTCAATTGTTCAAAGAATCAGTGCAGTTTTTCTCTTGAAGGATCATTTA
AAAAGGAATGCGTATGAAGTTTGCTCCTTCATATAAGTAATTATTCTATATAGGAC
CATTATGCTTGGATCATTAATAACCTATATGAATATGAGATGTGAAGCACGTCAAG
TTGGAATTAGGTACAGCTGTTGCTCCTTAGCAGGCTGTGAAGTTGAAATGCTTCAT
GTCTCTTCACTATTTAAAGTGCGATTTCTGCAATCATTTCTTTCACAGTAAAGCTT
TGGATATTTTTTTTCCCTGAGAGCACTTTCCTCCTAGGTTTTTAAAAAAATAGATAA
AACATGGAGAGATATTTTTTCTTTTAGTCCCTAGAATTTGCCATGAAAATTTCATTT
AGCACTGTGTACTCTATCAGCACATATTGATAGATCAAATATTAAAATTTCTGTTT
ATGCCTTTAAGAAAATACCCATGTACTTTGCAATATGAAAACGTAAATTGGAAATA
TGTTTTATGCACACTCACATTATACTTTATGTGCATACCATTGTATCTCTTTGTACC
CATGATGTCAGGGTTTTTCATACACCAATTTTAACTTTGTTTTGTTTTATTTTTATTAG
TTGAATGTGTAGACTGTAACACAAATGGACAATTTTAATGTTAAGTGTTGTCCAGA
CATGAAAATTCTAACATTCTATCATCATTGTTTCAAGGTGATTTTGCACCTACCTTG
TAGTTCTTAACCTGTGGGTTACAACCCCTTTGGAGGCTGCATATCAGATATTTATG
TTATCATTCACAACAGTGAGCAGAATTACAGTTATGAAGTATAAACAAAACAACT
TATGGCTGGGGTCACCACAACATGTGGCACTCTATTAAAGGGTCACAACATTAAAA
AGGTTGAGAACCCTGCTATAGAACATAAGGCCTTAAGTAATAATATAATAGATGC
TAAAATGGTTTGTTCTTCCTGGTAGTTCCTTTGTTTTCGATTAGTTGTTAATATTTT

10

20

30

40

50

CTTATAGTAGGGAGATGAATTTTATCCTAAGTAAATTTACAGAACAACCTCCTTGT
CTGGTAATATCCATTTTGTCTCTTTGGGTTATGAGACAATCACTCAAAACTTTAA
GCAGGCAAAATATGTATAGTTGAAAGCATACTGAAAACGAAGTGAACATAGACTAT
AGCAGTGATTTGGCTACTGTAATTATAGGTAAAGGTATAAAATAATGGAGCATT
TTAGTTAAATGGAAATACTGTCAAGATTTATACAAAATTTATTTTCAGCAATTTTAT
TGAATAATTGTAATATACAAAGCCCTGTGCTATTCTATGGGGGTCCTTAGATAAAC
TGAGTATATCGATCCCTGTATATAGCAAAATAATGTATTTTTAACTGGGTTGGAGT
ATGAAAAATGTCAGAGAAGGATTCTATTGAATGTTTATCTTTCATGGAAAGTTCTT
TCAGGGAAAGTTAAACAGAAAATAGTATGATATTTTTATTTACTTATAACTATAAA
ATTACATGCCATCTCATATATCTCACAACCTATAAAAATTATAAGAAAATAAAAATCT
TTAAAATGACTTATCATGTGATACTTAGTGGTTTGCTAAAGTTTCTTTACGTGCAC
AACTATTTCTCAAACCTGGTAATTGCATGCTTTTCTCAAGGCTCCTTAAAAATGAGT
CATTGGCTTTAGCTTTTTTAGTTGACCAAATGCAAACATCCTGAAGTAGAATGCAGG
TCAAATATTTGCTTTTTTGAGAAGCATACTTCTATCAAATGCAAGTGGAATTCCTTT
AAGCAGTCCTTAGAAATTATCTCTAAAATTGTTGCCCTCATATTTTTTTTGTGAGGAC
TAAGTTAAGTTGGAGTTAAAGTTAGCATTCCACCAGCTCTTTATAGCTTAGAGGTT
TTTCTTAATTCTATGTTTTAAGAGTTTTTAGTCAACATAGCTTATCTCTGTAATGTAA
AGGACACTATTTTATGAGCACCGGTGCCCAAACAGAATTCTTCCCTTAAATGATC
AGCGTAACTCCCTTTCCCTCCTCTATTTGATTTCTGGTAACATTAACCTACCAAAGG
TTCTCATGCATTTGTAATAAAACAGGAACAAGCTTCAAAGGATTTTAAACACTATT
TAGTTGTGTGTTTCTTTGATGCAAAGAAGAAATACTGGATTGAACTGACTTTTCAA
ACATTACTTATAGAACCTTTAAATAAAGGTACAAGGACACTTGAAAGGACTGCTCTA
TGAGGAGGTTGAGTTTGTGAGTCTCTTTTGGTCACTCTCTATGATGAATAAAAAT
GAGTGTTAGGATGAACTTGTAGCCTCTGCCGACAAGGACTTGGCTATGGACCATCT
TGGTAAAGGCCATTTTTTTTTTTTTTTATCCATAGATGCCAGTTTACATCTCACCAC
ACTTTGACTATGGGTATAATGAGGGCATAGCAGAGTAATTACCAATGAGGATCTTT
ACATATGCCATTCTTATTTTAAATAAGAAATATGATTTAATCATTGCTATCCTTATC
TTTCTGGGGTTCTCAGTCTTAGACACGGACCTCTAAAACTAACTGAGAAGTTTAG
CAATGCTATGTAATACAAAACAACAGTCTTTTTTAAGAACTCTGACATCTAGAAGCT
ATCAACATCACAATAAAATTCTCAACCAGAATAAAATGACTGAGTGGTTTATATCC
ACTCTTCAACATTTAGGAATGTTGGGTCAGTAGAACTATATTTTCTTGAGGAGCTC
TAATACGTGGATAATAAATTTTTCAAGGCCTATCTATAGTCAAATATTTGTCACTA
TTTTGTCAAACAGGACGTTCTTTTACCTCATCTTACACCAGTACTCTGGTTAAGTG
AAAACATTGTAAATGGCCAGACCAAATATGGGGAAATAAGTAAGATATTTTTTCTC
TATCCAGTGGTAGTTATAGAGCTTTGAAAATATTTTTGTTTTACATTGATGGATGTT
AATCCCTTTTATATATTAATAAAGTAAAAAGCTAAACAACAGAGCTAGGGAAAAT
ATCGGAGTTGACTCTACTTATCTCCTTTAAGATAGCAGGCTTTTCTTTTACATGTCC
ATTGACTCTGGAACTGGACTTCACAGTAAGGACCACCTTTTTGGTGTTAACCTG
TCTTAAGTAGTTTCTTGCCAGGCACCGCCTCAGTTGTGAATCTCTGGAGAGATTAG
TTAAAAGGGTTACTGTTATTCAATTGATTAACCATGGTTGCTTTTGTATTTTGGGG
GGGGGGTTATAATAAAAATCTTGTCAGCACAACCTTAATTTCCATCATTGAAACAT
GTGTGATAAATATTCTACTGTTTATACCACAGGACTCAAACCTTTAAAAATTACAAA
TTGGATTTTAAAGAAGCTACCAGCCTAGCTTGGAATGTGCACGTATTTTGAATAAA
ATTGTTCTATTGTTGTTGCTAAAACCTTATTAAACAAATATTTAAAAATATTAATCA
ATTTTAAAAGTCCAATATTTTTATTTTATATTATTTTAAATATGTGGAAAATTATACA
CAGAACATTGACTTTTCAAAAATTAAACAGTACATTGTGCAAAACCTTAATAAAAA
TTTCCCTATGTCGTTTTTACTACATCCAATGTTTGTAAATTGCCAGAAAATAAAGTA
AGATGTCAATTACAGTAAAGGATTCTGGAATCATTTTGACTTAACTAAAGACCTCA
CAGTAGCCTGTGATATATAAATAAATCATTTCTCTGGTTTGA(配列番号963)

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号962または配列番号963に記載のPPP1R3A配列に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号962または配列番号963に記載のPPP1R3A配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的な相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号962または配列番号963に記載のPPP1R3A配列に完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号962または配列番号963に記載のPPP1R3A配列のRNAバージョン(すなわち、TはUに置き換えられる)を標的とする(例えば、それに相補的な)配列を含み得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号962または配列番号963に記載のPPP1R3A配列のRNAバージョンに相補的(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的)な配列を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号962または配列番号963に記載のPPP1R3A配列のRNAバージョンに完全に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

10

【0521】

いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号1012~1035のいずれか1つを含む配列の少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号1012~1035のいずれか1つを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号1012~1035のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%配列同一性を共有するアンチセンス鎖を含む。

20

【0522】

いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号964~1011のいずれか1つを含むPPP1R3A配列を標的とするアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号964~1011のいずれか1つを含むPPP1R3A配列に相補的な少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18または19個のヌクレオチド(例えば、連続するヌクレオチド)を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号964~1011のいずれか1つの少なくとも12個または少なくとも15個の連続するヌクレオチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%または97%相補的な配列を含むアンチセンス鎖を含む。

30

【0523】

いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号964~1011のいずれか1つに記載の標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17または少なくとも19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、8~20、10~20、または15~20ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、その標的配列の全部または一部と完全に相補的である。いくつかの態様において、相補性領域は、1、2、3またはそれ以上のミスマッチを包含する。

40

【0524】

いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む。いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号1012~1035のいずれか1

50

いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、表40に列挙される配列番号1012～1035の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、表40に列挙される配列番号988～1011の修飾バージョンから選択される。いくつかの態様において、PPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドは、表40に列挙されるsiRNAから選択されるsiRNAである。

【表 38 - 1】

表 38. PPP1R3A 標的配列

参照配列	参照配列の対応する 第1のヌクレオチド	PPP1R3A 標的配列 (5'から 3')	配列 番号
NM_002711.4 (配列番号 962)	510	GGCAGACACATTATGACAT	964
NM_002711.4 (配列番号 962)	3521	TTTGCTCCTTCATATAAGT	965
NM_002711.4 (配列番号 962)	3535	TAAGTAATTATTCTATATA	966
NM_002711.4 (配列番号 962)	3534	ATAAGTAATTATTCTATAT	967
NM_002711.4 (配列番号 962)	3579	TACCTATATGAATATGAGA	968
NM_002711.4 (配列番号 962)	3571	TCATTAAATACCTATATGA	969
NM_002711.4 (配列番号 962)	2301	ACAGGCCCATCGAGGTAAA	970
NM_002711.4 (配列番号 962)	517	ACATTATGACATTTTAGCA	971
NM_002711.4 (配列番号 962)	508	CTGGCAGACACATTATGAC	972
NM_002711.4 (配列番号 962)	626	GTTGAGTTTTGTATACGTT	973
NM_002711.4 (配列番号 962)	3557	CCATTATGTTTGGATCATT	974
NM_002711.4 (配列番号 962)	800	GAAGAATCATCAGTAACAT	975
NM_002711.4 (配列番号 962)	745	GAAAGAAGTTCCTAACAGA	976
NM_002711.4 (配列番号 962)	4155	GTCAACTATTCAGAATTGA	977
NM_002711.4 (配列番号 962)	439	CAAGGGTATTATTTCGAGTT	978
NM_002711.4 (配列番号 962)	213	CTGATTCCTTTGGATTCAA	979
NM_002711.4 (配列番号 962)	2382	GAGATACAGTAGGTGTAAT	980

10

20

30

40

50

【表 38 - 2】

NM_080464.2 (配列番号 963)	3485	CTTGGATCATTAATACCT	981
NM_080464.2 (配列番号 963)	2264	GACAGGCCCATCGAGGTAA	982
NM_080464.2 (配列番号 963)	3477	CCATTATGCTTGGATCATT	983
NM_080464.2 (配列番号 963)	2461	GGAGAAACATGGAATTGGA	984
NM_080464.2 (配列番号 963)	2367	GGGAGTCACATTTAGATAT	985
NM_080464.2 (配列番号 963)	219	GGAGAGTTTCCTTTGCTGA	986
NM_080464.2 (配列番号 963)	5173	CTTAGAAATTATCTCTAAA	987

* 標的配列はTを含有するが、RNA およびまたはDNA への結合が企図される。

【0531】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表39に提供されるいずれかの配列を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

20

30

40

50

【表 3 9】

表 39. PPP1R3A を標的とするためのオリゴヌクレオチド配列

パッセンジャー鎖/センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	ガイド鎖/アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
CUGGCAGACACAUAUGACAU	988	AUGUCAUAAUGUGUCUGCCAGUC	1012
AGUUUGCUCCUUCAUAUAAGU	989	ACUUUAUAUGAAGGAGCAAACUUA	1013
UAUAAGUAAUUAUUCUAUAUA	990	UAUAUAGAAUAAUUAUUAUAUG	1014
AUAUAAGUAAUUAUUCUAUAU	991	AUAUAGAAUAAUUAUUAUAUGA	1015
AAUACCUAUAUGAAUAUGAGA	992	UCUCAUAUUCUAUAUAGGUAAUUA	1016
GAUCAUUAUUAUACCUAUAUGA	993	UCAUAUAGGUAAUUAUUAUGAUCCA	1017
UGACAGGCCCAUCGAGGUAAA	994	UUUACCUCGAUGGGCCUGUCACU	1018
ACACAUAUAUGACAUAUUUAGCA	995	UGCUAUAAUGUCAUAAUGUGUCU	1019
GACUGGCAGACACAUAUUGAC	996	GUCAUAAUGUGUCUGCCAGUCAU	1020
AAGUUGAGUUUUGUAUACGUU	997	AACGUAUACAAAACUCAACUUA	1021
GACCAUUAUGUUUGGAUCAUU	998	AAUGAUCCAAACAUAUUGGUCCU	1022
AAGAAGAAUCAUCAGUAACAUA	999	AUGUUACUGAUGAUUCUUCUUA	1023
UGGAAAGAAGUUCCUAACAGA	1000	UCUGUUAGGAACUUCUUAUCCAUG	1024
GUGUCAACUAUUCAGAAUUGA	1001	UCAAUUCUGAAUAGUUGACACUG	1025
AUCAAGGGUAUUAUUCGAGUU	1002	AACUCGAAUAAUACCCUUGAUAC	1026
UGCUGAUUCCUUUGGAUUCAA	1003	UUGAAUCCAAAGGAAUCAGCAAA	1027
ACGAGAUACAGUAGGUGUAAU	1004	AUUACACCUACUGUAUCUCGUUG	1028
UGCUUGGAUCAUUAUUAUACCU	1005	AGGUAAUUAUUGAUCCAAGCAUA	1029
AUGACAGGCCCAUCGAGGUAA	1006	UUACCUCGAUGGGCCUGUCAUUU	1030
GACCAUUAUGCUUGGAUCAUU	1007	AAUGAUCCAAGCAUAUUGGUCCU	1031
AAGGAGAAACAUGGAAUUGGA	1008	UCCAAUCCAUGUUUCUCCUUGU	1032
AAGGGAGUCACAUUAAGAUAU	1009	AUAUCUAAAUGUGACUCCCUUUC	1033
CCGGAGAGUUUCCUUUGCUGA	1010	UCAGCAAAGGAAACUCUCCGGGA	1034
UCCUUAAGAAUUAUCUCUAAA	1011	UUUAGAGAUAAUUAUUAAGGACU	1035

【0 5 3 2】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、表 40 に提供される修飾オリゴヌクレオチドであり、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し(例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである)、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し(例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである)、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

10

20

30

40

50

【表 40 - 1】

表 40. PPP1R3A を標的とするための修飾オリゴヌクレオチド

siRNA #	修飾パッセンジャー鎖/ センス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列番号	修飾ガイド鎖/ アンチセンス鎖 (RNA) (5'から 3')	配列 番号
hsPPP1R3A-1	mCmUfGmGfCmAfGmAfC mAfCmAfUmUfAmUfGmA fCmAfU	988	fAfUmGfUmCfAmUfAmAfUm GfUmGfUmCfUmGfCmAfG *fU*mC	1012
hsPPP1R3A-2	mAmGfUmUfUmGfCmUfC mCfUmUfCmAfUmAfUmAf AmGfU	989	fAfCmUfUmAfUmAfUmGfAm AfGmGfAmGfCmAfAmAfCmU *fU*mA	1013
hsPPP1R3A-3	mUmAfUmAfAmGfUmAfA mUfUmAfUmUfCmUfAmU fAmUfA	990	fUfAmUfAmUfAmGfAmAfUm AfAmUfUmAfCmUfUmAfUmA *fU*mG	1014
hsPPP1R3A-4	mAmUfAmUfAmAfGmUfA mAfUmUfAmUfUmCfUmA fUmAfU	991	fAfUmAfUmAfGmAfAmUfAm AfUmUfAmCfUmUfAmUfAmU *fG*mA	1015
hsPPP1R3A-5	mAmAfUmAfCmCfUmAfU mAfUmGfAmAfUmAfUmG fAmGfA	992	fUfCmUfCmAfUmAfUmUfCmA fUmAfUmAfGmGfUmAfUmU*f U*mA	1016
hsPPP1R3A-6	mGmAfUmCfAmUfUmAfA mAfUmAfCmCfUmAfUmAf UmGfA	993	fUfCmAfUmAfUmAfGmGfUm AfUmUfUmAfAmUfGmAfUmC *fC*mA	1017
hsPPP1R3A-7	mUmGfAmCfAmGfGmCfC mCfAmUfCmGfAmGfGmUf AmAfA	994	fUfUmUfAmCfCmUfCmGfAmU fGmGfGmCfCmUfGmUfCmA*f C*mU	1018
hsPPP1R3A-8	mAmCfAmCfAmUfUmAfU mGfAmCfAmUfUmUfUmA fGmCfA	995	fUfGmCfUmAfAmAfAmUfGm UfCmAfUmAfAmUfGmUfGmU *fC*mU	1019
hsPPP1R3A-9	mGmAfCmUfGmGfCmAfG mAfCmAfCmAfUmUfAmUf GmAfC	996	fGfUmCfAmUfAmAfUmGfUm GfUmCfUmGfCmAfGfUmC *fA*mU	1020
hsPPP1R3A-10	mAmAfGmUfUmGfAmGfU mUfUmUfGmUfAmUfAmC fGmUfU	997	fAfAmCfGmUfAmUfAmCfAmA fAmAfCmUfCmAfAmCfUmU*f U*mA	1021
hsPPP1R3A-11	mGmAfCmCfAmUfUmAfU mGfUmUfUmGfGmAfUmC fAmUfU	998	fAfAmUfGmAfUmCfCmAfAmA fCmAfUmAfAmUfGmGfUmC*f C*mU	1022
hsPPP1R3A-12	mAmAfGmAfAmGfAmAfU mCfAmUfCmAfGmUfAmAf CmAfU	999	fAfUmGfUmUfAmCfUmGfAm UfGmAfUmUfCmUfUmCfUmU *fU*mA	1023
hsPPP1R3A-13	mUmGfGmAfAmAfGmAfA mGfUmUfCmCfUmAfAmCf AmGfA	1000	fUfCmUfGmUfUmAfGmGfAm AfCmUfUmCfUmUfUmCfCmA *fU*mG	1024
hsPPP1R3A-14	mGmUfGmUfCmAfAmCfU mAfUmUfCmAfGmAfAmU fUmGfA	1001	fUfCmAfAmUfUmCfUmGfAmA fUmAfGmUfUmGfAmCfAmC*f U*mG	1025
hsPPP1R3A-15	mAmUfCmAfAmGfGmGfU mAfUmUfAmUfUmCfGmA fGmUfU	1002	fAfAmCfUmCfGmAfAmUfAmA fUmAfCmCfCmUfUmGfAmU*f A*mC	1026

10

20

30

40

50

【表 40-2】

hsPPP1R3A-16	mUmGfCmUfGmAfUmUfCmCfUmUfUmGfGmAfUmUfCmAfA	1003	fUfUmGfAmAfUmCfCmAfAmAfGmGfAmAfUmCfAmGfCmA*fA*mA	1027
hsPPP1R3A-17	mAmCfGmAfGmAfUmAfCmAfGmUfAmGfGmUfGmUfAmAfU	1004	fAfUmUfAmCfAmCfCmUfAmCfUmGfUmAfUmCfUmCfGmU*fU*mG	1028
mmPPP1R3A-1	mUmGfCmUfUmGfGmAfUmCfAmUfUmAfAmAfUmAfCmCfU	1005	fAfGmGfUmAfUmUfUmAfAmUfGmAfUmCfCmAfAmGfCmA*fU*mA	1029
mmPPP1R3A-2	mAmUfGmAfCmAfGmGfCmCfCmAfUmCfGmAfGmGfUmAfA	1006	fUfUmAfCmCfUmCfGmAfUmGfGmGfCmCfUmGfUmCfAmU*fU*mU	1030
mmPPP1R3A-3	mGmAfCmCfAmUfUmAfUmGfCmUfUmGfGmAfUmCfAmUfU	1007	fAfAmUfGmAfUmCfCmAfAmGfCmAfUmAfAmUfGmGfUmC*fC*mU	1031
mmPPP1R3A-4	mAmAfGmGfAmGfAmAfAmCfAmUfGmGfAmAfUmUfGmGfA	1008	fUfCmCfAmAfUmUfCmCfAmUfGmUfUmUfCmUfCmCfUmU*fG*mU	1032
mmPPP1R3A-5	mAmAfGmGfGmAfGmUfCmAfCmAfUmUfUmAfGmAfUmAfU	1009	fAfUmAfUmCfUmAfAmAfUmGfUmGfAmCfUmCfCmCfUmU*fU*mC	1033
mmPPP1R3A-6	mCmCfGmGfAmGfAmGfUmUfUmCfCmUfUmUfGmCfUmGfA	1010	fUfCmAfGmCfAmAfAmGfGmAfAmAfCmUfCmUfCmCfGmG*fG*mA	1034
mmPPP1R3A-7	mUmCfCmUfUmAfGmAfAmAfUmUfAmUfCmUfCmUfAmAfA	1011	fUfUmUfAmGfAmGfAmUfAmAfUmUfUmCfUmAfAmGfGmA*fC*mU	1035

10

20

【0533】

いくつかの態様において、MSTN標的化オリゴヌクレオチド、INHBA標的化オリゴヌクレオチド、ACVR1B標的化オリゴヌクレオチド、MLCK1標的化オリゴヌクレオチド、ACVR1標的化オリゴヌクレオチド、FBX032オリゴヌクレオチド、TRIM63オリゴヌクレオチド、MEF2D標的化オリゴヌクレオチド、KLF15標的化オリゴヌクレオチド、MED1標的化オリゴヌクレオチド、MED13標的化オリゴヌクレオチドまたはPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドのいずれか1つは、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩またはマグネシウム塩としての塩形態であることができる。

30

【0534】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチド(例えば、表9、10、12、13、15、16、18、19、21、22、24、25、27、28、30、21、33、34、36、37、39および40に列挙されるオリゴヌクレオチド)のいずれか1つの5'または3'ヌクレオシド(例えば、末端ヌクレオシド)は、任意にスペーサーを介してアミン基にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、スペーサーは、脂肪族部分を含む。いくつかの態様において、スペーサーは、ポリエチレングリコール部分を含む。いくつかの態様において、ホスホジエステル連結が、スペーサーとオリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシドとの間に存在する。いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチド(例えば、表9、10、12、13、15、16、18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40に列挙されるオリゴヌクレオチド)のいずれかの5'または3'ヌクレオシド(例えば、末端ヌクレオシド)は、置換もしくは非置換の脂肪族、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族、置換もしくは非置換のカルボシクリレン、置換もしくは非置換のヘテロシクリレン、置換もしくは非置換のアリーレン、置換もしくは非置換のヘテロアリーレン、-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-、またはそれらの組合せであるスペーサーにコンジュゲートされ、

40

50

各 R^A は、独立して、水素または置換もしくは非置換のアルキルである。ある特定の態様において、スペーサーは、置換もしくは非置換のアルキレン、置換もしくは非置換のヘテロシクリレン、置換もしくは非置換のヘテロアリーレン、 $-O-$ 、 $-N(R^A)-$ 、もしくは $-C(=O)N(R^A)_2$ 、またはそれらの組合せである。

【0535】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチド(例えば、表9、10、12、13、15、16、18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40に列挙されるオリゴヌクレオチド)のいずれか1つの5'または3'ヌクレオシドは、式 $-NH_2-(CH_2)_n-$ の化合物にコンジュゲートされ、式中、 n は1~12の整数である。いくつかの態様において、 n は、6、7、8、9、10、11または12である。いくつかの態様において、ホスホジエステル連結が、式 $NH_2-(CH_2)_n-$ の化合物とオリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシドとの間に存在する。いくつかの態様において、式 $NH_2-(CH_2)_6-$ の化合物は、6-アミノ-1-ヘキサノール($NH_2-(CH_2)_6-OH$)とオリゴヌクレオチドの5'ホスファートとの間の反応によってオリゴヌクレオチドにコンジュゲートされる。

10

【0536】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、標的化剤、例えば、筋標的化剤、例として、抗TfR1抗体に、例えば、アミン基を介してコンジュゲートされる。

【0537】

m.オリゴヌクレオチドのサイズ/配列

20

オリゴヌクレオチドは、例えば、形式に応じて、様々な異なる長さのものであってよい。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、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、75またはそれ以上のヌクレオチド長である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、8~50ヌクレオチド長、8~40ヌクレオチド長、8~30ヌクレオチド長、10~15ヌクレオチド長、10~20ヌクレオチド長、15~25ヌクレオチド長、21~23ヌクレオチド長、20~25ヌクレオチド長などである。

【0538】

いくつかの態様において、本開示の目的のためのオリゴヌクレオチドの核酸配列は、標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能である場合、標的核酸に「相補的」である。いくつかの態様において、標的核酸(例えば、mRNAまたはプレmRNA分子)にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドは、標的の活性または発現の調整(例えば、mRNA翻訳の減少、プレmRNAスプライシングの変化、エクソンスキッピング、標的mRNA分解など)をもたらす。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの核酸配列は、非特異的結合の回避が所望される条件下、例えば、生理学的条件下で非標的配列にハイブリダイズしないように、その標的核酸に対して十分な程度の相補性を有する。

30

【0539】

いくつかの態様において、本開示の目的のためのオリゴヌクレオチドの相補的な核酸配列は、標的分子(例えば、mRNA)への配列の結合が標的(例えば、mRNA)の正常な機能に干渉して活性の喪失(例えば、翻訳の阻害)または発現の喪失(例えば、標的mRNAの分解)を引き起こした場合、かつ非特異的結合の回避が所望される条件下、例えば、*in vivo*アッセイ、または治療的処置の場合、および*in vitro*アッセイの場合における生理学的条件下、アッセイがストリンジェンシーの好適な条件下で行われる条件下で、非標的配列への配列の非特異的結合を回避するのに十分な程度の相補性が存在する場合、標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能であるか、または標的核酸に特異的である。したがって、いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、標的核酸の連続するヌクレオチドに少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%相補的であり得る。いくつかの態様において、相補的なヌクレオチド配列は、標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能であ

40

50

るか、または標的核酸に特異的であるその標的の配列に100%相補的である必要はない。ある特定の態様において、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対して1以上のミスマッチ核酸塩基を含む。ある特定の態様において、標的に関連する活性は、そのようなミスマッチによって低下するが、非標的に関連する活性は、さらに大きく低下する(すなわち、標的核酸に対する選択性が増加し、オフターゲット効果が減少する)。

【0540】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、8~15、8~30、8~40、または10~50、または5~50、または5~40ヌクレオチド長の範囲内である標的核酸に対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、標的核酸に対するオリゴヌクレオチドの相補性領域は、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または50ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、標的核酸の少なくとも8つの連続するヌクレオチドと相補的である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、標的核酸の連続するヌクレオチドの一部と比較して1、2または3つの塩基ミスマッチを含有し得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、15塩基に対して最大3ミスマッチ、または10塩基に対して最大2ミスマッチを有し得る。

【0541】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、本明細書において提供されるアンチセンス鎖(例えば、表9、10、12、13、15および16に列挙されるアンチセンス鎖)のいずれか1つの標的配列に相補的な(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)アンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、本明細書において提供されるアンチセンス鎖(例えば、表18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40に列挙されるアンチセンス鎖)のいずれか1つの標的配列に相補的な(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)アンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、そのような標的配列は、表9、10、12、13、15および16に列挙されるオリゴヌクレオチドに100%相補的である。いくつかの態様において、そのような標的配列は、表18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40に列挙されるオリゴヌクレオチドに100%相補的である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表8、11および14における)の標的RNA配列に相補的な(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)ヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含むsiRNA分子である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表17、20、23、26、29、32、35および38における)の標的RNA配列に相補的な(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)ヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含むsiRNA分子である。

【0542】

いくつかの態様において、C5位での核酸塩基ウラシルのメチル化がチミンを形成することを理解されたい。したがって、いくつかの態様において、C5メチル化ウラシル(または5-メチル-ウラシル)を有するヌクレオチドまたはヌクレオシドは、チミンヌクレオチドまたはチミンヌクレオシドとして同等に同定され得る。

【0543】

いくつかの態様において、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表9、10、12、13、15および16に列挙されるオリゴヌクレオチド)のいずれか1つのチミン塩基(T)のうちのいずれか1以上は任意にウラシル塩基(U)であり得、および/またはUのうちのいずれか1以上は任意にTであり得る。いくつかの態様において、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40に列挙されるオリゴヌクレオチド)のい

いずれか1つのチミン塩基(T)のうちのいずれか1以上は任意にウラシル塩基(U)であり得、および/またはUのうちのいずれか1以上は任意にTであり得る。

【0544】

n. オリゴヌクレオチド修飾:

本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドは、修飾されていてもよく、例えば、修飾糖部分、修飾ヌクレオシド間連結、修飾ヌクレオチドもしくは修飾ヌクレオシド、および/または(例えば、および)それらの組合せを含む。加えて、いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、以下の特性のうちの1以上を呈し得る:選択的スプライシングを媒介しない;免疫刺激性ではない;ヌクレアーゼ耐性である;非修飾オリゴヌクレオチドと比較して改善された細胞取込みを有する;細胞もしくは哺乳動物に対して毒性ではない;改善されたエンドソームの内部への出口を細胞内に有する;TLR刺激を最小限に抑える;またはパターン認識受容体を回避する。本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドの修飾された化学的性質または形式のいずれかは、互いに組み合わせられることができる。例を挙げると、1、2、3、4、5つまたはそれ以上の異なるタイプの修飾が、同じオリゴヌクレオチド内に包含されることができる。

10

【0545】

いくつかの態様において、それらが組み込まれているオリゴヌクレオチドを、天然のオリゴデオキシヌクレオチド分子またはオリゴリボヌクレオチド分子よりもヌクレアーゼ消化に対して耐性にする特定のヌクレオチド修飾またはヌクレオシド修飾が使用され得、これらの修飾オリゴヌクレオチドは、非修飾オリゴヌクレオチドよりも長期間インタクトに

20

【0546】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、最大50ヌクレオチド長、または最大100ヌクレオチド長であり得、オリゴヌクレオチドの2~10、2~15、2~16、2~17、2~18、2~19、2~20、2~25、2~30、2~40、2~45個またはそれ以上のヌクレオチドまたはヌクレオシドは修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドである。オリゴヌクレオチドは、8~30ヌクレオチド長であり得、オリゴヌクレオチドの2~10、2~15、2~16、2~17、2~18、2~19、2~20、2~25、2~30個のヌクレオチドまたはヌクレオシドは修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドである。オリゴヌクレオチドは、8~15ヌクレオチド長であり得、オリゴヌクレオチドの2~4、2~5、2~6、2~7、2~8、2~9、2~10、2~11、2~12、2~13、2~14個のヌクレオチドまたはヌクレオシドは修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドである。任意に、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のヌクレオチド/ヌクレオシドを除き、どのヌクレオチドまたはヌクレオシドも修飾されていてもよい。オリゴヌクレオチド修飾は、本明細書においてさらに詳細に記載されている。

30

【0547】

o. 修飾ヌクレオシド

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドは、糖の2'位で修飾された少なくとも1つのヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの2'-修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチド内のヌクレオシドの全部が2'-修飾ヌクレオシドである。

【0548】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドは、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド、例えば、2'-デオキシ、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、

40

50

2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)の修飾ヌクレオシドを含む。

【0549】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドは、リボース環が、その環内に2個の原子を接続する、例えば、メチレン(LNA)架橋、エチレン(ENA)架橋または(S)-拘束エチル(cEt)架橋を介して2'-O原子を4'-C原子に接続する架橋部分を含む1以上の2'-4'二環式ヌクレオシドを含む。LNAの例は、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる、2008年4月17日に公開された「RNA Antagonist Compounds For The Modulation Of PCSK9」と題する国際特許出願公開WO/2008/043753に記載されている。ENAの例は、参照によりその開示全体が本明細書に組み込まれる、2005年5月12日に公開された「APP/ENA Antisense」と題する国際特許公開WO 2005/042777; 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、およびHorie et al., Nucleic Acids Symp. Ser(Oxf), 49:171-172, 2005に提供されている。cEtの例は、参照によりその各々全体が本明細書に組み込まれる米国特許第7,101,993号、米国特許第7,399,845号および米国特許第7,569,686号に提供されている。

【0550】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、以下の米国特許または米国特許出願公開、すなわち、あらゆる目的のために参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる、2008年7月15日に発行された「6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs」と題する米国特許第7,399,845号; 2010年6月22日に発行された「6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs」と題する米国特許第7,741,457号; 2011年9月20日に発行された「6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs」と題する米国特許第8,022,193号; 2009年8月4日に発行された「Compounds And Methods For Synthesis Of Bicyclic Nucleic Acid Analogs」と題する米国特許第7,569,686号; 2008年2月26日に発行された「Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues」と題する米国特許第7,335,765号; 2008年1月1日に発行された「Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues」と題する米国特許第7,314,923号; 2010年10月19日に発行された「Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same」と題する米国特許第7,816,333号、および2015年2月17日に発行された「Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same」と題する、米国特許公開第2011/0009471号であって、現在は米国特許第8,957,201号のうちの1つに開示された修飾ヌクレオシドを含む。

【0551】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾ヌクレオシドも有しないオリゴヌクレオチドと比較して、1°C、2°C、3°C、4°Cまたは5°Cの範囲にあるオリゴヌクレオチドのTmの増大をもたらす少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む。オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシドを有しないオリゴヌクレオチドと比較して、合計で2°C、3°C、4°C、5°C、6°C、7°C、8°C、9°C、10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°Cまたはそれ以上の範囲にあるオリゴヌクレオチドのTmの増大をもたらす複数の修飾ヌクレオシドを有し得る。

【0552】

オリゴヌクレオチドは、異なる種類のヌクレオシドの混合物を含み得る。例を挙げると、オリゴヌクレオチドは、2'-デオキシリボヌクレオシドまたはリボヌクレオシドと、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドとの混合物を含み得る。オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオシドまたはリボヌクレオシドと、2'-O-Me修飾ヌクレオシドとの混合物を含み得る。オリゴヌクレオチドは、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドと、2'-O-Me修飾ヌクレオシドとの混合物を含み得る。オリゴヌクレオチドは、2'-4'二環式ヌクレオシドと、2'

-MOE、2'-フルオロまたは2'-O-Me修飾ヌクレオシドとの混合物を含み得る。オリゴヌクレオチドは、非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、2'-フルオロ、または2'-O-Me)と、2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、ENA、cEt)との混合物を含み得る。

【0553】

オリゴヌクレオチドは、異なる種類の交互のヌクレオシドを含み得る。例を挙げると、オリゴヌクレオチドは、交互の2'-デオキシリボヌクレオシドまたはリボヌクレオシドおよび2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを含み得る。オリゴヌクレオチドは、交互のデオキシリボヌクレオシドまたはリボヌクレオシドおよび2'-O-Me修飾ヌクレオシドを含み得る。オリゴヌクレオチドは、交互の2'-フルオロ修飾ヌクレオシドおよび2'-O-Me修飾ヌクレオシドを含み得る。オリゴヌクレオチドは、交互の2'-4'二環式ヌクレオシドおよび2'-MOE、2'-フルオロまたは2'-O-Me修飾ヌクレオシドを含み得る。オリゴヌクレオチドは、交互の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、2'-フルオロ、または2'-O-Me)および2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、ENA、cEt)を含み得る。

10

【0554】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドは、5'-ビニルホスホナート修飾、1以上の脱塩基残基、および/または1以上の逆脱塩基残基を含む。

【0555】

p.ヌクレオチド間連結/主鎖

20

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオアートまたは他の修飾ヌクレオシド間連結を含有し得る。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも2つのヌクレオシド間にホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、全ヌクレオシド間にホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。例を挙げると、いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ヌクレオチド配列の5'または3'末端の第1、第2および/または(例えば、および)第3のヌクレオシド間連結に、修飾ヌクレオシド間連結を含む。

【0556】

使用され得るリン含有連結は、限定するものではないが、正常な3'-5'連結、これらの2'-5'連結類似体を有するホスホロチオアート、キラルのホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、3'アルキレンホスホナートおよびキラルのホスホナートを含むメチルおよび他のアルキルホスホナート、ホスフィナート、3'-アミノホスホロアミダートおよびアミノアルキルホスホロアミダートを含むホスホロアミダート、チオノホスホロアミダート、チオノアルキルホスホナート、チオノアルキルホスホトリエステルおよびボラノホスファート、ならびにヌクレオシド単位の隣接する対が3'-5'から5'-3'へまたは2'-5'から5'-2'へ連結されている、逆方向の極性を有するものを包含し、米国特許第3,687,808号、米国特許第4,469,863号、米国特許第4,476,301号、米国特許第5,023,243号、米国特許第5,177,196号、米国特許第5,188,897号、米国特許第5,264,423号、米国特許第5,276,019号、米国特許第5,278,302号、米国特許第5,286,717号、米国特許第5,321,131号、米国特許第5,399,676号、米国特許第5,405,939号、米国特許第5,453,496号、米国特許第5,455,233号、米国特許第5,466,677号、米国特許第5,476,925号、米国特許第5,519,126号、米国特許第5,536,821号、米国特許第5,541,306号、米国特許第5,550,111号、米国特許第5,563,253号、米国特許第5,571,799号、米国特許第5,587,361号および米国特許第5,625,050号を参照されたい。

30

40

【0557】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ヘテロ原子主鎖、例として、メチレン(メチルイミノ)もしくはMMI主鎖、アミド主鎖(De Mesmaeker et al.Ace.Chem. Res.1995,28:366-374を参照)、モルホリノ主鎖(SummertonおよびWeller、米国

50

特許第5,034,506号を参照)、またはペプチド核酸(PNA)主鎖(オリゴヌクレオチドのホスホジエステル主鎖がポリアミド主鎖に置き換えられており、ヌクレオチドがポリアミド主鎖のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合されている、Nielsen et al., Science 1991, 254, 1497を参照)を有し得る。

【0558】

q. 立体特異的オリゴヌクレオチド

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間のリン原子はキラルであり、オリゴヌクレオチドの特性はキラルのリン原子の立体配置に基づき順応させられる。いくつかの態様において、立体制御された様式(例えば、Oka N, Wada T, Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms. Chem Soc Rev. 2011 Dec; 40(12): 5829-43.に記載されているように)でP-キラルオリゴヌクレオチド類似体を合成するために、適切な方法が使用され得る。いくつかの態様において、実質的に全部のSpホスホロチオアート糖間連結または実質的に全部のRpホスホロチオアート糖間連結のいずれかによって一緒に結び合わされたヌクレオシド単位を含むホスホロチオアート含有オリゴヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、実質的にキラル純粋な糖間連結を有するそのようなホスホロチオアートオリゴヌクレオチドは、例を挙げると、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる、1996年12月12日に発行された米国特許第5,587,261号に記載されているように、酵素合成または化学合成によって調製される。いくつかの態様において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、標的核酸の選択的切断パターンをもたらす。例えば、いくつかの態様において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、例を挙げると、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる、2017年2月2日に公開された「CHIRAL DESIGN」と題する米国特許出願公開第20170037399号に記載されているように、核酸の相補的な配列内に単一部位切断をもたらす。

【0559】

r. モルホリノ

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、モルホリノに基づく化合物であり得る。モルホリノに基づくオリゴマー化合物は、Dwayne 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; および1991年7月23日発行の米国特許第5,034,506号に記載されている。いくつかの態様において、モルホリノに基づくオリゴマー化合物は、ホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー(PMO)である(例えば、参照によりその開示全体が本明細書に組み込まれる Iverson, Curr. Opin. Mol. Ther., 3:235-238, 2001; and Wang et al., J. Gene Med., 12:354-364, 2010に記載されているように)。

【0560】

s. ペプチド核酸(PNA)

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド単位の糖およびヌクレオシド間連結(主鎖)はともに、新規な基に置き換えられている。いくつかの態様において、塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持されている。そのようなオリゴマー化合物の1つである、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴヌクレオチド模倣物は、ペプチド核酸(PNA)と呼ばれる。PNA化合物では、オリゴヌクレオチドの糖-主鎖は、アミド含有主鎖、例を挙げると、アミノエチルグリシン主鎖に置き換えられている。核酸塩基は保持されており、主鎖のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合されている。PNA化合物の調製を報告する代表的な刊行物は、限定するものではないが、参照によりその各々が本明細書に組み込まれる米国特許第5,539,082号、米国特許第5,714,331号および米国特許第5,719,262号を包含する。PNA化合物のさらなる教示は、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500に見出されることができる。

【0561】

t.ギャップマー

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドはギャップマーである。ギャップマーオリゴヌクレオチドは、ギャップ領域Yの周りの隣接領域としてXおよびZを有する式5'-X-Y-Z-3'を一般に有する。いくつかの態様において、式5'-X-Y-Z-3'の隣接領域Xは、X領域、隣接配列X、5'ウイング領域X、または5'ウイングセグメントとも呼ばれる。いくつかの態様において、式5'-X-Y-Z-3'の隣接領域Zは、Z領域、隣接配列Z、3'ウイング領域Z、または3'ウイングセグメントとも呼ばれる。いくつかの態様において、式5'-X-Y-Z-3'のギャップ領域Yは、Y領域、Yセグメント、またはギャップセグメントYとも呼ばれる。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドであり、5'ウイング領域Xまたは3'ウイング領域Zのいずれも2'-デオキシリボヌクレオシドを含有しない。

10

【0562】

いくつかの態様において、Y領域は、ヌクレオチドの連続したストレッチ、例えば、RNAse、例として、RNAse Hを動員することが可能な、6つ以上のDNAヌクレオチドの領域である。いくつかの態様において、ギャップマーは標的核酸に結合し、その時点でRNAseが動員され、次いで、標的核酸を切断することができる。いくつかの態様において、Y領域は、高親和性修飾ヌクレオシド、例えば、1~6つの高親和性修飾ヌクレオシドを含む領域XおよびZによって5'および3'に隣接している。高親和性修飾ヌクレオシドの例は、限定するものではないが、2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、2'-O-Me、2'-F)または2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、cEt、ENA)を包含する。いくつかの態様において、隣接配列XおよびZは、1~20ヌクレオチド長、1~8ヌクレオチド長、または1~5ヌクレオチド長であり得る。隣接配列XおよびZは、類似の長さまたは非類似の長さであり得る。いくつかの態様において、ギャップセグメントYは、5~20ヌクレオチド長、5~15 12ヌクレオチド長、または6~10ヌクレオチド長のヌクレオチド配列であり得る。

