



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0032946
(43) 공개일자 2024년03월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 21/04 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2881 (2013.01)
A61K 47/6807 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2024-7004294
(22) 출원일자(국제) 2022년07월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년02월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/073534
(87) 국제공개번호 WO 2023/283619
국제공개일자 2023년01월12일
(30) 우선권주장
63/220,030 2021년07월09일 미국(US)

(71) 출원인
다인 세라퓨틱스, 인크.
미국 02451 메사추세츠주 월섬 트라펠로 로드 1560
(72) 발명자
데자르맹, 코디, 에이.
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
탕, 킴
미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
(74) 대리인
양영준, 이상남

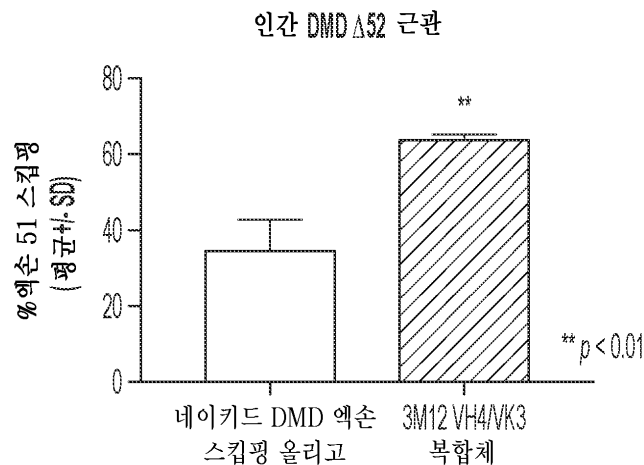
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 근육 표적화 복합체 및 디스트로핀병증을 치료하기 위한 그의 용도

(57) 요약

본 개시내용의 측면은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 세포 상의 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 기능적 디스트로핀 단백질의 발현 또는 활성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 돌연변이 DMD 대립유전자로부터 발현된 mRNA에서의 엑손 스킵핑을 유발하는 올리고뉴클레오타이드이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)

A61P 21/04 (2018.01)

C12N 15/113 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/55 (2013.01)

C12N 2310/11 (2013.01)

C12N 2310/3233 (2013.01)

C12N 2310/3513 (2013.01)

C12N 2320/32 (2013.01)

(72) 발명자

맥스위젠, 제임스

미국 80007 콜로라도 아르바다 더블유. 94쓰 애비뉴 19395

서브라마니안, 로메쉬, 알.

미국 01701 메사추세츠 프레이밍햄 앨런 스트리트 9

위든, 티모시

미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560

콰타나니, 모하메드, 티.

미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560

퀸, 브렌단

미국 02118 메사추세츠 보스턴 이스트 뉴턴 스트리트 45 넘버320

나짐, 존

미국 02451 메사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560

명세서

청구범위

청구항 1

DMD 프리-mRNA에서 엑손 51의 스킵핑을 유도하도록 구성된 올리고뉴클레오타드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오타드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나의 적어도 8개의 연속 뉴클레오타드와 상보적인 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

- (i) 서열식별번호: 33의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 서열식별번호: 34의 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 서열식별번호: 35의 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 서열식별번호: 36의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 서열식별번호: 37의 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2) 및 서열식별번호: 32의 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3);
- (ii) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 8의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;
- (iii) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 20의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;
- (iv) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 24의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;
- (v) 서열식별번호: 51의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3;
- (vi) 서열식별번호: 64의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3; 또는
- (vii) 서열식별번호: 67의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

- (i) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- (ii) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- (iii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- (iv) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- (v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- (vi) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- (vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 74에

대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, scFv, Fv 또는 전장 IgG인 복합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab 단편인 복합체.

청구항 7

제6항에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

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

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

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

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

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

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

에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

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

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

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

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

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 트랜스페린 수용체 1의 트랜스페린 결합 부위에 특이적으로 결합하지 않고/거나 항-TfR1 항체가 트랜스페린 수용체 1에 대한 트랜스페린의 결합을 억제하지 않는 것인 복합체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오타드가 DMD 프리-mRNA의 스플라이싱 특징부의 적어도 4개의 연속 뉴클레오타드에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.

청구항 11

제10항에 있어서, 스플라이싱 특징부가 DMD 프리-mRNA의 엑손 51 내의 엑손 스플라이싱 인핸서 (ESE)이며, 임의

로 여기서 ESE는 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나의 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 12

제10항에 있어서, 스플라이싱 특징부가 분지점, 스플라이스 공여자 부위 또는 스플라이스 수용자 부위이며, 임의로 여기서 스플라이싱 특징부는 DMD 프리-mRNA의 엑손 50과 인트론 50의 접합부에 걸쳐, 인트론 50에, 인트론 50과 엑손 51의 접합부에 걸쳐, 엑손 51과 인트론 51의 접합부에 걸쳐, 인트론 51에 또는 인트론 51과 엑손 52의 접합부에 걸쳐 있고, 추가로 임의로 여기서 스플라이싱 특징부는 서열식별번호: 855-859 및 895-898 중 어느 하나의 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오타이드가 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 서열을 포함하거나 또는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함하며, 여기서 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있는 것인 복합체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오타이드가 1개 이상의 포스포로디아미데이트 모르폴리노를 포함하며, 임의로 여기서 올리고뉴클레오타이드는 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)인 복합체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 절단가능한 링커를 통해 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결되며, 임의로 여기서 절단가능한 링커는 발린-시트룰린 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 것인 복합체.

청구항 17

DMD를 표적화하는 올리고뉴클레오타이드로서, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대한 상보성 영역을 포함하며, 임의로 여기서 상보성 영역은 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 것인 올리고뉴클레오타이드.

청구항 18

제17항에 있어서, 올리고뉴클레오타이드가 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 임의로 여기서 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함하며, 여기서 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있는 것인 올리고뉴클레오타이드.

청구항 19

세포를 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 복합체 또는 제17항 또는 제18항의 올리고뉴클레오타이드와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에 올리고뉴클레오타이드를 전달하는 방법.