20

【0563】

いくつかの態様において、ギャップマーオリゴヌクレオチドのギャップ領域は、DNAヌクレオチドに加えて、効率的なRNAse H作用にとって許容可能であることが知られている修飾ヌクレオチドまたは修飾ヌクレオシド、例として、C4'置換ヌクレオチド、非環状ヌクレオチドおよびアラビノ型ヌクレオチドを含有し得る。いくつかの態様において、ギャップ領域は、1以上の非修飾ヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、一方または両方の隣接領域は、各々独立して、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結(例えば、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結または他の連結)を少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つまたはそれ以上のヌクレオチド間を含む。いくつかの態様において、ギャップ領域および2つの隣接領域は、各々独立して、修飾ヌクレオシド間連結(例えば、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結または他の連結)を少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つまたはそれ以上のヌクレオチド間を含む。

30

【0564】

ギャップマーは、適切な方法を使用して生成され得る。ギャップマーの調製を教示する代表的な米国特許、米国特許公開およびPCT公開は、限定するものではないが、参照によりその各々全体が本明細書に組み込まれる米国特許第5,013,830号、米国特許第5,149,797号、米国特許第5,220,007号、米国特許第5,256,775号、米国特許第5,366,878号、米国特許第5,403,711号、米国特許第5,491,133号、米国特許第5,565,350号、米国特許第5,623,065号、米国特許第5,652,355号、米国特許第5,652,356号、米国特許第5,700,922号、米国特許第5,898,031号、米国特許第7,015,315号、米国特許第7,101,993号、米国特許第7,399,845号、米国特許第7,432,250号、米国特許第7,569,686号、米国特許第7,683,036号、米国特許第7,750,131号、米国特許第8,580,756号、米国特許第9,045,754号、米国特許第9,428,534号、米国特許第9,695

40

50

,418号、米国特許第10,017,764号、米国特許第10,260,069号、米国特許第9,428,534号、米国特許第8,580,756号、米国特許公開第20050074801号、米国特許公開第20090221685号、米国特許公開第20090286969号、米国特許公開第20100197762号および米国特許公開第20110112170号、PCT公開番号W02004069991、W02005023825、W02008049085およびW02009090182ならびに欧州特許第2,149,605号を包含する。

【0565】

いくつかの態様において、ギャップマーは、10~40ヌクレオシド長である。例を挙げると、ギャップマーは、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、または35~40ヌクレオシド長であり得る。いくつかの態様において、ギャップマーは、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または40ヌクレオシド長である。

【0566】

いくつかの態様において、ギャップマー内のギャップ領域Yは、5~20ヌクレオシド長である。例を挙げると、ギャップ領域Yは、5~20、5~15、5~10、10~20、10~15、または15~20ヌクレオシド長であり得る。いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内のヌクレオシドはいずれも、2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内のヌクレオシドのうちの1以上は修飾ヌクレオシドである(例えば、2'修飾ヌクレオシド、例として、本明細書において記載されるもの)。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の1以上のシトシンは、任意に5-メチル-シトシンである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の各シトシンは5-メチル-シトシンである。

【0567】

いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、独立して、1~20ヌクレオシド長である。例を挙げると、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、独立して、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、または15~20ヌクレオシド長であり得る。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は同じ長さである。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は異なる長さである。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)よりも長い。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)よりも短い。

【0568】

いくつかの態様において、ギャップマーは、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または7-11-6の5'-X-Y-Z-3'を含む。数字は、5'-X-Y-Z-3'ギャップマーにおけるX、YおよびZ領域内のヌクレオシドの数を示す。

10

20

30

40

50

【0569】

いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)またはギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の1以上のヌクレオシドは、修飾ヌクレオチドである(例えば、高親和性修飾ヌクレオシド)。いくつかの態様において、修飾ヌクレオシド(例えば、高親和性修飾ヌクレオシド)は2'-修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、2'-修飾ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシドまたは非二環式2'-修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、高親和性修飾ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、cEtまたはENA)または非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA))である。

【0570】

いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)内の1以上のヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)内の各ヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の1以上のヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の各ヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)内の1以上のヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドであり、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の1以上のヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)内の各ヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドであり、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の各ヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオシドである。

10

【0571】

いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)と同じ高親和性ヌクレオシドを含む。例を挙げると、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)を含み得る。別の例では、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、1以上の2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)を含み得る。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の各ヌクレオシドは、非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)である。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)内の各ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)である。

20

【0572】

いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、1~7(例えば、1、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、XおよびZの各ヌクレオシドは非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、1~7(例えば、1、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、XおよびZの各ヌクレオシドは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)とは異なる高親和性ヌクレオシドを含む。例を挙げると、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)を含み得、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、1以上の2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)を含み得る。別の例では、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)を含み得、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、1以上の2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)を含み得る。

30

40

【0573】

いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、1~7(例えば、1、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~

50

10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、Xの各ヌクレオシドは非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、Zの各ヌクレオシドは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、1~7(例えば、1、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、Xの各ヌクレオシドは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Zの各ヌクレオシドは非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。

【0574】

いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)は、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)および1以上の2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)を含む。いくつかの態様において、ギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)は、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)および1以上の2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)を含む。いくつかの態様において、ギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)およびギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)はともに、1以上の非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)および1以上の2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)を含む。

【0575】

いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、2~7(例えば、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、X(最も5'の位置は位置1である)の位置1、2、3、4、5、6または7のすべてではないが少なくとも1つ(例えば、1、2、3、4、5または6)は非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、XおよびZの両方のヌクレオシドの残りは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、2~7(例えば、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、Z(最も5'の位置は位置1である)の位置1、2、3、4、5、6または7のすべてではないが少なくとも1つ(例えば、1、2、3、4、5または6)は非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、XおよびZの両方のヌクレオシドの残りは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップマーは5'-X-Y-Z-3'構成を含み、XおよびZは、独立して、2~7(例えば、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、Xの位置1、2、3、4、5、6または7のすべてではないが少なくとも1つ(例えば、1、2、3、4、5または6)およびZ(最も5'の位置は位置1である)のすべてではないが位置(例えば、1、2、3、4、5または6)1、2、3、4、5、6または7の少なくとも1つが、非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、XおよびZの両方のヌクレオシドの残りは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。

【0576】

非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)と2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)との混合物をギャップマーの5'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のX)および/またはギャップマーの3'ウイング領域(5'-X-Y-Z-3'式のZ)に有するギャップマー構成の非限定的な例は、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;

10

20

30

40

50

LLL-(D)n-LLLEE;BBB-(D)n-BBBAAA;KKK-(D)n-KKAAA;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;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;EKKEEEKK-(D)n-KK;ELLEELL-(D)n-LL;ABBAABB-(D)n-BB;AKKAAKK-(D)n-KK;ALLAALLL-(D)n-LL;EBBEEBB-(D)n-BB;EKKEEEKK-(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;ALLALLL-(D)n-LLL;EBBEBB-(D)n-BBB;EKKEKK-(D)n-KKK;ELLELL-(D)n-LLL;EEEE-(D)n-EEEEEEEE;EEK-(D)n-EEEEEEEE;EK-(D)n-EEEEEEEE;EK-(D)n-EEEKK;K-(D)n-EEEKEKE;K-(D)n-EEKEKEE;K-(D)n-EEKEK;EK-(D)n-EEEEKEKE;EK-(D)n-EEEKEK;EEK-(D)n-KEEK E;EK-(D)n-EEKEK;EK-(D)n-KEEK;EEK-(D)n-EEEKEK;EK-(D)n-KEEKEE;EK-(D)n-EEKEKE;EK-(D)n-EEEKEKE;およびEK-(D)n-EEEEKEK;を包含する。「A」ヌクレオシドは2'-修飾ヌクレオシドを含み、「B」は2'-4'二環式ヌクレオシドを表し、「K」は拘束エチルヌクレオシド(cEt)を表し、「L」はLNAヌクレオシドを表し、「E」は2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、「D」は2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、「n」は、ギャップセグメント(5'-X-Y-Z-3'構成のY)の長さを表し、1~20の整数である

【 0 5 7 7 】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるギャップマーのいずれか1つは、1以上の修飾ヌクレオシド連結(例えば、ホスホロチオアート連結)をX、YおよびZ領域の各々に含む。いくつかの態様において、本明細書において記載されるギャップマーのいずれか1つにおける各ヌクレオシド間連結はホスホロチオアート連結である。いくつかの態様において、X、YおよびZ領域の各々は、ホスホロチオアート連結とホスホジエステル連結との混合物を独立して含む。いくつかの態様において、ギャップ領域Yの各ヌクレオシド間連結はホスホロチオアート連結であり、5'ウイング領域Xは、ホスホロチオア

ト連結とホスホジエステル連結との混合物を含み、3'ウイング領域Zは、ホスホロチオアート連結とホスホジエステル連結との混合物を含む。

【0578】

u. ミックスマー

いくつかの態様において、本明細書において記載されるオリゴヌクレオチドは、ミックスマーであり得るか、またはミックスマー配列パターンを含み得る。一般に、ミックスマーは、天然に存在するヌクレオシドおよび天然に存在しないヌクレオシドの両方を含むオリゴヌクレオチドであるか、または2つの異なるタイプの天然に存在しないヌクレオシドを典型的には互い違いなパターンで含むオリゴヌクレオチドである。ミックスマーは、非修飾オリゴヌクレオチドよりも高い結合親和性を一般に有し、標的分子に特異的に結合するため、例えば、標的分子上の結合部位を遮断するために使用され得る。一般に、ミックスマーは、RNaseを標的分子に動員せず、したがって、標的分子の切断を促進しない。RNase Hを動員することが可能ではないそのようなオリゴヌクレオチドは記載されており、例を挙げると、国際公開第2007/112754号または国際公開第2007/112753号を参照されたい。

【0579】

いくつかの態様において、ミックスマーは、ヌクレオシド類似体と天然に存在するヌクレオシドとの反復パターン、もしくは1つのタイプのヌクレオシド類似体ともう1つのタイプのヌクレオシド類似体との反復パターンを含むか、またはそれからなる。ただし、ミックスマーは、反復パターンを含む必要はなく、代わりに、修飾ヌクレオシドと天然に存在するヌクレオシドとのいずれかの配置、または1つのタイプの修飾ヌクレオシドともう1つのタイプの修飾ヌクレオシドとのいずれかの配置を含み得る。反復パターンは、実例として、2ヌクレオシドごとまたは3ヌクレオシドごとであり得、修飾ヌクレオシド、例として、LNAであり、残りのヌクレオシドは、天然に存在するヌクレオシド、例として、DNAであるか、または2'置換ヌクレオシド類似体、例として、2'-MOEもしくは2'フルオロ類似体、もしくは本明細書において記載されるいずれかの他の修飾ヌクレオシドである。修飾ヌクレオシドの反復パターン、例として、LNA単位が、固定された位置で、例えば、5'または3'末端で、修飾ヌクレオシドと組み合わせられ得ることが認識されている。

【0580】

いくつかの態様において、ミックスマーは、5つよりも多く、4つよりも多く、3つよりも多く、または2つよりも多く連続する、天然に存在するヌクレオシド、例として、DNAヌクレオシドの領域を含まない。いくつかの態様において、ミックスマーは、少なくとも2つの連続する修飾ヌクレオシド、例として、少なくとも2つの連続するLNAからなる領域を少なくとも含む。いくつかの態様において、ミックスマーは、少なくとも3つの連続する修飾ヌクレオシド単位、例として、少なくとも3つの連続するLNAからなる領域を少なくとも含む。

【0581】

いくつかの態様において、ミックスマーは、7つよりも多く、6つよりも多く、5つよりも多く、4つよりも多く、3つよりも多く、または2つよりも多く連続するヌクレオシド類似体、例として、LNAの領域を含まない。いくつかの態様において、LNA単位は、他のヌクレオシド類似体、例として、本明細書において言及されたヌクレオシド類似体に置き換えられていてもよい。

【0582】

ミックスマーは、親和性増強修飾ヌクレオシド、例として、非限定的な例では、LNAヌクレオシドおよび2'-O-Meヌクレオシドの混合物を含むように設計され得る。いくつかの態様において、ミックスマーは、修飾ヌクレオシド間連結(例えば、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結または他の連結)を少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つまたはそれ以上のヌクレオシド間に含む。

【0583】

10

20

30

40

50

ミックスマーは、いずれかの好適な方法を使用して生成され得る。ミックスマーの調製を教示する代表的な米国特許、米国特許公開およびPCT公開は、米国特許公開第20060128646号、米国特許公開第20090209748号、米国特許公開第20090298916号、米国特許公開第20110077288号および米国特許公開第20120322851号ならびに米国特許第7687617号を包含する。

【0584】

いくつかの態様において、ミックスマーは、1以上のモルホリヌクレオシドを含む。例を挙げると、いくつかの態様において、ミックスマーは、1以上の他のヌクレオシド(例えば、DNA、RNAヌクレオシド)または修飾ヌクレオシド(例えば、LNA、2'-O-Meヌクレオシド)と(例えば、互い違いな様式で)混合されたモルホリヌクレオシドを含み得る。

10

【0585】

いくつかの態様において、ミックスマーは、例を挙げると、参照によりその各々の内容が本明細書に組み込まれるTouzник A., et al., LNA/DNA mixer-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に報告されているように、スプライス修正(splice correcting)またはエクソンスキッピングに有用である。

20

【0586】

v. RNA干渉(RNAi)

いくつかの態様において、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチドは、短干渉RNAまたはサイレンシングRNAとしても知られる低分子干渉RNA(siRNA)の形態であり得る。siRNAは、二本鎖RNA分子のクラスであり、典型的に、細胞内のRNA干渉(RNAi)経路を介した分解のために核酸(例えば、mRNA)を標的とする約20~25塩基対長である。siRNA分子の特異性は、標的RNAへのアンチセンス鎖分子の結合によって決定され得る。有効なsiRNA分子は、インターフェロン応答を介した細胞内の非特異的RNA干渉経路の誘発を防止するために、一般に30~35塩基対長未満であるが、さらに長いsiRNAも有効であることができる。いくつかの態様において、siRNA分子は、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またはそれ以上の塩基対長である。いくつかの態様において、siRNA分子は、8~30塩基対長、10~15塩基対長、10~20塩基対長、15~25塩基対長、19~21塩基対長、21~23塩基対長である。

30

【0587】

適切な標的RNA配列の選択後、全部または一部の標的配列に相補的なヌクレオチド配列、すなわち、アンチセンス配列を含むsiRNA分子は、適切な方法(例えば、PCT公開番号WO 2004/016735ならびに米国特許公開第2004/0077574号および米国特許公開第2008/0081791号を参照)を使用して設計および調製されることができる。siRNA分子は、二本鎖(すなわち、アンチセンス鎖と、ハイブリダイズしてdsRNAを形成する相補的センス鎖とを含むdsRNA分子)または一本鎖(すなわち、アンチセンス鎖だけを含むssRNA分子)であることができる。siRNA分子は、自己相補的なセンス鎖およびアンチセンス鎖を有する二重鎖、非対称二重鎖、ヘアピンまたは非対称ヘアピン二次構造を含むことができる。

40

【0588】

いくつかの態様において、siRNA分子のアンチセンス鎖は、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またはそれ以上のヌクレオチド長である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、8~50ヌクレオチド長、8~40ヌクレオチド長、8~30ヌ

50

クレオチド長、10～15ヌクレオチド長、10～20ヌクレオチド長、15～25ヌクレオチド長、19～21ヌクレオチド長、21～23ヌクレオチド長である。

【0589】

いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、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またはそれ以上のヌクレオチド長である。いくつかの態様において、センス鎖は、8～50ヌクレオチド長、8～40ヌクレオチド長、8～30ヌクレオチド長、10～15ヌクレオチド長、10～20ヌクレオチド長、15～25ヌクレオチド長、19～21ヌクレオチド長、21～23ヌクレオチド長である。

【0590】

いくつかの態様において、siRNA分子は、標的mRNA内の標的領域に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、相補性領域は、標的mRNA内の標的領域に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%相補的である。いくつかの態様において、標的領域は、標的mRNA内の連続するヌクレオチドの領域である。いくつかの態様において、相補的なヌクレオチド配列は、標的RNA配列に特異的にハイブリダイズ可能であるか、または標的RNA配列に特異的であるその標的の配列に100%相補的である必要はない。

【0591】

いくつかの態様において、siRNA分子は、標的RNA配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含み、相補性領域は、8～15、8～30、8～40、または10～50、または5～50、または5～40ヌクレオチド長の範囲内である。いくつかの態様において、相補性領域は、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または50ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、相補性領域は、標的RNA配列の少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25またはそれ以上の連続するヌクレオチドと相補的である。いくつかの態様において、siRNA分子は、標的RNA配列の連続するヌクレオチドの部分と比較して1、2、3、4または5つ以下の塩基ミスマッチを含有するヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、15塩基に対して最大3つのミスマッチ、または10塩基に対して最大2つのミスマッチを有するヌクレオチド配列を含む。

【0592】

いくつかの態様において、siRNA分子は、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表8、11および14における)の標的RNA配列に相補的である(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)ヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表17、20、23、26、29、32、35および38における)の標的RNA配列に相補的である(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)ヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表9、10、12、13、15および16における)と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一であるヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40における)と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一であるヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。いく

つかの態様において、siRNA分子は、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表9、10、12、13、15および16における)の少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25またはそれ以上の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、表18、19、21、22、24、25、27、28、30、31、33、34、36、37、39および40における)の少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25またはそれ以上の連続するヌクレオチドを含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、配列番号411に記載のMLCK1 mRNA配列に相補的である(例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%)ヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。

10

20

30

40

50

【0593】

二本鎖siRNAは、同じ長さまたは異なる長さのセンスRNA鎖およびアンチセンスRNA鎖を含み得る。二本鎖siRNA分子はまた、ステムループ構造の単一のオリゴヌクレオチド(ここで、siRNA分子の自己相補的なセンス領域およびアンチセンス領域は、核酸に基づくまたは非核酸に基づくリンカーによって連結されている)、ならびに2つ以上のループ構造と自己相補的なセンス鎖およびアンチセンス鎖を含むステムとを有する環状一本鎖RNA(ここで、環状RNAは、*in vivo*または*in vitro*のいずれかでプロセシングされてRNAiを媒介することが可能な活性siRNA分子を生成することができる)から会合されることができる。したがって、低分子ヘアピン型ヘアピンRNA(shRNA)分子もまた、本明細書において企図される。これらの分子は、逆相補的(センス)配列に加えて、スパーサーまたはループ配列によって典型的に分離された特定のアンチセンス配列を含む。スパーサーまたはループの切断は、(任意に、いずれかの鎖または両鎖の3'末端および/または(例えば、および)5'末端から1、2、3つまたはそれ以上のヌクレオチドの付加または除去をもたらす追加のプロセシング工程により)一本鎖RNA分子およびその逆相補体を、それらがアニールしてdsRNA分子を形成し得るように提供する。スパーサーは、スパーサーの切断(および任意に、これに続く、いずれかの鎖または両鎖の3'末端および/または(例えば、および)5'末端から1、2、3、4つまたはそれ以上のヌクレオチドの付加または除去をもたらす追加のプロセシング工程)に先立ちアンチセンス配列とセンス配列とをアニールさせ、二本鎖構造体(またはステム)を形成させるのに十分な長さであり得る。スパーサー配列は、アニールして二本鎖核酸になった際にshRNAを含む2つの相補的なヌクレオチド配列領域間に置かれた無関係なヌクレオチド配列であり得る。

【0594】

siRNA分子の全体的な長さは、設計されたsiRNA分子のタイプに応じて、約14から約100ヌクレオチドまで変動することができる。一般に、これらのヌクレオチドの約14～約50個が、RNA標的配列に相補的であり、すなわち、siRNA分子の特定のアンチセンス配列を構成する。例を挙げると、siRNAが二本鎖siRNAまたは一本鎖siRNAである場合、長さは約14から約50ヌクレオチドまで変動することができるのに対して、siRNAがshRNAまたは環状分子である場合、長さは約40ヌクレオチドから約100ヌクレオチドまで変動することができる。

【0595】

siRNA分子は、分子の一方の末端に3'オーバーハングを含み得、他方の末端は、平滑末端であり得るか、またはオーバーハング(5'または3')を有し得る。siRNA分子が分子の両末端にオーバーハングを含む場合、オーバーハングの長さは、同じであっても、または異なってもよい。一態様において、本開示のsiRNA分子は、分子の両末端上に約1

～約3ヌクレオチドの3'オーバーハングを含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、センス鎖上に約1～約3ヌクレオチドの3'オーバーハングを含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、アンチセンス鎖上に約1～約3ヌクレオチドの3'オーバーハングを含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、センス鎖およびアンチセンス鎖上に約1～約3ヌクレオチドの3'オーバーハングを含む。

【0596】

いくつかの態様において、siRNA分子は、1以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上)の修飾ヌクレオチドまたは修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、1以上の修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドおよび/または(例えば、および)1以上の修飾ヌクレオチド間連結を含む。いくつかの態様において、修飾ヌクレオシドは、修飾糖部分(例えば、2'修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、1以上の2'修飾ヌクレオチドまたは2'修飾ヌクレオシド、例えば、2'-デオキシ、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)を含む。いくつかの態様において、siRNA分子の各ヌクレオチドは修飾ヌクレオチド(例えば、2'-修飾ヌクレオチド)である。いくつかの態様において、siRNA分子は、1以上のホスホロジアミダートモルホリノを含む。いくつかの態様において、siRNA分子の各ヌクレオチドはホスホロジアミダートモルホリノである。

【0597】

いくつかの態様において、siRNA分子は、ホスホロチオアートまたは他の修飾ヌクレオシド間連結を含有する。いくつかの態様において、siRNA分子は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を少なくとも2つのヌクレオシド間に含む。いくつかの態様において、siRNA分子は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結をあらゆるヌクレオシド間に含む。例を挙げると、いくつかの態様において、siRNA分子は、修飾ヌクレオシド間連結をsiRNA分子の5'または3'末端の第1、第2および/または(例えば、および)第3のヌクレオシド間連結に含む。

【0598】

いくつかの態様において、修飾ヌクレオシド間連結はリン含有連結である。いくつかの態様において、使用され得るリン含有連結は、限定するものではないが、正常な3'-5'連結、これらの2'-5'連結類似体を有するホスホロチオアート、キラルのホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、3'アルキレンホスホナートおよびキラルのホスホナートを含有メチルおよび他のアルキルホスホナート、ホスフィナート、3'-アミノホスホロアミダートおよびアミノアルキルホスホロアミダートを含有ホスホロアミダート、チオノホスホロアミダート、チオノアルキルホスホナート、チオノアルキルホスホトリエステルおよびボラノホスファート、ならびにヌクレオシド単位の隣接する対が3'-5'から5'-3'へまたは2'-5'から5'-2'へ連結されている、逆方向の極性を有するものを包含し、米国特許第3,687,808号、米国特許第4,469,863号、米国特許第4,476,301号、米国特許第5,023,243号、米国特許第5,177,196号、米国特許第5,188,897号、米国特許第5,264,423号、米国特許第5,276,019号、米国特許第5,278,302号、米国特許第5,286,717号、米国特許第5,321,131号、米国特許第5,399,676号、米国特許第5,405,939号、米国特許第5,453,496号、米国特許第5,455,233号、米国特許第5,466,677号、米国特許第5,476,925号、米国特許第5,519,126号、米国特許第5,536,821号、米国特許第5,541,306号、米国特許第5,550,111号、米国特許第5,563,253号、米国特許第5,571,799号、米国特許第5,587,361号および米国特許第5,625,050号を参照されたい。

【0599】

本明細書において記載されるsiRNA分子の修飾された化学的性質または形式のいずれ

かは、互いに組み合わせられることができる。例を挙げると、1、2、3、4、5つまたはそれ以上の異なるタイプの修飾が、同じsiRNA分子内に包含されることができる。

【0600】

いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、1以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上)の修飾ヌクレオチドまたは修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、1以上の修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドおよび/または(例えば、および)1以上の修飾ヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドは、修飾糖部分(例えば、2'修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、1以上の2'修飾ヌクレオシド、例えば、2'-デオキシ、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)を含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖の各ヌクレオチド/ヌクレオシドは修飾ヌクレオチド/ヌクレオシド(例えば、2'-修飾ヌクレオシド)である。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、1以上のホスホロジアミダートモルホリノを含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖はホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー(PMO)である。

10

【0601】

いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、ホスホロチオアートまたは他の修飾ヌクレオシド間連結を含有する。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を少なくとも2つのヌクレオシド間に含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結をあらゆるヌクレオシド間に含む。例を挙げると、いくつかの態様において、アンチセンス鎖は、修飾ヌクレオシド間連結をsiRNA分子の5'または3'末端の第1、第2および/または(例えば、および)第3のヌクレオシド間連結に含む。いくつかの態様において、修飾ヌクレオシド間連結はリン含有連結である。いくつかの態様において、使用され得るリン含有連結は、限定するものではないが、正常な3'-5'連結、これらの2'-5'連結類似体を有するホスホロチオアート、キラルのホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、3'アルキレンホスホナートおよびキラルのホスホナートを含むメチルおよび他のアルキルホスホナート、ホスフィナート、3'-アミノホスホロアミダートおよびアミノアルキルホスホロアミダートを含むホスホロアミダート、チオノホスホロアミダート、チオノアルキルホスホナート、チオノアルキルホスホトリエステルおよびボラノホスファート、ならびにヌクレオシド単位の隣接する対が3'-5'から5'-3'へまたは2'-5'から5'-2'へ連結されている、逆方向の極性を有するものを包含し、米国特許第3,687,808号、米国特許第4,469,863号、米国特許第4,476,301号、米国特許第5,023,243号、米国特許第5,177,196号、米国特許第5,188,897号、米国特許第5,264,423号、米国特許第5,276,019号、米国特許第5,278,302号、米国特許第5,286,717号、米国特許第5,321,131号、米国特許第5,399,676号、米国特許第5,405,939号、米国特許第5,453,496号、米国特許第5,455,233号、米国特許第5,466,677号、米国特許第5,476,925号、米国特許第5,519,126号、米国特許第5,536,821号、米国特許第5,541,306号、米国特許第5,550,111号、米国特許第5,563,253号、米国特許第5,571,799号、米国特許第5,587,361号および米国特許第5,625,050号を参照されたい。

20

30

40

【0602】

本明細書において記載されるアンチセンス鎖の修飾された化学的性質または形式のいずれかは、互いに組み合わせられることができる。例を挙げると、1、2、3、4、5つまたはそれ以上の異なるタイプの修飾が、同じアンチセンス鎖内に包含されることができる。

【0603】

50

いくつかの態様において、センス鎖は、1以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上)の修飾ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、センス鎖は、1以上の修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドおよび/または(例えば、および)1以上の修飾ヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、修飾ヌクレオチド/ヌクレオシドは、修飾糖部分(例えば、2'修飾ヌクレオシド)を含む。いくつかの態様において、センス鎖は、1以上の2'修飾ヌクレオチド/ヌクレオシド、例えば、2'-デオキシ、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)を含む。いくつかの態様において、センス鎖の各ヌクレオチドまたはヌクレオチドは修飾ヌクレオチド/ヌクレオシド(例えば、2'-修飾ヌクレオシド)である。いくつかの態様において、センス鎖は、1以上のホスホロジアミダートモルホリノを含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖はホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー(PMO)である。いくつかの態様において、センス鎖は、ホスホロチオアートまたは他の修飾ヌクレオシド間連結を含有する。いくつかの態様において、センス鎖は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、センス鎖は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を少なくとも2つのヌクレオシド間に含む。いくつかの態様において、センス鎖は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結をあらゆるヌクレオシド間に含む。例を挙げると、いくつかの態様において、センス鎖は、修飾ヌクレオシド間連結をセンス鎖の5'または3'末端の第1、第2および/または(例えば、および)第3のヌクレオシド間連結に含む。

10

20

【0604】

いくつかの態様において、修飾ヌクレオシド間連結はリン含有連結である。いくつかの態様において、使用され得るリン含有連結は、限定するものではないが、正常な3'-5'連結、これらの2'-5'連結類似体を有するホスホロチオアート、キラルのホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、3'アルキレンホスホナートおよびキラルのホスホナートを含有メチルおよび他のアルキルホスホナート、ホスフィナート、3'-アミノホスホロアミダートおよびアミノアルキルホスホロアミダートを含有ホスホロアミダート、チオノホスホロアミダート、チオノアルキルホスホナート、チオノアルキルホスホトリエステルおよびボラノホスファート、ならびにヌクレオシド単位の隣接する対が3'-5'から5'-3'へまたは2'-5'から5'-2'へ連結されている、逆方向の極性を有するものを包含し、米国特許第3,687,808号、米国特許第4,469,863号、米国特許第4,476,301号、米国特許第5,023,243号、米国特許第5,177,196号、米国特許第5,188,897号、米国特許第5,264,423号、米国特許第5,276,019号、米国特許第5,278,302号、米国特許第5,286,717号、米国特許第5,321,131号、米国特許第5,399,676号、米国特許第5,405,939号、米国特許第5,453,496号、米国特許第5,455,233号、米国特許第5,466,677号、米国特許第5,476,925号、米国特許第5,519,126号、米国特許第5,536,821号、米国特許第5,541,306号、米国特許第5,550,111号、米国特許第5,563,253号、米国特許第5,571,799号、米国特許第5,587,361号および米国特許第5,625,050号を参照されたい。

30

40

【0605】

本明細書において記載されるセンス鎖の修飾された化学的性質または形式のいずれかは、互いに組み合わせられることができる。例を挙げると、1、2、3、4、5つまたはそれ以上の異なるタイプの修飾が、同じセンス鎖内に包含されることができる。

【0606】

いくつかの態様において、siRNA分子のアンチセンス鎖またはセンス鎖は、RNA誘導サイレンシング複合体(RISC)ローディングを増強または低減する修飾を含む。いくつかの態様において、siRNA分子のアンチセンス鎖は、RISCローディングを増強する修飾を含む。いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、RISCローディングを低減し、かつオフターゲット効果を減少させる修飾を含む。いくつかの態様において、siRNA

50

分子のアンチセンス鎖は、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)修飾を含む。参照によりその全体が本明細書に組み込まれるSong et al.,(2017)Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250に記載されているように、切断部位での2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)基の付加は、修飾された鎖の指向的なRNA誘導サイレンシング複合体(RISC)ローディングを促進することによって、siRNAの特異性およびサイレンシング活性の両方を改善する。いくつかの態様において、siRNA分子のアンチセンス鎖は、2'-OMe-ホスホロジチオアート修飾を含み、これにより、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWu et al.,(2014)Nat Commun 5:3459に記載されているように、RISCローディングを増大させる。

【0607】

いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、5'モルホリノを含み、これにより、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるKumar et al.,(2019)Chem Commun(Camb)55(35):5139-5142に記載されているように、センス鎖のRISCローディングを低減し、アンチセンス鎖選択およびRNAi活性を改善する。いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、合成RNA様高親和性ヌクレオシド類似体、ロックド核酸(LNA)によって修飾され、これにより、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるElman et al.,(2005)Nucleic Acids Res.33(1):439-447に記載されているように、センス鎖のRISCローディングを低減し、RISCへのアンチセンス鎖組込みをさらに増強する。いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、5'アンロックド核酸(UNA)修飾を含み、これにより、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるSnead et al.,(2013)Mol Ther Nucleic Acids 2(7):e103に記載されているように、センス鎖のRISCローディングを低減し、アンチセンス鎖のサイレンシング効果を改善する。いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、5-ニトロインドール修飾を含み、これにより、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるZhang et al.,(2012)Chembiochem 13(13):1940-1945に記載されているように、センス鎖のRNAi力価を低下させ、オフターゲット効果を減少させる。いくつかの態様において、センス鎖は、2'-O'メチル(2'-O-Me)修飾を含み、これにより、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるZheng et al.,FASEB(2013)27(10):4017-4026に記載されているように、センス鎖のRISCローディングおよびオフターゲット効果を低減する。いくつかの態様において、siRNA分子のセンス鎖は、モルホリノ、2'-MOE、または2'-O-Me残基によって完全に置換され、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるKole et al.,(2012)Nature reviews Drug Discovery 11(2):125-140に記載されているように、RISCによって認識されない。いくつかの態様において、siRNA分子のアンチセンス鎖は、2'-MOE修飾を含み、センス鎖は、2'-O-Me修飾を含む(例えば、Song et al.,(2017)Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250を参照)。いくつかの態様において、少なくとも1つ(例えば、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも10個)のsiRNA分子が、筋標的化剤に(例えば、共有結合的に)連結されている。いくつかの態様において、筋標的化剤は、核酸(例えば、DNAまたはRNA)、ペプチド(例えば、抗体)、脂質(例えば、マイクロベシクル)または糖部分(例えば、多糖)を含み得るか、またはそれらからなり得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は抗体である。いくつかの態様において、筋標的化剤は抗トランスフェリン受容体1抗体(例えば、本明細書において提供される抗TfR1抗体のいずれか1つ)である。いくつかの態様において、筋標的化剤は、siRNA分子のセンス鎖の5'末端に連結され得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は、siRNA分子のセンス鎖の3'末端に連結され得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は、siRNA分子のセンス鎖に内部で連結され得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は、siRNA分子のアンチセンス鎖の5'末端に連結され得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は、siRNA分子のアンチセンス鎖の3'末端に連結され得る。いくつかの態様において、筋標的化剤は、siRNA分子のアンチセンス鎖に内部で連結され得る。

【0608】

w. マイクロRNA(miRNA)

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはマイクロRNA(miRNA)であり得る。マイクロRNA(「miRNA」と呼ばれる)は、標的RNA転写物上の相補的な部位に結合することによって遺伝子発現を制御する調節性分子のクラスに属する小さい非コードRNAである。典型的には、miRNAは、核内で約70ヌクレオチドのpre-miRNAになるようにプロセシングされ、不完全なステムループ構造になるようにフォールディングされる大きなRNA前駆体(pri-miRNAと呼ばれる)から生成される。これらのpre-miRNAは、細胞質内で追加のプロセシング工程を典型的に受け、細胞質内では、18~25ヌクレオチド長の成熟miRNAは、RNase III酵素であるDicerによってpre-miRNAヘアピンの片側から切除される。

【0609】

10

本明細書において使用される場合、pri-miRNA、pre-miRNA、成熟miRNA、または成熟miRNAの生物学的活性を保持するそのバリエーションの断片を包含するmiRNA。一態様において、miRNAのサイズ範囲は、21ヌクレオチド~170ヌクレオチドであることができる。一態様において、miRNAのサイズ範囲は、70~170ヌクレオチドヌクレオチド長である。別の態様において、21~25ヌクレオチド長の成熟miRNAが使用されることができる。

【0610】

x. アプタマー

いくつかの態様において、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチドは、アプタマーの形態であり得る。一般に、分子ペイロードという状況では、アプタマーは、標的、例として、細胞内の小分子、タンパク質、核酸に特異的に結合するいずれかの核酸である。いくつかの態様において、アプタマーは、DNAアプタマーまたはRNAアプタマーである。いくつかの態様において、核酸アプタマーは、一本鎖のDNAまたはRNA(ssDNAまたはssRNA)である。一本鎖核酸アプタマーが、ヘリックスおよび/または(例えば、および)ループ構造を形成し得ることが理解されるべきである。核酸アプタマーを形成する核酸は、天然に存在するヌクレオチド/ヌクレオシド、修飾ヌクレオチド/ヌクレオシド、炭化水素リンカー(例えば、アルキレン)もしくはポリエーテルリンカー(例えば、PEGリンカー)が1以上のヌクレオチド/ヌクレオシド間に挿入された天然に存在するヌクレオチド/ヌクレオシド、炭化水素リンカーもしくはPEGリンカーが1以上のヌクレオチド/ヌクレオシド間に挿入された修飾ヌクレオチド/ヌクレオシド、またはそれらの組合せを含み得る。アプタマー、およびアプタマーを生成する方法を記載する例示的な刊行物および特許は、例えば、参照により各々が本明細書に組み込まれるLorsch and Szostak, 1996; Jayasena, 1999; 米国特許第5,270,163号; 米国特許第5,567,588号; 米国特許第5,650,275号; 米国特許第5,670,637号; 米国特許第5,683,867号; 米国特許第5,696,249号; 米国特許第5,789,157号; 米国特許第5,843,653号; 米国特許第5,864,026号; 米国特許第5,989,823号; 米国特許第6,569,630号; 米国特許第8,318,438号およびPCT出願WO 99/31275を包含する。

20

30

【0611】

y. リボザイム

いくつかの態様において、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチドは、リボザイムの形態であり得る。リボザイム(リボ核酸酵素)は、タンパク質酵素の作用と同様の特定の生化学的反応を行うことが可能な分子、典型的にはRNA分子である。リボザイムは、これらがハイブリダイズしているRNA分子、例として、mRNA、RNA含有基質、lncRNAおよびリボザイム自体内の特定のホスホジエステル連結で切断する能力を包含する触媒活性を有する分子である。

40

【0612】

リボザイムは、いくつかの物理的構造のうちの1つをとり得、それらのうちの1つが「ハンマーヘッド」と呼ばれる。ハンマーヘッドリボザイムは、9つの保存された塩基を含有する触媒コアと、二本鎖ステムおよびループ構造(ステムループII)と、標的RNA隣接領域触媒コアに相補的な2つの領域とから構成される。隣接領域は、リボザイムが、二本

50

鎖ステムIおよびIIIを形成することによって標的RNAに特異的に結合することを可能にする。切断は、3',5'-リン酸ジエステルから2',3'-環状リン酸ジエステルへのエステル交換反応による特定のリボヌクレオチドトリプレット(triplet)の次に、cis(すなわち、ハンマーヘッドモチーフを含有する同じRNA分子の切断)で、またはtrans(リボザイムを含有するもの以外のRNA基質の切断)で生じる。理論によって拘束されることを望むものではないが、この触媒活性は、リボザイムの触媒領域内に高度に保存された特定の配列が存在することを必要とすると考えられている。

【0613】

リボザイム構造内の修飾はまた、非ヌクレオチド分子による分子の様々な非コア部分の置換または置換えも包含している。例を挙げると、Benseler et al.(J.Am.Chem.Soc.(1993)115:8483-8484)は、ステムIIの塩基対のうちの2つ、およびループIIのヌクレオチドの4つ全部が、ヘキサエチレングリコール、プロパンジオール、ビス(トリエチレングリコール)ホスファート、トリス(プロパンジオール)ビスホスファート、またはビス(プロパンジオール)ホスファートに基づく非ヌクレオシドリンカーに置き換えられたハンマーヘッド様分子を開示した。Ma et al.(Biochem.(1993)32:1751-1758;Nucleic Acids Res.(1993)21:2585-2589)は、TARリボザイムヘアピンの6つのヌクレオチドループを非ヌクレオチドエチレングリコール関連リンカーに置き換えた。Thomson et al.(Nucleic Acids Res.(1993)21:5600-5603)は、ループIIを、長さが13、17および19原子の線状の非ヌクレオチドリンカーに置き換えた。

【0614】

リボザイムオリゴヌクレオチドは、周知の方法(例えば、PCT公開WO9118624;WO9413688;WO9201806;およびWO 92/07065;ならびに米国特許第5436143号および米国特許第5650502号を参照)を使用して調製されることができ、または商業的供給源(例えば、US Biochemicals)から購入されることができ、所望であれば、細胞内のヌクレアーゼによる分解に対するオリゴヌクレオチドの耐性を増加させるためにヌクレオチド類似体を組み込むことができる。リボザイムは、いずれかの公知の様式で、例えば、Applied Biosystems, Inc.またはMilligenによって製造された市販の合成機の使用によって合成され得る。リボザイムはまた、従来の手段によって、組換えベクター内で産生され得る。Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (Current edition)を参照されたい。リボザイムRNA配列は、例を挙げると、RNAポリメラーゼ、例として、T7またはSP6を使用することによって、従来通り合成されてもよい。

【0615】

z. ガイド核酸

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ガイド核酸、例えば、ガイドRNA(gRNA)分子である。一般に、ガイドRNAは、(1)核酸プログラム可能DNA結合タンパク質(napDNAbp)に結合するスキャホールド配列、例として、Cas9と、(2)核酸プログラム可能DNA結合タンパク質をDNA標的配列に近づけるためにgRNAが結合するDNA標的配列(例えば、ゲノムDNA標的)を定義するヌクレオチドスペーサー部分とから構成される短い合成RNAである。いくつかの態様において、napDNAbpは、1以上のRNAと複合体を形成し(例えば、1以上のRNAに結合するか、または1以上のRNAと会合する)、これにより、核酸プログラム可能タンパク質が標的DNA配列(例えば、標的ゲノムDNA配列)を標的とする核酸プログラム可能タンパク質である。いくつかの態様において、核酸プログラム可能ヌクレアーゼは、RNAとの複合体である場合、ヌクレアーゼ:RNA複合体と呼ばれ得る。ガイドRNAは、2つ以上のRNAの複合体として、または単一のRNA分子として存在することができる。

【0616】

単一のRNA分子として存在するガイドRNA(gRNA)は、単一のガイドRNA(sgRNA)と呼ばれ得るが、gRNAはまた、単一分子、または2つ以上の分子の複合体のいずれかとして存在するガイドRNAを指すためにも使用される。典型的には、単一のRNA種として存

在するgRNAは、2つのドメインを含む:(1)標的核酸と相同性を共有するドメイン(すなわち、標的へのCas9複合体の結合を導く);および(2)Cas9タンパク質に結合するドメイン。いくつかの態様において、ドメイン(2)は、tracrRNAとして知られる配列に対応し、ステムループ構造を含む。いくつかの態様において、ドメイン(2)は、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれるJinek et al., Science 337:816-821(2012)に提供されているように、tracrRNAと同一または相同である。

【0617】

いくつかの態様において、gRNAは、ドメイン(1)および(2)のうちの2つ以上を含み、伸長gRNA(extended gRNA)と呼ばれ得る。例を挙げると、伸長gRNAは、本明細書において記載されるように、2つ以上のCas9タンパク質に結合し、2つ以上の別個の領域で標的核酸に結合する。gRNAは、標的部位へのヌクレアーゼ/RNA複合体の結合を媒介する標的部位を相補するヌクレオチド配列を含み、ヌクレアーゼ:RNA複合体の配列特異性を提供する。いくつかの態様において、RNAプログラム可能ヌクレアーゼは、(CRISPR関連系)Cas9エンドヌクレアーゼ、例を挙げると、*Streptococcus pyogenes*由来のCas9(Csn1)である(例えば、参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる“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., Najjar 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); および “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)を参照)。

【0618】

aa. 多量体

いくつかの態様において、分子ペイロードは、リンカーによって接続された2つ以上のオリゴヌクレオチドの多量体(例えば、コンカテマー)を含み得る。このように、いくつかの態様において、複合体/コンジュゲートのオリゴヌクレオチドの添加は、標的化剤上の利用可能な連結部位(例えば、抗体上の利用可能なチオール部位)を超えて増大されることができるか、または具体的なペイロード添加量に達するよう別様に整えられることができる。多量体内のオリゴヌクレオチドは、同じであることができるか、または異なることができる(例えば、異なる遺伝子、もしくは同じ遺伝子上の異なる部位、またはそれらの産物を標的とする)。