청구항 20

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 복합체 또는 제18항 또는 제19항의 올리고뉴클레오타이드를 세포에 대한 올리고뉴클레오타이드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인, 세포에서 디스트로핀 단백질의 발현 또는 활성을 촉진하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 2021년 7월 9일에 출원된 "근육 표적화 복합체 및 디스트로핀병증을 치료하기 위한 그의 용도"라는 발명의 명칭의 미국 가출원 일련 번호 63/220030을 35 U.S.C. § 119(e) 하에 우선권 주장하며, 상기 가출원의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 발명의 분야
- [0004] 본 출원은 세포에 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)를 전달하기 위한 표적화 복합체 및 그의 용도, 특히 질환의 치료와 관련된 용도에 관한 것이다.
- [0005] 전자 서열 목록에 대한 참조
- [0006] 전자 서열 목록의 내용 (D082470066W000-SEQ-COB.xml; 크기: 1,203,807 바이트; 및 생성일: 2022년 7월 7일)은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

- [0007] 디스트로핀병증은 디스트로핀을 코딩하는 유전자 내의 돌연변이로부터 유발되는 특유한 신경근육 질환의 군이다. 디스트로핀병증은 뒤시엔느 근육 이영양증, 베커 근육 이영양증 및 X-연관 확장성 심근병증을 포함한다. 디스트로핀을 코딩하는 DMD 유전자 ("DMD")는 79개의 엑손 및 약 2백6십만개의 총 염기 쌍을 함유하는 대형 유전자이다. 엑손 프레임시프트, 결실, 치환 및 중복 돌연변이를 포함한 DMD 내의 수많은 돌연변이는 기능적 디스트로핀의 발현을 감소시켜 디스트로핀병증을 유도할 수 있다. 카시머센, 빌톨라센, 글로더센 및 에테플러센을 포함한, 인간 DMD의 엑손을 표적화하는 여러 작용제가 미국 식품 의약품국 (FDA)에 의해 승인되었다. 이들 중에서, 에테플러센은 엑손 51을 표적화한다.

발명의 내용

- [0008] 일부 측면에 따르면, 본 개시내용은 근육 세포에 분자 페이로드를 전달할 목적으로 근육 세포를 표적화하는 복합체, 뿐만 아니라 그 안에 사용될 수 있는 분자 페이로드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는 기능적 디스트로핀 단백질의 발현 또는 활성을 증가 또는 복원시키는 분자 페이로드를 전달하는 데 특히 유용하다. 일부 실시양태에서, 복합체는 인-프레임 엑손 스킵핑 메카니즘 또는 정지 코돈의 억제를 통해, 예컨대 DMD 엑손 51의 스킵핑을 용이하게 함으로써 기능적 디스트로핀 단백질의 발현을 촉진하는 올리고뉴클레오타이드 기반 분자 페이로드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자 페이로드는 DMD 서열에서의 엑손 스킵핑, 예컨대 DMD 엑손 51의 스킵핑을 용이하게 하는 데 유용하다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는 근육 세포에 분자 페이로드를 전달하는 목적을 위한, 근육 세포의 표면 상의 수용체에 특이적으로 결합하는 근육-표적화제 (예를 들어, 근육 표적화 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 수용체 매개된 내재화를 통해 세포 내로 흡수되고, 이 후 분자 페이로드가 방출되어 세포 내부에서 기능을 수행할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드를 전달하도록 조작된 복합체는 올리고뉴클레오타이드가 근육 세포에서 (예를 들어, 엑손 스킵핑 메카니즘을 통해, 예컨대 DMD 엑손 51의 스킵핑을 용이하게 함으로써) 기능적 디스트로핀 단백질의 발현을 촉진할 수 있도록 올리고뉴클레오타이드를 방출할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 복합체의 근육-표적화제와 올리고뉴클레오타이드를 연결하는 공유 링커의 엔도솜 절단에 의해 방출된다. 본원에 제공된 복합체 및 분자 페이로드는 돌연변이된 DMD 유전자, 예컨대 엑손 51 스킵핑이 적용가능한 돌연변이된 DMD 유전자를 갖는 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다.
- [0009] 일부 측면에 따르면, DMD 프리-mRNA에서 엑손 51의 스킵핑을 유도하도록 구성된 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호 (SEQ ID NO): 160-383 중 어느 하나의 적어도 8개의 연속 뉴클레오타이드와 상보적인 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체가 본원에 제공된다.
- [0010] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기를 포함한다:
- [0011] (i) 서열식별번호: 33의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 서열식별번호: 34의 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 서열식별번호: 35의 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 서열식별번호: 36의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 서열식별번호: 37의 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2) 및 서열식별번호: 32의 경쇄 상보성 결정

영역 3 (CDR-L3);

- [0012] (ii) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 8의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;
- [0013] (iii) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 20의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;
- [0014] (iv) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 24의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;
- [0015] (v) 서열식별번호: 51의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3;
- [0016] (vi) 서열식별번호: 64의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3; 또는
- [0017] (vii) 서열식별번호: 67의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3.
- [0018] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기를 포함한다:
- [0019] (i) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0020] (ii) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0021] (iii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0022] (iv) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0023] (v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0024] (vi) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0025] (vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0026] (viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0027] (ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- [0028] (x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL.
- [0029] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기를 포함한다:
- [0030] (i) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0031] (ii) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0032] (iii) 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0033] (iv) 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0034] (v) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

- [0035] (vi) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0036] (vii) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0037] (viii) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0038] (ix) 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
또는
- [0039] (x) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL.
- [0040] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, scFv, Fv 또는 전장 IgG이다.
- [0041] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 Fab 단편이다.
- [0042] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기를 포함한다:
- [0043] (i) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0044] (ii) 서열식별번호: 97에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0045] (iii) 서열식별번호: 98에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0046] (iv) 서열식별번호: 99에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0047] (v) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0048] (vi) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0049] (vii) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0050] (viii) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 93에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0051] (ix) 서열식별번호: 103에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는
- [0052] (x) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0053] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기를 포함한다:
- [0054] (i) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0055] (ii) 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0056] (iii) 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0057] (iv) 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0058] (v) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0059] (vi) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는

경쇄;

- [0060] (vii) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0061] (viii) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0062] (ix) 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는
- [0063] (x) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0064] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체 1의 트랜스페린 결합 부위에 특이적으로 결합하지 않고/거나 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체 1에 대한 트랜스페린의 결합을 억제하지 않는다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DMD 프리-mRNA의 스플라이싱 특징부의 적어도 4개의 연속 뉴클레오티드에 대한 상보성 영역을 포함한다.
- [0066] 일부 실시양태에서, 스플라이싱 특징부는 DMD 프리-mRNA의 엑손 51 내의 엑손 스플라이싱 인핸서 (ESE)이며, 임의로 여기서 ESE는 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나의 서열을 포함한다.
- [0067] 일부 실시양태에서, 스플라이싱 특징부는 분지점, 스플라이스 공여자 부위 또는 스플라이스 수용자 부위이며, 임의로 여기서 스플라이싱 특징부는 DMD 프리-mRNA의 엑손 50과 인트론 50의 접합부에 걸쳐, 인트론 50에, 인트론 50과 엑손 51의 접합부에 걸쳐, 엑손 51과 인트론 51의 접합부에 걸쳐, 인트론 51에 또는 인트론 51과 엑손 52의 접합부에 걸쳐 있고, 추가로 임의로 여기서 스플라이싱 특징부는 서열식별번호: 855-859 및 895-898 중 어느 하나의 서열을 포함한다.
- [0068] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 서열을 포함하거나 또는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함하며, 여기서 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있다.
- [0069] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 포스포로디아미테이트 모르폴리노를 포함하며, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 포스포로디아미테이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다.
- [0070] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 절단가능한 링커를 통해 올리고뉴클레오티드에 공유 연결되며, 임의로 여기서 절단가능한 링커는 발린-시트룰린 서열을 포함한다.
- [0071] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된다.
- [0072] 일부 측면에 따르면, DMD를 표적화하는 올리고뉴클레오티드로서, 여기서 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대한 상보성 영역을 포함하며, 임의로 여기서 상보성 영역은 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 것인 올리고뉴클레오티드가 본원에 제공된다.
- [0073] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함하며, 여기서 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있다.
- [0074] 일부 측면에 따르면, 세포를 본원에 개시된 복합체 또는 본원에 개시된 올리고뉴클레오티드와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에 올리고뉴클레오티드를 전달하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0075] 일부 측면에 따르면, 본원에 개시된 복합체 또는 본원에 개시된 올리고뉴클레오티드를 세포에 대한 올리고뉴클레오티드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인, 세포에서 디스트로핀 단백질의 발현 또는 활성을 촉진하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0076] 일부 실시양태에서, 대상체는 엑손 51의 스킵핑이 적용가능한 DMD 유전자를 갖는다.

[0077] 일부 실시양태에서, DMD 단백질은 말단절단된 DMD 단백질이다.

도면의 간단한 설명

[0078] 도 1은 DMD 엑손-스킵핑 올리고뉴클레오타이드에 접합된 항-TfR1 Fab (3M12 VH4/Vk3)를 함유하는 접합체가 뒤시엔스 근육 이영양증 환자 근관에서 네이키드 DMD 엑손 스킵핑 올리고와 비교하여 증진된 엑손 스킵핑을 유발하였다는 것을 예시하는 데이터를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079] 본 개시내용의 측면은 특정 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, 펩티드, 소분자)가 근육 세포에서 유의한 효과를 가질 수 있지만, 이러한 세포를 효과적으로 표적화하는 것이 어려운 것으로 입증되었다는 인식에 관한 것이다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같이, 본 개시내용은 이러한 난제를 극복하기 위해 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 디스트로핀 단백질 (예를 들어, 말단절단된 디스트로핀 단백질) 또는 DMD (예를 들어, 돌연변이된 DMD 대립유전자)의 발현 또는 활성을 조정 (예를 들어, 촉진)하는 분자 페이로드를 전달하는 데 특히 유용하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는, 예컨대 인-프레임 엑손 스킵핑 및/또는 조기 정지 코돈의 억제를 용이하게 함으로써 디스트로핀 단백질 또는 DMD의 발현 및 활성을 촉진하는 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 복합체는 DMD RNA (예를 들어, 프리-mRNA)의 엑손(들)의 스킵핑을 유도하는 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 엑손 51의 스킵핑을 유도하는 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 디스트로핀 단백질 또는 DMD의 정상 발현 및 활성을 촉진하는 1종 이상의 단백질을 발현하는 합성 핵산 페이로드 (예를 들어, DNA 또는 RNA 페이로드)가 사용될 수 있다.

[0080] 뒤시엔스 근육 이영양증은 Xp21 상에 위치한 DMD 유전자 내의 1개 이상의 돌연변이에 의해 유발된 X-연관 근육 장애이다. 디스트로핀 단백질은 전형적으로 근초에서 디스트로핀-연관 당단백질 복합체 (DGC)를 형성하며, 이는 근육 근초 구조를 세포의 매트릭스에 연결하고, 근초를 수축-유도된 손상으로부터 보호한다. 뒤시엔스 근육 이영양증을 갖는 환자에서, 디스트로핀 단백질은 일반적으로 부재하고, 근육 섬유는 전형적으로 기계적 과다연장으로 인해 손상된다. DMD 유전자 내의 돌연변이는 번역 리딩 프레임이 상실되는지 또는 유지되는지에 따라 2가지 유형의 근육 이영양증인 뒤시엔스 근육 이영양증 및 베커 근육 이영양증과 연관된다. 베커 근육 이영양증은 임상적으로 보다 경도의 형태의 뒤시엔스 근육 이영양증이고, 뒤시엔스 근육 이영양증과 유사한 특색을 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, (예를 들어, 본원에 제공된 복합체를 사용하여 전달된) 올리고뉴클레오타이드에 의해 유도된 엑손 스킵핑을 사용하여 돌연변이된 DMD 대립유전자의 리딩 프레임을 복원시킴으로써, 근육 기능을 개선시키기에 충분히 기능적인 말단절단된 디스트로핀 단백질의 생산을 유발할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이러한 엑손 스킵핑은 뒤시엔스 근육 이영양증 표현형을 보다 경도의 베커 근육 이영양증 표현형으로 전환시킨다.

[0081] 정의된 용어의 설명을 포함한 본 개시내용의 추가 측면이 하기에 제공된다.

[0082] I. 정의

[0083] 투여: 본원에 사용된 용어 "투여하는" 또는 "투여"는 생리학상 및/또는 (예를 들어, 및) 약리학상 유용한 (예를 들어, 대상체에서 상태를 치료하기 위한) 방식으로 대상체에게 복합체를 제공하는 것을 의미한다.