【0619】

いくつかの態様において、多量体は、切断可能なリンカーによって一緒に連結された2つ以上のオリゴヌクレオチドを含む。ただし、いくつかの態様において、多量体は、切断不可能なリンカーによって一緒に連結された2つ以上のオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、多量体は、一緒に連結された2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、多量体は、一緒に連結された2~5、2~10、または4~20個のオリゴヌクレオチドを含む。

【0620】

いくつかの態様において、多量体は、(線状配置では)末端間(end-to-end)で連結された2つ以上のオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、多量体は、オリゴヌクレオチドに基づくリンカー(例えば、ポリ-dTリンカー、脱塩基性リンカー)を介して、末端間で連結された2つ以上のオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、多量体は、別のオリゴヌクレオチドの3'末端に連結された1つのオリゴヌクレオチドの5'末端を含む。いくつかの態様において、多量体は、別のオリゴヌクレオチドの3'末端に連

結された1つのオリゴヌクレオチドの3'末端を含む。いくつかの態様において、多量体は、別のオリゴヌクレオチドの5'末端に連結された1つのオリゴヌクレオチドの5'末端を含む。またさらに、いくつかの態様において、多量体は、分岐リンカーによって一緒に連結された複数のオリゴヌクレオチドを含む分岐構造を含むことができる。

【0621】

本明細書において提供される複合体に使用され得る多量体のさらなる例は、例を挙げると、参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる、2015年11月5日に公開されたMethods of delivering multiple targeting oligonucleotides to a cell using cleavable linkersと題する米国特許出願第2015/0315588号;2015年9月3日に公開されたMultimeric Oligonucleotide Compoundsと題する米国特許出願第2015/0247141号、2011年6月30日に公開されたImmunostimulatory Oligonucleotide Multimersと題する米国特許出願第2011/0158937号;および1997年12月2日に発行されたTriplex-Forming Antisense Oligonucleotides Having Abasic Linkers Targeting Nucleic Acids Comprising Mixed Sequences Of Purines And Pyrimidinesと題する米国特許第5,693,773号に開示されている。

【0622】

ii. 小分子

いずれかの好適な小分子が、本明細書において記載されるように、分子ペイロードとして使用され得る。いくつかの態様において、小分子は、MSTN(例えば、MSTNのエクソン2)配列のエクソンスキッピングを促進する。いくつかの態様において、小分子は、その内容全体が本明細書に組み込まれる、2013年9月19日公開、「Myostatin inhibitors」と題する国際特許出願公開WO2013137832に記載されている通りである。いくつかの態様において、小分子は、INHBAオリゴマーまたは二量体の形成を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、アクチビンAおよび/またはインヒビンAの形成を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、インヒビン、ベータA(INHBA)の機能を阻害する。

【0623】

いくつかの態様において、小分子はACVR1B阻害剤である。いくつかの態様において、小分子は、SB-431542、またはSB-431542の誘導体である。いくつかの態様において、小分子は、AZ12601011、またはAZ12601011の誘導体である。いくつかの態様において、小分子は、SB-505124、またはSB-505124の誘導体である。いくつかの態様において、小分子は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるSun,Z.et al., "The TGF- β Pathway Mediates Doxorubicin Effects on Cardiac Endothelial Cells." J Mol Cell Cardiol.2016 Jan;90:129-138.;Spender L.C.,et al. "Preclinical Evaluation of AZ12601011 and AZ12799734,Inhibitors of Transforming Growth Factor β Superfamily Type 1 Receptors." Mol Pharmacol. 2019 Feb;95(2):222-234.;DaCosta Byfield S.et al., "SB-505124 is a selective inhibitor of transforming growth factor-beta type I receptors ALK4,ALK5,and ALK7." Mol Pharmacol.2004 Mar;65(3):744-52.;Inman,G.J.et al., "SB-431542 is a potent and specific inhibitor of transforming growth factor-beta superfamily type I activin receptor-like kinase(ALK)receptors ALK4,ALK5,and ALK7." Mol Pharmacol.2002 Jul;62(1):65-74.に記載されている通りである。

【0624】

MLCK1

いくつかの態様において、小分子は、MLCK1の発現を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、MLCK1の機能を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、MLCK1の触媒キナーゼドメインに結合する。いくつかの態様において、小分子は、MLCK1の触媒キナーゼ活性を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、MLCK1の非触媒ドメインに結合する。いくつかの態様において、小分子は、傍接合部アクトミオシン環(

PAMR)へのMLCK1動員を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、傍接合部アクトミオシン環(PAMR)へのMLCK1動員を阻害し、MLCK1の触媒キナーゼ活性を阻害しない。

【0625】

いくつかの態様において、小分子は、ダイバーチン(divertin)またはその誘導体である。いくつかの態様において、小分子は、ルカパリブ、ML-9、イソキノリン、イソキノリンアルカロイド、ベルベリンまたはそれらの誘導体である。

【0626】

いくつかの態様において、小分子は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるValle Graham, W. et al., "Intracellular MLCK1 diversion reverses barrier loss to restore mucosal homeostasis." *Nature Medicine* volume 25, 690-700, 2019.; McCrudden, C. M. et al., "Vasoactivity of rucaparib, a PARP-1 inhibitor, is a complex process that involves myosin light chain kinase, P2 receptors, and PARP itself." *PLoS One*. 2015 Feb 17; 10(2):e0118187.; Nakaniishi, S. et al., "MS-347a, a new inhibitor of myosin light chain kinase from *Aspergillus* sp. KY52178." *J Antibiot (Tokyo)*. 1993 Dec; 46(12):1775-81.; Xu, Z. et al. "Berberine Depresses Contraction of Smooth Muscle via Inhibiting Myosin Light-chain Kinase." *Pharmacogn Mag*. 2017 Jul-Sep; 13(51):454-458.; Saitoh M. et al., "Selective inhibition of catalytic activity of smooth muscle myosin light chain kinase." *J Biol Chem*. 1987 Jun 5; 262(16):7796-801.; Nakanishi S. et al., "K-252a, a novel microbial product, inhibits smooth muscle myosin light chain kinase." *J Biol Chem*. 1988 May 5; 263(13):6215-9.; Kerendi F. et al., "Inhibition of myosin light chain kinase provides prolonged attenuation of radial artery vasospasm." *Eur J Cardiothorac Surg*. 2004 Dec; 26(6):1149-55.; および Nakanishi S. et al., "Wortmannin, a microbial product inhibitor of myosin light chain kinase." *J Biol Chem*. 1992 Feb 5; 267(4):2157-63. に記載されている通りである。

【0627】

ACVR1

いくつかの態様において、小分子は、参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる Mohedas, A. H. et al. "Development of an ALK2-biased BMP type I receptor kinase inhibitor", *ACS Chem Biol*. 2013; 8(6):1291-302.; Sanvitale, C. E. et al., "A new class of small molecule inhibitor of BMP signaling", *PLoS One*. 2013 Apr 30; 8(4):e62721.; Kausar T. and S. M. Nayeem, "Identification of small molecule inhibitors of ALK2: a virtual screening, density functional theory, and molecular dynamics simulations study", *J Mol Model*. 2018 Aug 29; 24(9):262.; および 国際特許出願公開 WO 2015/152183、11/8/2015 公開、「Prophylactic agent and therapeutic agent for fibrodysplasia ossificans progressiva」に記載されている通りである。いくつかの態様において、小分子は、米国特許出願第 2016/0075772 号、3/17/2016 公開、「Treatment of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva」に記載されている通りである。いくつかの態様において、小分子は、国際公開第 2016/121680 号、8/4/2016 公開、「Therapeutic agent for fibrodysplasia ossificans progressiva」に記載されている通りである。いくつかの態様において、小分子は、ラパマイシン、テムシロリムス、エベロリムス、リダフォロリムス、TAFA93、ウミロリムス、オルコロリムス(olcorolimus)、ゾタロリムスまたは関連化合物である。いくつかの態様において、小分子は、米国特許出願第 2018/031579 号、2/1/2018 公開、「Momelotinib for treating of acvr1-mediated diseases」に記載されている通りである。いくつかの態様において、小分子は、アクチビンの発現を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、アクチビンとアクチビン A 受容体 I 型との間の相互作用を阻害する。いくつかの態様において、小分

子は、ACVR1の発現または酵素活性を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、ACVR1の下流のシグナル伝達を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、アクチビン受容体2A型のタンパク質またはペプチドと組み合わせて使用されるアクチビン受容体2B型(ACVR2B)アンタゴニストである。いくつかの態様において、小分子は、Katagiri,T.et al. “Heterotopic bone induction via BMP signaling: Potential therapeutic targets for fibrodysplasia ossificans progressiva” Bone, 2017に記載されている通りである。いくつかの態様において、小分子は、RAR γ アゴニスト、例えば、パロパロテンである。小分子の追加の例は、Cappato,S.et al. “The Horizon of a Therapy for Rare Genetic Diseases: A “Druggable” Future for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva” Int.J.Mol.Sci.2018,19(4),989;Cappato,S et al, “High-throughput screening for modulators of ACVR1 transcription: discovery of potential therapeutics for fibrodysplasia ossificans progressiva.” Dis Model Mech.2016 Jun 1;9(6):685-96.;およびKaplan,F.S.et al “Early clinical observations on the use of imatinib mesylate in FOP: A report of seven cases.” Bone.2018 Apr;109:276-280に包含される。上記の各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体に使用されるACVR1の小分子阻害剤は市販されており、例えば、Sigma-Aldrich製のDMH1(カタログ番号D8946)である。

10

【0628】

FBX032

20

いくつかの態様において、小分子は、FBX032発現を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、FBX032と1以上の基質との間の相互作用を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、FBX032とユビキチン化される1以上のタンパク質との間、および/またはFBX032とSCF複合体の1以上の成分との間の相互作用を阻害する。いくつかの態様において、小分子は、グネチンCである。いくつかの態様において、小分子は、2017年11月1日に付与された特開201514031に記載されている通りである。

【0629】

TRIM63

いくつかの態様において、小分子は、TRIM63と1以上のタンパク質基質との間の相互作用を妨害する。いくつかの態様において、タンパク質基質はタイチンである。いくつかの態様において、小分子は、TRIM63依存性基質ユビキチン化を阻害する。TRIM63および/またはTRIM63活性を標的とする小分子の非限定的な例は、Bowen et al.,J Cachexia Sarcopenia Muscle.2017 Dec;8(6):939-953;Adams et al.,J Cachexia Sarcopenia Muscle.2019 Oct;10(5):1102-1115;およびEddins et al.,Cell Biochem Biophys.2011 Jun;60(1-2):113-8に記載されている。上に列挙されたこれらの刊行物の各々の内容全体は、本明細書に組み込まれる。

30

【0630】

いくつかの態様において、小分子はリチウムである(例えば、参照により本明細書に組み込まれるLinseman et al.,J Neurochem.2003 Jun;85(6):1488-99に記載されているように)。いくつかの態様において、小分子はビス(3)-コグニチンである(例えば、参照により本明細書に組み込まれるYao et al.,The Journal of Biological Chemistry,287,34246-34255に記載されているように)。いくつかの態様において、小分子はレチノイン酸である(例えば、参照により本明細書に組み込まれるMa et al.,Cancer Res;74(5)March 1,2014に記載されているように)。

40

【0631】

KLF15

いくつかの態様において、小分子は、KLF15の発現または機能を増加させる。いくつかの態様において、小分子は、KLF15の発現または機能を抑制するタンパク質または遺伝子の発現または機能を阻害する。他の態様において、小分子は、KLF15の発現または機能を低下させる。

50

【0632】

MED1、MED13

いくつかの態様において、MED1またはMED13を標的とするための小分子は、MED1またはMED13とその相互作用パートナー(例えば、メディエーター複合体の他のサブユニット、プロモドメイン含有タンパク質、例として、BRD4、またはCBP/p300)との間のタンパク質間相互作用を特異的に調整する小分子である。MED1またはMED13とその相互作用パートナーとの間のタンパク質間相互作用を特異的に調整する小分子は、MED1もしくはMED13に結合する小分子、および/または相互作用パートナーに結合する小分子であり得る。いくつかの態様において、MED1またはMED13を標的とする小分子は、MED1またはMED13のエピジェネティックモジュレーター、および/またはエピジェネティックリーダー(例えば、BRD4)を標的とする小分子である。いくつかの態様において、MED1を標的とするための小分子は、BRD4に結合する小分子(例えば、JQ1、またはJQ1の誘導体)である。いくつかの態様において、小分子は、Hermann, H. et al. "Small-molecule inhibition of BRD4 as a new potent approach to eliminate leukemic stem-and progenitor cells in acute myeloid leukemia AML" *Oncotarget*. 2012 Dec; 3(12):1588-99.; および2017年2月16日に公開された「Mechanism of resistance to bet bromodomain inhibitors」と題する国際特許出願WO2017/027571に記載されている通りであり、上に列挙されたこれらの刊行物の各々の内容全体は、本明細書に組み込まれる。

10

【0633】

20

iii. ペプチド/タンパク質

いずれかの好適なペプチドまたはタンパク質が、本明細書において記載されるように、分子ペイロードとして使用され得る。いくつかの態様において、タンパク質は酵素である。これらのペプチドまたはタンパク質は、いくつかの方法論、例えば、ファージディスプレイドペプチドライブラリー、1ピーズ・1化合物)ペプチドライブラリー、または位置走査性合成ペプチドコンビナトリアルライブラリーを使用して、産生、合成および/または誘導体化され得る。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、約2~25アミノ酸、約2~20アミノ酸、約2~15アミノ酸、約2~10アミノ酸または約2~5アミノ酸を含み得る。ペプチドまたはタンパク質は、天然に存在するアミノ酸、例えば、システイン、アラニン、または天然に存在しないか、もしくは修飾されたアミノ酸を含み得る。天然に存在しないアミノ酸は、β-アミノ酸、ホモ-アミノ酸、プロリン誘導体、3-置換アラニン誘導体、線形コアアミノ酸、N-メチルアミノ酸、および当技術分野で公知のその他のアミノ酸を包含する。いくつかの態様において、ペプチドは、線状であり得る。他の態様において、ペプチドは、環状、例えば、二環式であり得る。

30

【0634】

MSTN

いくつかの態様において、タンパク質またはペプチドは、2014年8月7日に公開された「Myostatin-inhibiting peptide」と題する国際特許出願公開WO2014119753; 2004年7月15日に公開された「Binding agents which inhibit myostatin」と題する国際特許出願公開WO2004058988; 2012年2月23日に公開された「Antibodies that bind myostatin, compositions and methods」と題する国際特許出願公開WO2012024242; Takayama, K. et al. "Chain-Shortened Myostatin Inhibitory Peptides Improve Grip Strength in Mice" *ACS Med Chem Lett*. 2019 May 28; 10(6):985-990.; Jin, Q. et al. "A GDF11/myostatin inhibitor, GDF11 propeptide-Fc, increases skeletal muscle mass and improves muscle strength in dystrophic mdx mice" *Skelet Muscle*. 2019 May 27; 9(1):16.; Long, K. K. et al., "Specific inhibition of myostatin activation is beneficial in mouse models of SMA therapy" *Hum Mol Genet*. 2019 Apr 1; 28(7):1076-1089.; Campbell, C. et al. "Myostatin inhibitor ACE-031 treatment of ambulatory boys with Duchenne muscular dystrophy: Results of a randomized, placebo-con

40

50

trolled clinical trial” Muscle Nerve.2017 Apr;55(4):458-464.;およびTakayama,K.et.al., “Effect of N-Terminal Acylation on the Activity of Myostatin Inhibitory Peptides” ChemMedChem.2016 Apr 19;11(8):845-9に記載されている通りであり、上に列挙されたこれらの刊行物の各々の内容全体は、本明細書に組み込まれる。

【0635】

いくつかの態様において、MSTNを標的とするペプチドまたはタンパク質は、ミオスタチンタンパク質の活性を選択的に阻害する。いくつかの態様において、MSTNを標的とするペプチドまたはタンパク質は、ミオスタチンタンパク質の活性を選択的に阻害し、10～50、20～50、20～40、20～30、10～100、25～100、50～100、または100超のアミノ酸を含む。いくつかの態様において、MSTNを標的とするペプチドまたはタンパク質は、増殖分化因子11(GDF11)ポリペプチド(例えば、GDF11プロペプチド-Fc融合物)である。いくつかの態様において、MSTNを標的とするペプチドまたはタンパク質は、アクチビン受容体IIB型とIgG1-Fcとの融合タンパク質である。いくつかの態様において、MSTNを標的とするペプチドまたはタンパク質は、ミオスタチンタンパク質の活性を阻害するフォリスタチンポリペプチド(例えば、組換え変異体フォリスタチン)である。フォリスタチンポリペプチドは、フォリスタチンN末端ドメイン、フォリスタチン-1ドメイン、フォリスタチン-2ドメイン、フォリスタチン-3ドメインおよび/またはフォリスタチンC末端ドメインを含み得る。いくつかの態様において、MSTNを標的とするペプチドまたはタンパク質は、抗MSTN抗体である。

10

20

【0636】

INHBA

いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、その内容全体が本明細書に組み込まれるChen,J.L.et al. “Development of Novel Activin-Targeted Therapeutics” Mol Ther.2015 Mar;23(3):434-444.;Hu,J.et al. “Activin A inhibition attenuates sympathetic neural remodeling following myocardial infarction in rats” Mol Med Rep.2018 Apr;17(4):5074-5080.;Yaden,BC et al. “Inhibition of activin A ameliorates skeletal muscle injury and rescues contractile properties by inducing efficient remodeling in female mice” Am J Pathol.2014 Apr;184(4):1152-66.;2018年9月27日に公開された「Inhibin Analogs」と題する米国特許出願公開第20180273599号に記載されている通りである。

30

【0637】

いくつかの態様において、INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、INHBAを含むオリゴマーまたは二量体の形成を選択的に阻害する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、アクチビンAおよび/またはインヒビンAの形成を阻害する。いくつかの態様において、INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、インヒビン、ベータA(INHBA)の機能を選択的に阻害する。いくつかの態様において、INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、修飾されたアクチビンAおよび/またはアクチビンBプロドメインである。いくつかの態様において、INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、フォリスタチンまたはその誘導体である。INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、10～50、20～50、20～40、20～30、10～100、25～100、50～100、または100超のアミノ酸を含む。いくつかの態様において、INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、インヒビン類似体である。いくつかの態様において、INHBAを標的とするペプチドまたはタンパク質は、抗INHBA抗体である。

40

【0638】

ACVR1

いくつかの態様において、タンパク質は、切断型ACVR1Bタンパク質である。いくつかの態様において、切断型ACVR1Bタンパク質は、アクチビン受容体2型タンパク質への結合について内因性の完全長ACVR1Bと競合する。いくつかの態様において、切断型ACVR1Bタンパク質は、リン酸化されることができない。リン酸化されることができない切

50

断型ACVR1Bタンパク質は、アクチビンシグナル伝達を伝達することができない。いくつかの態様において、切断型ACVR1Bタンパク質は、そのC末端で切断されている。切断型ACVR1Bタンパク質は、完全長ACVR1のサブドメインXIの大部分を欠いていてもよい、完全長ACVR1のサブドメインXおよびXIを欠いていてもよい、またはキナーゼサブドメインIX-XIと、完全長ACVR1のサブドメインVIIIの一部とを欠いていてもよい。

【0639】

いくつかの態様において、タンパク質またはペプチドは、Zhou,Y.et al. “Truncated Activin Type I Receptor Alk4 Isoforms Are Dominant Negative Receptors Inhibiting Activin Signaling.” *Molecular Endocrinology*,2000,14:12,2066-2075.;2016年3月23日に出版された「A method of treating neoplasias」と題する国際特許出願公開WO 2016/161477に記載されている通りであり、上に列挙されたこれらの刊行物の各々の内容全体は、本明細書に組み込まれる。

10

【0640】

MLCK1

いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、MLCK1の発現を阻害する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、MLCK1の機能を阻害する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、MLCK1の触媒キナーゼドメインに結合する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、MLCK1の触媒キナーゼ活性を阻害する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、MLCK1の非触媒ドメインに結合する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、傍接合部アクトミオシン環(PAMR)へのMLCK1動員を阻害する。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、傍接合部アクトミオシン環(PAMR)へのMLCK1動員を阻害し、MLCK1の触媒キナーゼ活性を阻害しない。

20

【0641】

いくつかの態様において、タンパク質またはペプチドは、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれるIkebe M.et al., “Primary structure required for the inhibition of smooth muscle myosin light chain kinase.” *FEBS Lett.*1992 Nov 9; 312(2-3):245-8.;およびHunt,J.T.et al., “Minimum requirements for inhibition of smooth-muscle myosin light-chain kinase by synthetic peptides.” *Biochem J.*1989 Jan 1;257(1):73-8.に記載されている通りである。

30

【0642】

ACVR1

いくつかの態様において、ACVR1活性を調整するためのペプチドまたはタンパク質は、BMP阻害剤、例として、調節性SMAD 6および7またはその断片である。ペプチドまたはタンパク質の追加の例は、Cappato,S.et al. “The Horizon of a Therapy for Rare Genetic Diseases:A “Druggable” Future for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva” *Int.J.Mol.Sci.*2018,19(4),989に包含される。上記の各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0643】

FBXO32

非限定的な例として、タンパク質またはペプチドは、抗FBXO32抗体、PGC-1 α 、またはPGC-1 β である。いくつかの態様において、タンパク質またはペプチドは、Bdolah et al.,*Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*2007 Feb;292(2):R971-6; Sandri et al.,*Cell* 117:399-412,2006;および2008年12月24日に公開された「METHODS AND COMPOSITIONS FOR THE TREATMENT AND DIAGNOSIS OF STATIN-INDUCED MYOPATHY」と題する国際公開第2008156561号に記載されている通りである。上に列挙されたこれらの刊行物の各々の内容全体は、本明細書に組み込まれる。

40

【0644】

TRIM63

50

いくつかの態様において、タンパク質またはペプチドはTRIM63抗体である。例えば、de Palma et al., Joint Bone Spine. 2008 Jan; 75(1): 53-7; and Clarke et al., Cell Metab. 2007 Nov; 6(5): 376-85を参照されたい。上に列挙されたこれらの刊行物の各々の内容全体は、本明細書に組み込まれる。

【0645】

MEF2D

いくつかの態様において、タンパク質またはペプチドは、MEF2D抗体である(例えば、参照により本明細書に組み込まれるLi et al., Journal of Neuroscience 1 September 2001, 21(17): 6544-6552に記載されているように)。MEF2D抗体はまた、例えば、Abcam(カタログ番号AB32845)およびThermo Fisher Scientific(カタログ番号MA5-268909)から市販されている。

【0646】

KLF15

いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、KLF15の発現または機能を増加させる。いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、KLF15の発現または機能を抑制するタンパク質または遺伝子の発現または機能を阻害する。他の態様において、ペプチドまたはタンパク質は、KLF15の発現または機能を低下させる。

【0647】

いくつかの態様において、ペプチドまたはタンパク質は、KLF15ペプチドまたはタンパク質である。いくつかの態様において、KLF15ペプチドまたはタンパク質は、内因性KLF15と同じ様式で(例えば、心臓転写因子、例として、MEF2、GATA4およびミオカルディンを阻害するために)機能する。いくつかの態様において、KLF15ペプチドまたはタンパク質は、内因性KLF15の機能活性の少なくとも50%(例えば、少なくとも60%、70%、80%、90%またはそれ以上)を有する。いくつかの態様において、KLF15ペプチドまたはタンパク質は、完全長KLF15タンパク質である。

【0648】

MED1、MED13

いくつかの態様において、MED1またはMED13を標的とするためのペプチドまたはタンパク質は、MED1またはMED13とその相互作用パートナー(例えば、メディエーター複合体の他のサブユニット、プロモドメイン含有タンパク質、例として、BRD4、またはCBP/p300)との間のタンパク質間相互作用を特異的に調整するペプチドまたはタンパク質である。MED1またはMED13とその相互作用パートナーとの間のタンパク質間相互作用を特異的に調整するペプチドまたはタンパク質は、MED1もしくはMED13に結合する小分子、および/または相互作用パートナーに結合するペプチドまたはタンパク質であり得る。いくつかの態様において、MED1またはMED13を標的とするためのペプチドまたはタンパク質は、抗体(例えば、抗MED1抗体または抗MED13抗体)である。

【0649】

iv. 核酸構築物

いずれかの好適な遺伝子発現構築物が、本明細書において記載されるように、分子ペイロードとして使用され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ベクターまたはcDNA断片であり得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、メッセンジャーRNA(mRNA)であり得る。いくつかの態様において、本明細書において使用されるmRNAは、例えば、2014年4月24日に発行された「Engineered nucleic acids encoding a modified erythropoietin and their expression」と題する米国特許第8,710,200号に記載されるように、修飾されたmRNAであり得る。いくつかの態様において、mRNAは、5'メチルキャップを含み得る。いくつかの態様において、mRNAは、任意に、最大160ヌクレオチド長のポリAテールを含み得る。

【0650】

遺伝子発現構築物は、ミオスタチンの発現または活性を低下させるタンパク質の配列をコードし得る。遺伝子発現構築物は、INHBA二量体またはオリゴマーの形成を阻害また

10

20

30

40

50

は妨害する、INHBAのペプチドまたはタンパク質類似体であるタンパク質の配列をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、アクチビンAおよび/またはインヒビンAの形成を阻害または妨害する。遺伝子発現構築物は、切断型ACVR1Bタンパク質であるタンパク質の配列をコードし得る。いくつかの態様において、切断型ACVR1Bタンパク質は、アクチビン受容体2型タンパク質への結合について内因性の完全長ACVR1Bと競合する。いくつかの態様において、切断型ACVR1Bタンパク質は、リン酸化されることができない。リン酸化されることができない切断型ACVR1Bタンパク質は、アクチビンシグナル伝達を伝達することができない。いくつかの態様において、切断型ACVR1Bタンパク質は、そのC末端で切断されている。切断型ACVR1Bタンパク質は、完全長ACVR1のサブドメインXIの大部分を欠いていてもよい、完全長ACVR1のサブドメインXおよびXIを欠いていてもよい、またはキナーゼサブドメインIX-XIと、完全長ACVR1のサブドメインVIIIの一部とを欠いていてもよい。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、増殖分化因子11(GDF11)ポリペプチド(例えば、GDF11プロペプチド-Fc融合物)、アクチビン受容体IIB型とIgG1-Fcとの融合タンパク質、フォリスタチンポリペプチド(例えば、例えば、フォリスタチンN末端ドメイン、フォリスタチン-1ドメイン、フォリスタチン-2ドメイン、フォリスタチン-3ドメインおよび/またはフォリスタチンC末端ドメインを含む組換え変異体フォリスタチン)または抗MSTN抗体をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、少なくとも1つのジンクフィンガーを含むタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MSTN遺伝子の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、INHBA遺伝子の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1B遺伝子に結合するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1B遺伝子の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。

10

20

30

40

【0651】

MLCK1

遺伝子発現構築物は、MLCK1の発現を阻害するタンパク質の配列をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MLCK1の機能を阻害するタンパク質をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MLCK1の触媒キナーゼドメインに結合するタンパク質をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MLCK1の触媒キナーゼ活性を阻害するタンパク質をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MLCK1の非触媒ドメインに結合するタンパク質をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、傍接合部アクトミオシン環(PAMR)へのMLCK1動員を阻害するタンパク質をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、傍接合部アクトミオシン環(PAMR)へのMLCK1動員を阻害し、MLCK1の触媒キナーゼ活性を阻害しないタンパク質をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、少なくとも1つのジンクフィンガーを含むタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MLCK1の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。

【0652】

ACVR1

遺伝子発現構築物は、ACVR1遺伝子の減少した発現、またはACVR1タンパク質の低下した活性をもたらすタンパク質の配列をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1の発現を調節するエピジェネティック調節因子の機能を阻害するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1の発現を負に調節するエピジェネティック調節因子、例えば、ヒストンデアクテラーゼ(deacetylase)の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。いくつかの態様

50

において、遺伝子発現構築物は、遺伝子編集酵素をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、アクチピンをコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1タンパク質の機能を阻害することが可能なタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1の発現を阻害するオリゴヌクレオチド(例えば、shRNA)をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、ACVR1遺伝子の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。

【0653】

FBX032

いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、FBX032をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、FBX032の発現を阻害するか、またはFBX032活性を阻害するタンパク質の配列をコードし得る。非限定的な例として、PGC- α 発現は、FBX032発現を阻害することが示されている。例えば、Sandri et al., Cell 117:399-412, 2006、および2008年12月24日に公開された「METHODS AND COMPOSITIONS FOR THE TREATMENT AND DIAGNOSIS OF STATIN-INDUCED MYOPATHY」と題する国際公開第2008156561号を参照されたい。場合によっては、分子ペイロードは、PGC- β をコードする核酸である。例えば、2008年12月24日に公開された「METHODS AND COMPOSITIONS FOR THE TREATMENT AND DIAGNOSIS OF STATIN-INDUCED MYOPATHY」と題する国際公開第2008156561号を参照されたい。場合によっては、分子ペイロードは、FBX032抗体をコードする核酸である。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、少なくとも1つのジンクフィンガーを含むタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、FBX032の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。

【0654】

TRIM63

遺伝子発現構築物は、TRIM63抗体であるタンパク質の配列をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、TRIM63抗体をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、少なくとも1つのジンクフィンガーを含むタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、TRIM63に結合し、および/またはTRIM63と1以上のTRIM63基質(例えば、タイチン)との間の相互作用を防止するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、TRIM63の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。

【0655】

MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A

遺伝子発現構築物は、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aをコードし得る。遺伝子発現構築物は、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするペプチドまたはタンパク質をコードし得る。

【0656】

いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MEF2Dの特定のアイソフォームをコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MEF2Dまたはその結合パートナー(例えば、参照により本明細書に組み込まれるLee et al., J. Biol. Chem. 285:33779-33787, 2010に記載されているように、Hsc70)に結合して、MEF2Dとその結合パートナーとの間の相互作用を妨害するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MEF2Dの発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MEF2D抗体をコードする。

【0657】

いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、KLF15の特定のアイソフォームをコードする。いくつかの態様において、KLF15ペプチドまたはタンパク質は、内因性KLF15と同じ様式で(例えば、心臓転写因子、例として、MEF2、GATA4およびミオカルデ

10

20

30

40

50

インを阻害するために)機能する。いくつかの態様において、KLF15ペプチドまたはタンパク質は、内因性KLF15の機能活性の少なくとも50%(例えば、少なくとも60%、70%、80%、90%またはそれ以上)を有する。いくつかの態様において、KLF15ペプチドまたはタンパク質は、完全長KLF15タンパク質である。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、これらの心臓転写因子およびそれらの機能の阻害のために、心臓転写因子、例として、MEF2、GATA4またはミオカルディンに結合するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、KLF15の発現の増加をもたらすタンパク質をコードする。

【0658】

いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MED1(例えば、抗MED1抗体)を標的とするためのペプチドまたはタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MED1、またはMED1の相互作用パートナー(例えば、メディエーター複合体の他のサブユニット、プロモドメイン含有タンパク質、例として、BRD4、またはCBP/p300)に結合するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MED1、またはMED1の一部をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MED1遺伝子の発現を変化させる(例えば、MED1遺伝子の発現を増加させる)タンパク質をコードする。

【0659】

遺伝子発現構築物は、MED13を標的とするためのペプチドまたはタンパク質(例えば、抗MED13抗体)をコードするタンパク質の配列をコードし得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、少なくとも1つのジンクフィンガーを含むタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MED13、またはMED13の相互作用パートナー(例えば、サイクリンC、CDK8、MED12)に結合するタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、変異体MED13遺伝子の発現の減少をもたらすタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、野生型MED13遺伝子の発現の増加をもたらすタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、MED13、またはMED13の一部をコードする。

【0660】

いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、筋細胞の核内で発現、例えば、過剰発現され得る。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、少なくとも1つのジンクフィンガーを含むタンパク質をコードする。いくつかの態様において、遺伝子発現構築物は、遺伝子編集酵素をコードする。分子ペイロードとして使用され得る核酸構築物の追加の例は、参照によりその各々の内容全体が本明細書に組み込まれる、2017年9月19日に公開された「CLOSED-ENDED LINEAR DUPLEX DNA FOR NON-VIRAL GENE TRANSFER」と題する国際特許出願公開WO2017152149;2014年10月7日に発行された「MRNA FOR USE IN TREATMENT OF HUMAN GENETIC DISEASES」と題する米国特許第8,853,377号;および2014年9月2日に発行された米国特許第8822663号、「ENGINEERED NUCLEIC ACIDS AND METHODS OF USE THEREOF」に提供されている。

【0661】

C. リンカー

本明細書において記載される複合体は、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つを分子ペイロードに共有結合的に連結するリンカーを一般に含む。リンカーは、少なくとも1つの共有結合を含む。いくつかの態様において、リンカーは、抗TfR1抗体を分子ペイロードに共有結合的に連結する単結合、例えば、ジスルフィド結合またはジスルフィド架橋であり得る。ただし、いくつかの態様において、リンカーは、複数の共有結合を通じて、本明細書において記載される抗TfR1抗体のいずれか1つを分子ペイロードに共有結合的に連結し得る。いくつかの態様において、リンカーは、切断可能なリンカ

10

20

30

40

50

ーであり得る。ただし、いくつかの態様において、リンカーは、切断不可能なリンカーであり得る。リンカーは、典型的には、*in vitro*および*in vivo*で安定であり、特定の細胞環境内で安定であり得る。さらに、典型的に、リンカーは、抗TfR1抗体または分子ペイロードのいずれかの機能特性に負の影響を及ぼさない。リンカーの合成の例および方法は、当技術分野で公知である(例えば、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を参照。))。

10

【0662】

リンカーは、典型的には、抗TfR1抗体および分子ペイロードの両方への付着を可能にする2つの異なる反応性種を含有する。いくつかの態様において、2つの異なる反応性種は、求核試薬および/または求電子試薬であり得る。いくつかの態様において、リンカーは、2つの異なる求核試薬または求電子試薬に特異的な2つの異なる求電子試薬または求核試薬を含有する。いくつかの態様において、リンカーは、抗TfR1抗体のリジン残基またはシステイン残基へのコンジュゲーションを介して、抗TfR1抗体に共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、マレイミド含有リンカーを介して抗TfR1抗体のシステイン残基に共有結合的に連結されており、任意に、マレイミド含有リンカーは、マレイミドカプロイルまたはマレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシラート基を含む。いくつかの態様において、リンカーは、3-アリールプロピオニトリル官能基を介して、抗TfR1抗体のシステイン残基、またはチオール官能化分子ペイロードに共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、抗TfR1抗体のリジン残基に共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、独立して、アミド結合、カルバマート結合、ヒドラジド、トリアゾール、チオエーテル、および/またはジスルフィド結合を介して、抗TfR1抗体および/または(例えば、および)分子ペイロードに共有結合的に連結されている。

20

【0663】

i. 切断可能なリンカー

切断可能なリンカーは、プロテアーゼ感受性リンカー、pH感受性リンカーまたはグルタチオン感受性リンカーであり得る。これらのリンカーは、典型的には、細胞内のみで切断可能であり、好ましくは、細胞外環境内で、例えば、筋細胞の細胞外で安定である。

30

【0664】

プロテアーゼ感受性リンカーは、プロテアーゼ酵素活性によって切断可能である。これらのリンカーは、ペプチド配列を典型的に含み、2~10アミノ酸長、約2~5アミノ酸長、約5~10アミノ酸長、約10アミノ酸長、約5アミノ酸長、約3アミノ酸長、または約2アミノ酸長であり得る。いくつかの態様において、ペプチド配列は、天然に存在するアミノ酸、例えば、システイン、アラニン、または天然に存在しないアミノ酸もしくは修飾されたアミノ酸を含み得る。天然に存在しないアミノ酸は、 β -アミノ酸、ホモ-アミノ酸、プロリン誘導体、3-置換アラニン誘導体、線形コアアミノ酸、N-メチルアミノ酸、および当技術分野で公知のその他のアミノ酸を包含する。いくつかの態様において、プロテアーゼ感受性リンカーは、バリン-シトルリンまたはアラニン-シトルリンの配列を含む。いくつかの態様において、プロテアーゼ感受性リンカーは、リソソームのプロテアーゼ、例えば、カテプシンB、および/または(例えば、および)エンドソームのプロテアーゼによって切断されることができる。

40

【0665】

pH感受性リンカーは、高または低pH環境内で容易に分解する共有結合連結である。いくつかの態様において、pH感受性リンカーは、4~6の範囲のpHで切断され得る。いくつかの態様において、pH感受性リンカーは、ヒドラゾンまたは環状アセタールを含む。いくつかの態様において、pH感受性リンカーは、エンドソームまたはリソソーム内で切

50

断される。

【0666】

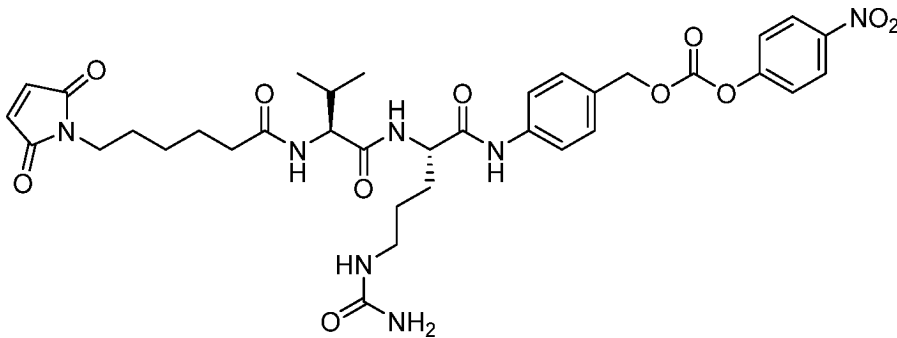
いくつかの態様において、グルタチオン感受性リンカーは、ジスルフィド部分を含む。いくつかの態様において、グルタチオン感受性リンカーは、細胞内部でのグルタチオン種とのジスルフィド交換反応によって切断される。いくつかの態様において、ジスルフィド部分は、少なくとも1つのアミノ酸、例えば、システイン残基をさらに含む。

【0667】

いくつかの態様において、リンカーは、バリン-シトルリン配列を含む(例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,214,345号に記載されているように)。いくつかの態様において、コンジュゲーションの前に、リンカーは、以下の構造を含む：

10

【化2】

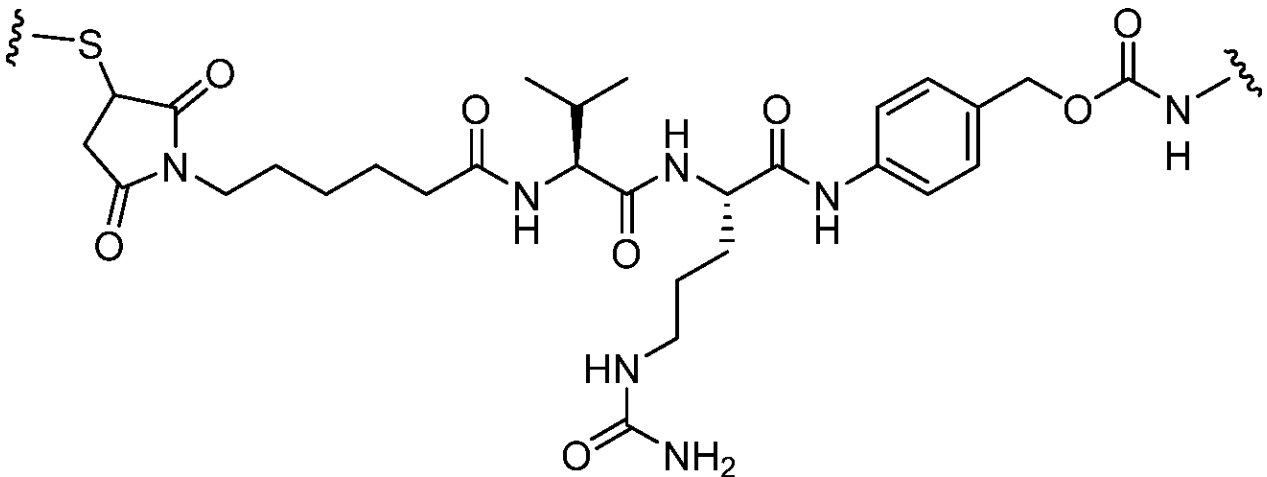


20

【0668】

いくつかの態様において、コンジュゲーションの後に、リンカーは、以下の構造を含む：

【化3】

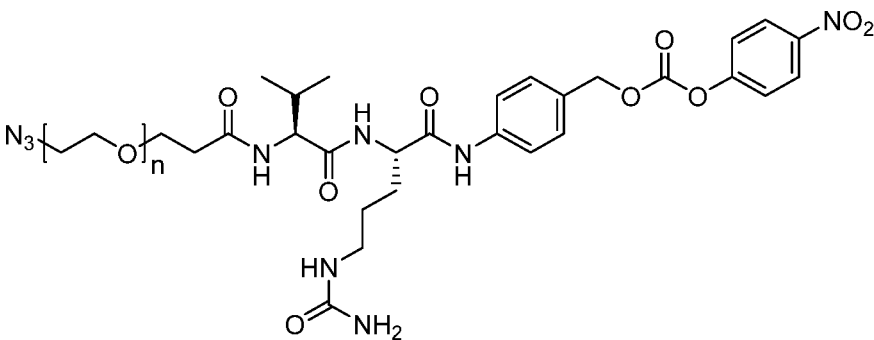


30

【0669】

いくつかの態様において、コンジュゲーションの前に、リンカーは、以下の構造を含む：

【化4】



(A)