[0084] 대략: 본원에 사용된 용어 "대략" 또는 "약"은 1개 이상의 관심 값에 적용되는 경우에 언급된 참조 값에 유사한 값을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 달리 언급되지 않거나 또는 달리 문맥으로부터 명백하지 않는 한 언급된 참조 값의 어느 방향으로 (초과 또는 미만) 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 미만 내에 속하는 값의 범위를 지칭한다 (이러한 수가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우는 제외함).

[0085] 항체: 본원에 사용된 용어 "항체"는 적어도 1개의 이뮤노글로불린 가변 도메인 또는 적어도 1개의 항원 결정기, 예를 들어 항원에 특이적으로 결합하는 파라토프를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 키메라 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 그러나, 일부 실시양태에서, 항체는 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, Fv 단편 또는 scFv 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체는 낙타류 항체로부터 유래된 나노바디 또는 상어 항체로부터 유래된 나노바디이다. 일부 실시양태에서, 항체는 디아바디이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 배선 서열을 갖는 프레임워크를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 IgG, IgG1, IgG2, IgG2A, IgG2B, IgG2C, IgG3, IgG4, IgA1,

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

[0086] 분지점: 본원에 사용된 용어 "분지점" 또는 "분지 부위"는 프리-mRNA의 mRNA로의 스플라이싱 (즉, 프리-mRNA로부터의 인트론의 제거)에 수반되는 유전자 또는 프리-mRNA의 인트론 내의 핵산 서열 모티프를 지칭하고, 스플라이싱 특징부로 지칭될 수 있다. 분지점은 전형적으로 인트론의 3' 단부로부터 18 내지 40개의 뉴클레오타이드에 위치하고, 아데닌을 함유하지만, 그 외에는 서열에 있어서 비교적 제한되지 않는다. 분지점에 대한 통상의 서열 모티프는 YNYTRAY, YTRAC 및 YNYTRAY이며, 여기서 Y는 피리미딘이고, N은 임의의 뉴클레오타이드이고, R은 임의의 퓨린이고, A는 아데닌이다. 스플라이싱 동안, 프리-mRNA는 인트론의 5' 단부에서 절단되고, 이는 이어서 각각 5' 단부 및 분지점으로부터의 구아닌과 아데닌 사이의 에스테르교환 결합을 통해 분지점 영역 하류에 부착되어 루프형 라리아트 구조를 형성한다.

[0087] CDR: 본원에 사용된 용어 "CDR"은 항체 가변 서열 내의 상보성 결정 영역을 지칭한다. 전형적인 항체 분자는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하며, 이는 통상적으로 항원 결합에 수반된다. VH 및 VL 영역은 "프레임워크 영역" ("FR")으로 공지된 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, "상보성 결정 영역" ("CDR")으로도 또한 공지된 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 전형적으로 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 프레임워크 영역 및 CDR의 정도는 관련 기술분야에 공지된 방법론을 사용하여, 예를 들어 카바트 정의, IMGT 정의, 코티아 정의, AbM 정의 및/또는 (예를 들어, 및) 접촉 정의에 의해 정확하게 확인될 수 있으며, 이들 모두는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; IMGT®, the international ImmunoGeneTics information system® www.imgt.org, Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999); Ruiz, M. et al., Nucleic

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

[0088] 중쇄 및 경쇄의 각각의 가변 영역에 3개의 CDR이 존재하며, 이는 각각의 가변 영역에 대해 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 지정된다. 본원에 사용된 용어 "CDR 세트"는 항원에 결합할 수 있는 단일 가변 영역에서 발생하는 3개의 CDR의 군을 지칭한다. 이들 CDR의 정확한 경계는 상이한 시스템에 따라 상이하게 정의되었다. 카바트에 의해 기재된 시스템 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991)))은 항체의 임의의 가변 영역에 적용가능한 명확한 잔기 넘버링 시스템을 제공할 뿐만 아니라, 3개의 CDR을 정의하는 정확한 잔기 경계를 제공한다. 이들 CDR은 카바트 CDR로 지칭될 수 있다. CDR의 하위-부분은 L1, L2 및 L3 또는 H1, H2 및 H3으로 지정될 수 있으며, 여기서 "L" 및 "H"는 각각 경쇄 및 중쇄 영역을 지정한다. 이들 영역은 코티아 CDR로 지칭될 수 있으며, 이는 카바트 CDR과 중첩되는 경계를 갖는다. 카바트 CDR과 중첩되는 CDR을 정의하는 다른 경계는 문헌 [Padlan (FASEB J. 9:133-139 (1995)) 및 MacCallum (J Mol Biol 262(5):732-45 (1996))]에 기재되어 있다. 또 다른 CDR 경계 정의는 상기 시스템 중 하나를 엄격히 따르지 않을 수 있으나 그럼에도 불구하고 카바트 CDR과 중첩될 것이며, 다만 특정 잔기 또는 잔기의 군 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 유의하게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견에 비추어 단축되거나 연장될 수 있다. 본원에 사용된 방법은 임의의 이들 시스템에 따라 정의된 CDR을 이용할 수 있다. CDR 정의 시스템의 예가 표 1에 제공된다.

[0089] 표 1. CDR 정의

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

[0090]

[0091] ¹ IMGT®, 국제 이뮤노제네틱스 정보 시스템(international ImMunoGeneTics information system)®, imgt.org, [Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)]

[0092] ² 문헌 [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]

[0093] ³ 문헌 [Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)]

[0094] CDR-그래프트된 항체: 용어 "CDR-그래프트된 항체"는 하나의 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하나, VH 및/또는 (예를 들어, 및) VL의 CDR 영역 중 1개 이상의 서열이 또 다른 종의 CDR 서열로 대체된 항체, 예컨대 무린 CDR 중 1개 이상 (예를 들어, CDR3)이 인간 CDR 서열로 대체된 무린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다.

[0095] 키메라 항체: 용어 "키메라 항체"는 하나의 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열 및 또 다른 종으로부터의 불변 영역 서열을 포함하는 항체, 예컨대 인간 불변 영역에 연결된 무린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다.

[0096] 상보적: 본원에 사용된 용어 "상보적"은 2개의 뉴클레오타이드 또는 2개의 뉴클레오타이드 세트 사이의 정확한 쌍형성을 위한 능력을 지칭한다. 특히, 상보적은 2개의 뉴클레오타이드 또는 2개의 뉴클레오타이드 세트 사이의 결합을 가져오는 수소 결합 쌍형성의 정도를 특정화하는 용어이다. 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드의 한 위치에서의 염기가 표적 핵산 (예를 들어, mRNA)의 상응하는 위치에서의 염기와 수소 결합할 수 있으면, 염기들이 그 위치

에서 서로에 대해 상보적인 것으로 간주된다. 염기 쌍형성은 정규 왓슨-크릭 염기 쌍형성 및 비-왓슨-크릭 염기 쌍형성 (예를 들어, 위블 염기 쌍형성 및 후그스틴 염기 쌍형성) 둘 다를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 상보적 염기 쌍형성의 경우, 아데노신-유형 염기 (A)는 티미딘-유형 염기 (T) 또는 우라실-유형 염기 (U)에 대해 상보적이고, 시토신-유형 염기 (C)는 구아노신-유형 염기 (G)에 대해 상보적이고, 범용 염기, 예컨대 3-니트로피롤 또는 5-니트로인돌은 임의의 A, C, U 또는 T에 혼성화할 수 있고 그에 대해 상보적인 것으로 간주된다. 이노신 (I)은 또한 관련 기술분야에서 범용 염기인 것으로 간주되었고 임의의 A, C, U 또는 T에 대해 상보적인 것으로 간주된다.

[0097] 보존적 아미노산 치환: 본원에 사용된 "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 치환이 이루어지는 단백질의 상대 전하 또는 크기 특징을 변경시키지 않는 아미노산 치환을 지칭한다. 변이체는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 폴리펩티드 서열을 변경시키는 방법에 따라 제조될 수 있으며, 예컨대 이러한 방법을 편집해 놓은 참고문헌, 예를 들어 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2012, 또는 Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New York]에서 발견된다. 아미노산의 보존적 치환은 하기 군 내의 아미노산들 사이에 이루어진 치환을 포함한다: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; 및 (g) E, D.

[0098] 공유 연결된: 본원에 사용된 용어 "공유 연결된"은 2개 이상의 분자가 적어도 1개의 공유 결합을 통해 함께 연결된 특징을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2개의 분자는 분자들 사이의 링커로서의 역할을 하는 단일 결합, 예를 들어 디설피드 결합 또는 디설피드 가교에 의해 함께 공유 연결될 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 2개 이상의 분자는 다수의 공유 결합을 통해 2개 이상의 분자를 함께 연결하는 링커로서의 역할을 하는 분자를 통해 함께 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 절단가능한 링커일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 비-절단가능한 링커일 수 있다.

[0099] 교차-반응성: 본원에서 표적화제 (예를 들어, 항체)와 관련하여 사용된 용어 "교차-반응성"은 유사한 친화도 또는 결합력으로 유사한 유형 또는 부류의 1종 초과 항원 (예를 들어, 다수의 상동체, 파라로그 또는 오르토로그 항원)에 특이적으로 결합할 수 있는 작용제의 특성을 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 유사한 유형 또는 부류의 인간 및 비-인간 영양류 항원 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체 및 비-인간 영양류 트랜스페린 수용체)에 대해 교차-반응성인 항체는 유사한 친화도 또는 결합력으로 인간 항원 및 비-인간 영양류 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 인간 항원 및 설치류 항원에 대해 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 설치류 항원 및 비-인간 영양류 항원에 대해 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 인간 항원, 비-인간 영양류 항원 및 설치류 항원에 대해 교차-반응성이다.

[0100] DMD: 본원에 사용된 용어 "DMD"는 근육 세포, 특히 근육 섬유에서 내부 세포골격 및 세포외 매트릭스를 가교하는, 디스트로핀-당단백질 복합체의 주요 성분인 디스트로핀 단백질을 코딩하는 유전자를 지칭한다. DMD 내의 결실, 중복 및 점 돌연변이는 디스트로핀병증, 예컨대 뒤시엔느 근육 이영양증, 베커 근육 이영양증 또는 심근병증을 유발할 수 있다. 대안적 프로모터 용법 및 대안적 스플라이싱은 이 유전자에 대해 수많은 별개의 전사체 변이체 및 단백질 이소형을 생성한다. 일부 실시양태에서, 디스트로핀 유전자 (DMD 또는 DMD 유전자)는 인간 (진(Gene) ID: 1756), 비-인간 영양류 (예를 들어, 진 ID: 465559) 또는 설치류 유전자 (예를 들어, 진 ID: 13405; 진 ID: 24907)일 수 있다. 추가로, 상이한 단백질 이소형을 코딩하는 다수의 인간 전사체 변이체 (예를 들어, 진뱅크(GenBank) RefSeq 수탁 번호: NM_000109.3, NM_004006.2, NM_004009.3, NM_004010.3 및 NM_004011.3 하에 주석달린 바와 같음)가 특징화되었다.

[0101] DMD 대립유전자: 본원에 사용된 용어 "DMD 대립유전자"는 DMD 유전자의 대안적 형태 (예를 들어, 야생형 또는 돌연변이 형태) 중 어느 하나를 지칭한다. 일부 실시양태에서, DMD 대립유전자는 그의 정상적 및 전형적 기능을 보유하는 디스트로핀을 코딩할 수 있다. 일부 실시양태에서, DMD 대립유전자는 근육 이영양증을 유발하는 1개 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. 뒤시엔느 근육 이영양증을 유도하는 통상의 돌연변이는 디스트로핀 대립유전자에 존재하는 79개의 엑손, 예를 들어 엑손 8, 엑손 23, 엑손 41, 엑손 44, 엑손 45, 엑손 50, 엑손 51, 엑손 52, 엑손 53 또는 엑손 55 중 1개 이상의 프레임시프트, 결실, 치환 및 중복 돌연변이를 수반한다. DMD 돌연변이의 추가의 예는, 예를 들어 문헌 [Flanigan KM, et al., Mutational spectrum of DMD mutations in dystrophinopathy patients: application of modern diagnostic techniques to a large cohort. Hum Mutat. 2009 Dec; 30 (12):1657-66]에 개시되어 있으며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