40

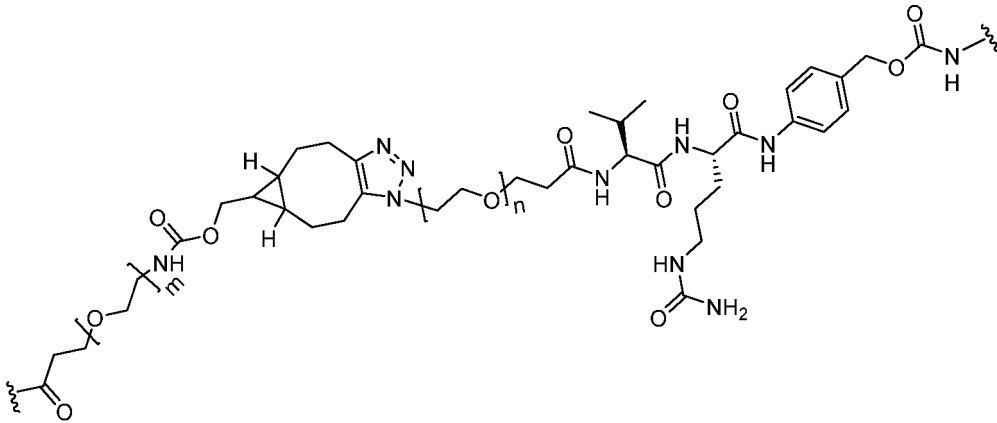
50

式中、 n は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3である。

【0670】

いくつかの態様において、リンカーは、以下の構造を含む：

【化5】



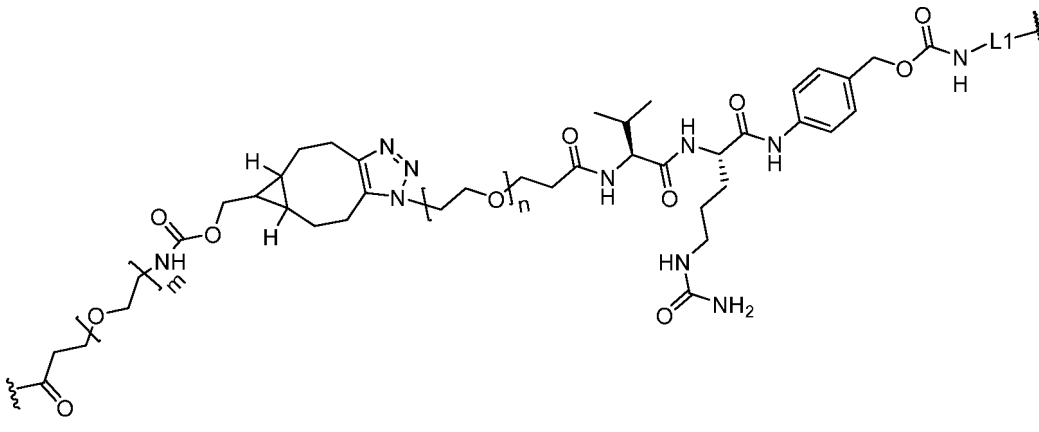
10

式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。

【0671】

いくつかの態様において、リンカーは、以下の構造を含む：

【化6】



30

式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。

【0672】

ii. 切断不可能なリンカー

いくつかの態様において、切断不可能なリンカーが使用され得る。一般に、切断不可能なリンカーは、細胞環境または生理環境内で容易に分解されることができない。いくつかの態様において、切断不可能なリンカーは、置換されていてもよいアルキル基を含み、ここで、置換は、ハロゲン、ヒドロキシル基、酸素種、および他の一般的な置換を包含し得る。いくつかの態様において、リンカーは、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルキレン、置換されていてもよいアリーレン、ヘテロアリーレン、少なくとも1つの非天然アミノ酸を含むペプチド配列、切断型グリカン、酵素的に分解されることができない単数もしくは複数の糖、アジド、アルキン-アジド、LPXT配列を含むペプチド配列、チオエーテル、ビオチン、ビフェニル、ポリエチレングリコールもしくは同等の化合物の反復単位、酸エステル、酸アミド、スルファミド、および/またはアルコキシ-アミンリンカーを含み得る。いくつかの態様において、ソルターゼ媒介ライゲーションが、LPXT配列を含む抗TfR1抗体を、 $(G)_n$ 配列を含む分子ペイロードに共有結合的に連結するために利用されることができ(例えば、Proft T.Sortase-mediated protein li

40

50

gation:an emerging biotechnology tool for protein modification and im mobilization.Biotechnol Lett.2010,32(1):1-10を参照。)。

【0673】

いくつかの態様において、リンカーは、置換されたアルキレン、置換されていてもよいアルケニレン、置換されていてもよいアルキニレン、置換されていてもよいシクロアルキレン、置換されていてもよいシクロアルケニレン、置換されていてもよいアリーレン、N、OおよびSから選択される少なくとも1つのヘテロ原子をさらに含む置換されていてもよいヘテロアリーレン、N、OおよびSから選択される少なくとも1つのヘテロ原子をさらに含む置換されていてもよいヘテロシクリレン、イミノ、置換されていてもよい窒素種、置換されていてもよい酸素種O、置換されていてもよい硫黄種、またはポリ(アルキレンオキシド)、例えば、ポリエチレンオキシドまたはポリプロピレンオキシドを含み得る。いくつかの態様において、リンカーは、切断不可能なN-ガンマ-マレイミドブチリル-オキシスクシンイミドエステル(GMBS)リンカーであり得る。

【0674】

iii. リンカーのコンジュゲーション

いくつかの態様において、リンカーは、ホスファート、チオエーテル、エーテル、炭素-炭素、カルバマート、またはアミド結合を介して抗TfR1抗体および/または(例えば、および)分子ペイロードに共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、ホスファート基またはホスホロチオアート基、例えば、オリゴヌクレオチド主鎖の末端ホスファートを通じて、オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、抗TfR1抗体上に存在するリジン残基またはシステイン残基を介して、抗TfR1抗体に共有結合的に連結されている。

【0675】

いくつかの態様において、リンカーまたはその一部は、トリアゾールを形成する、アジドとアルキンとの間のシクロ付加反応によって、抗TfR1抗体および/または(例えば、および)分子ペイロードに共有結合的に連結されており、アジドまたはアルキンは、抗TfR1抗体、分子ペイロードまたはリンカー上に配置され得る。いくつかの態様において、アルキンは、環状アルキン、例えば、シクロオクチンであり得る。いくつかの態様において、アルキンは、ビシクロノニン(ビシクロ[6.1.0]ノニンまたはBCNとしても知られる)または置換ビシクロノニンであり得る。いくつかの態様において、シクロオクチンは、2011年11月3日に公開された「Fused Cyclooctyne Compounds And Their Use In Metal-free Click Reactions」と題する国際特許出願公開WO2011136645に記載されている通りである。いくつかの態様において、アジドは、アジドを含む糖または炭水化物分子であり得る。いくつかの態様において、アジドは、6-アジド-6-デオキシガラクトース、または6-アジド-N-アセチルガラクトサミンであり得る。いくつかの態様において、アジドを含む糖または炭水化物分子は、2016年10月27日に公開された「Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A β (1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase」と題する国際特許出願公開WO2016170186に記載されている通りである。いくつかの態様において、トリアゾールを形成する、アジドとアルキンとの間のシクロ付加反応(ここで、アジドおよびアルキンは、抗TfR1抗体、分子ペイロードまたはリンカー上に配置され得る)は、2014年5月1日に公開された「Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof」と題する国際特許出願公開WO2014065661;または2016年10月27日に公開された「Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A β (1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase」と題する国際特許出願公開WO2016170186に記載されている通りである。

【0676】

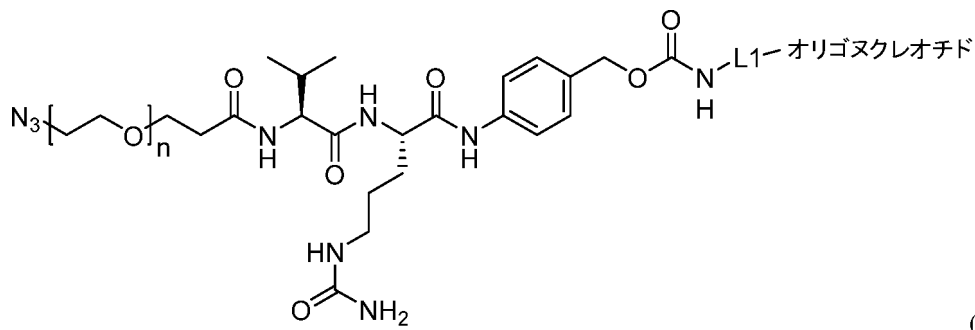
いくつかの態様において、リンカーは、スペーサー、例えば、ポリエチレングリコールスペーサーまたはアシル/カルバモイルスルファミドスペーサー、例えば、HydraSpace

式中、 n は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3である。

【0680】

いくつかの態様において、式(A)の構造を含むリンカーは、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に(例えば、任意に追加の化学部分を介して)共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、式(A)の構造を含むリンカーは、例えば、カルバマート結合を形成するアミン-L1-オリゴヌクレオチドによる求核置換を通じて、オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結され、以下の構造を含む化合物を生じる：

【化8】



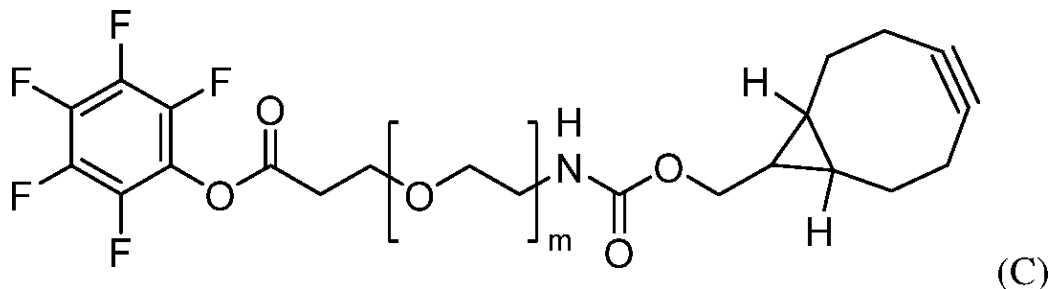
10

式中、 n は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3である。

【0681】

いくつかの態様において、式(B)の化合物は、トリアゾールを介して追加の部分にさらに共有結合的に連結されており、トリアゾールは、式(A)または式(B)のアジドと、ビスクロノニン上に提供されるアルキンとの間のクリック反応によって形成される。いくつかの態様において、ビスクロノニンを含む化合物は、以下の構造を含む：

【化9】



30

式中、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 m は4である。

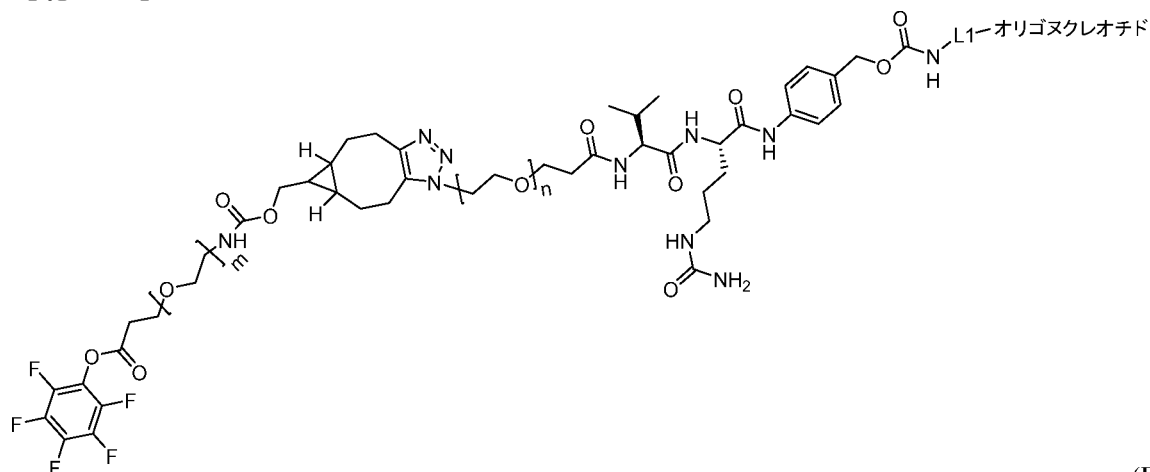
【0682】

いくつかの態様において、構造(B)の化合物のアジドは、構造(C)の化合物のアルキンとのクリック反応を介してトリアゾールを形成し、以下の構造を含む化合物を形成する：

40

50

【化 1 0】



10

(D),

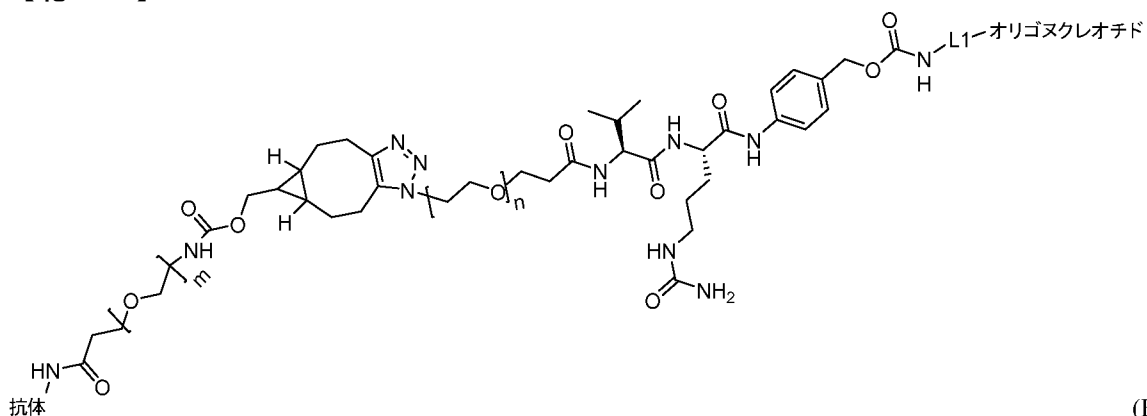
式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、 m は4である。

【0 6 8 3】

いくつかの態様において、構造(D)の化合物は、抗TfR1抗体のリジンにさらに共有結合的に連結されており、以下の構造を含む複合体を形成する：

【化 1 1】

20



30

(E),

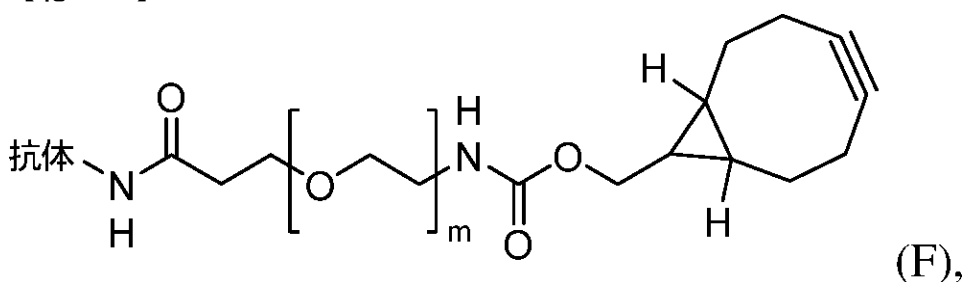
式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。式(E)において抗TfR1抗体に隣接して示されるアミドは、抗TfR1抗体のアミン、例として、リジンイプシロンアミンとの反応から生じることを理解されたい。

【0 6 8 4】

いくつかの態様において、式(C)の化合物は、抗TfR1抗体のリジンにさらに共有結合的に連結されており、以下の構造を含む化合物を形成する：

【化 1 2】

40



(F),

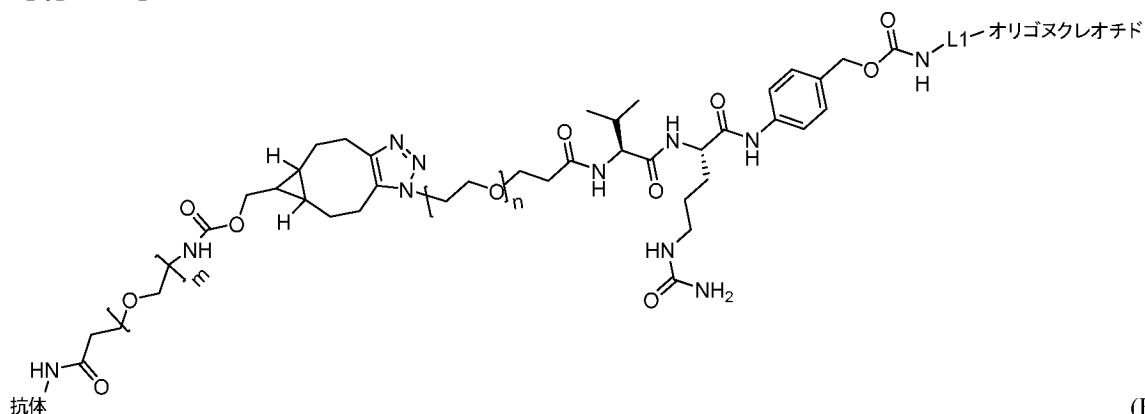
式中、 m は0～15(例えば、4)である。式(F)において抗TfR1抗体に隣接して示されるアミドは、抗TfR1抗体のアミン、例として、リジンイプシロンアミンとの反応から生じ

50

ることを理解されたい。

【0685】

いくつかの態様において、構造(B)の化合物のアジドは、構造(F)の化合物のアルキンとのクリック反応を介してトリアゾールを形成し、以下の構造を含む複合体を形成する：
【化13】



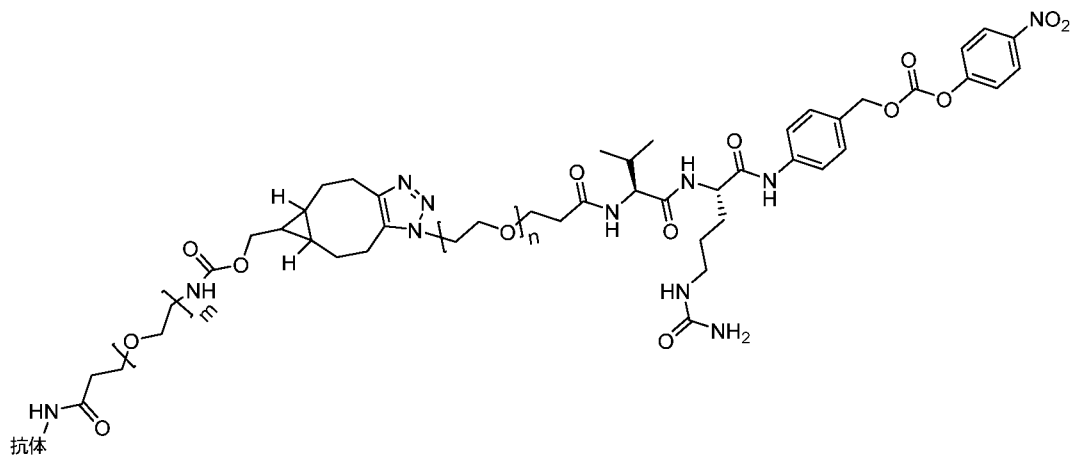
(E),

式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。式(E)において抗TfR1抗体に隣接して示されるアミドは、抗TfR1抗体のアミン、例として、リジンイブシロンアミンとの反応から生じることを理解されたい。

20

【0686】

いくつかの態様において、構造(A)の化合物のアジドは、構造(F)の化合物のアルキンとのクリック反応を介してトリアゾールを形成し、以下の構造を含む化合物を形成する：
【化14】



(G),

式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、式(G)の構造を含む化合物に共有結合的に連結されており、それによって、式(E)の構造を含む複合体を形成する。式(G)において抗TfR1抗体に隣接して示されるアミドは、抗TfR1抗体のアミン、例として、リジンイブシロンアミンとの反応から生じることを理解されたい。

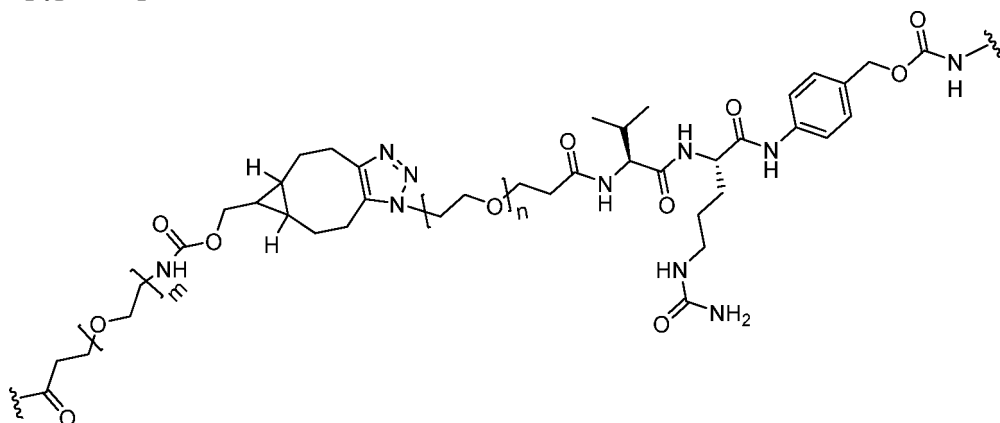
40

【0687】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体のいずれか1つでは、抗TfR1抗体は、抗TfR1抗体のリジンを介して、以下の構造を含むリンカーを介して分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結されている：

50

【化 1 5】



10

(H),

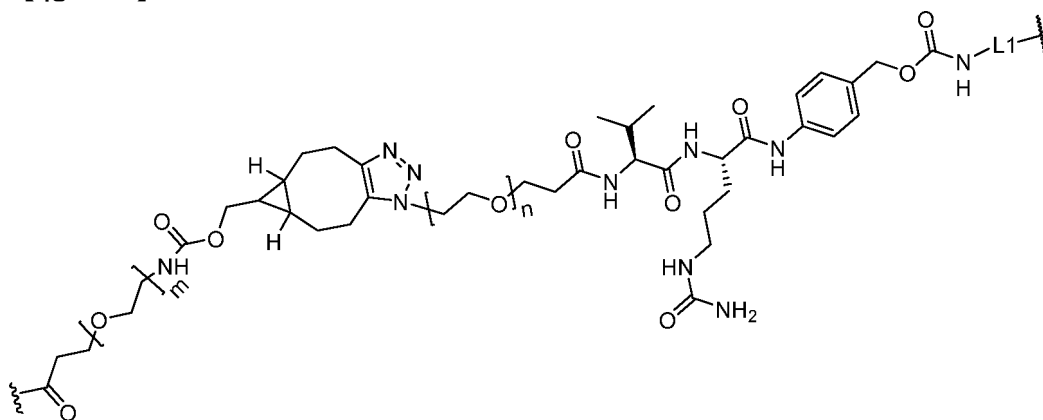
式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。

【0688】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体のいずれか1つでは、抗TfR1抗体は、抗TfR1抗体のリジンを経由して、以下の構造を含むリンカーを経由して分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結されている：

【化 1 6】

20



30

(I),

式中、 n は、0～10のいずれかの数であり、 m は、0～10のいずれかの数である。いくつかの態様において、 n は3であり、および/または(例えば、および) m は4である。

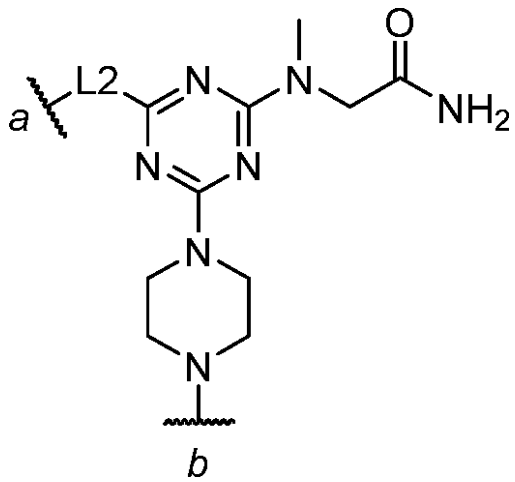
【0689】

いくつかの態様において、式(B)、(D)、(E)および(I)では、 $L1$ は、置換もしくは非置換の脂肪族、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族、置換もしくは非置換のカルボシクリレン、置換もしくは非置換のヘテロシクリレン、置換もしくは非置換のアリーレン、置換もしくは非置換のヘテロアリーレン、 $-O-$ 、 $-N(R^A)-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^A-$ 、 $-NR^AC(=O)-$ 、 $-NR^AC(=O)R^A-$ 、 $-C(=O)R^A-$ 、 $-NR^AC(=O)O-$ 、 $-NR^AC(=O)N(R^A)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)N(R^A)-$ 、 $-S(O)_2NR^A-$ 、 $-NR^AS(O)_2-$ 、またはそれらの組合せであるスペーサーであり、ここで、 R^A は、独立して、水素、または置換もしくは非置換のアルキルである。いくつかの態様において、 $L1$ は

40

50

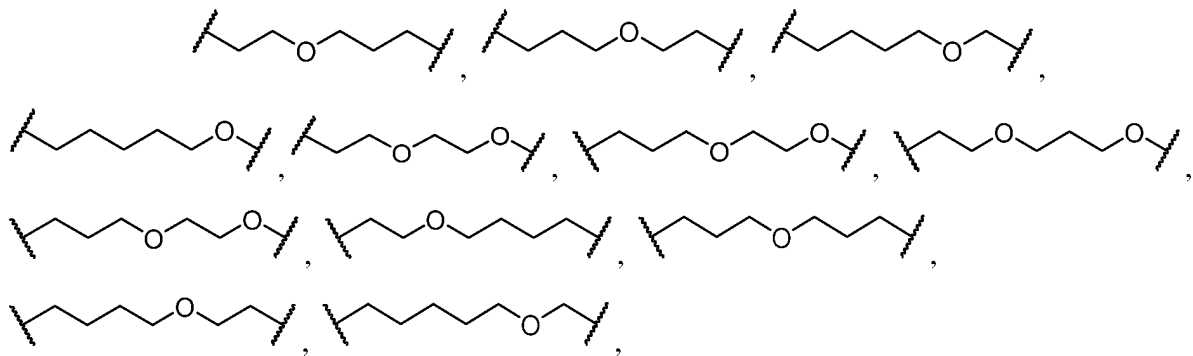
【化 1 7】



10

であり、
式中、L2は、

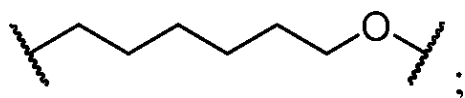
【化 1 8】



20

または

【化 1 9】



30

であり、aは、式(B)、(D)、(E)および(I)のカルバマート部分に直接的に連結された部位を表し、bは、オリゴヌクレオチドに(直接的に、または追加の化学部分を介して)共有結合的に連結された部位を表す。

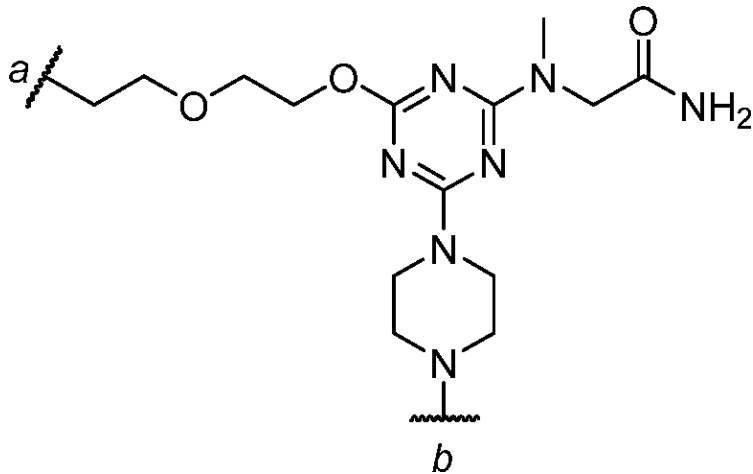
【0 6 9 0】

いくつかの態様において、L1は

40

50

【化 2 0】



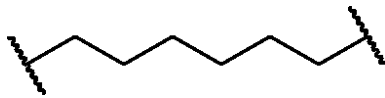
であり、

式中、aは、式(B)、(D)、(E)および(I)のカルバマート部分に直接的に連結された部位を表し、bは、オリゴヌクレオチドに(直接的に、または追加の化学部分を介して)共有結合的に連結された部位を表す。

【 0 6 9 1 】

いくつかの態様において、L1は

【化 2 1】



である。

【 0 6 9 2 】

いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスファートに連結されている。いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスホロチオアートに連結されている。いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスホノアミダートに連結されている。

【 0 6 9 3 】

いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスファートに連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの5'ホスファートへのL1の連結は、L1とオリゴヌクレオチドとの間にホスホジエステル結合を形成する。

【 0 6 9 4 】

いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの3'ホスファートに連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの3'ホスファートへのL1の連結は、L1とオリゴヌクレオチドとの間にホスホジエステル結合を形成する。

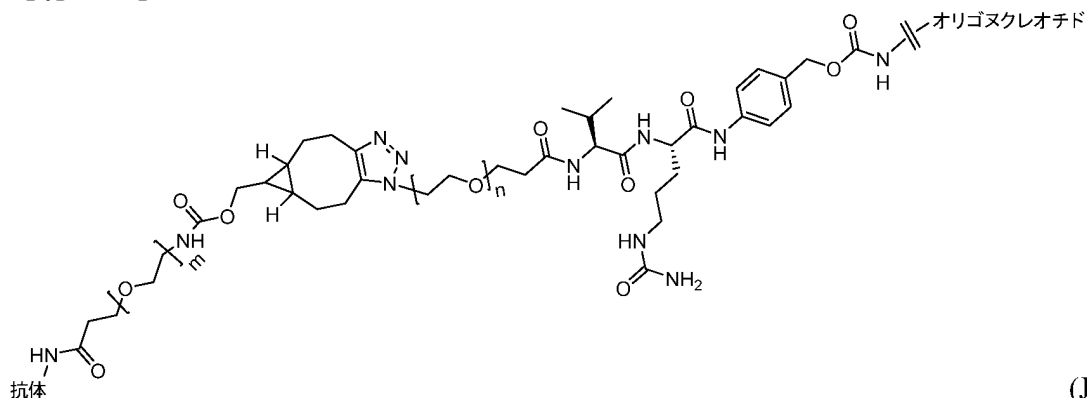
【 0 6 9 5 】

いくつかの態様において、 $L1$ は任意である(例えば、存在する必要はない)。

【 0 6 9 6 】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体のいずれか1つは、以下の構造を有し：

【化 2 2】



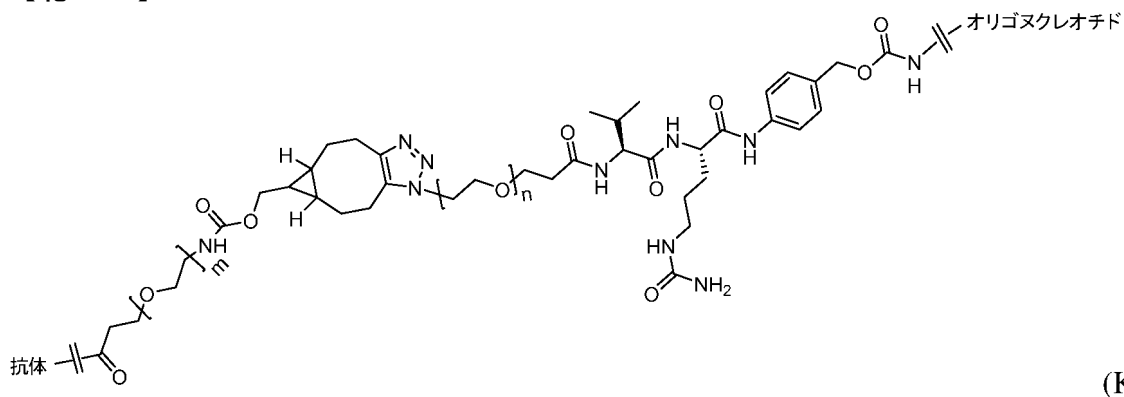
10

式中、 n は0～15(例えば、3)であり、 m は0～15(例えば、4)である。式(J)において抗TfR1抗体に隣接して示されるアミドは、抗TfR1抗体のアミン、例として、リジンイブシロンアミンとの反応から生じることを理解されたい。

【0697】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体のいずれか1つは、以下の構造を有し：

【化 2 3】



20

式中、 n は0～15(例えば、3)であり、 m は0～15(例えば、4)である。

【0698】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、化合物、例えば、式(A)または式(G)の化合物に連結するのに先立ち、5'末端もしくは3'末端に、または内部に(例えば、アミン官能化核酸塩基として)アミン基を含むように修飾される。

【0699】

リンカーのコンジュゲーションは、抗TfR1抗体およびオリゴヌクレオチド分子ペイロードに関連して記載されているが、他の筋標的化剤、例として、他の筋標的化抗体、および/または他の分子ペイロードに対するそのようなリンカーのコンジュゲーションの使用が企図されることを理解されたい。

40

【0700】

D. 抗体-分子ペイロード複合体の例

本開示の他の側面は、本明細書において記載される分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)のいずれかに共有結合的に連結された、本明細書において記載されるいずれかの筋標的化剤(例えば、抗TfR1抗体)を含む複合体を提供する。いくつかの態様において、筋標的化剤(例えば、抗TfR1抗体)は、リンカーを介して分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結されている。本明細書において記載されるリンカーのいずれかが使用され得る。いくつかの態様において、リンカーは、オリゴヌクレオチドの5'末端、3'末端、または内部に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、チオール反応性連結を介して(例えば、抗体内のシステインを介して)抗体に連結さ

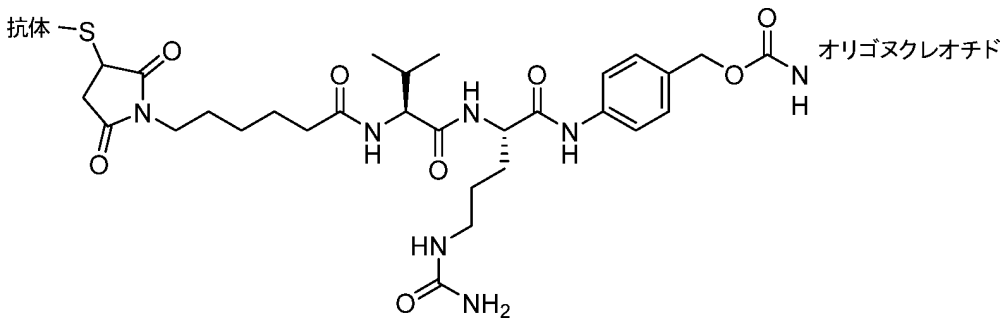
50

れている。いくつかの態様において、リンカーは、アミン基を介して(例えば、抗体内のリジンを介して)、抗体(例えば、本明細書において記載される抗TfR1抗体)に連結されている。

【0701】

リンカーを介してオリゴヌクレオチドに共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含む複合体の構造の例が、以下に提供される：

【化24】



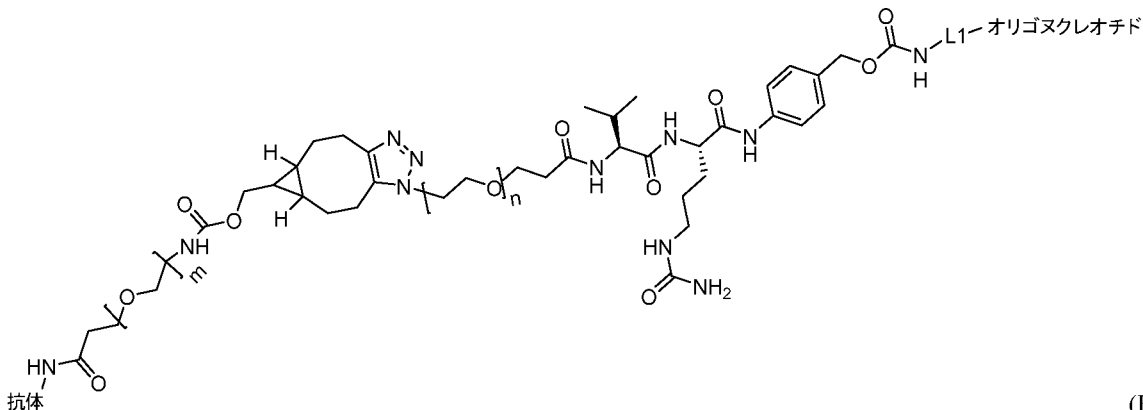
10

ここで、リンカーは、オリゴヌクレオチドの5'末端、3'末端、または内部に連結されており、リンカーは、チオール反応性連結を介して(例えば、抗体内のシステインを介して)抗体に連結されている。

【0702】

リンカーを介して分子ペイロードに共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含む複合体の構造の別の例が、以下に提供される：

【化25】



30

(E)

式中、nは、0～10の数であり、mは、0～10の数であり、リンカーは、アミン基(例えば、リジン残基上の)を介して抗体に連結されており、および/または(例えば、および)リンカーは、オリゴヌクレオチドに(例えば、5'末端、3'末端、または内部に)連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、リジンを介して抗体に連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含み、リンカーは、5'末端または3'末端でセンス鎖またはアンチセンス鎖に連結されている。いくつかの態様において、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、L1は、本明細書において記載されるスペーサーのいずれか1つである。

40

【0703】

抗体は、様々な化学量論を有するオリゴヌクレオチドに連結されることができ、この特性は薬物抗体比(DAR)と呼ばれ得、「薬物」はオリゴヌクレオチドであることを理解されたい。いくつかの態様において、1つのオリゴヌクレオチドが抗体に連結されている(DAR=1)。いくつかの態様において、2つのオリゴヌクレオチドが抗体に連結されている(DAR=2)。いくつかの態様において、3つのオリゴヌクレオチドが抗体に連結されている(DAR=3)。いくつかの態様において、4つのオリゴヌクレオチドが抗体に連結されて

50

いる(DAR=4)。いくつかの態様において、各々が異なるDARを有する異なる複合体の混合物が提供される。いくつかの態様において、そのような混合物中の複合体の平均DARは、1~3、1~4、1~5、またはそれ以上の範囲であり得る。DARは、オリゴヌクレオチドを抗体上の様々な部位にコンジュゲートすることによって、および/または(例えば、および)多量体を抗体上の1以上の部位にコンジュゲートすることによって、増大され得る。例を挙げると、2のDARは、単一のオリゴヌクレオチドを抗体上の2つの異なる部位にコンジュゲートすることによって、または二量体オリゴヌクレオチドを抗体の単一位点にコンジュゲートすることによって達成され得る。

【0704】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結された抗TfR1抗体(例えば、本明細書において記載される抗体またはそのいずれかのバリエーション)を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リンカーを介してオリゴヌクレオチドに共有結合的に連結された抗TfR1抗体(例えば、本明細書において記載される抗体またはそのいずれかのバリエーション)を含む。いくつかの態様において、リンカーは、オリゴヌクレオチドの5'末端、3'末端、または内部に連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはsiRNAであり、リンカーは、siRNAのセンス鎖の5'末端、3'末端、または内部に連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドはsiRNAであり、リンカーは、siRNAのアンチセンス鎖の5'末端、3'末端、または内部に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、チオール反応性連結を介して(例えば、抗体内のシステインを介して)、抗体(例えば、本明細書において記載される抗体またはそのいずれかのバリエーション)に連結されている。いくつかの態様において、リンカーは、アミン基を介して(例えば、抗体内のリジンを経由して)、抗体(例えば、本明細書において記載される抗TfR1抗体)に連結されている。

【0705】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体の例のいずれか1つでは、分子ペイロードは、本明細書において記載される遺伝子標的配列のいずれか1つに対する少なくとも15ヌクレオチド(例えば、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19またはそれ以上)の相補性領域を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、標的配列は、表8、11および14に列挙される配列である。いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体の例のいずれか1つでは、分子ペイロードは、本明細書において記載される遺伝子標的配列のいずれか1つに対する少なくとも15ヌクレオチド(例えば、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19またはそれ以上)の相補性領域を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、標的配列は、表17、20、23、26、29、32、35および38に列挙される配列である。

【0706】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、表2、表6および表7に示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と同じCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3と、表2、表6および表7に示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3と同じCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3とを含む。

【0707】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、

(i) 配列番号1のCDR-H1、配列番号2、配列番号19もしくは配列番号23のCDR-H2、配列番号3のCDR-H3、配列番号4のCDR-L1、配列番号5のCDR-L2、および配列番号6のCDR-L3;

(ii) 配列番号7のCDR-H1、配列番号8、配列番号20もしくは配列番号24のCDR-H2

、配列番号9のCDR-H3、配列番号10のCDR-L1、配列番号11のCDR-L2、および配列番号6のCDR-L3;または

(iii)配列番号12のCDR-H1、配列番号13、配列番号21もしくは配列番号25のCDR-H2、配列番号14のCDR-H3、配列番号15のCDR-L1、配列番号5のCDR-L2、および配列番号16のCDR-L3を含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号411に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

【0708】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、

(i)配列番号27のCDR-H1、配列番号28のCDR-H2、配列番号29のCDR-H3、配列番号30のCDR-L1、配列番号31のCDR-L2、および配列番号32のCDR-L3;

(ii)配列番号33のCDR-H1、配列番号34のCDR-H2、配列番号35のCDR-H3、配列番号36のCDR-L1、配列番号37のCDR-L2、および配列番号32のCDR-L3;または

(iii)配列番号38のCDR-H1、配列番号39のCDR-H2、配列番号40のCDR-H3、配列番号41のCDR-L1、配列番号31のCDR-L2、および配列番号42のCDR-L3を含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAで

ある。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号411に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

10

20

30

40

50

【0709】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、

(i)配列番号45、配列番号63もしくは配列番号66のCDR-H1、配列番号46のCDR-H2、配列番号47のCDR-H3、配列番号48のCDR-L1、配列番号49のCDR-L2、および配列番号50のCDR-L3;

(ii)配列番号51、配列番号64もしくは配列番号67のCDR-H1、配列番号52のCDR-H2、配列番号53のCDR-H3、配列番号54のCDR-L1、配列番号55のCDR-L2、および配列番号50のCDR-L3;または

(iii)配列番号56のCDR-H1、配列番号57のCDR-H2、配列番号58のCDR-H3、配列番号59のCDR-L1、配列番号49のCDR-L2、および配列番号60のCDR-L3を含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号411に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAで

ある。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBX032標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBX032標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

10

20

30

40

50

【0710】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、

(i)配列番号110のCDR-H1、配列番号111のCDR-H2、配列番号112のCDR-H3、配列番号113のCDR-L1、配列番号114のCDR-L2、および配列番号115のCDR-L3;

(ii)配列番号116のCDR-H1、配列番号117のCDR-H2、配列番号112のCDR-H3、配列番号113のCDR-L1、配列番号114のCDR-L2、および配列番号115のCDR-L3;または

(iii)配列番号118のCDR-H1、配列番号119のCDR-H2、配列番号120のCDR-H3、配列番号121のCDR-L1、配列番号122のCDR-L2、および配列番号123のCDR-L3を含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号152に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBX032標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBX032標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAであ

る。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

10

【0711】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、表2または表3に示されるVHと、表2または表3に示されるVLとを含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号152に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

20

30

40

【0712】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、表4および表5に列挙される抗体のいずれか1つの重鎖および軽鎖を含む。いくつか

50

の態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号152に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

10

20

30

40

50

【0713】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、配列番号124のアミノ酸配列を有するVHと、配列番号125のアミノ酸配列を有するVLとを含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号152に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつか

の態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

10

20

30

40

50

【0714】

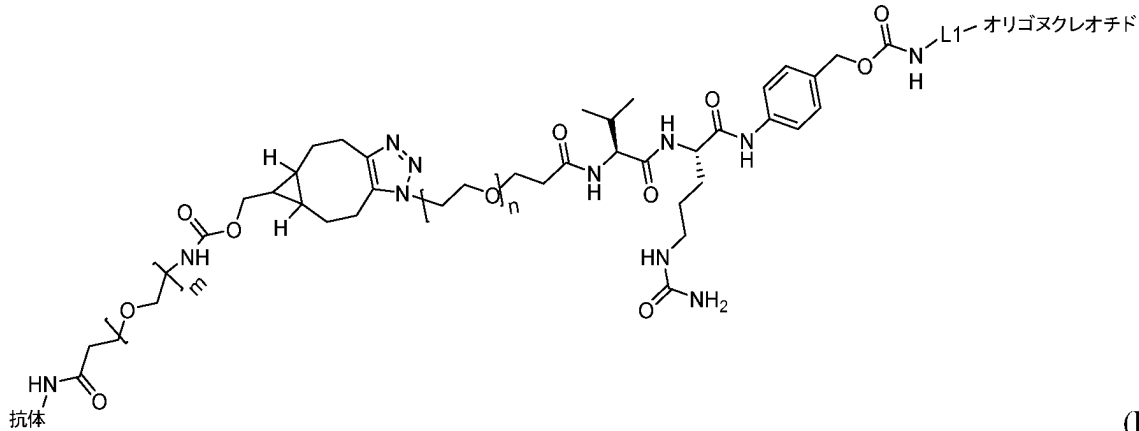
いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、分子ペイロード(例えば、オリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗TfR1抗体は、配列番号132、133、136および137のいずれか1つのアミノ酸配列を有する重鎖と、配列番号133または配列番号135のアミノ酸配列を有する軽鎖とを含む。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号152に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的

化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

【0715】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リジンを通してオリゴヌクレオチドの5'末端に共有結合的に連結された抗TfR1抗体を含み、抗体は、表2に列挙されるマウス抗体(例えば、3A4、3M12または5H12)のCDRを有するヒトフレームワーク領域を含むIgG1カッパのFab断片であり、複合体は、以下の構造を有する:

【化26】



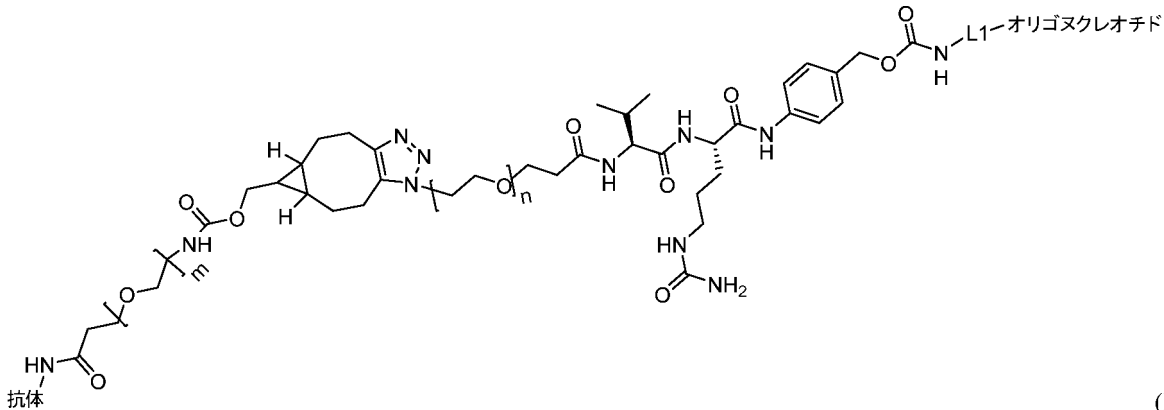
式中、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、MLCK1 mRNA分子(例えば、配列番号152に記載のMLCK1 mRNA)に相補的なオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分

子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。

【0716】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リジンを経由してオリゴヌクレオチド(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含み、抗TfR1 Fabは、表2、表6および表7に列挙される抗体のいずれか1つのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含み、複合体は、以下の構造を有する：

【化27】



式中、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結されたMLCK1 mRNA分子に対する相補性を有するsiRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロード

10

20

30

40

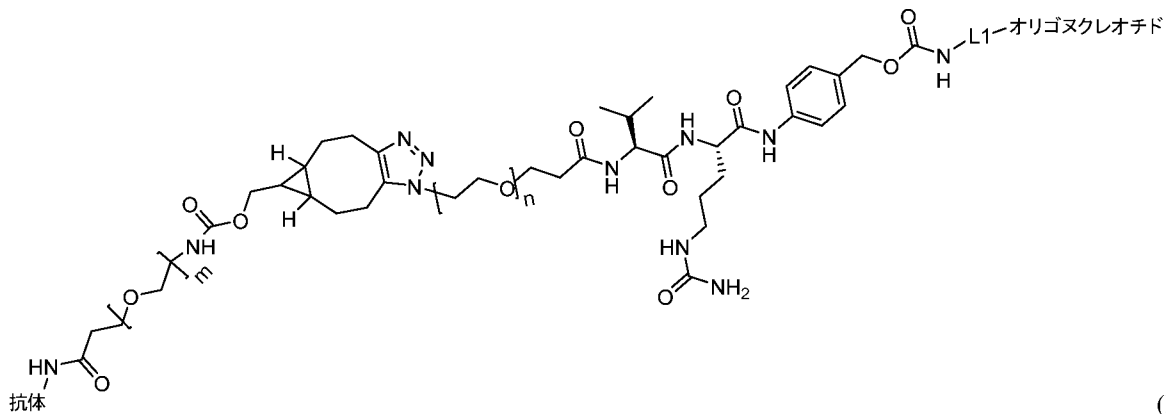
50

は、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結された、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである。

【0717】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リジンを通してオリゴヌクレオチド(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含み、抗TfR1 Fabは、表2または表3に列挙される抗体のいずれか1つのVHおよびVLを含み、複合体は、以下の構造を有する:

【化28】



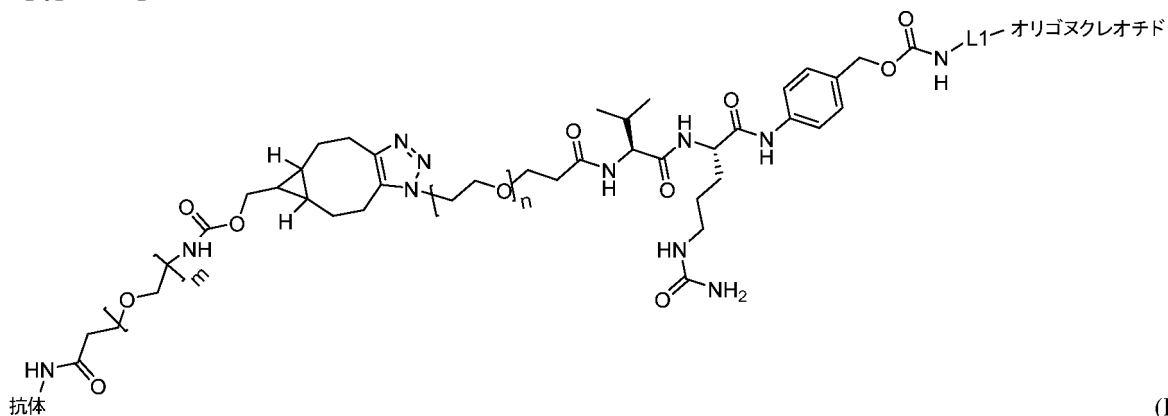
式中、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結されたMLCK1 mRNA分子に対する相補性を有するsiRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであ

り、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結された、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである。

【0718】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リジンを通してオリゴヌクレオチド(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13、PPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含み、抗TfR1 Fabは、配列番号76のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号75のアミノ酸配列を含むVLとを含み、複合体は、以下の構造を有する:

【化29】



式中、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結されたMLCK1 mRNA分子に対する相補性を有するsiRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様に

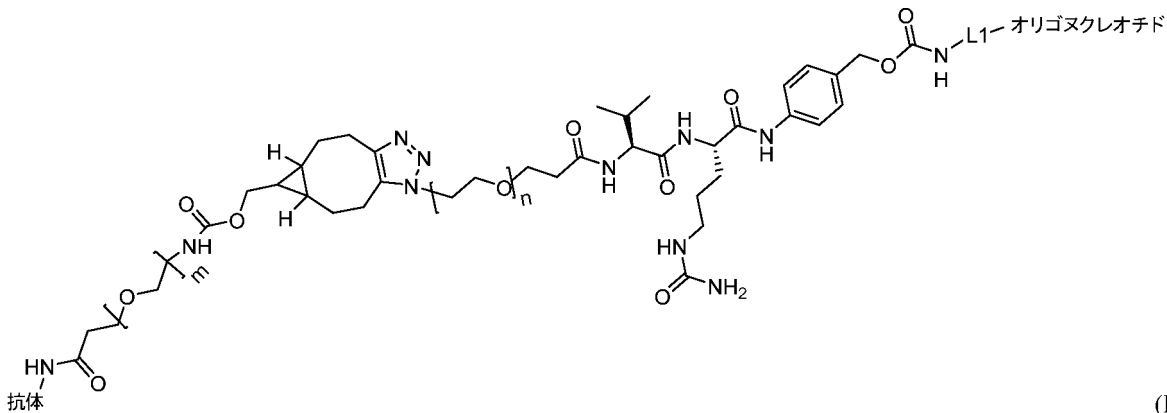
において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結された、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである。

10

【0719】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リジンを通してオリゴヌクレオチド(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含み、抗TfR1 Fabは、表5に列挙される抗体のいずれか1つの重鎖および軽鎖を含み、複合体は、以下の構造を有する：

20



30

(E)

式中、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結されたMLCK1 mRNA分子に対する相補性を有するsiRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むFBXO32標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBXO32標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化

40

50

siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結された、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである。

10

20

30

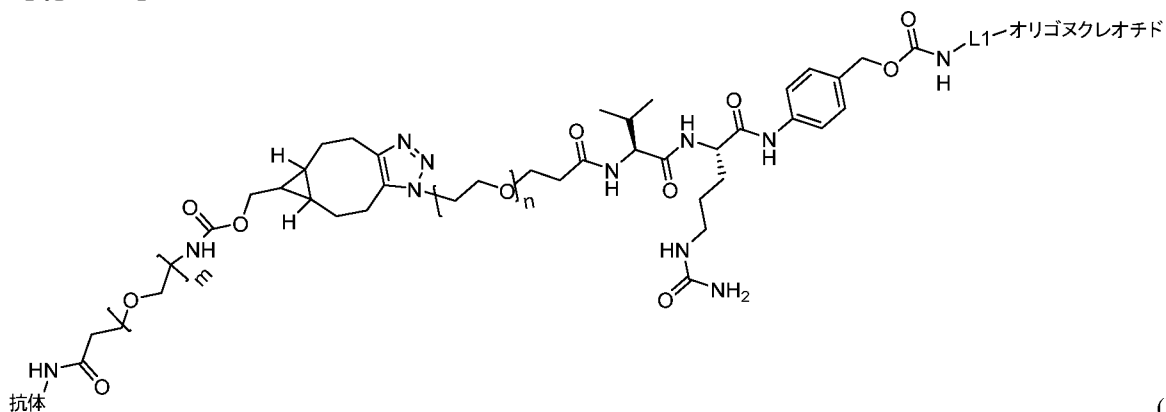
40

50

【0720】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、リジンを通してオリゴヌクレオチド(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチド)に共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含み、抗TfR1 Fabは、配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含み、複合体は、以下の構造を有する:

【化31】



(E)

式中、nは3であり、mは4である。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表9に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMSTN標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表10に列挙されるMSTN標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表12に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むINHBA標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表13に列挙されるINHBA標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表15に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1B標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表16に列挙されるACVR1B標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結されたMLCK1 mRNA分子に対する相補性を有するsiRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表18に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むACVR1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表19に列挙されるACVR1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表21に列挙される配列の少なくとも16ヌクレ

オチドを含むFBX032標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表22に列挙されるFBX032標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表24に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むTRIM63標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表25に列挙されるTRIM63標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表27に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMEF2D標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表28に列挙されるMEF2D標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表30に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むKLF15標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表31に列挙されるKLF15標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表33に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED1標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表34に列挙されるMED1標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表36に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むMED13標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表37に列挙されるMED13標的化siRNAである。いくつかの態様において、分子ペイロードは、表39に列挙される配列の少なくとも16ヌクレオチドを含むPPP1R3A標的化オリゴヌクレオチドであり、任意に、分子ペイロードは、表40に列挙されるPPP1R3A標的化siRNAである。いくつかの態様において、複合体内のオリゴヌクレオチドは、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端または3'末端に連結された、表10、表13、表16、表19、表22、表25、表28、表31、表34、表37または表40に列挙されるsiRNAである。

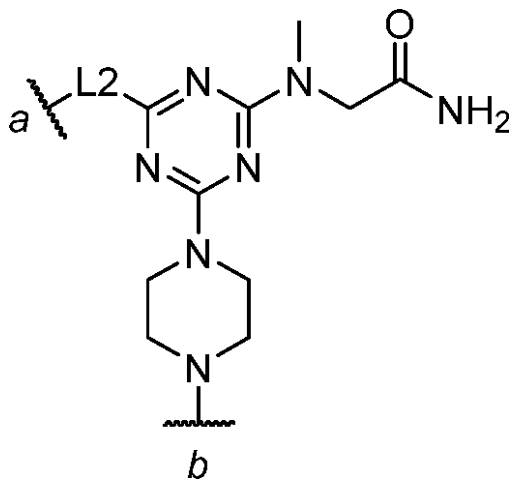
10

20

【0721】

いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体の例のいずれか1つでは、L1は

【化32】

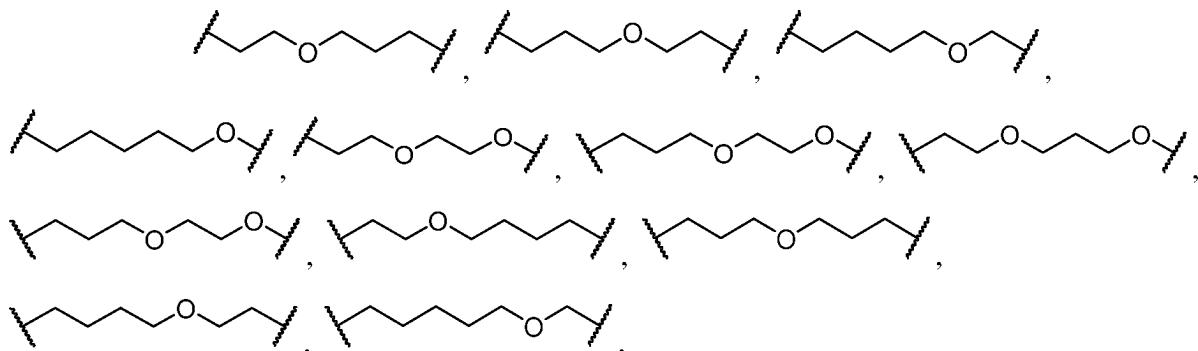


30

であり、

式中、L2は、

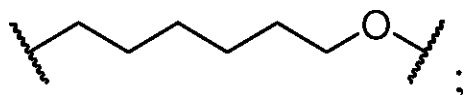
【化33】



40

50

または
【化 3 4】

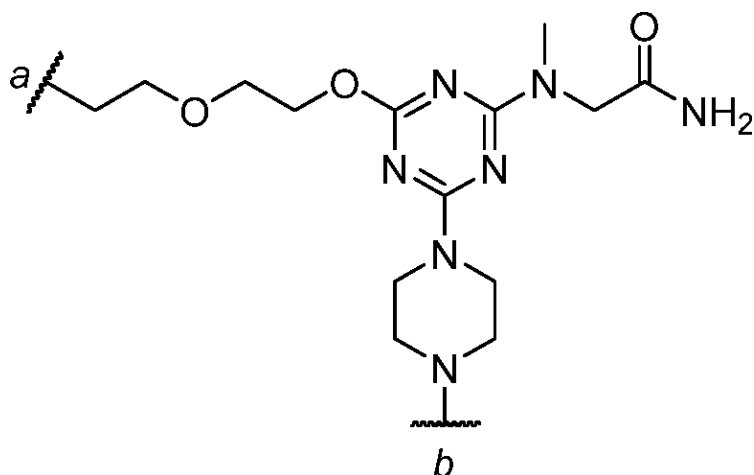


であり、aは、式(B)、(D)、(E)および(I)のカルバマート部分に直接的に連結された部位を表し、bは、オリゴヌクレオチドに(直接的に、または追加の化学部分を介して)共有結合的に連結された部位を表す。

【0 7 2 2】

いくつかの態様において、L1は

【化 3 5】



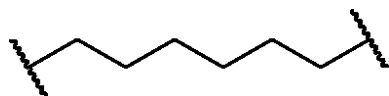
であり、

式中、aは、式(B)、(D)、(E)および(I)のカルバマート部分に直接的に連結された部位を表し、bは、オリゴヌクレオチドに(直接的に、または追加の化学部分を介して)共有結合的に連結された部位を表す。

【0 7 2 3】

いくつかの態様において、L1は

【化 3 6】



である。

【0 7 2 4】

いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスファートに連結されている。いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスホロチオアートに連結されている。いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスホノアミダートに連結されている。

【0 7 2 5】

いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの5'ホスファートに連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの5'ホスファートへのL1の連結は、L1とオリゴヌクレオチドとの間にホスホジエステル結合を形成する。

【0 7 2 6】

いくつかの態様において、L1は、オリゴヌクレオチドの3'ホスファートに連結されている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの3'ホスファートへのL1の連結は、L1とオリゴヌクレオチドとの間にホスホジエステル結合を形成する。

【0 7 2 7】

いくつかの態様において、L1は任意である(例えば、存在する必要はない)。

【0728】

III. 製剤

本明細書において提供される複合体は、いずれかの好適な様式で製剤化され得る。一般に、本明細書において提供される複合体は、医薬用途に適した様式で製剤化される。例を挙げると、複合体は、分解を最小限に抑え、送達および/もしくは取込みを促進するか、または製剤中の複合体に別の有益な特性を提供する製剤を使用して対象に送達されることができる。いくつかの態様において、複合体と薬学的に許容される担体とを含む組成物が本明細書において提供される。そのような組成物は、対象へ投与されると、標的細胞の周囲の環境、または全身のいずれかに、十分な量の複合体が標的筋細胞に入るように好適に製剤化されることができる。いくつかの態様において、複合体は、緩衝溶液、例として、リン酸緩衝生理食塩溶液、リポソーム、ミセル構造体、およびカプシド中に製剤化される。

10

【0729】

いくつかの態様において、組成物が、本明細書において提供される複合体の1以上の構成要素(例えば、筋標的化剤、リンカー、分子ペイロード、またはこれらのいずれか1つの前駆体分子)を別個に包含し得ることを理解されたい。

【0730】

いくつかの態様において、複合体は、水中または水性溶液(例えば、pH調整された水)中に製剤化される。いくつかの態様において、複合体は、塩基性緩衝水性溶液(例えば、PBS)中に製剤化される。いくつかの態様において、本明細書において開示される製剤は、賦形剤を含む。いくつかの態様において、賦形剤は、改善された安定性、改善された吸収、改善された可溶性、および/または活性成分の治療的な増強を組成物に付与する。いくつかの態様において、賦形剤は、緩衝剤(例えば、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、トリス塩基または水酸化ナトリウム)またはビヒクル(例えば、緩衝溶液、ワセリン、ジメチルスルホキシドまたは鉱油)である。

20

【0731】

いくつかの態様において、複合体またはその構成要素(例えば、オリゴヌクレオチドまたは抗体)は、その貯蔵寿命を延長するため凍結乾燥され、次いで、使用(例えば、対象への投与)前に溶液にさせられる。したがって、本明細書において記載される複合体またはその構成要素を含む組成物中の賦形剤は、凍結保護剤(例えば、マンニトール、ラクトース、ポリエチレングリコールまたはポリビニルピロリドン)または崩壊温度修飾因子(例えば、デキストラン、フィコールまたはゼラチン)であり得る。

30

【0732】

いくつかの態様において、医薬組成物は、その意図された投与経路に適合するように製剤化される。投与経路の例は、非経口投与、例えば、静脈内投与、皮内投与、皮下投与を包含する。典型的には、投与経路は、静脈内または皮下である。

【0733】

注射用途に適した医薬組成物は、滅菌水性溶液(水溶性の場合)または分散液、および滅菌注射溶液または分散液の即時調製のための滅菌粉末を包含する。担体は、例を挙げると、水、エタノール、ポリオール(例を挙げると、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど)、および好適なそれらの混合物を含有する溶媒または分散媒体であることができる。いくつかの態様において、製剤は、組成物中に等張剤、例を挙げると、糖、ポリアルコール、例として、マンニトール、ソルビトール、および塩化ナトリウムを包含する。滅菌注射溶液は、上に列挙された成分の1つまたは組合せとともに、必要量の複合体を選択された溶媒に組み込むこと、必要であれば、続いて濾過滅菌することによって調製されることができる。

40

【0734】

いくつかの態様において、組成物は、少なくとも約0.1%の複合体もしくはその構成要素、またはそれ以上を含有し得るが、活性成分の割合は、組成物全体の重量または体積の約1%~約80%、またはそれ以上であってよい。要因、例として、可溶性、バイオアベ

50

イラビリティ、生物学的半減期、投与経路、生成物貯蔵寿命、および他の薬理学的考慮事項が、そのような医薬製剤を調製する当業者によって企図されるであろう。そのため、様々な投与量および処置レジメンが所望され得る。

【0735】

IV. 使用/処置の方法

MSTN、ACVR1B、INHBA

いくつかの側面では、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、心不全、筋萎縮(例えば、骨格筋萎縮および/または心筋萎縮)、筋ジストロフィー、悪液質(例えば、心臓悪液質)、筋肥大(例えば、心肥大)、心筋衰弱、心線維症および/または心筋症を処置するのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体は、2型糖尿病を有する対象の心筋合併症(例えば、心不全)を処置するのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心臓の肥厚、および/または心臓内の細胞外マトリックスの増加を伴ういずれかの疾患または状態を処置するのに有効である。いくつかの態様において、心線維症または心肥大は、増加したレベルまたはアンジオテンシンIIに関連する。

10

【0736】

いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のMSTNおよび/またはINHBAの発現を特異的に標的とするのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心不全(例えば、心筋衰弱、心筋症または悪液質を伴う)を処置および/または予防するのに有効である。心不全は、多様な代謝障害によって典型的に特徴付けられ、その多くは、筋肉および脂肪の代謝に悪影響を及ぼし、それによって悪液質をもたらす。特に、骨格筋萎縮は、慢性心不全患者では一般的である。いくつかの態様において、心不全は、心筋衰弱および/または骨格筋衰弱に関連する。いくつかの態様において、心不全は心筋症に関連し、心筋症とは、心臓が血液を体の残りの部分に圧送することをさらに困難にする心筋疾患の群を指す。いくつかの態様において、心筋症は拡張型心筋症であり、拡張型心筋症では、左心室の圧送能力が拡大(拡張)し、血液を圧送する有効性を低下させる。いくつかの態様において、心筋症は、心筋の異常な肥厚を伴う肥大型心筋症である。いくつかの態様において、心筋症は拘束型心筋症であり、拘束型心筋症では、心筋が硬くなり、弾力性が低下する。いくつかの態様において、心筋症は不整脈源性右室異形成であり、不整脈源性右室異形成では、右心室の筋肉が瘢痕組織によって置き換えられる。

20

30

【0737】

いくつかの態様において、心不全は、心臓の萎縮に関連する。心臓の萎縮とは、心臓の大きさおよび質量の獲得された減少を指す。いくつかの態様において、萎縮は同心性萎縮(concentric atrophy)であり、同心性萎縮では、腔の大きさが縮小されるが、壁は同じままである。いくつかの態様において、萎縮は動脈瘤萎縮(aneurysmal atrophy)であり、動脈瘤萎縮では、壁が薄くされ、心腔が拡張される。いくつかの態様において、萎縮は単純型萎縮(simple type atrophy)であり、単純型萎縮では、心筋壁が薄くされ、心臓の容積の変化はほとんどない。いくつかの態様において、心不全は、心筋量の減少に関連する。いくつかの態様において、心不全は、心筋量の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%またはそれ以上の減少に関連する。

40

【0738】

いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、駆出率)の低下に関連する。駆出率は、左心室が収縮ごとにどれだけの血液を圧送するかの測定値であり、割合として表される。いくつかの態様において、典型的な駆出率は50%~70%である。いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、圧送1回当たりの血液の駆出率または体積)の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の低下に関連する。いくつかの態様において、心不全は、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%またはそれ以下の駆出率に関連する。駆出率は心機能の唯一の尺度ではなく、本開示はその点に関して限定されることを意味しないことを理解されたい。例を挙げると、いくつかの態様において、心機能の尺

50

度は、心臓が圧送する血液(例えば、圧送1回当たり)の体積の測定値に基づき得る。

【0739】

いくつかの態様において、心不全は、心臓悪液質に関連する。本明細書において提供される組成物および方法は、心臓悪液質を有するかまたは発症するリスクがある対象を処置または予防するために使用され得る。心臓悪液質は、とりわけ、心疾患に関連する重度の体重減少によって特徴付けられる。心臓悪液質は、個体の発病前の正常な体重の意図しない非浮腫性体重減少(例えば、5%超、6%超、7%超、8%超、9%超、10%超、15%超またはそれ以上)の存在に基づいて特徴付けられ得る。

【0740】

心不全を処置または予防する1つの方法は、心筋細胞および/または骨格筋細胞内で負の筋調節因子ミオスタチンを阻害することである。

【0741】

いくつかの態様において、対象は、ヒト対象、非ヒト霊長類対象、齧歯類対象、またはいずれかの好適な哺乳動物対象であり得る。いくつかの態様において、対象は、筋緊張性ジストロフィーを有し得る。

【0742】

いくつかの態様において、筋肥大を有する対象は、Schuelke, M. et al., "Myostatin Mutation Associated with Gross Muscle Hypertrophy in a Child" N Engl J Med 2004;350:2682-2688にあるとおり、MSTNに少なくとも1つの変異を有する。

【0743】

いくつかの態様において、複合体は、いずれかの筋組織(例えば、心筋、骨格筋)内のMSTNおよび/またはINHBAの活性を標的とするのに有効である。いくつかの態様において、骨格筋組織内のMSTNまたはINHBAの活性を標的とする複合体は、骨格筋萎縮(例えば、過剰発現され、かつ高活動性のMSTNまたはINHBAから生じる)を有する対象を処置するのに有効である。

【0744】

いくつかの態様において、対象には、MSTNを標的とする複合体と、ACVR1Bを標的とする複合体とが投与される。いくつかの態様において、そのような投与は、筋肉のサイズおよび機能の増加をもたらす。

【0745】

いくつかの態様において、対象は、心臓の肥厚、および/または心臓内の細胞外マトリックスの増加を有する。いくつかの態様において、対象は、心線維症もしくは心肥大を有し、および/または心線維症もしくは心肥大に罹患している。いくつかの態様において、対象は、アンジオテンシンII誘導性心肥大を有し、および/またはアンジオテンシンII誘導性心肥大に罹患している。いくつかの態様において、対象は、心筋梗塞(すなわち、心臓発作)を最近経験している。

【0746】

心筋症は、心臓が身体に残りの部分に血液を圧送しにくくする心筋疾患である。心筋症は、心不全をもたらすことができる。心筋症の主なタイプは、拡張型心筋症、肥大型心筋症および拘束型心筋症を包含する。

【0747】

心肥大は、心筋細胞のサイズの非定型な増加、および心臓内の他の非定型な発達、例として、細胞外マトリックスの肥厚の増加から生じる、心臓のサイズの非定型な増加または肥厚によって一般に特徴付けられる。いくつかの態様において、複合体は、心肥大を有する対象の心臓のサイズ(例えば、筋肉量)または肥厚を減少させるのに(例えば、対照対象またはベースライン測定値と比べて少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%だけ)有効である。いくつかの態様において、複合体は、心肥大を有する対象の心臓のサイズの増加または肥厚を遅らせる(例えば、対照対象またはベースライン率と比べて、増加率を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%遅らせる)のに有効である。

10

20

30

40

50

【0748】

いくつかの態様において、心肥大は、アンジオテンシンII誘導性心肥大である。低血圧症を処置するために使用される一般的な医薬品であるアンジオテンシンIIは、選択された患者対象では心肥大を誘導することが示されている。アンジオテンシンIIは、間接的に(例えば、その血管収縮作用から生じる)および/または直接的に(例えば、その心臓栄養作用(cardiac trophic effect)から生じる)心肥大を誘導することができる。いくつかの態様において、アンジオテンシンII誘導性心肥大を有する対象は、以前に心肥大を経験したことがない。

【0749】

いくつかの態様において、筋肉および心臓の発達障害を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるACVR1B発現および/または活性レベルと比較して、増加したACVR1B発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ増加)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、ACVR1B発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上減少させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、ACVR1B発現および/または活性を健常対象のレベルまで減少させるのに有効である。

【0750】

いくつかの態様において、心疾患(例えば、心肥大、心筋症)を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるACVR1B発現および/または活性レベルと比較して、増加したACVR1B発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ増加)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、ACVR1B発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上減少させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、ACVR1B発現および/または活性を健常対象のレベルまで減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のACVR1Bの発現を特異的に標的とするのに有効である。

【0751】

いくつかの態様において、医薬組成物は、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複数の複合体を含み得る。非限定的な例として、医薬組成物は、MSTN、INHBAおよびACVR1Bのうちの1つに連結された筋標的化剤をそれぞれ含む2つ以上の複合体を含み得る。いくつかの態様において、医薬組成物は、MSTNを標的とする分子ペイロードに連結された筋標的化剤を含む1つの複合体と、ACVR1Bを標的とする分子ペイロードに連結された筋標的化剤を含む第2の複合体とを含み得る。いくつかの態様において、医薬組成物は、MSTNを標的とする分子ペイロードに連結された筋標的化剤を含む1つの複合体と、INHBAを標的とする分子ペイロードに連結された筋標的化剤を含む第2の複合体とを含み得る。いくつかの態様において、医薬組成物は、INHBAを標的とする分子ペイロードに連結された筋標的化剤を含む1つの複合体と、ACVR1Bを標的とする分子ペイロードに連結された筋標的化剤を含む第2の複合体とを含み得る。いくつかの態様において、MSTN、INHBAおよびACVR1Bのうちの2つ以上を標的とする複合体による対象の処置は、MSTN、INHBAおよびACVR1Bのうちの1つのみを標的とする単一の複合体による処置と比べて、改善された転帰、例として、筋肉のサイズおよび機能の増加を

同時にもたらす。いくつかの態様において、医薬組成物は、対象、例えば、心不全、筋萎縮(限定するものではないが、心筋萎縮を包含する)、筋ジストロフィー、悪液質、心線維症および/または筋肥大(限定するものではないが、心肥大を包含する)を有するヒト対象を処置するためのいずれかの他の好適な治療剤をさらに含み得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体の有効性を増強または補完し得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体とは異なる症状または疾患を処置するように機能し得る。

【0752】

MLCK1

いくつかの側面では、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、過敏性腸症候群を処置するのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、炎症性腸疾患を有する患者を処置するのに有効である。いくつかの態様において、炎症性腸疾患を有する患者はまた、過敏性腸症候群に罹患している。

10

【0753】

いくつかの態様において、複合体は、家族性胸部大動脈瘤・解離(FTAAD)を有する患者を処置するのに有効である。いくつかの態様において、FTAADは、Hannuksela M. et al. "A novel variant in MYLK causes thoracic aortic dissections: genotypic and phenotypic description." BMC Med Genet. 2016 Sep 1; 17(1): 61; および Shalata, A. et al. "Fatal thoracic aortic aneurysm and dissection in a large family with a novel MYLK gene mutation: delineation of the clinical phenotype." Orphanet J Rare Dis. 2018 Mar 15; 13(1): 41 に記載されているように、MLCK1 の遺伝子変異に関連する。

20

【0754】

いくつかの態様において、複合体は、ベルドン症候群(劣性巨大膀胱小結腸腸管蠕動低下症候群)を有する患者を処置するのに有効である。いくつかの態様において、ベルドン症候群は、Halim D. et al. "Loss-of-Function Variants in MYLK Cause Recessive Megacystis Microcolon Intestinal Hypoperistalsis Syndrome." Am J Hum Genet. 2017 Jul 6; 101(1): 123-129 に記載されているように、MLCK1 の遺伝子変異に関連する。

30

【0755】

いくつかの態様において、対象は、ヒト対象、非ヒト霊長類対象、齧歯類対象、またはいずれかの好適な哺乳動物対象であり得る。

【0756】

過敏性腸症候群(IBS)は、排便痛、不規則な排便回数、不良な便粘度、および/または上皮バリア機能障害によって特徴付けられる。IBSは、症状が寛解している炎症性腸疾患を有する患者に起こることが知られている。IBSの症状は、反復性の腹痛または不快感(例えば、1ヶ月当たり少なくとも3日間、または過去3ヶ月間に1週間当たり少なくとも1日の反復性の疼痛または不快感)を包含することができ、排便の少なくとも25%は軟便を含み、および/または排便の少なくとも25%は不規則に硬い便を含む。

40

【0757】

炎症性腸疾患(IBD)とは、腸の一部に炎症を引き起こす慢性状態を指す。腸壁が膨張し、炎症を起こし、潰瘍を発症し、これにより、不快感および重篤な消化器の問題を引き起こすことができる。クローン病は、消化管に沿ったいずれの部位にも起こることができるIBDの一形態である。クローン病は、消化管内層のさらに深い層に影響を及ぼし、健康な領域間の「区域性病変」として現れることができる。IBDは、クローン病および潰瘍性大腸炎を包含する。クローン病は、多くの場合、小腸、結腸、またはその両方を伴う。内部組織は、浅いクレーター状の領域、またはさらに深いただれ、および玉石状のパターンを発達させ得る。潰瘍性大腸炎は、結腸および直腸のみを伴う。炎症および潰瘍は、通常、クローン病で見られるさらに深い病変と比較して、これらの領域の内層のみに影響を及ぼ

50

す。

【0758】

いくつかの態様において、複合体は、IBDに関連する炎症を減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、対照対象またはベースライン測定値と比べて、炎症を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%減少させるのに有効である。

【0759】

いくつかの態様において、複合体は、腹痛または不快感の頻度を減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、対照対象またはベースライン測定値と比べて、腹痛または不快感の頻度を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、腹痛または不快感の頻度を1ヶ月当たり3日未満、2日未満または1日未満の不快感に減少させるのに有効である。

【0760】

いくつかの態様において、複合体は、不規則に硬い便を含む排便の頻度を減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、対照対象またはベースライン測定値と比べて、不規則に硬い便を含む排便の頻度を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、不規則に硬い便を含む排便の頻度を全排便の25%未満、20%未満、15%未満、10%未満または5%未満に減少させるのに有効である。

【0761】

いくつかの態様において、複合体は、軟便を含む排便の頻度を減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、対照対象またはベースライン測定値と比べて、軟便を含む排便の頻度を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、軟便を含む排便の頻度を全排便の25%未満、20%未満、15%未満、10%未満または5%未満に減少させるのに有効である。

【0762】

ACVR1

いくつかの側面では、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、心肥大を処置するのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、アンジオテンシンII誘導性心肥大を処置するのに有効である。いくつかの態様において、心肥大は、心不全をもたらすことができる。

【0763】

いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のACVR1の発現を特異的に標的とするのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心肥大(例えば、アンジオテンシンII誘導性心肥大)を処置および/または予防するのに有効である。心肥大は、心筋細胞のサイズの非定型な増加、および心臓内の他の非定型な発達、例として、細胞外マトリックスの肥厚の増加から生じる、心臓のサイズの非定型な増加または肥厚によって一般に特徴付けられる。いくつかの態様において、複合体は、心肥大を有する対象の心臓のサイズ(例えば、筋肉量)または肥厚を減少させるのに(例えば、対照対象またはベースライン測定値と比べて少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%だけ)有効である。いくつかの態様において、複合体は、心肥大を有する対象の心臓のサイズの増加または肥厚を遅らせる(例えば、対照対象またはベースライン率と比べて、増加率を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%遅らせる)のに有効である。

【0764】

いくつかの態様において、心肥大は、アンジオテンシンII誘導性心肥大である。低血圧症を処置するために使用される一般的な医薬品であるアンジオテンシンIIは、選択された患者対象では心肥大を誘導することが示されている。アンジオテンシンIIは、間接的に(例えば、その血管収縮作用から生じる)および/または直接的に(例えば、その心臓栄養作用から生じる)心肥大を誘導することができる。いくつかの態様において、アンジオテン

シンII誘導性心肥大を有する対象は、以前に心肥大を経験したことがない。

【0765】

心不全は、多様な代謝障害によって典型的に特徴付けられ、その多くは、筋肉および脂肪の代謝に悪影響を及ぼし、それによって悪液質をもたらす。特に、骨格筋萎縮は、慢性心不全患者では一般的である。いくつかの態様において、心不全は、心筋衰弱および/または骨格筋衰弱に関連する。いくつかの態様において、心不全は心筋症に関連し、心筋症とは、心臓が血液を体の残りの部分に圧送することをさらに困難にする心筋疾患の群を指す。いくつかの態様において、心筋症は拡張型心筋症であり、拡張型心筋症では、左心室の圧送能力が拡大(拡張)し、血液を圧送する有効性を低下させる。いくつかの態様において、心筋症は不整脈源性右室異形成であり、不整脈源性右室異形成では、右心室の筋肉が瘢痕組織によって置き換えられる。

10

【0766】

いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、駆出率)の低下に関連する。駆出率は、左心室が収縮ごとにどれだけの血液を圧送するかの測定値であり、割合として表される。いくつかの態様において、典型的な駆出率は50%~70%である。いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、圧送1回当たりの血液の駆出率または体積)の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の低下に関連する。いくつかの態様において、心不全は、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%またはそれ以下の駆出率に関連する。駆出率は心機能の唯一の尺度ではなく、本開示はその点に関して限定されることを意味しないことを理解されたい。例を挙げると、いくつかの態様において、心機能の尺度は、心臓が圧送する血液(例えば、圧送1回当たり)の体積の測定値に基づき得る。

20

【0767】

いくつかの態様において、心不全は、筋萎縮(例えば、サルコペニアまたは悪液質)に関連する。いくつかの態様において、対象は、心臓悪液質を有する。本明細書において提供される組成物および方法は、心臓悪液質を有するかまたは発症するリスクがある対象を処置または予防するために使用され得る。心臓悪液質は、とりわけ、心疾患に関連する重度の体重減少によって特徴付けられる。心臓悪液質は、個体の発病前の正常な体重の意図しない非浮腫性体重減少(例えば、5%超、6%超、7%超、8%超、9%超、10%超、15%超またはそれ以上)の存在に基づいて特徴付けられ得る。

30

【0768】

本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、FOPを処置するのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、典型的なFOPまたは非定型のFOPを処置するのに有効である。いくつかの態様において、FOPは、ACVR1タンパク質、例えば、L196P、R202I、R206H、Q207E、G328R、G328W、G328E、G356D、R375P、ΔP197-F198の変異をもたらすACVR1遺伝子の変異に関連する。

【0769】

いくつかの態様において、対象は、ヒト対象、非ヒト霊長類対象、齧歯類対象、またはいずれかの好適な哺乳動物対象であり得る。いくつかの態様において、対象は、FOPを有し得る。いくつかの態様において、FOPを有する対象は、ACVR1タンパク質、例えば、L196P、R202I、R206H、Q207E、G328R、G328W、G328E、G356D、R375P、ΔP197-F198の変異をもたらすACRV1遺伝子の少なくとも1つの変異を有する。いくつかの態様において、FOPを有する対象は、筋組織の進行性骨化、すなわち、骨による筋組織の段階的な置換えを有する。いくつかの態様において、FOPを有する対象は、動きが制限されており、可動性が失われており、ならびに/または呼吸および摂食が困難である。

40

【0770】

いくつかの態様において、複合体は、いずれかの筋組織(例えば、心筋、骨格筋)内のACVR1の活性を標的とするのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、筋萎縮

50

を処置するのに有効である。

【0771】

いくつかの態様において、医薬組成物は、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複数の複合体を含み得る。いくつかの態様において、医薬組成物は、対象、例えば、心肥大および/またはFOPを有するヒト対象を処置するためのいずれかの他の好適な治療剤をさらに含み得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体の有効性を増強または補完し得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体とは異なる症状または疾患を処置するように機能し得る。

【0772】

FBX032、TRIM63

いくつかの側面では、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、筋萎縮(例えば、サルコペニアまたは悪液質)を処置するのに有効である。筋萎縮は、いずれかの状態によって引き起こされ得る。いくつかの態様において、複合体は、癌悪液質、心臓悪液質、除神経、グルココルチコイドの使用、不活動(筋廃用)、ミオスタチンの異常なレベル、および/または絶食によって引き起こされる筋萎縮を処置するのに有効である。いくつかの態様において、筋萎縮は、癌悪液質、絶食、腎不全、糖尿病、除神経またはグルココルチコイド誘導性筋萎縮によって引き起こされる。

【0773】

いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のFBX032またはTRIM63の発現を特異的に標的とするのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心不全(例えば、心筋衰弱、心筋症または悪液質を伴う)を処置および/または予防するのに有効である。心不全は、多様な代謝障害によって典型的に特徴付けられ、その多くは、筋肉および脂肪の代謝に悪影響を及ぼし、それによって悪液質をもたらす。特に、骨格筋萎縮は、慢性心不全患者では一般的である。いくつかの態様において、心不全は、心筋衰弱および/または骨格筋衰弱に関連する。いくつかの態様において、心不全は心筋症に関連し、心筋症とは、心臓が血液を体の残りの部分に圧送することをさらに困難にする心筋疾患の群を指す。いくつかの態様において、心筋症は拡張型心筋症であり、拡張型心筋症では、左心室の圧送能力が拡大(拡張)し、血液を圧送する有効性を低下させる。いくつかの態様において、心筋症は、心筋の異常な肥厚を伴う肥大型心筋症である。いくつかの態様において、心筋症は拘束型心筋症であり、拘束型心筋症では、心筋が硬くなり、弾力性が低下する。いくつかの態様において、心筋症は不整脈源性右室異形成であり、不整脈源性右室異形成では、右心室の筋肉が瘢痕組織によって置き換えられる。

【0774】

いくつかの態様において、心不全は、心臓の萎縮に関連する。心臓の萎縮とは、心臓の大きさおよび質量の獲得された減少を指す。いくつかの態様において、萎縮は同心性萎縮(concentric atrophy)であり、同心性萎縮では、腔の大きさが縮小されるが、壁は同じままである。いくつかの態様において、萎縮は動脈瘤萎縮(aneurysmal atrophy)であり、動脈瘤萎縮では、壁が薄くされ、心腔が拡張される。いくつかの態様において、萎縮は単純型萎縮(simple type atrophy)であり、単純型萎縮では、心筋壁が薄くされ、心臓の容積の変化はほとんどない。いくつかの態様において、心不全は、心筋量の減少に関連する。いくつかの態様において、心不全は、心筋量の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%またはそれ以上の減少に関連する。

【0775】

いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、駆出率)の低下に関連する。駆出率は、左心室が収縮ごとにどれだけの血液を圧送するかの測定値であり、割合として表される。いくつかの態様において、典型的な駆出率は50%~70%である。いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、圧送1回当たりの血液の駆出率または体積)の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95

10

20

30

40

50

%またはそれ以上の低下に関連する。いくつかの態様において、心不全は、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%またはそれ以下の駆出率に関連する。駆出率は心機能の唯一の尺度ではなく、本開示はその点に関して限定されることを意味しないことを理解されたい。例を挙げると、いくつかの態様において、心機能の尺度は、心臓が圧送する血液(例えば、圧送1回当たり)の体積の測定値に基づき得る。

【0776】

いくつかの態様において、心不全は、心臓悪液質に関連する。本明細書において提供される組成物および方法は、心臓悪液質を有するかまたは発症するリスクがある対象を処置または予防するために使用され得る。心臓悪液質は、とりわけ、心疾患に関連する重度の体重減少によって特徴付けられる。心臓悪液質は、個体の発病前の正常な体重の意図しない非浮腫性体重減少(例えば、5%超、6%超、7%超、8%超、9%超、10%超、15%超またはそれ以上)の存在に基づいて特徴付けられ得る。