- [0102] 디스트로핀병증: 본원에 사용된 용어 "디스트로핀병증"은 1개 이상의 돌연변이된 DMD 대립유전자로부터 유발된 근육 질환을 지칭한다. 디스트로핀병증은 뒤시엔느 근육 이영양증, 베커 근육 이영양증 및 DMD-연관 확장성 심근병증 (DCM)을 포함하는 넓은 범위의 상태 (경도 내지 중증의 범위)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 범위의 한쪽 단부에서, 디스트로핀병증은 크레아틴 포스포키나제 (CK)의 혈청 농도의 무증상 증가 및/또는 (예를 들어, 및) 미오글로빈뇨를 동반한 근육 경련과 표현형적으로 연관된다. 일부 실시양태에서, 범위의 다른쪽 단부에서, 디스트로핀병증은 일반적으로 골격근에 주로 이환되는 경우에 뒤시엔느 또는 베커 근육 이영양증으로서 분류되고 심장에 주로 이환되는 경우에 DMD-연관 확장성 심근병증 (DCM)으로 분류되는 진행성 근육 질환과 표현형적으로 연관된다. 뒤시엔느 근육 이영양증의 증상은 근육 손실 또는 변성, 감소된 근육 기능, 허 및 송아지 근육의 가성비대, 신경계 이상의 보다 높은 위험 및 단축된 수명을 포함한다. 뒤시엔느 근육 이영양증은 온라인 인간 멘델 유전 (OMIM) 엔트리 # 310200과 연관된다. 베커 근육 이영양증은 OMIM 엔트리 # 300376과 연관된다. 확장성 심근병증은 OMIM 엔트리 X# 302045와 연관된다.
- [0103] 엑손 스플라이싱 인핸서 (ESE): 본원에 사용된 용어 "엑손 스플라이싱 인핸서" 또는 "ESE"는, 예를 들어 문헌 [Blencowe et al., Trends Biochem Sci 25, 106-10. (2000)] (본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 프리-mRNA의 mRNA로의 스플라이싱을 지시하거나 증진시키는 유전자, 프리-mRNA 또는 mRNA의 엑손 내의 핵산 서열 모티프를 지칭한다. ESE는 스플라이싱 특징부로 지칭될 수 있다. ESE는, 예를 들어 유전자 전사체로부터 1개 이상의 인트론 및/또는 1개 이상의 엑손을 제거하기 위해 스플라이싱을 지시하거나 증진시킬 수 있다. ESE 모티프는 전형적으로 6-8개의 핵염기 길이이다. SR 단백질 (예를 들어, 유전자 SRSF1, SRSF2, SRSF3, SRSF4, SRSF5, SRSF6, SRSF7, SRSF8, SRSF9, SRSF10, SRSF11, SRSF12, TRA2A 또는 TRA2B에 의해 코딩되는 단백질)은 ESE에 그의 RNA 인식 모티프 영역을 통해 결합하여 스플라이싱을 용이하게 한다. ESE 모티프는 문헌 [Cartegni et al., Nucleic Acids Research, 2003, Vol. 31, No. 13, 3568-3571] (본원에 참조로 포함됨)에 기재된 것을 포함한 다수의 방법을 통해 확인될 수 있다.
- [0104] 프레임워크: 본원에 사용된 용어 "프레임워크" 또는 "프레임워크 서열"은 CDR을 제외한 가변 영역의 나머지 서열을 지칭한다. CDR 서열의 정확한 정의는 상이한 시스템에 의해 결정될 수 있기 때문에, 프레임워크 서열의 의미는 상응하는 상이한 해석에 따른다. 6개의 CDR (경쇄의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 및 중쇄의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 또한 경쇄 및 중쇄 상의 프레임워크 영역을 각각의 쇠 상에서 4개의 하위-영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4)으로 분류하며, 여기서 CDR1은 FR1과 FR2 사이에, CDR2는 FR2와 FR3 사이에, CDR3은 FR3과 FR4 사이에 위치한다. 특정한 하위-영역을 FR1, FR2, FR3 또는 FR4로서 명시하지 않으면서, 다른 것으로 지칭되는 프레임워크 영역은, 단일의 자연 발생 이뮤노글로불린 쇠의 가변 영역 내의 조합 FR을 나타낸다. 본원에 사용된 FR은 4개의 하위-영역 중 1개를 나타내고, FR들은 프레임워크 영역을 구성하는 4개의 하위-영역 중 2개 이상을 나타낸다. 인간 중쇄 및 경쇄 수용자 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 관련 기술분야에 공지된 수용자 서열은 본원에 개시된 항체에 사용될 수 있다.
- [0105] 인간 항체: 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 본 개시내용의 인간 항체는, 예를 들어 CDR, 특히 CDR3 내에, 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 중, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그래프트된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0106] 인간화 항체: 용어 "인간화 항체"는 비-인간 종 (예를 들어, 마우스)으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하지만, VH 및/또는 (예를 들어, 및) VL 서열의 적어도 한 부분이 보다 "인간-유사"하도록, 즉 인간 배선 가변 서열과 보다 유사하도록 변경된 항체를 지칭한다. 인간화 항체의 한 유형은 인간 CDR 서열이 비-인간 VH 및 VL 서열 내로 도입되어 상응하는 비-인간 CDR 서열을 대체하는 CDR-그래프트된 항체이다. 한 실시양태에서, 인간화 항-TfR1 항체 및 항원 결합 부분이 제공된다. 이러한 항체는 전통적인 하이브리도마 기술을 사용하여 유린 항-TfR1 모노클로날 항체를 수득하고, 이어서 시험관내 유전자 조작, 예컨대 PCT 공개 번호 WO 2005/123126 A2 (Kasaian et al.)에 개시된 것을 사용하여 인간화함으로써 생성될 수 있다.
- [0107] 내재화 세포 표면 수용체: 본원에 사용된 용어 "내재화 세포 표면 수용체"는, 예를 들어 외부 자극, 예를 들어 수용체에 대한 리간드 결합 시 세포에 의해 내재화되는 세포 표면 수용체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 세포내이입에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 클라트린-매개된 세포내이입에 의해 내재화된다. 그러나, 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 클라트린-비의존성 경로, 예컨대, 예를 들어 식세포작용, 거대세포작용, 카베올라- 및 라프트-매개된 흡수 또는 구성

적 클라트린-비의존성 세포내이입에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 세포내 도메인, 막횡단 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) 세포외 도메인을 포함하고, 이는 임의로 리간드-결합 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 수용체는 리간드 결합 후 세포에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 리간드는 근육-표적화제 또는 근육-표적화 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 트랜스페린 수용체이다.