【0777】

いくつかの態様において、対象は、ヒト対象、非ヒト霊長類対象、齧歯類対象、またはいずれかの好適な哺乳動物対象であり得る。いくつかの態様において、対象は、対照と比較して、増加したレベルのFBX032またはTRIM63を有する。

【0778】

いくつかの態様において、対象は、癌悪液質、心臓悪液質、除神経、グルココルチコイドの使用、糖尿病、腎不全、不活動(例えば、筋廃用)、上昇したレベルのミオスタチンを有し、および/または絶食している。いくつかの態様において、対象は、対照と比較して、筋肉量の減少、筋肉サイズの減少、および/または筋細胞数の減少を有する。いくつかの態様において、対照は健常対象である。非限定的な例として、筋萎縮を有する対象を診断するために、超音波および/または磁気共鳴画像法(MRI)が使用され得る。いくつかの態様において、筋萎縮は、対象の1型遅筋線維(slow type 1 muscle fiber)または2型速筋線維(fast type 2 muscle fiber)に影響を及ぼす。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるTalbot et al., Wiley Interdiscip Rev Dev Biol. 2016 Jul; 5(4): 518-34を参照されたい。いくつかの態様において、対象は、末梢動脈疾患を有しない。いくつかの態様において、対象の末梢動脈系はインタクトである。場合によっては、筋萎縮は、対象の下肢または後肢の末端に局在しなくてもよい。

【0779】

いくつかの態様において、分子ペイロード(例えば、FBX032またはFBX032ポリペプチドをコードするmRNA)に共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、心肥大を処置するのに有効である。いくつかの態様において、心肥大を有する対象は、健常対象と比較して、心筋細胞内の低下したFBX032発現レベル(例えば、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%またはそれ以上だけ低下)を有する。いくつかの態様において、複合体を用いない場合と比較して、分子ペイロード(例えば、本明細書において記載されるFBX032またはFBX032ポリペプチドをコードするmRNA)に共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、心筋細胞内のFBX032発現レベルを少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍またはそれ以上増加させる。

【0780】

MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A

いくつかの側面では、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、筋肉および心臓の発達障害(例えば、先天性心臓欠損)、筋疾患(例えば、筋萎縮、筋緊張性ジストロフィー、悪液質)、心疾患(例えば、心臓萎縮、心肥大、心筋症、心血管疾患、先天性心疾患、心不整脈)、心不全または神経筋疾患(例えば、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS))を有する対象を処置するのに有効

である。いくつかの態様において、対象は、冠動脈疾患または高血圧を有する。いくつかの態様において、対象は、心臓弁異常を有する。いくつかの態様において、対象は、心不全をもたらすと予測される心雑音を有する。いくつかの態様において、対象は、ステージ A、B、C または D の心不全を有する。いくつかの態様において、対象は、鬱血性心不全を有するか、または有するリスクがある。

【0781】

いくつかの態様において、対象は、ヒト対象、非ヒト霊長類対象、齧歯類対象、またはいずれかの好適な哺乳動物対象であり得る。いくつかの態様において、対象は、筋緊張性ジストロフィーを有し得る。いくつかの態様において、対象は、心筋梗塞(例えば、少なくとも1回の心筋梗塞)を経験したことがある。いくつかの態様において、対象は、2回、3回、4回、5回、6回またはそれ以上の心筋梗塞を経験したことがある。いくつかの態様において、対象は、心筋梗塞のリスクが高い。

10

【0782】

心筋症は、心臓が身体に残りの部分に血液を圧送しにくくする心筋疾患である。心筋症は、心不全をもたらすことができる。心筋症の主なタイプは、拡張型心筋症、肥大型心筋症および拘束型心筋症を包含する。

【0783】

心肥大は、心筋細胞のサイズの非定型な増加、および心臓内の他の非定型な発達、例として、細胞外マトリックスの肥厚の増加から生じる、心臓のサイズの非定型な増加または肥厚によって一般に特徴付けられる。いくつかの態様において、複合体は、心肥大を有する対象の心臓のサイズ(例えば、筋肉量)または肥厚を減少させるのに(例えば、対照対象またはベースライン測定値と比べて少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%だけ)有効である。いくつかの態様において、複合体は、心肥大を有する対象の心臓のサイズの増加または肥厚を遅らせる(例えば、対照対象またはベースライン率と比べて、増加率を少なくとも5%、10%、20%、30%、40%または50%遅らせる)のに有効である。

20

【0784】

いくつかの態様において、心肥大は、アンジオテンシンII誘導性心肥大である。低血圧症を処置するために使用される一般的な医薬品であるアンジオテンシンIIは、選択された患者対象では心肥大を誘導することが示されている。アンジオテンシンIIは、間接的に(例えば、その血管収縮作用から生じる)および/または直接的に(例えば、その心臓栄養作用から生じる)心肥大を誘導することができる。いくつかの態様において、アンジオテンシンII誘導性心肥大を有する対象は、以前に心肥大を経験したことがない。

30

【0785】

心不全は、多様な代謝障害によって典型的に特徴付けられ、その多くは、筋肉および脂肪の代謝に悪影響を及ぼし、それによって悪液質をもたらす。特に、骨格筋萎縮は、慢性心不全患者では一般的である。いくつかの態様において、心不全は、心筋衰弱および/または骨格筋衰弱に関連する。いくつかの態様において、心不全は心筋症に関連し、心筋症とは、心臓が血液を体の残りの部分に圧送することをさらに困難にする心筋疾患の群を指す。いくつかの態様において、心筋症は拡張型心筋症であり、拡張型心筋症では、左心室の圧送能力が拡大(拡張)し、血液を圧送する有効性を低下させる。いくつかの態様において、心筋症は不整脈源性右室異形成であり、不整脈源性右室異形成では、右心室の筋肉が瘢痕組織によって置き換えられる。

40

【0786】

いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、駆出率)の低下に関連する。駆出率は、左心室が収縮ごとにどれだけの血液を圧送するかの測定値であり、割合として表される。いくつかの態様において、典型的な駆出率は50%~70%である。いくつかの態様において、心不全は、心機能(例えば、圧送1回当たりの血液の駆出率または体積)の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の低下に関連する。いくつかの態様において、心不全は、50%、45%

50

、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%またはそれ以下の駆出率に関連する。駆出率は心機能の唯一の尺度ではなく、本開示はその点に関して限定されることを意味しないことを理解されたい。例を挙げると、いくつかの態様において、心機能の尺度は、心臓が圧送する血液(例えば、圧送1回当たり)の体積の測定値に基づき得る。

【0787】

いくつかの態様において、心不全は、心臓悪液質に関連する。本明細書において提供される組成物および方法は、心臓悪液質を有するかまたは発症するリスクがある対象を処置または予防するために使用され得る。心臓悪液質は、とりわけ、心疾患に関連する重度の体重減少によって特徴付けられる。心臓悪液質は、個体の発病前の正常な体重の意図しない非浮腫性体重減少(例えば、5%超、6%超、7%超、8%超、9%超、10%超、15%超またはそれ以上)の存在に基づいて特徴付けられ得る。

10

【0788】

いくつかの態様において、心不全は、心臓の萎縮に関連する。心臓の萎縮とは、心臓の大きさおよび質量の獲得された減少を指す。いくつかの態様において、萎縮は同心性萎縮(concentric atrophy)であり、同心性萎縮では、腔の大きさが縮小されるが、壁は同じままである。いくつかの態様において、萎縮は動脈瘤萎縮(aneurysmal atrophy)であり、動脈瘤萎縮では、壁が薄くされ、心腔が拡張される。いくつかの態様において、萎縮は単純型萎縮(simple type atrophy)であり、単純型萎縮では、心筋壁が薄くされ、心臓の容積の変化はほとんどない。いくつかの態様において、心不全は、心筋量の減少に関連する。いくつかの態様において、心不全は、心筋量の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%またはそれ以上の減少に関連する。

20

【0789】

筋萎縮は、いずれかの状態によって引き起こされ得る。いくつかの態様において、複合体は、癌悪液質、心臓悪液質、急性肺傷害、除神経、グルココルチコイドの使用、不活動(筋廃用)、ミオスタチンの異常なレベル、および/または絶食によって引き起こされる筋萎縮を処置するのに有効である。いくつかの態様において、筋萎縮は、癌悪液質、絶食、腎不全、糖尿病、除神経またはグルココルチコイド誘導性筋萎縮によって引き起こされる。非限定的な例として、筋萎縮を有する対象を診断するために、超音波および/または磁気共鳴画像法(MRI)が使用され得る。いくつかの態様において、筋萎縮は、対象の1型遅筋線維(slow type 1 muscle fiber)または2型速筋線維(fast type 2 muscle fiber)に影響を及ぼす。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるTalbot et al., Wiley Interdiscip Rev Dev Biol. 2016 Jul; 5(4): 518-34を参照されたい。いくつかの態様において、対象は、末梢動脈疾患を有しない。いくつかの態様において、対象の末梢動脈系はインタクトである。場合によっては、筋萎縮は、対象の下肢または後肢の末端に局在しなくてもよい。

30

【0790】

筋緊張性ジストロフィーは、筋機能に影響を及ぼす、長期の遺伝性障害である。症状は、徐々に悪化する筋喪失および脱力を包含する。筋緊張性ジストロフィーには、2つの主なタイプ、すなわち、DMPK遺伝子の変異に起因する1型(DM1)、およびCNBP遺伝子の変異に起因する2型(DM2)がある。

40

【0791】

パーキンソン病(PD)は、主に運動系に影響を及ぼす、中枢神経系の長期の変性障害である。疾患が悪化するにつれて、非運動症状がさらに一般的になる。疾患の初期では、最も明白な症状は、震え、硬直、動きの遅さ、および歩行困難である。思考および行動の問題も起こり得る。疾患の進行段階では、認知症が一般的になる。鬱病および不安症も一般的であり、PDを有する人々の3分の1超で起こる。

【0792】

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、随意筋を制御するニューロンの死を引き起こす。ALSは、筋肉の硬直、筋攣縮、および筋肉の大きさが減少することによる徐々に悪化する脱力によって特徴付けられる。ALSは、腕もしくは脚の脱力、または発話もしくは嚥下の困難か

50

ら始まり得る。罹患した人々の約半数が、思考および行動に少なくとも軽度の困難を発現し、ほとんどの人々が疼痛を経験する。ほとんどの場合、歩行、手の使用、発話、嚥下および呼吸の能力を最終的に失う。

【0793】

いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のMEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの発現を特異的に標的とするのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、筋肉および心臓の発達障害(例えば、先天性心臓欠損)、筋疾患(例えば、筋萎縮、筋緊張性ジストロフィー、悪液質)、心疾患(例えば、心臓萎縮、心肥大、心筋症、心血管疾患、先天性心疾患、心不整脈)、心不全または神経筋疾患(例えば、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS))を処置および/または予防するのに有効である。

10

【0794】

いくつかの態様において、筋肉および心臓の発達障害を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるMEF2D発現および/または活性レベルと比較して、低下したMEF2D、発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ低下)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上増加させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書

20

【0795】

いくつかの態様において、心疾患(例えば、心肥大、心筋症)を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるMEF2D発現および/または活性レベルと比較して、増加したMEF2D発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ増加)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2D発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上減少させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2D発現および/または活性を健常対象のレベルまで減少させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のMEF2Dの発現を特異的に標的とするのに有効である。

30

【0796】

いくつかの態様において、パーキンソン病を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるMEF2D発現および/または活性レベルと比較して、低下したMEF2D発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ低下)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2D発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上増加させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2D発現および/または活性を健常対象のレベルまで増加させるのに有効である。

40

【0797】

いくつかの態様において、ALSを有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象に

50

におけるMEF2D発現および/または活性レベルと比較して、増加したMEF2D発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ増加)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2D発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上減少させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2D発現および/または活性を健常対象のレベルまで減少させるのに有効である。

10

【0798】

いくつかの態様において、筋疾患(例えば、筋萎縮、筋緊張性ジストロフィー)を有するかまたは有すると疑われる対象は、 β -エクソンを欠く、MEF2Dのアイソフォームを発現する(例えば、参照により本明細書に組み込まれるLee et al., The Journal of Biological Chemistry, 285, 33779-33787, 2010に記載されているように)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、MEF2Dアイソフォーム発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上減少させるのに有効である。

20

【0799】

いくつかの態様において、筋肉および心臓の発達障害を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるKLF15発現および/または活性レベルと比較して、低下したKLF15、発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ低下)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上増加させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を健常対象のレベルまで増加させるのに有効である。

30

【0800】

いくつかの態様において、心疾患(例えば、心肥大、心筋症)を有するかまたは有すると疑われる対象は、健常対象におけるKLF15発現および/または活性レベルと比較して、低下したKLF15発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ低下)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上増加させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を健常対象のレベルまで増加させるのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、心細胞内のKLF15の発現を特異的に標的とするのに有効である。

40

【0801】

いくつかの態様において、心不整脈を有する対象は、健常対象におけるKLF15発現および/または活性レベルと比較して、増加したKLF15発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%

50

、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ増加)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上減少させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を健常対象のレベルまで減少させるのに有効である。

【0802】

いくつかの態様において、心不整脈を有する対象は、健常対象におけるKLF15発現および/または活性レベルと比較して、低下したKLF15発現および/または活性レベルを有する(例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上だけ低下)。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上増加させるのに有効である。いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体は、KLF15発現および/または活性を健常対象のレベルまで増加させるのに有効である。

【0803】

いくつかの態様において、複合体は、野生型MED13を有する対象の心血管疾患(例えば、先天性心疾患または先天性心臓欠損)を処置するのに有効である。いくつかの態様において、心血管疾患を処置するための複合体は、野生型MED13の発現または活性を促進または増強する。

【0804】

いくつかの態様において、複合体は変異MED13遺伝子を有する対象の心血管疾患(例えば、先天性心疾患または先天性心臓欠損)を処置するのに有効である。いくつかの態様において、変異MED13を有する心血管疾患を処置するための複合体は、変異体MED13の発現または活性を阻害する。いくつかの態様において、対象は、ミスセンス変異を含む、MED13の変異対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、MED13の変異対立遺伝子は、T326I、P327Sおよび/またはP327Q変異をコードする。いくつかの態様において、MED13の変異対立遺伝子は、(例えば、T326をコードするヌクレオチドの)インフレーム欠失を含む。

【0805】

いくつかの態様において、医薬組成物は、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複数の複合体を含み得る。いくつかの態様において、医薬組成物は、対象、例えば、筋肉および心臓の発達障害(例えば、先天性心臓欠損)、筋疾患(例えば、筋萎縮、筋緊張性ジストロフィー、悪液質)、心疾患(例えば、心臓萎縮、心肥大、心筋症、心血管疾患、先天性心疾患、心不整脈)、心不全または神経筋疾患(例えば、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS))を有するヒト対象を処置するためのいずれかの他の好適な治療剤をさらに含み得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体の有効性を増強または補完し得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体とは異なる症状または疾患を処置するように機能し得る。

【0806】

本開示の側面は、本明細書において記載されるように、有効量の複合体を対象へ投与することを伴う方法を包含する。いくつかの態様において、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物の有効量は、処置を必要とする対象へ投与され得る。いくつかの態様において、本明細書において記載される複合体を含む医

薬組成物は、例えば、ボーラスとしての、または一定期間にわたる連続注入による静脈内投与を包含し得る好適な経路によって投与され得る。いくつかの態様において、静脈内投与は、筋肉内の、腹腔内の、脳脊髄内の、皮下の、関節内の、滑液嚢内の、または髄腔内の経路によって行われ得る。いくつかの態様において、医薬組成物は、固体形態、水性形態または液体形態であり得る。いくつかの態様において、水性形態または液体形態は、噴霧または凍結乾燥され得る。いくつかの態様において、噴霧形態または凍結乾燥形態は、水性溶液または液体溶液を用いて再構成され得る。

【0807】

静脈内投与のための組成物は、様々な担体、例として、植物油、ジメチルアセトアミド、ジメチルホルムアミド、乳酸エチル、炭酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、エタノールおよびポリオール(グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど)を含有し得る。静脈内注射では、水溶性抗体は点滴法によって投与されることができ、これによって、抗体と生理学的に許容される賦形剤とを含有する医薬製剤が注入される。生理学的に許容される賦形剤は、例を挙げると、5%デキストロース、0.9%生理食塩水、リンガー溶液または他の好適な賦形剤を包含し得る。筋肉内調製物、例えば、抗体の好適な可溶性塩形態の滅菌製剤は、医薬賦形剤、例として、注射用水、0.9%生理食塩水または5%グルコース溶液に溶解され投与されることができる。

【0808】

いくつかの態様において、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物は、部位特異的または局所的な送達技術を介して投与される。これらの技術の例は、複合体の埋め込み型デポ供給源、局部送達カテーテル、部位特異的担体、直接注射、または直塗り(direct application)を包含する。

【0809】

いくつかの態様において、分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物は、治療効果を対象に付与する有効濃度で投与される。有効量は、当業者によって認識されるように、疾患の重症度、処置される対象の固有の特徴、例えば、年齢、体調、健康状態または体重、処置期間、いずれかの併用治療の性質、投与経路、および関連因子に応じて変動する。これらの関連因子は当業者に公知であり、常用的な実験程度で対処され得る。いくつかの態様において、有効濃度は、患者にとって安全であると見なされる最大用量である。いくつかの態様において、有効濃度は、最大の効果を提供可能な限りの最低濃度である。

【0810】

経験的考慮事項、例えば、対象における複合体の半減期は、一般に、処置のために使用される医薬組成物の濃度を決定するのに役立つ。投与頻度は、処置の効果を最大にするために経験的に決定および調節され得る。

【0811】

一般に、本明細書において記載される複合体のいずれかの投与について、初期候補投与量は、上記の因子、例えば、安全性または効果に応じて、約1~100mg/kgまたはそれ以上であってよい。いくつかの態様において、処置は1回投与される。いくつかの態様において、処置は、連日、隔週、毎週、隔月、毎月、または対象に対する安全性リスクを最小限に抑えながら最大の効果を提供するいずれかの時間間隔で投与される。一般に、効果ならびに処置および安全性リスクは、処置の経過全体を通してモニタリングされ得る。

【0812】

処置の効果は、いずれかの好適な方法を使用して査定され得る。いくつかの態様において、処置の効果は、本明細書において記載される複合体によって処置される疾患、例えば、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、心不全、筋萎縮、筋ジストロフィー、悪液質、心線維症および/または筋肥大(限定するものではないが、心肥大を包含する)に関連する症状の観察の評価によって査定され得る。例を挙げると、筋萎縮を有する対象は、バランスをとることが困難であり得、長期間不活動であり得、栄養不良を有し得、他の肢よりもサイズが著しく小さい肢を有し得、および/または脱力を経験している。筋萎縮を査定する好適

な方法は、超音波、磁気共鳴画像法および筋生検を包含する。例を挙げると、筋萎縮の程度は、筋線維の形状を決定することによって決定され得る。本明細書において記載される標的遺伝子(例えば、MSTN、INHBA、ACVR1B、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3A)の発現および/または活性も、いずれかの好適な方法を使用して査定され得る。例を挙げると、処置が標的遺伝子発現を減少させるかどうかを決定するために、標的mRNAおよび/またはタンパク質のレベルがアッセイされ得る。

【0813】

いくつかの態様において、本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物は、対照、例えば、処置に先立つ遺伝子発現のベースラインレベルと比べて、標的遺伝子の活性または発現を少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%または少なくとも95%阻害するのに十分な有効濃度で対象へ投与される。

10

【0814】

いくつかの態様において、対象への本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物の単回用量または投与は、少なくとも1~5日間、1~10日間、5~15日間、10~20日間、15~30日間、20~40日間、25~50日間またはそれ以上にわたって標的遺伝子の活性または発現を阻害するのに十分である。いくつかの態様において、対象への本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物の単回用量または投与は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11または12週間にわたって標的遺伝子の活性または発現を阻害するのに十分である。いくつかの態様において、対象への本明細書において記載される分子ペイロードに共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物の単回用量または投与は、少なくとも1、2、3、4、5または6ヶ月間にわたって標的遺伝子の活性または発現を阻害するのに十分である。

20

【0815】

いくつかの態様において、医薬組成物は、対象、例えば、筋萎縮または心肥大を有するヒト対象を処置するためのいずれかの他の好適な治療剤をさらに含み得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体の有効性を増強または補完し得る。いくつかの態様において、他の治療剤は、本明細書において記載される複合体とは異なる症状または疾患を処置するように機能し得る。

30

【0816】

例

例1:トランスフェクトされたアンチセンスオリゴヌクレオチドによるHPRTの標的化

ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)を標的とするsiRNAが、不死化細胞株内のHPRTの発現レベルを低下させるその能力についてin vitroで試験された。要約すると、Hepa 1-6細胞が、リポフェクタミン2000とともに製剤化された、対照siRNA(siCTRL;100nM)、またはHPRTを標的とするsiRNA(siHPRT;100nM)のいずれかによってトランスフェクトされた。HPRT発現レベルが、トランスフェクションの48時間後に評価された。ビヒクル(リン酸緩衝生理食塩水)が培養中にHepa 1-6細胞に送達され、細胞が48時間維持された対照実験も行われた。図1に示されるように、HPRT siRNAは、対照と比較してHPRT発現レベルを約90%低下させることが分かった。使用されたsiRNAの配列が表41に提供される。

40

【表 4 1】

表 41. siHPRT および siCTRL の配列

	配列	配列番号
siHPRT センス鎖	5'-UcCuAuGaCuGuAgAuUuUaU-(CH ₂) ₆ NH ₂ -3'	371
siHPRT アンチセンス鎖	5'-aUaAaAuCuAcAgUcAuAgGasAsu-3'	372
siCTRL センス鎖	5'-UgUaAuAaCcAuAuCuAcCuU-(CH ₂) ₆ NH ₂ -3'	373
siCTRL アンチセンス鎖	5'-aAgGuAgAuAuGgUuAuUaCasAsa-3'	374

*小文字-2'-O-Me リボヌクレオシド；大文字-2'-F リボヌクレオシド；s-ホスホロチオアート連結

10

【0 8 1 7】

例2:筋標的化複合体によるHPRTの標的化

切断不可能なN-ガンマ-マレイミドブチリル-オキシスクシンイミドエステル(GMBS)リンカーを介して、抗トランスフェリン受容体抗体RI7 217抗TfR1 Fab(DTX-A-002)に共有結合的に連結された、例1で使用されたHPRT siRNA(siHPRT)を含む筋標的化複合体が生成された。

【0 8 1 8】

要約すると、GMBSリンカーが乾燥DMSOに溶解され、水性条件下でアミド結合形成によってsiHPRTのセンス鎖の3'末端にカップリングされた。Kaiser試験によって反応の完了が確認された。ゲル浸透クロマトグラフィーによって、過剰なリンカーおよび有機溶媒が除去された。次いで、Michael付加反応を使用して、siHPRTの精製されたマレイミド官能化センス鎖がDTX-A-002抗体にカップリングされた。

20

【0 8 1 9】

次いで、抗体カップリング反応の生成物が、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)精製に供された。DTX-A-002抗体に共有結合的に連結された1または2個のsiHPRT分子を含む抗TfR-siHPRT複合体が精製された。デンストメトリーは、複合体の精製試料が1.46の平均siHPRT対抗体比を有することを確認した。SDS-PAGE分析は、複合体の精製試料の>90%が、1または2個のsiHPRT分子のいずれかに連結されたDTX-A-002を含むことを実証した。

【0 8 2 0】

上記と同じ方法を使用して、GMBSリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体(DTX-A-003)に共有結合的に連結された、例1で使用されたHPRT siRNA(siHPRT)を含む対照IgG2a-siHPRT複合体が生成された。デンストメトリーは、DTX-C-001(対照IgG2a-siHPRT複合体)が1.46の平均siHPRT対抗体比を有することを確認し、SDS-PAGEは、対照複合体の精製試料の>90%が、1または2個のsiHPRT分子のいずれかに連結されたDTX-A-003を含むことを実証した。

30

【0 8 2 1】

次いで、in celluloで、HPRTの細胞内在化および阻害について抗TfR-siHPRT複合体が試験された。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有するHepa 1-6細胞が、ビヒクル(リン酸緩衝生理食塩水)、IgG2a-siHPRT(100nM)、antiTfR-siCTRL(100nM)または抗TfR-siHPRT(100nM)の存在下で、72時間インキュベートされた。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、HPRTの発現レベルについてアッセイされた(図2)。抗TfR-siHPRTによって処理された細胞は、ビヒクル対照によって処理された細胞、およびIgG2a-siHPRT複合体によって処理された細胞と比べて、HPRT発現の約50%の減少を実証した。一方、IgG2a-siHPRTまたは抗TfR-siCTRLのいずれかによって処理された細胞は、ビヒクル対照と同等のHPRT発現レベルを有した(HPRT発現の減少なし)。これらのデータは、抗TfR-siHPRTの抗トランスフェリン受容体1抗体が複合体の細胞内在化を可能にし、それによって、siHPRTがHPRTの発現を阻害することを可能にしたことを示している。

40

【0 8 2 2】

50

例3:筋標的化複合体を用いた、マウス筋組織におけるHPRTの標的化

マウス組織内のHPRTの阻害について、例2に記載される筋標的化複合体、抗TfR-siHPRTが試験された。C57BL/6野生型マウスは、単回用量のビヒクル対照(リン酸緩衝生理食塩水);siHPRT(2mg/kgのRNA);IgG2a-siHPRT(9mg/kgの抗体複合体に対応する2mg/kgのRNA);または抗TfR-siHPRT(9mg/kgの抗体複合体に対応する2mg/kgのRNA)を静脈内注射された。個々のC57BL/6野生型マウス4匹を対象に、各実験条件が再現された。注射後3日間の後、マウスは安楽死させられ、単離された組織型に分割された。続いて、HPRTの発現レベルについて個々の組織試料がアッセイされた(図3A~図3Bおよび図4A~図4E)。

【0823】

抗TfR-siHPRT複合体によって処置されたマウスは、siHPRT対照によって処置されたマウスと比べて、心臓(30%減少; $p<0.05$)および腓腹筋(31%減少; $p<0.05$)内のHPRT発現の減少を実証した(図3A~図3B)。一方、IgG2a-siHPRT複合体によって処置されたマウスは、アッセイした全筋組織型について、siHPRT対照投与のHPRT発現レベルを有した(HPRT発現の減少はほとんどまたは全くなかった)。

【0824】

抗TfR-siHPRT複合体によって処置されたマウスは、非筋組織、例として、脳、肝臓、肺、腎臓および脾臓組織内でHPRT発現の変化を実証しなかった(図4A~図4E)。

【0825】

これらのデータは、抗TfR-siHPRT複体の抗トランスフェリン受容体1抗体が、*in vivo*マウスモデルでは筋肉特異的組織への複体の細胞内在化を可能にし、それによって、siHPRTがHPRTの発現を阻害することを可能にしたことを示す。これらのデータは、本開示の抗TfR-オリゴヌクレオチド複合体が筋組織を特異的に標的とすることが可能であることをさらに実証する。

【0826】

例4:筋標的化複合体によるMSTNの標的化

カテプシン切断可能なリンカーを介してDTX-A-002(R17 217 Fab)、抗トランスフェリン受容体1抗体に共有結合的に連結された、MSTN(MSTN ASO)の対立遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む筋標的化複合体が生成される。

【0827】

要約すると、マレイミドカプロイル-L-バリン-L-シトルリン-p-アミノベンジルアルコールp-ニトロフェニルカーボナート(MC-Val-Cit-PABC-PNP)リンカー分子は、アミドカップリング反応を使用して、NH₂-C₆-DNM2 ASOにカップリングされた。過剰なリンカーおよび有機溶媒は、ゲル浸透クロマトグラフィーによって除去される。次いで、精製されたVal-Cit-リンカー-DNM2 ASOは、抗トランスフェリン受容体1抗体(DTX-A-002)上のチオールにカップリングされる。

【0828】

次いで、筋標的化複合体を精製するために、抗体カップリング反応の生成物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC-HPLC)に供される。精製された複体のデンストメトリーおよびSDS-PAGE分析は、それぞれ、ASO対抗体の平均比、および総純度の決定を可能にする。

【0829】

上記と同じ方法を使用して、Val-Citリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体に共有結合的に連結されたMSTN ASOを含む対照複合体が生成される。次いで、MSTN ASOに共有結合的に連結されたDTX-A-002を含む精製筋標的化複合体が、MSTNの細胞内在化および阻害について試験される。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有する疾患関連筋細胞が、ビヒクル対照(生理食塩水)、筋標的化複合体(100nM)または対照複合体(100nM)の存在下で72時間インキュベートされる。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、MSTNの発現レベルについてアッセイされる。

【0830】

10

20

30

40

50

例5: MSTNを阻害するための候補オリゴヌクレオチドの同定

MSTNを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを同定するために、MSTN発現の抑制についてsiRNAがスクリーニングされた。0.1nMまたは10nMの各siRNAによって細胞が処理され、遺伝子発現が測定された。siRNAの各siRNAは、異種間活性を有するように設計された。図5は、両用量で試験された24個のsiRNAの各々に関するMSTN遺伝子発現データを示す。例6に記載される用量応答分析では、このスクリーニングからの4つのsiRNA(hsMSTN-1、hsMSTN-2、hsMSTN-3、およびhsMSTN-4)がさらに試験された。

【0831】

例6: 候補オリゴヌクレオチドによるMSTNの阻害

ヒトMSTNを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM~10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC50値およびIC80値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図6は、MSTNの阻害に関する用量応答曲線を示し、表42は、対応するIC50値およびIC80値を示す。

【表42】

表 42. ヒト MSTN のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	配列 番号	アンチセンス配列 (5'から 3')	配列 番号	IC50 (pM)	IC80 (pM)
ヒト MSTN	hsMSTN-1*	mUmCfUmUfUmGfGm AfAmGfAmUfGmAfCm GfAmUfUmAfU	173	fAfUmAfAmUfCmGfUm CfAmUfCmUfUmCfCm AfAmAfGmA*fG*mC	197	84	597
	hsMSTN-2*	mGmAfAmGfAmUfGm AfCmGfAmUfUmAfUm CfAmCfGmCfU	175	fAfGmCfGmUfGmAfUm AfAmUfCmGfUmCfAm UfCmUfUmC*fC*mA	199	120	902
	hsMSTN-3*	mGmAfCmAfGmUfGm UfUmGfCmAfAmAfAm UfUmGfGmCfU	184	fAfGmCfCmAfAmUfUm UfUmGfCmAfAmCfAm CfUmGfUmC*fU*mU	208	101	979
	hsMSTN-4*	mGmUfGmUfUmGfCm AfAmAfAmUfUmGfGm CfUmCfAmAfA	185	fUfUmUfGmAfGmCfCm AfAmUfUmUfUmGfCm AfAmCfAmC*fU*mG	209	122	948

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0832】

例7: INHBA候補siRNAのスクリーニング

INHBAを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを同定するために、INHBA発現の抑制についてsiRNAがスクリーニングされた。0.1nMまたは10nMの各siRNAによって細胞が処理され、遺伝子発現が測定された。各siRNAは、異種間活性を有するように設計された。図7は、両用量で試験された24個のsiRNAの各々に関するINHBA遺伝子発現データを示す。例8に記載される用量応答分析では、このスクリーニングからの3つのsiRNA(hsINHBA-1、hsINHBA-2、およびhsINHBA-3)がさらに試験された。

【0833】

例8: 候補オリゴヌクレオチドによるINHBAの阻害

ヒトINHBAを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM~10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC50値およびIC80値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用

された。図8は、INHBAの阻害に関する用量応答曲線を示し、表43は、対応するIC50値およびIC80値を示す。

【表 4 3】

表 43. ヒト INHBA のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	配列 番号	アンチセンス配列 (5'から 3')	配列 番号	IC 50 (p M)	IC80 (pM)
ヒト INHBA	hsINHBA-1*	mGmGfCmAfAmGfUm UfGmCfUmGfGmAfU mUfAmUfAmGfU	304	fAfCmUfAmUfAmAfUmCfC mAfGmCfAmAfCmUfUmGf CmC*fA*mA	328	315	5674
	hsINHBA-2*	mAmAfGmUfUmGfCm UfGmGfAmUfUmAfU mAfGmUfGmAfG	305	fCfUmCfAmCfUmAfUmAfA mUfCmCfAmGfCmAfAmCf UmU*fG*mC	329	117	4801
	hsINHBA-3*	mCmUfGmCfUmGfUm AfAmGfAmAfAmCfA mGfUmUfCmUfU	315	fAfAmGfAmAfCmUfGmUfU mUfCmUfUmAfCmAfGmCf AmG*fA*mU	339	238	1267 9

10

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオチド間連結を示す。

20

【 0 8 3 4 】

例9:ACVR1B候補siRNAのスクリーニング

ACVR1Bを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを同定するために、ACVR1B発現の抑制についてsiRNAがスクリーニングされた。0.1nMまたは10nMの各siRNAによって細胞が処理され、遺伝子発現が測定された。各siRNAは、異種間活性、ヒトおよびカニクイザル配列に対する活性、またはラットおよびマウス配列に対する活性を有するように設計された。図9は、両用量で試験された24個のsiRNAの各々に関するACVR1B遺伝子発現データを示す。例10に記載される用量応答分析では、このスクリーニングからの5つのsiRNA(hsACVR1B-1およびhsACVR1B-2;ならびにmmACVR1B-1、mmACVR1B-2、およびmmACVR1B-3)がさらに試験された。

30

【 0 8 3 5 】

例10:候補オリゴヌクレオチドによるACVR1Bの阻害

ヒトおよびマウスACVR1Bを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM~10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC50値およびIC80値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図10(ヒト)および図11(マウス)は、ACVR1Bの阻害に関する用量応答曲線を示し、表44(ヒト)および表45(マウス)は、対応するIC50値およびIC80値を示す。

40

【表 4 4】

表 44. ヒト ACVR1B のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	配列 番号	アンチセンス配列 (5'から 3')	配列 番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト ACVR1B	hsACVR1B-1	mCmUfCmCfAmGfG mAfUmCfUmUfGmU fCmUfAmCfGmAfU	253	fAfUmCfGmUfAmGfAm CfAmAfGmAfUmCfCm UfGmGfAmG*fC*mG	351	272	#
	hsACVR1B-2	mCmAfUmCfAmUfU mGfUmUfUmUfCmC fUmUfGmUfCmAfU	257	fAfUmGfAmCfAmAfGm GfAmAfAmAfCmAfAm UfGmAfUmG*fA*mU	355	53	273

#阻害は、試験した最高濃度（100nM）で 80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオシド間連結を示す。

【表 4 5】

表 45. マウス ACVR1B のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	配列 番号	アンチセンス配列 (5'から 3')	配列 番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
マウス ACVR1B	mmACVR1B-1	mCmAfCmAfCmUfG mCfUmGfCmUfAmUf AmUfUmGfAmCfU	264	fAfGmUfCmAfAmUfAm UfAmGfCmAfGmCfAmG fUmGfUmG*fU*mG	362	247	#
	mmACVR1B-2	mGmGfUmCfUmCfC mAfUmCfUmUfUmAf AmCfCmUfGmGfA	265	fUfCmCfAmGfGmUfUm AfAmAfGmAfUmGfGm AfGmAfCmC*fA*mU	363	754	#
	mmACVR1B-3	mAmCfAmAfGmAfG mAfUmUfAmUfCmGf GmCfAmAfGmGfG	268	fCfCmCfUmUfGmCfCm GfAmUfAmAfUmCfUmC fUmUfGmU*fA*mA	366	1140	#

#阻害は、試験した最高濃度（100nM）で 80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオシド間連結を示す。

【0 8 3 6】

例 11: 筋標的化複合体による MLCK1 の標的化

カテプシン切断可能なリンカーを介して DTX-A-002 (R17 217 Fab)、抗トランスフェリン受容体 1 抗体に共有結合的に連結された、MLCK1 の変異体対立遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む筋標的化複合体が生成される。

【0 8 3 7】

要約すると、マレイミドカプロイル-L-バリン-L-シトルリン-p-アミノベンジルアルコール p-ニトロフェニルカーボナート (MC-Val-Cit-PABC-PNP) リンカー分子は、アミドカップリング反応を使用して、NH₂-C₆-MLCK1 ASO にカップリングされた。過剰なリンカーおよび有機溶媒は、ゲル浸透クロマトグラフィーによって除去される。次いで、精製された Val-Cit-リンカー-MLCK1 ASO は、抗トランスフェリン受容体 1 抗体 (DTX-A-002) 上のチオールにカップリングされる。

【0 8 3 8】

次いで、筋標的化複合体を精製するために、抗体カップリング反応の生成物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー (HIC-HPLC) に供される。精製された複合体のデンストメトリーおよび SDS-PAGE 分析は、それぞれ、ASO 対抗体の平均比、および総純度の決定を可能にする。

10

20

30

40

50

【0839】

上記と同じ方法を使用して、Val-Citリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体に共有結合的に連結されたMLCK1 ASOを含む対照複合体が生成される。

【0840】

次いで、MLCK1 ASOに共有結合的に連結されたDTX-A-002を含む精製筋標的化複合体が、MLCK1の細胞内在化および阻害について試験される。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有する疾患関連筋細胞が、ビヒクル対照(生理食塩水)、筋標的化複合体(100nM)または対照複合体(100nM)の存在下で72時間インキュベートされる。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、MLCK1の発現レベルについてアッセイされる。

10

【0841】

例12:筋標的化複合体によるACVR1の標的化

カテプシン切断可能なリンカーを介してDTX-A-002(R17 217 Fab)、抗トランスフェリン受容体1抗体に共有結合的に連結された、ACVR1(ACVR1 ASO)の変異体対立遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む筋標的化複合体が生成される。

【0842】

要約すると、マレイミドカプロイル-L-バリン-L-シトルリン-p-アミノベンジルアルコールp-ニトロフェニルカーボナート(MC-Val-Cit-PABC-PNP)リンカー分子は、アミドカップリング反応を使用して、NH₂-C₆-ACVR1 ASOにカップリングされた。過剰なリンカーおよび有機溶媒は、ゲル浸透クロマトグラフィーによって除去される。次いで、精製されたVal-Cit-リンカー-ACVR1 ASOは、抗トランスフェリン受容体1抗体(DTX-A-002)上のチオールにカップリングされる。

20

【0843】

次いで、筋標的化複合体を精製するために、抗体カップリング反応の生成物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC-HPLC)に供される。精製された複合体のデンストメトリーおよびSDS-PAGE分析は、それぞれ、ASO対抗体の平均比、および総純度の決定を可能にする。

【0844】

上記と同じ方法を使用して、Val-Citリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体に共有結合的に連結されたACVR1 ASOを含む対照複合体が生成される。

30

【0845】

次いで、ACVR1 ASOに共有結合的に連結されたDTX-A-002を含む精製筋標的化複合体が、ACVR1の細胞内在化および阻害について試験される。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有する疾患関連筋細胞が、ビヒクル対照(生理食塩水)、筋標的化複合体(100nM)または対照複合体(100nM)の存在下で72時間インキュベートされる。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、ACVR1の発現分析についてアッセイされる。

【0846】

例13:候補オリゴヌクレオチドによるACVR1発現のノックダウン

リードオリゴヌクレオチド候補を同定するために、ACVR1を標的とするために生成されたオリゴヌクレオチド複合体のパネルが、細胞培養時のACVR1発現のノックダウンについてスクリーニングされた。発現ノックダウンが10nMおよび0.5nMでアッセイされた。アッセイされた全ACVR siRNAオリゴヌクレオチドは、異種間特異性(すなわち、配列類似性に基づいてヒト/カニクイザルおよびマウス/ラットACVR1の両方を標的とする)と予測される)を有するように生成され、ヒトACVR1に対して試験された。続いて、さらなる用量反応分析のために、標的発現の最大の減少を呈する候補オリゴヌクレオチドが選択された。図12は、スクリーニングされたオリゴヌクレオチドに対するACVR1発現ノックダウンを示す。

40

【0847】

例14:候補オリゴヌクレオチドによるACVR1の阻害

50

ヒトACVR1を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM～10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC₅₀値およびIC₈₀値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図13は、ACVR1の阻害に関する用量応答曲線を示し、表46は、対応するIC₅₀値およびIC₈₀値を示す。

【表 4 6】

表 46. ヒト ACVR1 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト ACVR1	hsACVR1-1*	mAmGfCmAfAmAfGmAfUmUfUmCfAmGfUmAfGmAfAmUfU	473	fAfAmUfUmCfUmAfCmUfGmAfAmAfUmCfUmUfUmGfCmU*fU*mC	497	95	484
	hsACVR1-3*	mAmAfGmCfAmAfAmGfAmUfUmUfCmAfGmUfAmGfAmAfU	472	fAfUmUfCmUfAmCfUmGfAmAfAmUfCmUfUmUfGmCfUmU*fC*mU	496	123	694
	hsACVR1-4*	mGmAfAmGfCmAfAmAfGmAfUmUfUmCfAmGfUmAfGmAfA	471	fUfUmCfUmAfCmUfGmAfAmAfUmCfUmUfUmGfCmUfUmC*fU*mA	495	57	295
	hsACVR1-6*	mCmUfUmUfGmCfAmAfAmUfUmAfUmUfUmAfUmUfAmCfU	465	fAfGmUfAmAfUmAfAmAfUmAfAmUfUmUfGmCfAmAfAmG*fU*mU	489	19	99
	hsACVR1-8*	mCmAfUmUfUmUfCmUfUmUfUmAfUmUfAmUfCmAfGmUfU	466	fAfAmCfUmGfAmUfAmAfUmAfAmAfAmGfAmAfAmAfUmG*fU*mC	490	46	178

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオチド間連結を示す。

【 0 8 4 8 】

例 15: 筋標的化複合体によるFBX032の標的化

カテプシン切断可能なリンカーを介してDTX-A-002(R17 217(Fab))、抗トランスフェリン受容体1抗体に共有結合的に連結された、FBX032(FBX032 ASO)の対立遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む筋標的化複合体が生成される。

【 0 8 4 9 】

要約すると、マレイミドカプロイル-L-バリン-L-シトルリン-p-アミノベンジルアルコールp-ニトロフェニルカーボナート(MC-Val-Cit-PABC-PNP)リンカー分子は、アミドカップリング反応を使用して、NH₂-C₆-FBX032 ASOにカップリングされた。過剰なリンカーおよび有機溶媒は、ゲル浸透クロマトグラフィーによって除去される。次いで、精製されたVal-Cit-リンカー-FBX032 ASOは、抗トランスフェリン受容体1抗体(DTX-A-002)上のチオールにカップリングされる。

【 0 8 5 0 】

次いで、筋標的化複合体を精製するために、抗体カップリング反応の生成物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC-HPLC)に供される。精製された複合体のデンストメトリーおよびSDS-PAGE分析は、それぞれ、ASO対抗体の平均比、および総純度の決定を可能にする。

【 0 8 5 1 】

上記と同じ方法を使用して、Val-Citリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体に共有結合的に連結されたFBXO32 ASOを含む対照複合体が生成される。次いで、FBXO32 ASOに共有結合的に連結されたDTX-A-002を含む精製筋標的化複合体が、FBXO32の細胞内在化および阻害について試験される。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有する疾患関連筋細胞が、ビヒクル対照(生理食塩水)、筋標的化複合体(100nM)または対照複合体(100nM)の存在下で72時間インキュベートされる。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、FBXO32の発現レベルについてアッセイされる。

【0852】

例16:筋標的化複合体によるTRIM63の標的化

カテプシン切断可能なリンカーを介してDTX-A-002(R17 217(Fab))、抗トランスフェリン受容体1抗体に共有結合的に連結された、TRIM63(TRIM63 ASO)の対立遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む筋標的化複合体が生成される。

【0853】

要約すると、マレイミドカプロイル-L-バリン-L-シトルリン-p-アミノベンジルアルコールp-ニトロフェニルカーボナート(MC-Val-Cit-PABC-PNP)リンカー分子は、アミドカップリング反応を使用して、NH₂-C₆-TRIM63 ASOにカップリングされた。過剰なリンカーおよび有機溶媒は、ゲル浸透クロマトグラフィーによって除去される。次いで、精製されたVal-Cit-リンカー-TRIM63 ASOは、抗トランスフェリン受容体1抗体(DTX-A-002)上のチオールにカップリングされる。

【0854】

次いで、筋標的化複合体を精製するために、抗体カップリング反応の生成物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC-HPLC)に供される。精製された複合体のデンストメトリーおよびSDS-PAGE分析は、それぞれ、ASO対抗体の平均比、および総純度の決定を可能にする。

【0855】

上記と同じ方法を使用して、Val-Citリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体に共有結合的に連結されたTRIM63 ASOを含む対照複合体が生成される。

【0856】

次いで、TRIM63 ASOに共有結合的に連結されたDTX-A-002を含む精製筋標的化複合体が、TRIM63の細胞内在化および阻害について試験される。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有する疾患関連筋細胞が、ビヒクル対照(生理食塩水)、筋標的化複合体(100nM)または対照複合体(100nM)の存在下で72時間インキュベートされる。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、TRIM63の発現レベルについてアッセイされる。

【0857】

例17.ヒトおよびマウスFBXO32を阻害するための候補オリゴヌクレオチドの同定

ヒト、カニクイザル霊長類およびマウスFBXO32を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを同定するために、siRNA分子が二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。候補siRNA分子が0.1nMの濃度および10nMの濃度で評価された。さらなる評価のための候補siRNA分子を同定するために、遺伝子阻害結果が使用された。図14は、0.1nMまたは10nMのいずれかの濃度の候補siRNA分子による処理後に残存する標的遺伝子発現の割合を示す。

【0858】

例18.ヒトおよびマウスTRIM63を阻害するための候補オリゴヌクレオチドの同定

ヒト、カニクイザル霊長類およびマウスTRIM63を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを同定するために、siRNA分子が二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。候補siRNA分子が0.1nMの濃度および10nMの濃度で評価された。さらなる評価のための候補siRNA分子を同定するために、遺伝子阻害結果が使用された。図15は、0.1nMまたは10nMのいずれかの濃度の候補siRNA分子による処理後に残存する標的遺伝子発現の割合を示す。

10

20

30

40

50

【 0 8 5 9 】

例 19. FBX032 のオリゴヌクレオチド阻害

ヒトおよびマウスFBX032を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM～10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC₅₀値およびIC₈₀値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図16A(ヒト)および図16B(マウス)は、FBX032の阻害に関する用量応答曲線を示し、表47(ヒト)および表48(マウス)は、対応するIC₅₀値およびIC₈₀値を示す。

【表 4 7】

表 47. ヒト FBX032 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	アンチセンス配列 (5'から 3')	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト FBX032	hsF BX O32- 1	mAmGfCmUfGmGfAmUf UmGfGmAfAmGfAmAfG mAfUmGfU (配列番号 531)	fAfCmAfUmCfUmUfCm UfUmCfCmAfAmUfCmC fAmGfCmU*fG*mC (配列番号 555)	105	1792
	hsF BX O32- 3	mGmCfUmGfGmAfUmUf GmGfAmAfGmAfAmGfA mUfGmUfA (配列番号 533)	fUfAmCfAmUfCmUfUm CfUmUfCmCfAmAfUmC fCmAfGmC*fU*mG (配列番号 557)	68	622

+異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【表 48】

表 48. マウス FBXO32 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	アンチセンス配列 (5'から 3')	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
マウス FBXO32	mmFBX O32-5	mUmUfCmCfAmGf AmAfGmAfUmUfC mAfAmCfUmAfCm GfU (配列番号 550)	fAfCmGfUmAfGmUfU mGfAmAfUmCfUmUfC mUfGmGfAmA*fU*mC (配列番号 574)	69	538

10

+異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0860】

例20. TRIM63のオリゴヌクレオチド阻害

ヒトおよびマウスTRIM63を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM～10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC₅₀値およびIC₈₀値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図17A(ヒト)および図17B(マウス)は、TRIM63の阻害に関する用量応答曲線を示し、表49(ヒト)および表50(マウス)は、対応するIC₅₀値およびIC₈₀値を示す。

20

30

40

50

【表 4 9】

表 49. ヒト TRIM63 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRN A #	センス配列 (5'から 3')	アンチセンス配列 (5'から 3')	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト TRIM63	hsTR IM63 -4	mUmGfAmGfUmUfUm GfUmGfUmUfAmUfAm UfGmUfUmGfU (配 列番号 608)	fAfCmAfAmCfAmUfAm UfAmAfCmAfCmAfAm AfCmUfCmA*fG*mU (配列番号 632)	45	332
	hsTR IM63 -5	mGmUfAmAfAmGfGm AfAmCfUmUfUmUfGm UfAmUfAmAfU (配 列番号 609)	fAfUmUfAmUfAmCfAm AfAmAfGmUfUmCfCm UfUmUfAmC*fA*mA (配列番号 633)	88	686

10

20

+異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである）、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである）、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【表 5 0 - 1】

表 50. マウス TRIM63 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列 (5'から 3')	アンチセンス配列 (5'から 3')	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
	mmTRI M63-1	mUmGfAmAfUmUfU mGfUmGfUmUfAmUf	fAfCmAfAmCfAmUfAm UfAmAfCmAfCmAfAm	24	169

30

40

50

【表 5 0 - 2】

マウス TRIM63		AmUfGmUfUmGfU (配列番号 618)	AfUmUfCmA*fG*mU (配列番号 642)		
	mmTRI M63-2	mAmGfGmAfCmUfG mAfAmUfUmUfGmUf GmUfUmAfUmAfU (配列番号 619)	fAfUmAfUmAfAmCfAm CfAmAfAmUfUmCfAm GfUmCfCmU*fA*mU (配列番号 643)	51	367
	mmTRI M63-6	mAmUfAmGfGmAfC mUfGmAfAmUfUmUf GmUfGmUfUmAfU (配列番号 623)	fAfUmAfAmCfAmCfAm AfAmUfUmCfAmGfUm CfCmUfAmU*fC*mC (配列番号 647)	84	1093

+異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド、ここで、「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結を示す。

【0861】

例21:筋標的化複合体を用いた、心疾患に関連する遺伝子の標的化

カテプシン切断可能なリンカーを介してDTX-A-002(R17 217 Fab)、抗トランスフェリン受容体1抗体に共有結合的に連結された、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)をそれぞれ含む筋標的化複合体が生成される。ガイドRNA(gRNA)オリゴヌクレオチドを含む、KLF15を標的とする筋標的化複合体が生成される。MED13を標的とする筋標的化複合体は、MED13の変異体対立遺伝子を標的とする。siRNAオリゴヌクレオチドを含む、PPP1R3Aを標的とする筋標的化複合体が生成される。

【0862】

要約すると、マレイミドカプロイル-L-バリン-L-シトルリン-p-アミノベンジルアルコールp-ニトロフェニルカーボナート(MC-Val-Cit-PABC-PNP)リンカー分子は、アミドカップリング反応を使用して、NH₂-C₆-MEF2D ASO、NH₂-C₆-KLF15 ASO、NH₂-C₆-MED1 ASO、NH₂-C₆-MED13 ASO、またはNH₂-C₆-PPP1R3A ASOにカップリングされた。過剰なリンカーおよび有機溶媒は、ゲル浸透クロマトグラフィーによって除去される。次いで、精製されたVal-Cit-リンカー-MEF2D ASO、Val-Cit-リンカー-KLF15 ASO、Val-Cit-リンカー-MED1 ASO、Val-Cit-リンカー-MED13 ASO、またはVal-Cit-リンカー-PPP1R3A ASOは、抗トランスフェリン受容体1抗体(DTX-A-002)上のチオールにカップリングされる。

【0863】

次いで、筋標的化複合体を精製するために、抗体カップリング反応の生成物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC-HPLC)に供される。精製された複合体のデンストメトリーおよびSDS-PAGE分析は、それぞれ、ASO対抗体の平均比、および総純度の決定を可能にする。

【0864】

10

20

30

40

50

上記と同じ方法を使用して、Val-Citリンカーを介してIgG2a(Fab)抗体に共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチドを含む対照複合体が生成される。次いで、MEF2D ASOに共有結合的に連結されたDTX-A-002を含む精製筋標的化複合体が、細胞内在化、ならびにMEF2Dの阻害、KLF15発現および/もしくは機能の増強、MED1の増強された発現、MED13の阻害、またはPPP1R3A発現の阻害について試験される。トランスフェリン受容体の比較的高い発現レベルを有する疾患関連筋細胞が、ビヒクル対照(生理食塩水)、筋標的化複合体(100nM)または対照複合体(100nM)の存在下で72時間インキュベートされる。72時間のインキュベーションの後、細胞が単離され、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの発現レベルについてアッセイされる。

【0865】

例22:候補オリゴヌクレオチドによるMEF2D発現のノックダウン

リードオリゴヌクレオチド候補を同定するために、MEF2Dを標的とするために生成されたオリゴヌクレオチド複合体のパネルが、細胞培養時のMEF2D発現のノックダウンについてスクリーニングされた。発現ノックダウンが10nMおよび0.1nMでアッセイされた。アッセイされたMEF2D siRNAオリゴヌクレオチドは、ヒト/カニクイザルまたはマウス/ラットMEF2Dのいずれかに対する異種間特異性(すなわち、配列類似性に基づいてヒト/カニクイザルおよびマウス/ラットMEF2Dの両方を標的すると予測される)または特異性を有するように生成され、必要に応じてヒトまたはマウスMEF2Dに対して試験された。続いて、さらなる用量反応分析のために、標的発現の最大の減少を呈する候補オリゴヌクレオチドが選択された。図18は、スクリーニングされたオリゴヌクレオチドに対するMEF2D発現ノックダウンを示す。

【0866】

例23:候補オリゴヌクレオチドによるKLF15発現のノックダウン

リードオリゴヌクレオチド候補を同定するために、KLF15を標的とするために生成されたオリゴヌクレオチド複合体のパネルが、細胞培養時のKLF15発現のノックダウンについてスクリーニングされた。発現ノックダウンが10nMおよび0.1nMでアッセイされた。アッセイされたKLF15 siRNAオリゴヌクレオチドは、ヒト/カニクイザルまたはマウス/ラットKLF15のいずれかに対する異種間特異性(すなわち、配列類似性に基づいてヒト/カニクイザルおよびマウス/ラットKLF15の両方を標的すると予測される)または特異性を有するように生成され、必要に応じてヒトまたはマウスKLF15に対して試験された。続いて、さらなる用量反応分析のために、標的発現の最大の減少を呈する候補オリゴヌクレオチドが選択された。図19は、スクリーニングされたオリゴヌクレオチドに対するKLF15発現ノックダウンを示す。

【0867】

例24:候補オリゴヌクレオチドによるMED1発現のノックダウン

リードオリゴヌクレオチド候補を同定するために、MED1を標的とするために生成されたオリゴヌクレオチド複合体のパネルが、細胞培養時のMED1発現のノックダウンについてスクリーニングされた。発現ノックダウンが10nMおよび0.5nMでアッセイされた。アッセイされた全MED1 siRNAオリゴヌクレオチドは、異種間特異性(すなわち、配列類似性に基づいてヒト/カニクイザルおよびマウス/ラットMED1の両方を標的すると予測される)を有するように生成され、ヒトMED1に対して試験された。続いて、さらなる用量反応分析のために、標的発現の最大の減少を呈する候補オリゴヌクレオチドが選択された。図20は、スクリーニングされたオリゴヌクレオチドに対するMED1発現ノックダウンを示す。

【0868】

例25:候補オリゴヌクレオチドによるMED13発現のノックダウン

リードオリゴヌクレオチド候補を同定するために、MED13を標的とするために生成されたオリゴヌクレオチド複合体のパネルが、細胞培養時のMED13発現のノックダウンについてスクリーニングされた。発現ノックダウンが10nMおよび0.1nMでアッセイされた。アッセイされた全MED13 siRNAオリゴヌクレオチドは、異種間特異性(すなわち、

配列類似性に基づいてヒト/カニクイザルおよびマウス/ラットMED13の両方を標的とする予測される)を有するように生成され、ヒトMED13に対して試験された。続いて、さらなる用量反応分析のために、標的発現の最大の減少を呈する候補オリゴヌクレオチドが選択された。図21は、スクリーニングされたオリゴヌクレオチドに対するMED13発現ノックダウンを示す。

【0869】

例26:候補オリゴヌクレオチドによるPPP1R3A発現のノックダウン

リードオリゴヌクレオチド候補を同定するために、PPP1R3Aを標的とするために生成されたオリゴヌクレオチド複合体のパネルが、細胞培養時のPPP1R3A発現のノックダウンについてスクリーニングされた。発現ノックダウンが10nMおよび0.5nMでアッセイされた。アッセイされたPPP1R3A siRNAオリゴヌクレオチドは、ヒト/カニクイザルまたはマウス/ラットPPP1R3Aのいずれかに対する異種間特異性(すなわち、配列類似性に基づいてヒト/カニクイザルおよびマウス/ラットPPP1R3Aの両方を標的とする予測される)または特異性を有するように生成され、必要に応じてヒトまたはマウスPPP1R3Aに対して試験された。続いて、さらなる用量反応分析のために、標的発現の最大の減少を呈する候補オリゴヌクレオチドが選択された。図22は、スクリーニングされたオリゴヌクレオチドに対するPPP1R3A発現ノックダウンを示す。

【0870】

例27:候補オリゴヌクレオチドによるMEF2Dの阻害

ヒトおよびマウスMEF2Dを阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNAが二重ルシフェラーゼリポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が100nM~10fMの10濃度の各siRNAにわたって行われ、各用量間の倍率変化は6であった。各オリゴヌクレオチドのIC₅₀値およびIC₈₀値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図23A(ヒト)および図23B(マウス)は、MEF2Dの阻害に関する用量応答曲線を示し、表51(ヒト)および表52(マウス)は、対応するIC₅₀値を示す。

【表51】

表51. ヒト MEF2D のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト MEF2D	hsMEF2D-3*	mUmGfCmCfUmAfC mAfAmCfAmCfAmGf AmUfUmAfCmCfA	694	fUfGmGfUmAfAmUf CmUfGmUfGmUfUm GfUmAfGmGfCmA*f G*mU	718	1016	#
	hsMEF2D-4*	mUmGfAmUfGmAfA mGfAmGfUmUfGmAf CmAfAmUfCmUfC	695	fGfAmGfAmUfUmGf UmCfAmAfCmUfCm UfUmCfAmUfCmA*f G*mG	719	418	#
	hsMEF2D-15	mAmCfAmAfCmAfC mAfGmAfUmUfAmCf CmAfGmUfUmGfA	706	fUfCmAfAmCfUmGfG mUfAmAfUmCfUmGf UmGfUmUfGmU*fA* mG	730	895	#

* 異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド; # 阻害は、試験した最高濃度 (100nM) で80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し(例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである)、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し(例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである)、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオチド間連結を示す

10

20

30

40

50

【表 5 2】

表 52. マウス MEF2D のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
マウス MEF2D	mmME F2D-2	mCmCfAmUfGmCfA mGfUmUfCmAfGmCf AmAfUmCfCmAfA	712	fUfUmGfGmAfUmUf GmCfUmGfAmAfCm UfGmCfAmUfGmG*f A*mG	736	149	#
	mmME F2D-3	mUmUfCmAfGmCfA mAfUmCfCmAfAmGf UmAfGmCfUmCfU	713	fAfGmAfGmCfUmAfC mUfUmGfGmAfUmUf GmCfUmGfAmA*fC* mU	737	472	#
	mmME F2D-4	mUmGfGmCfAmAfC mAfCmCfAmAfGmUf UmUfAmCfUmCfA	714	fUfGmAfGmUfAmAf AmCfUmUfGmGfUm GfUmUfGmCfCmA*f C*mG	738	157	#

阻害は、試験した最高濃度（100nM）で 80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオシド間連結を示す

【0 8 7 1】

例 28: 候補オリゴヌクレオチドによる KLF15 の阻害

ヒトおよびマウス KLF15 を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNA が二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が 100 nM ~ 10 fM の 10 濃度の各 siRNA にわたって行われ、各用量間の倍率変化は 6 であった。各オリゴヌクレオチドの IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図 24 A (ヒト) および 図 24 B (マウス) は、KLF15 の阻害に関する用量応答曲線を示し、表 53 (ヒト) および 表 54 (マウス) は、対応する IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を示す。

【表 5 3】

表 53. ヒト KLF15 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト KLF15	hsKLF 15-6*	mCmGfUmAfUmAfU mUfUmUfCmUfUmUf GmGfUmCfCmUfU	771	fAfAmGfGmAfCmCfA mAfAmGfAmAfAmAf UmAfUmAfCmG*fU* mA	795	30	274
	hsKLF 15-7*	mAmAfUmAfUmAfU mUfUmAfCmUfUmUf GmCfCmAfAmUfA	772	fUfAmUfUmGfGmCf AmAfAmGfUmAfAm AfUmAfUmAfUmU*f U*mU	796	42	#
	hsKLF 15-10	mAmAfGmCfAmAfU mAfAmUfUmUfAmUf UmUfGmCfCmUfC	775	fGfAmGfGmCfAmAf AmUfAmAfAmUfUm AfUmUfGmCfUmU*f A*mA	799	162	#

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド；#阻害は、試験した最高濃度（100nM）で 80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオシド間連結を示す

10

20

30

40

50

【表 5 4】

表 54. マウス KLF15 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
マウス KLF15	mmKL F15-2	mCmGfCmAfUmCfU mAfCmAfUmAfAmAf AmUfAmUfCmUfU	782	fAfAmGfAmUfAmUf UmUfUmAfUmGfUm AfGmAfUmGfCmG*f U*mA	806	254	#
	mmKL F15-5	mUmAfGmAfAmAfU mUfAmGfUmAfCmCf AmAfUmUfGmAfA	785	fUfUmCfAmAfUmUf GmGfUmAfCmUfAm AfUmUfUmCfUmA*f G*mU	809	165	#
	mmKL F15-7	mAmCfAmCfGmUfU mGfAmCfAmUfUmUf GmUfGmUfAmAfA	787	fUfUmUfAmCfAmCfA mAfAmUfGmUfCmAf AmCfGmUfGmU*fU* mA	811	293	#
	mmKL F15-8	mGmAfAmAfUmUfA mGfUmAfCmCfAmAf UmUfGmAfAmCfU	788	fAfGmUfUmCfAmAf UmUfGmGfUmAfCm UfAmAfUmUfUmC*f U*mA	812	157	#

#阻害は、試験した最高濃度（100nM）で 80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し（例えば、mU は 2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し（例えば、fU は 2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオチド間連結を示す

【0 8 7 2】

例 29: 候補オリゴヌクレオチドによる MED1 の阻害

ヒト MED1 を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNA が二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が 100 nM ~ 10 fM の 10 濃度の各 siRNA にわたって行われ、各用量間の倍率変化は 6 であった。各オリゴヌクレオチドの IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図 25 は、MED1 の阻害に関する用量応答曲線を示し、表 55 は、対応する IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を示す。

10

20

30

40

50

【表 5 5】

表 55. ヒト MED1 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト MED1	hsMED 1-1*	mAmUfGmUfUmAfC mAfUmCfAmCfGmUf CmAfGmAfUmAfU	840	fAfUmAfUmCfUmGf AmCfGmUfGmAfUm GfUmAfAmCfAmU*f U*mC	864	338	3965
	hsMED 1-2*	mAmCfAmUfCmAfC mGfUmCfAmGfAmUf AmUfGmUfUmCfU	841	fAfGmAfAmCfAmUf AmUfCmUfGmAfCm GfUmGfAmUfGmU*f A*mA	865	117	1001
	hsMED 1-3*	mGmUfCmAfGmAfU mAfUmGfUmUfCmUf AmUfGmUfGmGfA	842	fUfCmCfAmCfAmUfA mGfAmAfCmAfUmAf UmCfUmGfAmC*fG* mU	866	187	1291

10

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ヌクレオシド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオシド間連結を示す

20

【0 8 7 3】

例 30: 候補オリゴヌクレオチドによる MED13 の阻害

ヒト MED13 を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNA が二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が 100 nM ~ 10 fM の 10 濃度の各 siRNA にわたって行われ、各用量間の倍率変化は 6 であった。各オリゴヌクレオチドの IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図 26 は、MED13 の阻害に関する用量応答曲線を示し、表 56 は、対応する IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を示す。

30

40

50

【表 5 6】

表 56. ヒト MED13 のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト MED13	hsMED 13-3*	mGmGfGmUfCmAfA mAfUmUfUmUfCmUf UmCfAmGfUmAfU	916	fAfUmAfCmUfGmAf AmGfAmAfAmAfUm UfUmGfAmCfCmC*f A*mC	940	148	#
	hsMED 13-4*	mGmAfAmCfAmAfG mAfAmCfCmUfAmAf AmAfUmUfGmAfU	917	fAfUmCfAmAfUmUf UmUfAmGfGmUfUm CfUmUfGmUfUmC*f U*mG	941	149	3245
	hsMED 13-11*	mUmCfAmAfCmAfA mAfUmAfUmUfGmUf UmUfUmGfAmCfU	924	fAfGmUfCmAfAmAf AmCfAmAfUmAfUm UfUmGfUmUfGmA*f A*mG	948	53	318
	hsMED 13-15*	mGmUfCmUfAmAfA mAfUmAfUmAfUmGf UmAfAmUfCmGfU	928	fAfCmGfAmUfUmAfC mAfUmAfUmAfUmUf UmUfAmGfAmC*fC* mA	952	77	1110

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド；#阻害は、試験した最高濃度（100nM）で80%以上に達しなかった

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジエステルヌクレオチド間連結を示す

【0 8 7 4】

例 31: 候補オリゴヌクレオチドによる PPP1R3A の阻害

ヒトおよびマウス PPP1R3A を阻害するための候補オリゴヌクレオチドを評価するために、siRNA が二重ルシフェラーゼレポーターアッセイでスクリーニングされた。用量応答分析が 100 nM ~ 10 fM の 10 濃度の各 siRNA にわたって行われ、各用量間の倍率変化は 6 であった。各オリゴヌクレオチドの IC₅₀ 値および IC₈₀ 値を計算するために、遺伝子阻害結果が使用された。図 27A (ヒト) および 図 27B (マウス) は、PPP1R3A の阻害に関する用量応答曲線を示し、表 57 (ヒト) および 表 58 (マウス) は、対応する IC₅₀ および IC₈₀ を示す。

10

20

30

40

50

【表 5 7】

表 57. ヒト PPP1R3A のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
ヒト PPP1R3A	hsPPP1R3A-8*	mAmCfAmCfAmUfU mAfUmGfAmCfAmUf UmUfUmAfGmCfA	995	fUfGmCfUmAfAmAf AmUfGmUfCmAfUm AfAmUfGmUfGmU*f C*mU	1019	7	29
	hsPPP1R3A-15	mAmUfCmAfAmGfG mGfUmAfUmUfAmUf UmCfGmAfGmUfU	1002	fAfAmCfUmCfGmAfA mUfAmAfUmAfCmCf CmUfUmGfAmU*fA* mC	1026	4	14
	hsPPP1R3A-16	mUmGfCmUfGmAfU mUfCmCfUmUfUmGf GmAfUmUfCmAfA	1003	fUfUmGfAmAfUmCfC mAfAmAfGmGfAmAf UmCfAmGfCmA*fA* mA	1027	34	170

*異種間活性を有するように設計されたオリゴヌクレオチド

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオチド間連結を示す

【表 5 8】

表 58. マウス PPP1R3A のオリゴヌクレオチド阻害

標的	siRNA #	センス配列	配列番号	アンチセンス配列	配列番号	IC ₅₀ (pM)	IC ₈₀ (pM)
マウス PPP1R3A	mmPP P1R3A-3	mGmAfCmCfAmUfU mAfUmGfCmUfUmGf GmAfUmCfAmUfU	1007	fAfAmUfGmAfUmCfC mAfAmGfCmAfUmAf AmUfGmGfUmC*fC* mU	1031	17	97
	mmPP P1R3A-4	mAmAfGmGfAmGfA mAfAmCfAmUfGmGf AmAfUmUfGmGfA	1008	fUfCmCfAmAfUmUfC mCfAmUfGmUfUmUf CmUfCmCfUmU*fG* mU	1032	8	36

「mN」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを表し（例えば、mUは2'-O-メチル修飾ウリジンである）、
「fN」は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表し（例えば、fUは2'-フルオロ修飾ウリジンである）、
「*」は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表し、ヌクレオチド間の「*」の欠如は、ホスホジ
エステルヌクレオチド間連結を示す

【0875】

例32. ヒト TfR1 を発現するマウスにおける DMPK 標的化オリゴヌクレオチドにコンジュ
ゲートされた抗 TfR1 Fab を含有するコンジュゲートの in vivo 活性

ヒト TfR1 を発現するマウスモデルを対象に、DMPK 標的化オリゴヌクレオチド (AS0300) にコンジュゲートされた抗 TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3 を含有するコンジュゲートが試験された。抗 TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3 が、式 (I) の構造を有する切断可能なリンカーを介して DMPK 標的化オリゴヌクレオチドにコンジュゲートされた。コンジュゲートが、0 日目および 7 日目に 10 mg/kg オリゴヌクレオチドに相当する用量でマウスに投与された。マウスは 14 日目に殺処分され、様々な筋組織が回収され、組織内の dmpk mRNA レベルおよびオリゴヌクレオチド濃度について分析された。コンジュゲートは、前脛骨筋ではマウス野生型 dmpk を 79% 減少させ (図 28A)、腓腹筋では 76% 減少させ (図 28B)、心臓では 70% 減少させ (図 28C)、横隔膜では 88% 減少させた (図 28D)。前脛骨筋、腓腹筋、心臓および横隔膜におけるオリゴヌクレオチド分布が図 28E~図 28H に示されている。

10

20

30

40

50

【0876】

これらのデータは、抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3が、in vivoマウスモデルにおいて筋肉特異的組織へのコンジュゲートの細胞内在化を可能にし、それによって、DMPK標的化オリゴヌクレオチドがDMPKの発現を減少させることを可能にしたことを示す。同様に、抗TfR1抗体(例えば、抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3)は、MSTN、ACVR1B、INHBA、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aを標的とするオリゴヌクレオチドにコンジュゲートされた抗TfR1抗体を含有するコンジュゲートの細胞内在化を可能にして、MSTN、ACVR1B、INHBA、MLCK1、ACVR1、FBXO32、TRIM63、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの発現をそれぞれ減少させることができる。

10

追加の態様

A1.ミオスタチン(MSTN)、インヒピンベータA(INHBA)および/またはアクチビン受容体1B型(ACVR1B)の発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む複合体であって、抗体が以下を含む、複合体:

- (i) 配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (ii) 配列番号71と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (iii) 配列番号72と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (iv) 配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (v) 配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (vi) 配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (vii) 配列番号69と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (viii) 配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号78と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
- (ix) 配列番号79と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または
- (x) 配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

20

30

A2.抗体が、以下を含む、態様A1の複合体:

- (i) 配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (ii) 配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iii) 配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iv) 配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (v) 配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (vi) 配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;

40

50

VL;

(vii)配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(viii)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;

(ix)配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または

(x)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

A3.抗体が、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される、態様A1または態様A2の複合体。

A4.抗体が完全長IgGであり、任意に、完全長IgGが、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む、態様A3の複合体。

A5.抗体が、以下を含む、態様A4の複合体:

(i)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii)配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii)配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv)配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v)配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii)配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii)配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix)配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x)配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

A6.抗体がFab断片である、態様A3の複合体。

A7.抗体が、以下を含む、態様A6の複合体:

(i)配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii)配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii)配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv)配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v)配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi)配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii)配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

10

20

30

40

50

(viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

A8.抗体が、以下を含む、態様A6または態様A7の複合体:

(i) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

A9.トランスフェリン受容体に対する抗体の結合の平衡解離定数(K_D)が、 10^{-11} M ~ 10^{-6} Mの範囲内である、態様A1~A8のいずれか1つの複合体。

A10.抗体が、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体が、トランスフェリン受容体に対するトランスフェリンの結合を阻害しない、態様A1~A9のいずれか1つの複合体。

A11.抗体が、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類トランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である、態様A1~A10のいずれか1つの複合体。

A12.複合体が、筋細胞への分子ペイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される、態様A1~A11のいずれか1つの複合体。

A13.分子ペイロードが、MSTN標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、MSTN標的配列が、配列番号146~148に記載のMSTN mRNA配列、または配列番号149~196のいずれか1つに記載のMSTN標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様A1~A12のいずれか1つの複合体。

A14.アンチセンス鎖が、配列番号197~220のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号197~220のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様A13の複合体。

A15.分子ペイロードが、INHBA標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、INHBA標的配列が、配列番号269もしくは配列番号270に記載のINHBA mRNA配列、または配列番号271~318のいずれか1つに記載のINHBA標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長

10

20

30

40

50

であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオシド長である、態様A1～A12のいずれか1つの複合体。

A16. アンチセンス鎖が、配列番号319～342のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号319～342のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様A15の複合体。

A17. 分子ペイロードが、ACVR1B標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、ACVR1B標的配列が、配列番号367～370のいずれか1つに記載のACVR1B mRNA配列、または配列番号221～268のいずれか1つに記載のACVR1B標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオシド長である、態様A1～A12のいずれか1つの複合体。

10

A18. アンチセンス鎖が、配列番号343～366のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号343～366のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様A17の複合体。

A19. オリゴヌクレオチドが、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む、態様A13～A18のいずれか1つの複合体。

A20. オリゴヌクレオチドが、1以上の修飾ヌクレオシドを含み、任意に、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオシドが修飾ヌクレオシドである、態様A13～A19のいずれか1つの複合体。

20

A21. 1以上の修飾ヌクレオシドが2'修飾ヌクレオチドであり、任意に、1以上の2'修飾ヌクレオシドが、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択され、任意に、2'修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である、態様A20の複合体。

A22. オリゴヌクレオチドが、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含み、任意に、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結が、RNAiオリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖上に存在し、さらに任意に、センス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結である、態様A13～A21のいずれか1つの複合体。

30

A23. オリゴヌクレオチドが、表10に列挙されるsiRNAである、態様A13、A14、およびA19～A22のいずれか1つの複合体。

A24. オリゴヌクレオチドが、表13に列挙されるsiRNAである、態様A15、A16、およびA19～A22のいずれか1つの複合体。

A25. オリゴヌクレオチドが、表16に列挙されるsiRNAである、態様A17～A22のいずれか1つの複合体。

40

A26. 抗体が、

(i) 切断可能なリンカー、任意にここで、切断可能なリンカーがバリン-シトルリン配列を含むもの;または

(ii) 切断不可能なリンカー、任意にここで、切断不可能なリンカーがアルカンリンカーであるもの、を介して、分子ペイロードに共有結合的に連結されている、態様A1～A25のいずれか1つの複合体。

A27. 筋細胞内のMSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bの発現を減少させる方法であって、筋細胞への分子ペイロードの内在化を促進するために、筋細胞を態様A1～A26のいずれか1つの複合体の有効量と接触させることを含む、方法。

A28. 筋萎縮を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、態様A1～A

50

26のいずれか1つの複合体の有効量を投与することを含み、対象が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bの上昇した発現または活性を有する、方法。

A29.複合体が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1BのRNAレベルを低下させる、態様A27または態様A28の方法。

A30.複合体が、MSTN、INHBAおよび/またはACVR1Bのタンパク質レベルを低下させる、態様A27～A29のいずれか1つの方法。

B1.ミオシン軽鎖キナーゼ1(MLCK1)の発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む複合体であって、抗体が以下を含む、複合体:

(i)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ii)配列番号71と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iii)配列番号72と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iv)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(v)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(vi)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(vii)配列番号69と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(viii)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号78と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ix)配列番号79と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または

(x)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

B2.抗体が、以下を含む、態様B1の複合体:

(i)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;

(ii)配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(iii)配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(iv)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;

(v)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;

(vi)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;

(vii)配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;

(viii)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;

(ix) 配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または

(x) 配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

B3.抗体が、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される、態様B1または態様B2の複合体。

B4.抗体が完全長IgGであり、任意に、完全長IgGが、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む、態様B3の複合体。

B5.抗体が、以下を含む、態様B4の複合体:

(i) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

B6.抗体がFab断片である、態様B3の複合体。

B7.抗体が、以下を含む、態様B6の複合体:

(i) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配

10

20

30

40

50

列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

B8.抗体が、以下を含む、態様B6または態様B7の複合体:

(i)配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii)配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii)配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv)配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v)配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi)配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii)配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii)配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix)配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x)配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

B9.トランスフェリン受容体に対する抗体の結合の平衡解離定数(K_D)が、 $10^{-11}M \sim 10^{-6}M$ の範囲内である、態様B1~B8のいずれか1つの複合体。

B10.抗体が、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体が、トランスフェリン受容体に対するトランスフェリンの結合を阻害しない、態様B1~B9のいずれか1つの複合体。

B11.抗体が、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類トランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である、態様B1~B10のいずれか1つの複合体。

B12.複合体が、筋細胞への分子ペイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される、態様B1~B11のいずれか1つの複合体。

B13.分子ペイロードがオリゴヌクレオチドである、態様B1~B12のいずれか1つの複合体。

B14.分子ペイロードが、MLCK1 mRNAに対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、MLCK1 mRNAが、配列番号152に記載されている、態様B1~B13のいずれか1つの複合体。

B15.アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様B14の複合体。

B16.オリゴヌクレオチドが、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む、態様B14または態様B15の複合体。

B17.オリゴヌクレオチドが、1以上の修飾ヌクレオシドを含み、任意に、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオシドが修飾ヌクレオシドである、態様B14~B16のいずれか1つの複合体。

B18.1以上の修飾ヌクレオシドが2'修飾ヌクレオチドであり、任意に、1以上の2'修飾ヌクレオチドが、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択される、態様B17の複合体。

10

20

30

40

50

B19.2'修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である、態様B18の複合体。

B20.オリゴヌクレオチドが、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む、態様B14~B19のいずれか1つの複合体。

B21.抗体が、

(i)切断可能なリンカー、任意にここで、切断可能なリンカーがバリン-シトルリン配列を含むもの;または

(ii)切断不可能なリンカー、任意にここで、切断不可能なリンカーがアルカンリンカーであるもの、を介して、分子ペイロードに共有結合的に連結されている、態様B1~B20のいずれか1つの複合体。

B22.筋細胞内のMLCK1発現を減少させる方法であって、筋細胞へのオリゴヌクレオチドの内在化を促進するために、筋細胞を態様B1~B21のいずれか1つの複合体の有効量と接触させることを含む、方法。

B23.過敏性腸症候群(IBS)または過敏性腸疾患(IBD)を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、態様B1~B21のいずれか1つの複合体の有効量を投与することを含み、対象が、上昇したレベルのMLCK1タンパク質を有し、任意に、対象がヒトであり、かつ任意に、投与が静脈内である、方法。

B24.複合体が、MLCK1 RNAレベルを低下させる、態様B22または態様B23の方法。

B25.複合体が、MLCK1タンパク質レベルを低下させる、態様B22~B24のいずれか1つの方法。

C1.アクチビンA受容体1型(ACVR1)の発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む複合体であって、抗体が以下を含む、複合体:

(i)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ii)配列番号71と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iii)配列番号72と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iv)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(v)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(vi)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(vii)配列番号69と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(viii)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号78と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ix)配列番号79と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または

(x)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

C2.抗体が、以下を含む、態様C1の複合体:

(i)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;

10

20

30

40

50

- (ii) 配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iii) 配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iv) 配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (v) 配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (vi) 配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (vii) 配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (viii) 配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;
- (ix) 配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または
- (x) 配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

C3. 抗体が、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される、態様C1または態様C2の複合体。

C4. 抗体が完全長IgGであり、任意に、完全長IgGが、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む、態様C3の複合体。

C5. 抗体が、以下を含む、態様C4の複合体:

- (i) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ii) 配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iii) 配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iv) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (v) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vi) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vii) 配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (viii) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ix) 配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または
- (x) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

C6. 抗体がFab断片である、態様C3の複合体。

C7. 抗体が、以下を含む、態様C6の複合体:

- (i) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ii) 配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iii) 配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配

列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

C8.抗体が、以下を含む、態様C6または態様C7の複合体:

(i) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

C9.トランスフェリン受容体に対する抗体の結合の平衡解離定数(K_D)が、 $10^{-11}M \sim 10^{-6}M$ の範囲内である、態様C1~C8のいずれか1つの複合体。

C10.抗体が、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体が、トランスフェリン受容体に対するトランスフェリンの結合を阻害しない、態様C1~C9のいずれか1つの複合体。

C11.抗体が、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類トランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である、態様C1~C10のいずれか1つの複合体。

C12.複合体が、筋細胞への分子ペイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される、態様C1~C11のいずれか1つの複合体。

C13.分子ペイロードが、ACVR1標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、ACVR1標的配列が、配列番号429もしくは配列番号430に記載のACVR1 mRNA配列、または配列番号431~478のいずれか1つに記載のACVR1標的配列である、態様C1~C12のいずれか1つの複合体。

C14.アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少

10

20

30

40

50

なくとも16ヌクレオシド長である、態様C13の複合体。

C15. アンチセンス鎖が、配列番号479~502のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号479~502のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様C13または態様C14の複合体。

C16. オリゴヌクレオチドが、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む、態様C13~C15のいずれか1つの複合体。

C17. オリゴヌクレオチドが、1以上の修飾ヌクレオシドを含み、任意に、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオシドが修飾ヌクレオシドである、態様C13~C16のいずれか1つの複合体。

C18. 1以上の修飾ヌクレオシドが2'修飾ヌクレオチドであり、任意に、1以上の2'修飾ヌクレオチドが、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択され、任意に、2'修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である、態様C17の複合体。

C19. オリゴヌクレオチドが、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む、態様C13~C18のいずれか1つの複合体。

C20. 1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結が、RNAiオリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖上に存在し、さらに任意に、センス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結である、態様C19の複合体。

C21. オリゴヌクレオチドが、表19に列挙されるsiRNAである、態様C13~C20のいずれか1つの複合体。

C22. 抗体が、

(i) 切断可能なリンカー、任意にここで、切断可能なリンカーがバリン-シトルリン配列を含むもの;または

(ii) 切断不可能なリンカー、任意にここで、切断不可能なリンカーがアルカンリンカーであるもの、を介して、分子ペイロードに共有結合的に連結されている、態様C1~C21のいずれか1つの複合体。

C23. 筋細胞内のACVR1発現を減少させる方法であって、筋細胞への分子ペイロードの内在化を促進するために、筋細胞を態様C1~C21のいずれか1つの複合体の有効量と接触させることを含む、方法。

C24. 上昇したレベルのACVR1に関連する疾患を有する対象を処置する方法であって、方法が、態様C1~C21のいずれか1つの複合体の有効量を対象へ投与することを含み、任意に、疾患が筋萎縮であり、さらに任意に、筋萎縮が、サルコペニアまたは悪液質である、方法。

C25. 複合体が、ACVR1 RNAレベルを低下させる、態様C23または態様C24の方法。

C26. 複合体が、ACVR1タンパク質レベルを低下させる、態様C23~C25のいずれか1つの方法。

D1. アトロギン-1(FBXO32)または三分モチーフ含有63(TRIM63)の発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む複合体であって、抗体が以下を含む、複合体:

(i) 配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ii) 配列番号71と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iii) 配列番号72と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);およ

10

20

30

40

50

び/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
(iv)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
(v)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
(vi)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
(vii)配列番号69と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
(viii)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号78と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);
(ix)配列番号79と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または
(x)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

10

D2.抗体が、以下を含む、態様D1の複合体:

20

(i)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
(ii)配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
(iii)配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
(iv)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
(v)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
(vi)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
(vii)配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
(viii)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;
(ix)配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または
(x)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

30

40

D3.抗体が、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される、態様D1または態様D2の複合体。

D4.抗体が完全長IgGであり、任意に、完全長IgGが、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む、態様D3の複合体。

D5.抗体が、以下を含む、態様D4の複合体:

(i)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(ii)配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
(iii)配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配

50

列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

D6.抗体がFab断片である、態様D3の複合体。

D7.抗体が、以下を含む、態様D6の複合体:

(i) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vii) 配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

D8.抗体が、以下を含む、態様D6または態様D7の複合体:

(i) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iii) 配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(iv) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(v) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(vi) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;

10

20

30

40

50

(vii) 配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(viii) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;

(ix) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖;または

(x) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

D9. トランスフェリン受容体に対する抗体の結合の平衡解離定数(K_D)が、 $10^{-11}M \sim 10^{-6}M$ の範囲内である、態様D1~D8のいずれか1つの複合体。

D10. 抗体が、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体が、トランスフェリン受容体に対するトランスフェリンの結合を阻害しない、態様D1~D9のいずれか1つの複合体。

D11. 抗体が、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類トランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である、態様D1~D10のいずれか1つの複合体。

D12. 複合体が、筋細胞への分子ペイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される、態様D1~D11のいずれか1つの複合体。

D13. 分子ペイロードが、FBX032標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、FBX032標的配列が、配列番号505もしくは配列番号506に記載のFBX032 mRNA配列、または配列番号507~554のいずれか1つに記載のFBX032標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様D1~D12のいずれか1つの複合体。

D14. アンチセンス鎖が、配列番号555~578のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号555~578のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様D13の複合体。

D15. 分子ペイロードが、TRIM63標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、TRIM63標的配列が、配列番号579もしくは配列番号580に記載のTRIM63 mRNA配列、または配列番号581~628のいずれか1つに記載のTRIM63標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18~25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様D1~D12のいずれか1つの複合体。

D16. アンチセンス鎖が、配列番号629~652のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号629~652のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様D15の複合体。

D17. オリゴヌクレオチドが、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む、態様D13~D16のいずれか1つの複合体。

D18. オリゴヌクレオチドが、1以上の修飾ヌクレオチドを含み、任意に、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである、態様D13~D17のいずれか1つの複合体。

D19. 1以上の修飾ヌクレオチドが2'修飾ヌクレオチドであり、任意に、1以上の2'修飾ヌクレオチドが、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択され、任意に、2'修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である、態様D18の複合体。

10

20

30

40

50

D20.オリゴヌクレオチドが、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含み、任意に、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結が、RNAiオリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖上に存在し、さらに任意に、センス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結である、態様D13～D19のいずれか1つの複合体。