[0108] 단리된 항체: 본원에 사용된 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다 (예를 들어, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 트랜스페린 수용체 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, 트랜스페린 수용체 복합체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 다른 종으로부터의 트랜스페린 수용체 분자에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 (예를 들어, 및) 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0109] 카바트 넘버링: 용어 "카바트 넘버링", "카바트 정의" 및 "카바트 라벨링"은 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 관련 기술분야에서 인식되는 이들 용어는 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내의 다른 아미노산 잔기보다 더 가변적인 (즉, 초가변적인) 아미노산 잔기를 넘버링하는 시스템을 지칭한다 (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 및 Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). 중쇄 가변 영역의 경우, 초가변 영역은 CDR1의 경우 아미노산 위치 31 내지 35, CDR2의 경우 아미노산 위치 50 내지 65 및 CDR3의 경우 아미노산 위치 95 내지 102의 범위이다. 경쇄 가변 영역에서, 초가변 영역은 CDR1의 경우 아미노산 위치 24 내지 34, CDR2의 경우 아미노산 위치 50 내지 56 및 CDR3의 경우 아미노산 위치 89 내지 97의 범위이다.

[0110] 분자 페이로드: 본원에 사용된 용어 "분자 페이로드"는 생물학적 결과를 조정하는 기능을 하는 분자 또는 종을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육-표적화제에 연결되거나 또는 달리 그와 회합된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 소분자, 단백질, 펩티드, 핵산 또는 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DNA 서열의 전사를 조정하거나, 단백질의 발현을 조정하거나 또는 단백질의 활성을 조정하는 기능을 한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 표적 유전자에 대한 상보성 영역을 갖는 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오타이드이다.

[0111] 근육-표적화제: 본원에 사용된 용어 "근육-표적화제"는 근육 세포 상에서 발현된 항원에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 근육 세포 내의 또는 상의 항원은 막 단백질, 예를 들어 내재성 막 단백질 또는 말초 막 단백질일 수 있다. 전형적으로, 근육-표적화제는 근육-표적화제 (및 임의의 회합된 분자 페이로드)의 근육 세포 내로의 내재화를 용이하게 하는 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 상의 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합하고, 수용체 매개된 내재화를 통해 근육 세포 내로 내재화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 소분자, 단백질, 펩티드, 핵산 (예를 들어, 압타머) 또는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 연결된다.

[0112] 근육-표적화 항체: 본원에 사용된 용어 "근육-표적화 항체"는 근육 세포 내에서 또는 상에서 발견된 항원에 특이적으로 결합하는 항체인 근육-표적화제를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근육-표적화 항체 (및 임의의 회합된 분자 페이로드)의 근육 세포 내로의 내재화를 용이하게 하는 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근육 세포 상에 존재하는 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체이다.

[0113] 올리고뉴클레오타이드: 본원에 사용된 용어 "올리고뉴클레오타이드"는 200개 이하의 뉴클레오타이드 길이의 올리고머 핵산 화합물을 지칭한다. 올리고뉴클레오타이드의 예는 RNAi 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, siRNA, shRNA), 마이크로RNA, 갭머, 믹스머, 포스포로디아미테이트 모로폴리노, 펩티드 핵산, 압타머, 가이드 핵산 (예를 들어, Cas9 가이드 RNA) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 올리고뉴클레오타이드는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드 (예를 들어, 2'-O-메틸 당 변형, 퓨린 또는 피리미딘 변형)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드간 연결을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 Rp 또는 Sp 입체화학적 입체형태일 수 있는 1개 이상의 포스포로티오에이트 연결을 포함할 수 있다.

[0114] 재조합 항체: 본원에 사용된 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모

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

[0115] 상보성 영역: 본원에 사용된 용어 "상보성 영역"은 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 동족 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해, 2개의 뉴클레오티드 서열이 생리학적 조건 하에 (예를 들어, 세포에서) 서로에 대해 어닐링될 수 있도록 하는 데 충분히 상보적인 것을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해 완전히 상보적이다. 그러나, 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해 부분적으로 상보적이다 (예를 들어, 적어도 80%, 90%, 95% 또는 99% 상보성). 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열과 비교하여 1, 2, 3 또는 4개의 미스매치를 함유한다.

[0116] 특이적으로 결합한다: 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합한다"는 분자가 결합 검정 또는 다른 결합 상황에서 결합 파트너를 적절한 대조군과 구별하는 데 사용될 수 있게 하는 친화도 또는 결합력의 정도로 분자가 결합 파트너에 결합하는 능력을 지칭한다. 항체와 관련하여, 용어 "특이적으로 결합한다"는 적절한 참조 항원 또는 항원들과 비교하여, 항체가 특이적 항원을 다른 것과 구별하는 데, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 항원에 대한 결합을 통해 특정 세포, 예를 들어 근육 세포에 대한 우선적 표적화를 허용하는 정도로 사용될 수 있게 하는 친화도 또는 결합력의 정도로 항체가 특이적 항원에 결합하는 능력을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체가 표적에의 결합에 대해 적어도 약 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 K_D 를 갖는 경우에 항체는 표적에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 트랜스페린 수용체, 예를 들어 트랜스페린 수용체의 정단 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0117] 스플라이스 수용자 부위: 본원에 사용된 용어 "스플라이스 수용자 부위" 또는 "스플라이스 수용자"는 프리-mRNA의 mRNA로의 스플라이싱 (즉, 프리-mRNA로부터의 인트론의 제거)에 수반되는 유전자 또는 프리-mRNA의 인트론의 3' 단부에 또는 인트론/엑손 접합부에 걸쳐 있는 핵산 서열 모티프를 지칭하고, 스플라이싱 특징부로 지칭될 수 있다. 스플라이스 수용자 부위는 인트론의 3' 단부에 말단 AG 서열을 포함하며, 이의 앞에는 전형적으로 피리미딘 (C/U)이 높은 영역이 선행한다 (5'-쪽). 스플라이스 수용자 부위로부터 상류에 분지점이 있다. 분지점과 스플라이스 공여자 부위 사이의 에스테르교환 반응에 의한 라리아트 루프 중간체 구조의 형성은 5' 엑손의 3'-OH를 방출시키고, 이는 후속적으로 3' 엑손의 제1 뉴클레오티드와 반응하여 엑손을 연결하고 인트론 라리아트를 방출시킨다. 스플라이스 수용자 부위 내의 인트론의 3' 단부에 있는 AG 서열은 이들 뉴클레오티드 중 하나를 변화시키는 것이 스플라이싱의 역제를 유발하기 때문에 적절한 스플라이싱에 중요한 것으로 공지되어 있다. 드물게, 대안적 스플라이스 수용자 부위는 보다 통상적인 AG 대신에 인트론의 3' 단부에 AC를 갖는다. 통상의 스플라이스 수용자 부위 모티프는 [Y-풍부 영역]-NCAGG 또는 Y_N NYAGG의 서열 또는 그와 유사한 서열을 가지며, 여기서 Y는 피리미딘을 나타내고, N은 임의의 뉴클레오티드를 나타내고, x는 4 내지 20의 수이다. 절단 부위는 절제된 인트론의 3'-말단 뉴클레오티드를 나타내는 AG에 후속한다.