D21.オリゴヌクレオチドが、表22に列挙されるsiRNAである、態様D13、D14、およびD17～D20のいずれか1つの複合体。

D22.オリゴヌクレオチドが、表25に列挙されるsiRNAである、態様D15～D20のいずれか1つの複合体。

D23.抗体が、

(i)切断可能なリンカー、任意にここで、切断可能なリンカーがバリン-シトルリンジペプチド配列を含むもの;または

(ii)切断不可能なリンカー、任意にここで、切断不可能なリンカーがアルカンリンカーであるもの、を介して、分子ペイロードに共有結合的に連結されている、態様D1～D22のいずれか1つの複合体。

D24.筋細胞内のFBXO32またはTRIM63の発現を減少させる方法であって、筋細胞への分子ペイロードの内在化を促進するために、筋細胞を態様1～23のいずれか1つの複合体の有効量と接触させることを含む、方法。

D25.筋萎縮を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、態様1～23のいずれか1つの複合体の有効量を投与することを含み、対象が、FBXO32またはTRIM63の上昇した発現または活性を有する、方法。

D26.複合体が、FBXO32またはTRIM63のRNAレベルを低下させる、態様D24または態様D25の方法。

D27.複合体が、FBXO32またはTRIM63のタンパク質レベルを低下させる、態様D24～D26のいずれか1つの方法。

E1.MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの発現または活性を調整する分子ペイロードに共有結合的に連結された抗トランスフェリン受容体1抗体を含む複合体であって、抗体が以下を含む、複合体:

(i)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ii)配列番号71と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iii)配列番号72と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(iv)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(v)配列番号73と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号75と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(vi)配列番号76と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号74と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(vii)配列番号69と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号70と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(viii)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号78と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);

(ix)配列番号79と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);および/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL);または

(x)配列番号77と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH);およ

10

20

30

40

50

び/もしくは配列番号80と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)。

E2.抗体が、以下を含む、態様E1の複合体:

- (i)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (ii)配列番号71のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iii)配列番号72のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (iv)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (v)配列番号73のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号75のアミノ酸配列を含むVL;
- (vi)配列番号76のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号74のアミノ酸配列を含むVL;
- (vii)配列番号69のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号70のアミノ酸配列を含むVL;
- (viii)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号78のアミノ酸配列を含むVL;
- (ix)配列番号79のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL;または
- (x)配列番号77のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号80のアミノ酸配列を含むVL。

E3.抗体が、完全長IgG、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、scFvおよびFvからなる群から選択される、態様E1または態様E2の複合体。

E4.抗体が完全長IgGであり、任意に、完全長IgGが、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の重鎖定常領域を含む、態様E3の複合体。

E5.抗体が、以下を含む、態様E4の複合体:

- (i)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ii)配列番号86と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iii)配列番号87と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iv)配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (v)配列番号88と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vi)配列番号91と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vii)配列番号84と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (viii)配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ix)配列番号94と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または
- (x)配列番号92と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

E6.抗体がFab断片である、態様E3の複合体。

E7.抗体が、以下を含む、態様E6の複合体:

- (i) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ii) 配列番号98と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iii) 配列番号99と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iv) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (v) 配列番号100と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号90と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vi) 配列番号101と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号89と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vii) 配列番号97と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号85と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (viii) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号93と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ix) 配列番号103と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖;または
- (x) 配列番号102と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖;および/もしくは配列番号95と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖。

10

20

E8. 抗体が、以下を含む、態様E6または態様E7の複合体:

- (i) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iii) 配列番号99のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (iv) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (v) 配列番号100のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号90のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vi) 配列番号101のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号89のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (vii) 配列番号97のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (viii) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖;
- (ix) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖;または
- (x) 配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖;および配列番号95のアミノ酸配列を含む軽鎖。

30

40

E9. トランスフェリン受容体に対する抗体の結合の平衡解離定数(K_D)が、 $10^{-11}M \sim 10^{-6}M$ の範囲内である、態様E1~E8のいずれか1つの複合体。

E10. 抗体が、トランスフェリン受容体のトランスフェリン結合部位に特異的に結合せず、および/または抗体が、トランスフェリン受容体に対するトランスフェリンの結合を阻害しない、態様E1~E9のいずれか1つの複合体。

E11. 抗体が、ヒト、非ヒト霊長類および齧歯類トランスフェリン受容体のうちの2つ以上の細胞外エピトープと交差反応性である、態様E1~E10のいずれか1つの複合体。

E12. 複合体が、筋細胞への分子パイロードのトランスフェリン受容体媒介内在化を促進するように構成される、態様E1~E11のいずれか1つの複合体。

50

E13.分子ペイロードが、MEF2D標的配列に対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、MEF2D標的配列が、配列番号664もしくは配列番号665に記載のMEF2D mRNA配列、または配列番号668～715のいずれか1つに記載のMEF2D標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様E1～E12のいずれか1つの複合体。

E14.アンチセンス鎖が、配列番号716～223のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、

Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号716～223のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様E13の複合体。

10

E15.分子ペイロードが、KLF15 mRNAに対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、KLF15標的配列が、配列番号740もしくは配列番号741に記載のKLF15 mRNA配列、または配列番号742～789のいずれか1つに記載のKLF15標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様E1～E12のいずれか1つの複合体。

E16.アンチセンス鎖が、配列番号790～813のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、

Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号790～813のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様E15の複合体。

20

E17.分子ペイロードが、MED1 mRNAに対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、MED1標的配列が、配列番号814もしくは配列番号815に記載のMED1 mRNA配列、または配列番号816～863のいずれか1つに記載のMED1標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様E1～E12のいずれか1つの複合体。

E18.アンチセンス鎖が、配列番号864～887のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、

Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号864～887のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様E17の複合体。

30

E19.分子ペイロードが、MED13 mRNAに対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、MED13標的配列が、配列番号888もしくは配列番号889に記載のMED13 mRNA配列、または配列番号890～937のいずれか1つに記載のMED13標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様E1～E12のいずれか1つの複合体。

E20.アンチセンス鎖が、配列番号938～961のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、

Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号938～961のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様E19の複合体。

40

E21.分子ペイロードが、PPP1R3A mRNAに対する相補性領域を含むアンチセンス鎖を含むオリゴヌクレオチドであり、任意に、PPP1R3A標的配列が、配列番号962もしくは配列番号963に記載のPPP1R3A mRNA配列、または配列番号964～1011のいずれか1つに記載のPPP1R3A標的配列であり、さらに任意に、アンチセンス鎖が18～25ヌクレオチド長であり、および/または相補性領域が少なくとも16ヌクレオチド長である、態様E1～E12のいずれか1つの複合体。

50

E22. アンチセンス鎖が、配列番号1012~1035のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列の少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含み、

Uの各々が、任意にかつ独立してTであり、任意に、アンチセンス鎖が、配列番号1012~1035のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、Uの各々が、任意にかつ独立してTである、態様E21の複合体。

E23. オリゴヌクレオチドが、アンチセンス鎖にハイブリダイズして二本鎖siRNAを形成するセンス鎖をさらに含む、態様E13~E22のいずれか1つの複合体。

E24. オリゴヌクレオチドが、1以上の修飾ヌクレオシドを含み、任意に、オリゴヌクレオチド内の各ヌクレオシドが修飾ヌクレオシドである、態様E13~E23のいずれか1つの複合体。

E25. 1以上の修飾ヌクレオシドが2'修飾ヌクレオチドであり、任意に、1以上の2'修飾ヌクレオシドが、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)から選択され、任意に、2'修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル、または2'-フルオロ(2'-F)である、態様E24の複合体。

E26. オリゴヌクレオチドが、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含み、任意に、1以上のホスホロチオアートヌクレオシド間連結が、RNAiオリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖上に存在し、さらに任意に、センス鎖の3'末端にある2つのヌクレオシド間連結が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結である、態様E13~E25のいずれか1つの複合体。

E27. オリゴヌクレオチドが、表28に列挙されるsiRNAである、態様E13、E14、およびE23~E26のいずれか1つの複合体。

E28. オリゴヌクレオチドが、表31に列挙されるsiRNAである、態様E15、E16、およびE23~E26のいずれか1つの複合体。

E29. オリゴヌクレオチドが、表34に列挙されるsiRNAである、態様E17、E18、およびE23~E26のいずれか1つの複合体。

E30. オリゴヌクレオチドが、表37に列挙されるsiRNAである、態様E19、E20、およびE23~E26のいずれか1つの複合体。

E31. オリゴヌクレオチドが、表40に列挙されるsiRNAである、態様E21~E26のいずれか1つの複合体。

E32. 抗体が、

(i) 切断可能なリンカー、任意にここで、切断可能なリンカーがバリン-シトルリン配列を含むもの;または

(ii) 切断不可能なリンカー、任意にここで、切断不可能なリンカーがアルカンリンカーであるもの、を介して、分子ペイロードに共有結合的に連結されている、態様E1~E31のいずれか1つの複合体。

E33. 筋細胞内のMEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの発現を減少させる方法であって、筋細胞への分子ペイロードの内在化を促進するために、筋細胞を態様E1~E32のいずれか1つの複合体の有効量と接触させることを含む、方法。

E34. 心疾患を処置する方法であって、方法が、それを必要とする対象に、態様E1~E32のいずれか1つの複合体の有効量を投与することを含み、対象が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aの上昇した発現または活性を有する、方法。

E35. 複合体が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3AのRNAレベルを低下させる、態様E33または態様E34の方法。

【0877】

E36. 複合体が、MEF2D、KLF15、MED1、MED13またはPPP1R3Aのタンパク質レベルを低下させる、態様E33~E35のいずれか1つの方法。

10

20

30

40

50

均等物および用語

例証的に本明細書において記載された開示は、好適には、本明細書に具体的には開示されないいずれかの要素、限定の非存在下において実施され得る。それゆえに、例を挙げると、本出願の各事例において、用語「含む」、「から本質的になる」、および「からなる」のいずれかは、他の2つの用語のどちらかによって置き換えられ得る。採用された用語および表現は、限定ではなく記載の用語として使用され、そのような用語および表現の使用には、示されるおよび記載される特徴のいずれかの均等物またはそれらの部分を排除する意図はなく、種々の改変が本開示の範囲内で可能であることが認識される。それゆえに、本開示は好ましい態様によって具体的に開示されたが、本明細書において開示される概念の任意の特徴、改変、および変形が当業者によって頼られ得ることと、そのような改変および変形は本開示の範囲内であると考慮されることとは理解されるべきである。

10

【0878】

加えて、本開示の特徴または側面がマーカッシュ群または代替物の他の群分けとして記載されるところでは、当業者は、本開示がそれによってマーカッシュ群または他の群のいずれかの個々の構成員または構成員のサブグループとしてもまた記載されることを認識するであろう。

【0879】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドまたは他の核酸の構造を記載する際には、配列表で提示される配列が参照され得ることを理解されたい。そのような態様において、実際のオリゴヌクレオチドまたは他の核酸は、指定された配列と本質的に同じかまたは類似の相補的な特性を保持しながら、指定された配列と比較して、1以上の代替的なヌクレオチド(例えば、DNAヌクレオチドのRNA対応物、またはRNAヌクレオチドのDNA対応物)および/または1以上の修飾ヌクレオチドおよび/または1以上の修飾ヌクレオチド間連結および/または1以上の他の修飾を有し得る。

20

【0880】

本発明を説明する文脈における(特に以下の請求項の文脈における)用語「a」および「an」および「the」ならびに同様の指示対象の使用は、本明細書に別段の指示がないかまたは文脈と明らかに矛盾しない限り、単数および複数の両方を包含すると解釈されるべきである。用語「備える」、「有する」、「包含する」、および「含有する」は、特に断りのない限り、オープンエンドの用語として解釈されるべきである(すなわち、「包含するが、それらに限定されない」を意味する)。本明細書における値の範囲の記載は、本明細書に別段の指示がない限り、単に、範囲内に収まる各別個の値を個々に参照する簡略な方法として働くことが意図され、各別個の値は、それがあたかも本明細書に個々に記載されているかのように本明細書に組み込まれる。本明細書に別段の指示がないかまたは文脈と明らかに矛盾しない限り、本明細書において記載されるすべての方法は任意の好適な順序で行われ得る。別様の主張がなされない限り、本明細書において提供されるありとあらゆる例または例示的な文言(例えば、「例として」)の使用は、単に本発明をより良く解き明かすことが意図され、本発明の範囲に限定を課さない。本明細書のいかなる文言も、いずれかの請求されない要素を本発明の実施にとって必須であると指し示すものと解釈されるべきではない。

30

40

【0881】

本発明の態様が本明細書において記載されている。それらの態様の変形は、先述の記載を読むことによって当業者には明らかになり得る。

【0882】

本発明者は当業者がそのような変形を適当に採用することを予期し、本発明者は本発明が本明細書において具体的に記載されるようにとは別様に実施されることを意図する。したがって、本発明は、然るべき法律によって許可される本明細書に添付される請求項に記載される主題のすべての改変および均等物を包含する。その上、それらのすべての可能な変形における上に記載された要素のいずれかの組合せは、本明細書に別様に指し示されないかまたは別様に文脈によって明瞭に否定されない限り、本発明によって包摂される。当

50

業者は、本明細書において記載される本発明の特定の態様の多くの均等物を認識するか、または慣例的な実験作業を用いるだけで確めることができるであろう。そのような均等物は次の請求項によって包摂されることを意図される。

【図面】

【図 1】

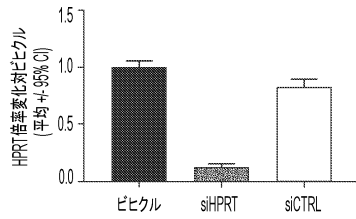


図 1

【図 2】

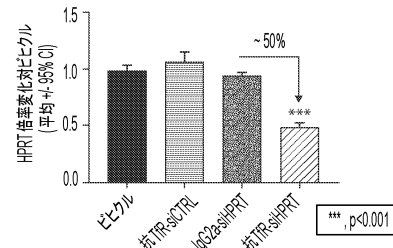


図2

10

【図 3 A - 3 B】

【図 4 A - 4 B】

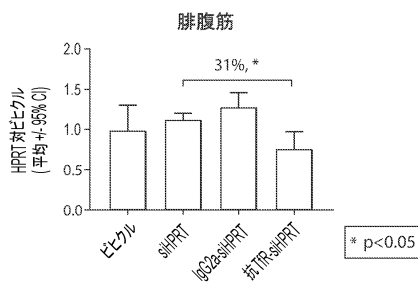


図3A

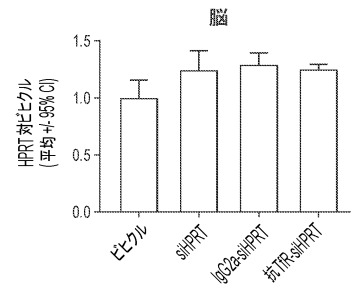


図4A

20

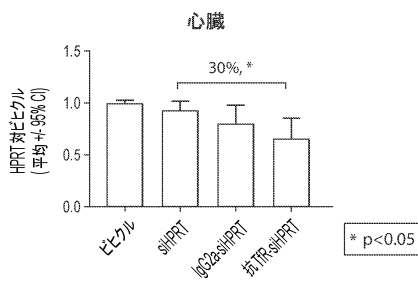


図3B

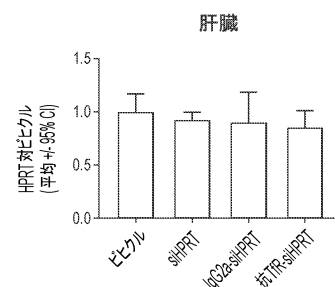


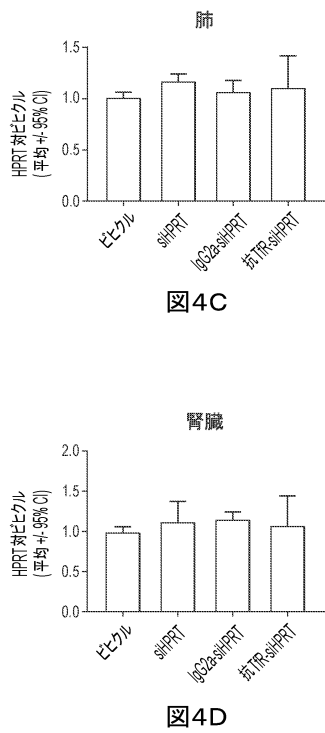
図4B

30

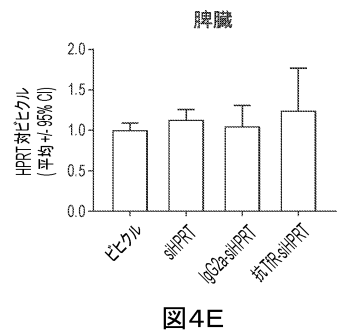
40

50

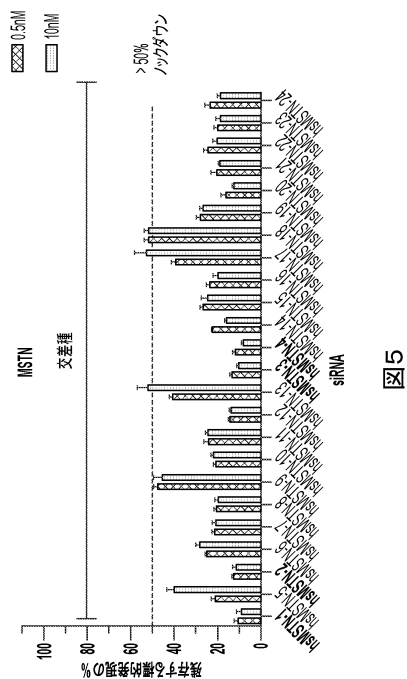
【 図 4 C - 4 D 】



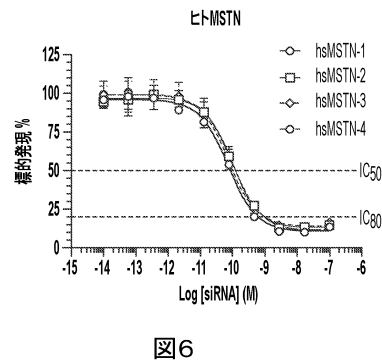
【 図 4 E 】



【 図 5 】



【 図 6 】



10

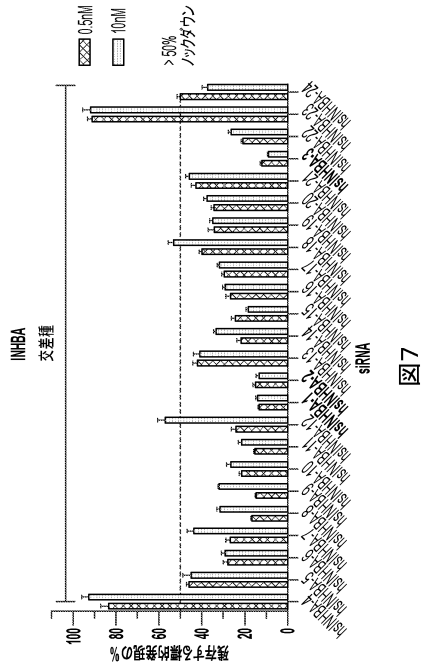
20

30

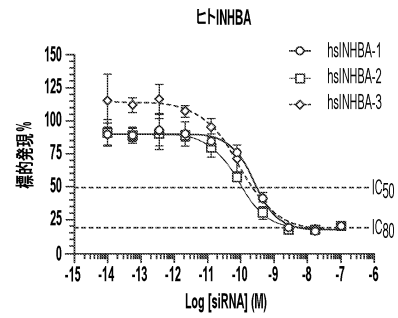
40

50

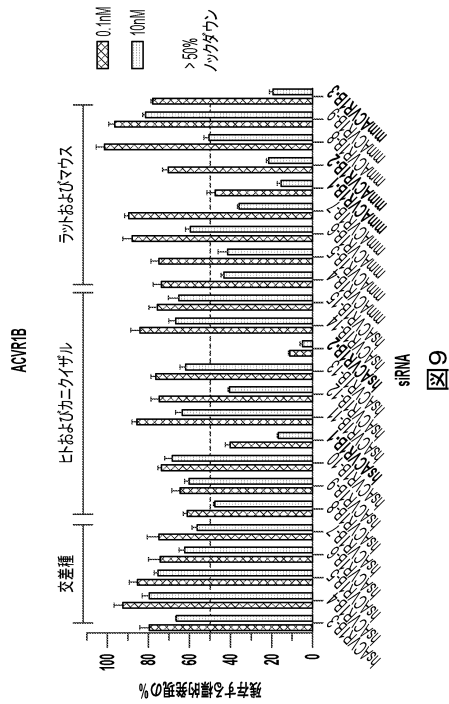
【図 7】



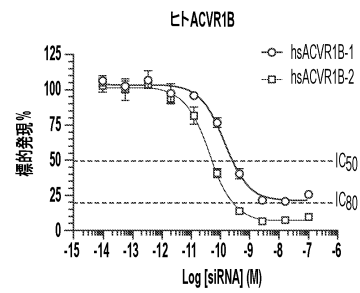
【図 8】



【図 9】



【図 10】



10

20

30

40

50

【図 1 1】

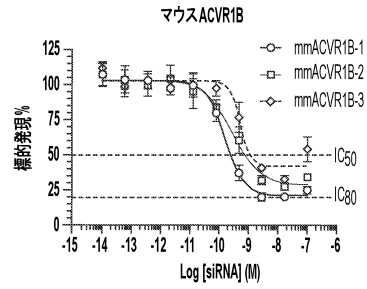


図 1 1

【図 1 2】

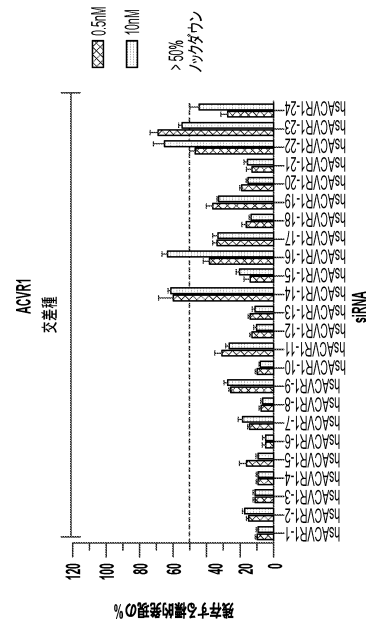


図 1 2

【図 1 3】

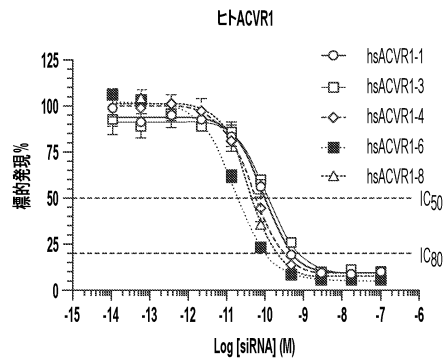


図 1 3

【図 1 4】

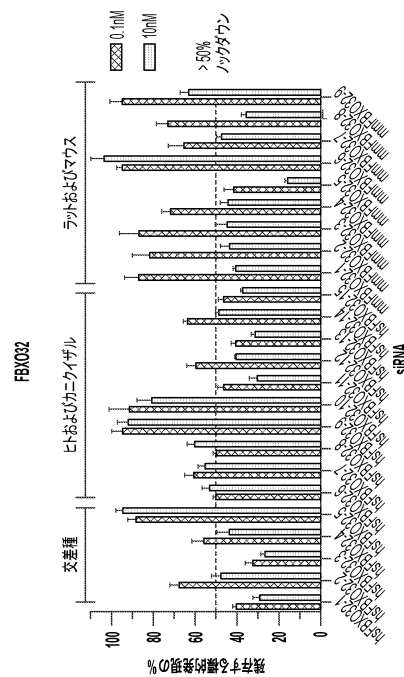


図 1 4

10

20

30

40

50

【図 15】

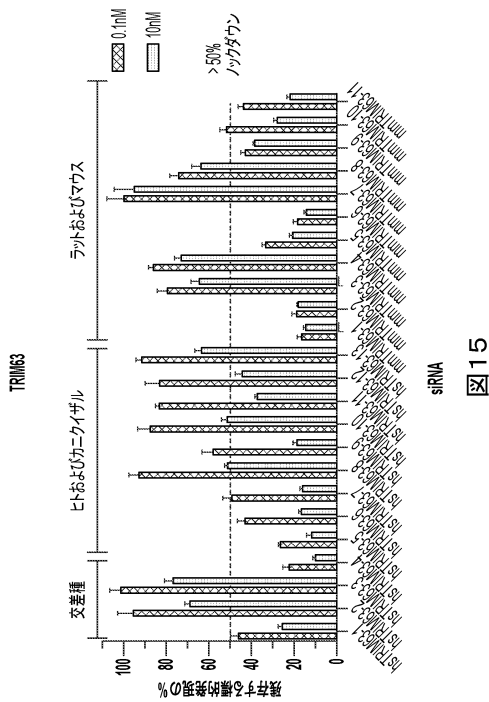


図 15

【図 16 A - 16 B】

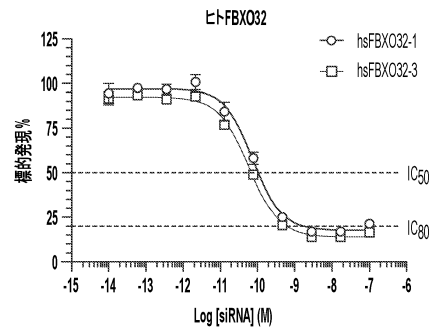


図 16A

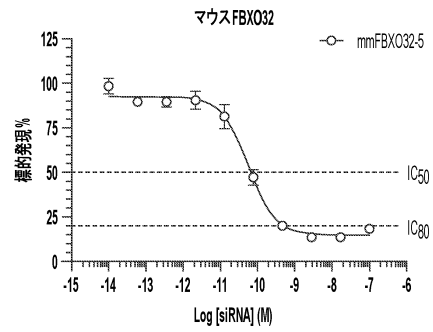


図 16B

【図 17 A - 17 B】

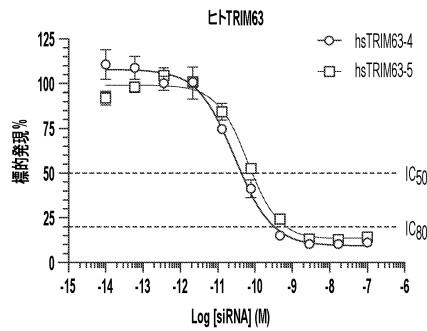


図 17A

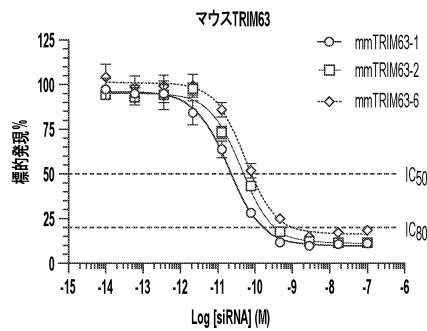


図 17B

【図 18】

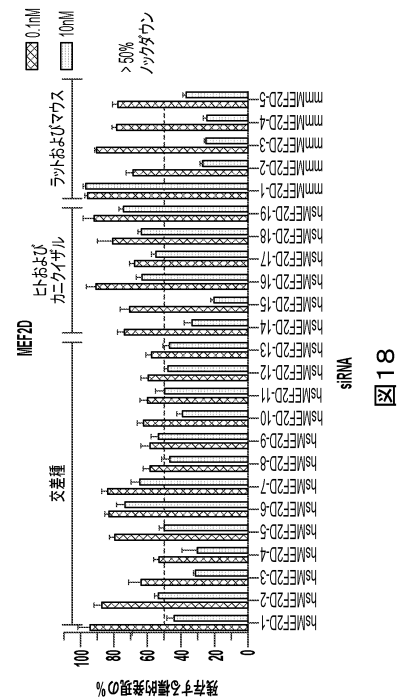


図 18

10

20

30

40

50

【図 19】

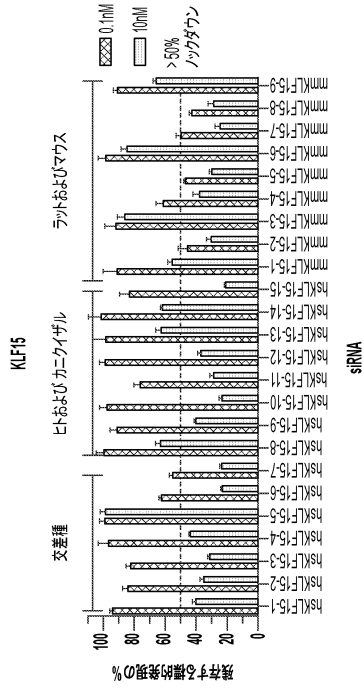


図 19

【図 20】

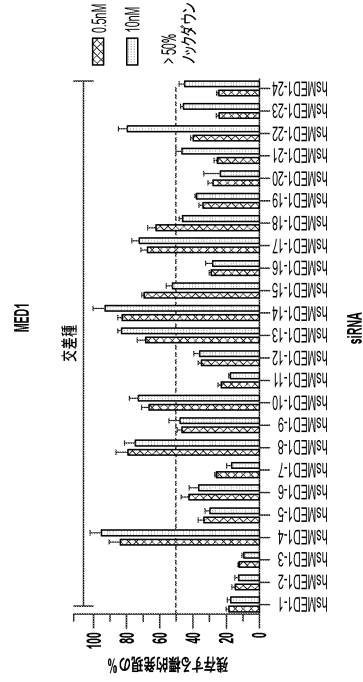


図 20

【図 21】

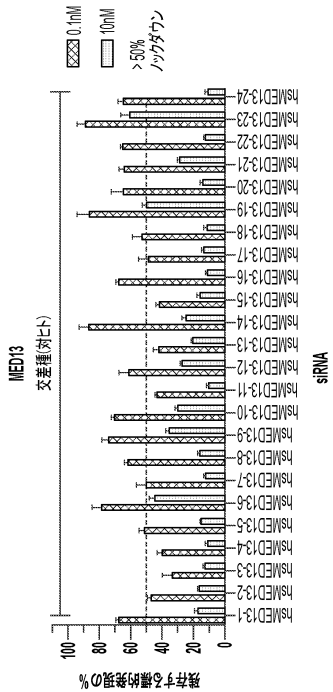


図 21

【図 22】

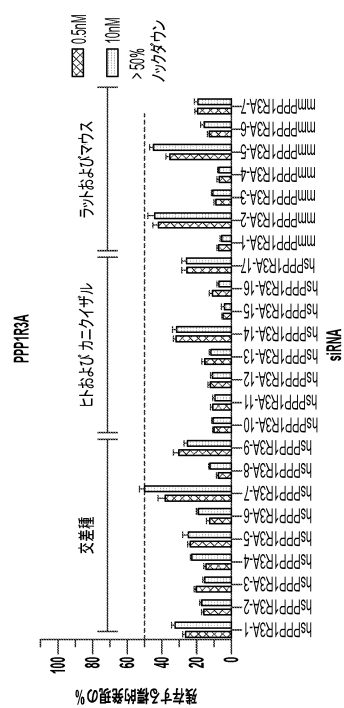


図 22

10

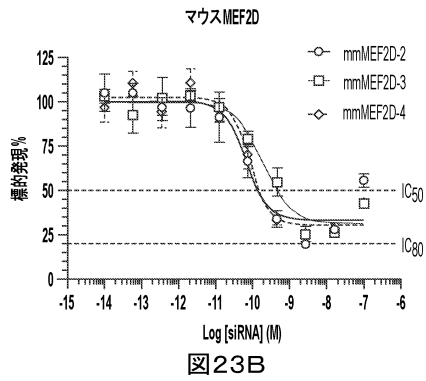
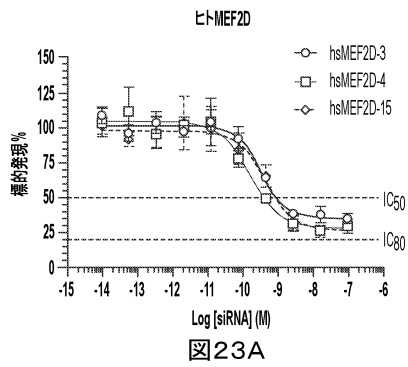
20

30

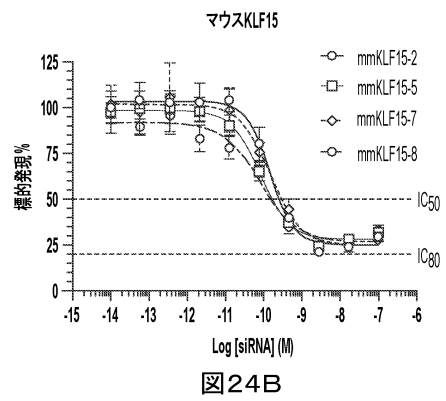
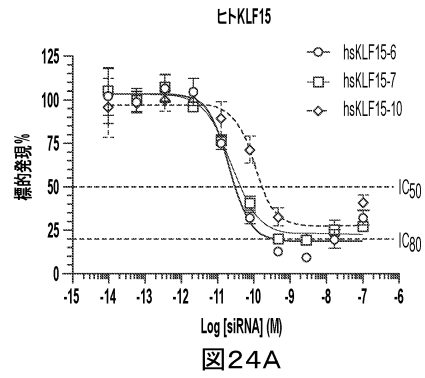
40

50

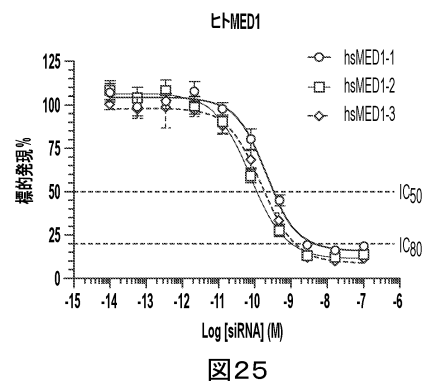
【図 2 3 A - 2 3 B】



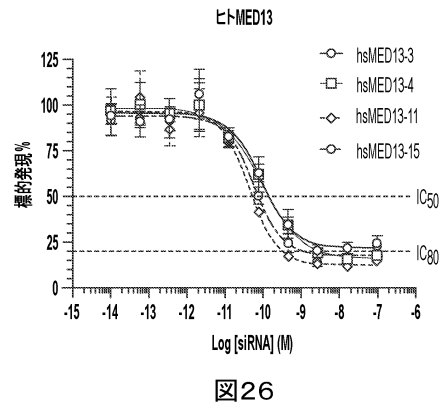
【図 2 4 A - 2 4 B】



【図 2 5】



【図 2 6】



10

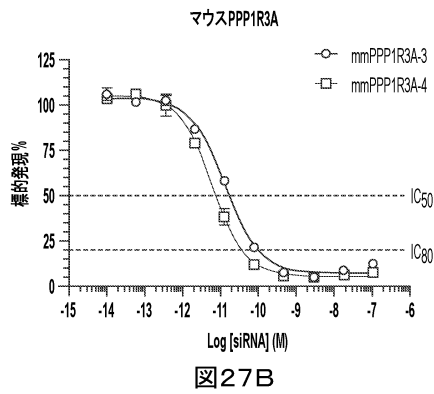
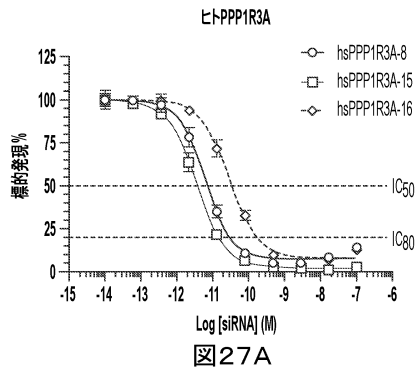
20

30

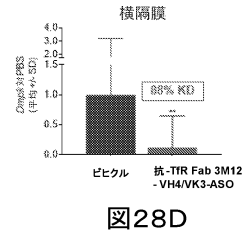
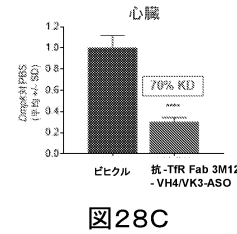
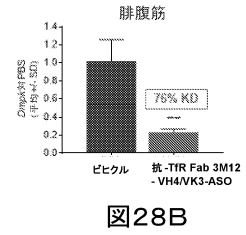
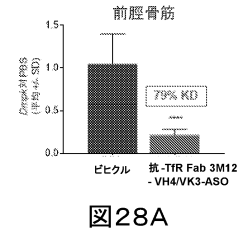
40

50

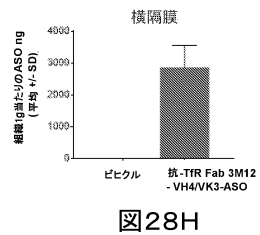
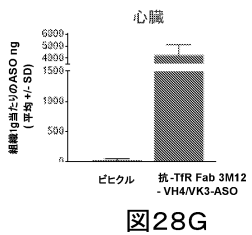
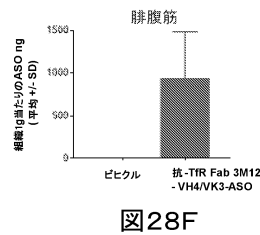
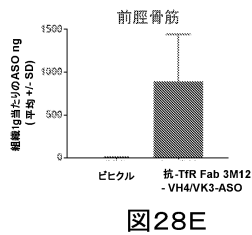
【図 27 A - 27 B】



【図 28 A - 28 D】



【図 28 E - 28 H】



【配列表】

2024525614000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/73362

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC - INV. A61K 39/395; A61K 47/68; C07K 18/28; C12N 15/113; A61P 21/00; C07K 14/435; C07K 16/18 (2022.01)		
ADD.		
CPC - INV. A61K 39/39541; A61K 47/6807; C07K 16/2881; C12N 15/113; A61P 21/00; C07K 14/435; C12N 15/111		
ADD. A61K 2039/505; C07K 2317/21; C07K 2317/22; C07K 2317/24; C07K 2317/52; C07K 2317/54; C07K 2317/55		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011/0191871 A1 (WALSH KENNETH) 04 August 2011; paragraphs [0015], [0087], [0116]	50
A	US 2019/0225690 A1 (CROWN BIOSCIENCE) 25 July 2019; paragraph [0176]	1-5
A	US 2011/0014122 A1 (GOETSCH LILIANE) 20 January 2011; paragraph [0140]	1-5
A	US 2019/0153083 A1 (UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS) 23 May 2019; paragraph [0133]	1-5
A	US 2013/0323789 A1 (KYOWA HAKKO KIRIN CO., LTD) 05 December 2013; paragraph [0635]	1-5
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
21 November 2022 (21.11.2022)		FEB 01 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US22/73362

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US22/73382

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 8-49
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-***Please See Supplemental Page-***

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Groupes I+, Claims 1-7, and 50, SEQ ID NO: 76 (VH), SEQ ID NO: 75 (VL), SEQ ID NO: 91 (heavy chain), SEQ ID NO: 90 (light chain), SEQ ID NO: 173 (oligonucleotide).

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/73362

Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+, Claims 1-7, and 50, SEQ ID NO: 76 (VH), SEQ ID NO: 75 (VL), SEQ ID NO: 91 (heavy chain), SEQ ID NO: 90 (light chain), SEQ ID NO: 173 (oligonucleotide); are directed to complexes comprising an anti-transferrin receptor 1 (TfR1) antibody covalently linked to a molecular payload that modulates the expression or activity of myostatin (MSTN), inhibin beta A (INHBA), activin receptor type-1B (ACVR1B), myosin light chain kinase (MLCK1), activin A receptor type-1 (ACVR1), atroglin-1 (FBXO32), tripartite motif containing 63 (TRIM63), myocyte-specific enhancer factor 2D (MEF2D), Kruppel-like factor 15 (KLF15), Mediator complex subunit 1 (MED1), Mediator complex subunit 13 (MED13), and/or protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A (PPP1R3A).

The complexes and oligonucleotides of Claims 1-5 (each in-part) and 50 (in-part) are believed to encompass the first named invention of Groups I+ and are the claims that will be searched to the extent that they comprise an antibody encompassing SEQ ID NOs: 76, 75, 91, and 90 (first exemplary VH, VL, heavy chain and light chain, respectively), a full-length IgG; and an oligonucleotide comprising SEQ ID NO: 173 (first exemplary oligonucleotide). This first named invention of Group I+ has been selected to encompass the first species of each the genera found in claims 1-5 and 50 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect one or more additional antibody sequences, including a set of variable region sequences, a set of light and heavy chain sequences or/and exemplary oligonucleotide comprising an siRNA, to be searched. Additional polypeptide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected polypeptide(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. Exemplary elections include SEQ ID NOs: 71, 70, 86, and 85 (VH, VL, heavy chain and light chain, respectively), a Fab fragment; or an oligonucleotide comprising SEQ ID NO: 174 (oligonucleotide).

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

No technical features are shared between the antibody and oligonucleotide sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: a complex comprising an anti-transferrin receptor 1 antibody covalently linked to a molecular payload that modulates the expression or activity of myostatin (MSTN), inhibin beta A (INHBA), activin receptor type-1B (ACVR1B), myosin light chain kinase (MLCK1), activin A receptor type-1 (ACVR1), atroglin-1 (FBXO32), tripartite motif containing 63 (TRIM63), myocyte-specific enhancer factor 2D (MEF2D), Kruppel-like factor 15 (KLF15), Mediator complex subunit 1 (MED1), Mediator complex subunit 13 (MED13), and/or protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A (PPP1R3A); and an oligonucleotide comprising an siRNA; these shared technical features are previously disclosed by WO 2020/028831 A1 to DYNE THERAPEUTICS, INC. (hereinafter "Dyne").

Dyne discloses a complex (abstract) comprising an anti-transferrin receptor 1 antibody (a muscle-targeting transferrin receptor antibody; paragraph [00010]) covalently linked to a molecular payload that modulates the expression or activity of activin A receptor type-1 (the molecular payload of a complex can be an oligonucleotide with antisense activity against an ACVR1 allele; paragraph [00011]); and an oligonucleotide comprising an siRNA (oligonucleotides such as siRNA; paragraph [00055]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Dyne reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
A 6 1 K	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	4 H 0 4 5
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 K	47/65	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	9/08	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	A 6 1 K	48/00	
		C 1 2 N	15/113	Z

(32)優先日 令和3年7月9日(2021.7.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 63/220,085

(32)優先日 令和3年7月9日(2021.7.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 63/220,056

(32)優先日 令和3年7月9日(2021.7.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 0 1、フラミンガム、アラン ストリート 9

(72)発明者 カタナニ、モハマド、ティー。

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 デジャルダン、コディ、エー。

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 ブラウン、ダンカン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 7 0 8、バークリー、アーチ ストリート 1 4 9 0

(72)発明者 コテリアンスキー、ヴィクター

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 9、ニュートン、ハムレット ストリート 4

(72)発明者 ウィーデン、ティモシー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 クイン、ブレンダン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 1 8、ボストン、イースト ニュートン ストリート 4 5、ナンバー 3 2 0

(72)発明者 ナジム、ジョン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

F ターム (参考) 4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 CA19 CA25 CA44

4C076 AA11 AA95 BB13 CC09 CC11 CC14 CC16 CC29 CC41 EE41

F ターム (参考)

EE59 FF32 FF34
4C084 AA13 MA16 MA65 MA66 NA13 NA14 ZA36 ZA51 ZA68 ZA94
4C085 AA13 AA14 AA21 EE01 GG02
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA16 MA65 MA66 NA13 NA14
ZA36 ZA51 ZA68 ZA94
4H045 AA10 AA30 BA54 CA40 DA76 EA20