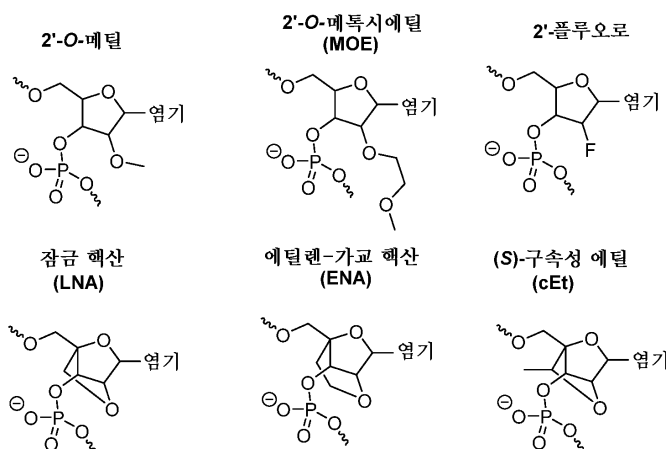
[0118] 스플라이스 공여자 부위: 본원에 사용된 용어 "스플라이스 공여자 부위" 또는 "스플라이스 공여자"는 프리-mRNA의 mRNA로의 스플라이싱 (즉, 프리-mRNA로부터의 인트론의 제거)에 수반되는 유전자 또는 프리-mRNA의 인트론의

5' 단부에 또는 엑손/인트론 접합부에 걸쳐 있는 핵산 서열 모티프를 지칭하고, 스플라이싱 특징부로 지칭될 수 있다. 스플라이스 공여자 부위는 보다 크고 상당히 제약되지 않은 서열 내에서 인트론의 5' 단부에 말단 GU 서열을 포함한다. 스플라이싱 동안, 분지점 내의 뉴클레오타이드의 2'-OH는 스플라이스 공여자 부위 내의 인트론의 5' G에 대한 친핵성 공격을 통해 에스테르교환 반응을 개시한다. 이로써, G는 프리-mRNA로부터 절단되고, 대신 분지점 뉴클레오타이드에 결합하여 루프 라리아트 구조를 형성한다. 상류 엑손의 3' 뉴클레오타이드는 후속적으로 스플라이스 수용자 부위에 결합하여, 엑손을 연결하고 인트론을 절제한다. 전형적인 스플라이스 공여자 부위는 GGGURAGU 또는 AGGURNG의 서열 또는 그와 유사한 서열을 가지며, 여기서 R은 퓨린을 나타내고, N은 임의의 뉴클레오타이드를 나타낸다. 절단 부위는 절제된 인트론의 5'-말단 뉴클레오타이드를 나타내는 제1 GU에 선행한다 (즉, GG/GURAGU 또는 AG/GURNG).

[0119] 대상체: 본원에 사용된 용어 "대상체"는 포유동물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 비-인간 영장류 또는 설치류이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 환자, 예를 들어 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 돌연변이된 DMD 유전자 서열, 예를 들어 DMD 유전자 서열의 엑손 내의 돌연변이로 인한 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 디스트로핀병증, 예를 들어 뒤시엔느 근육 이영양증을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 엑손 51 스킵핑이 적용가능한 DMD 유전자의 돌연변이를 갖는 환자이다.

[0120] 트랜스페린 수용체: 본원에 사용된 용어 "트랜스페린 수용체" (TFRC, CD71, p90 또는 TFR1로도 또한 공지됨)는 트랜스페린에 결합하여 세포내이입에 의한 철 흡수를 용이하게 하는 내재화 세포 표면 수용체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체는 인간 (NCBI 진 ID 7037), 비-인간 영장류 (예를 들어, NCBI 진 ID 711568 또는 NCBI 진 ID 102136007) 또는 설치류 (예를 들어, NCBI 진 ID 22042) 기원의 것일 수 있다. 추가로, 수용체의 상이한 이소형을 코딩하는 다수의 인간 전사체 변이체 (예를 들어, 진뱅크 RefSeq 수탁 번호: NP_001121620.1, NP_003225.2, NP_001300894.1 및 NP_001300895.1 하에 주석달린 바와 같음)가 특징화되었다.

[0121] 2'-변형된 뉴클레오시드: 본원에 사용된 용어 "2'-변형된 뉴클레오시드" 및 "2'-변형된 리보뉴클레오시드"는 상호교환가능하게 사용되고, 2' 위치에서 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 당의 2' 및 4' 위치가 (예를 들어, 메틸렌, 에틸렌 또는 (S)-구속성 에틸 가교를 통해) 가교된 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는, 예를 들어 당 모이어티의 2' 위치가 치환된 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 2'-변형된 뉴클레오시드의 비제한적 예는 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE), 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA), 잠금 핵산 (LNA, 메틸렌-가교 핵산), 에틸렌-가교 핵산 (ENA) 및 (S)-구속성 에틸-가교 핵산 (cEt)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 2'-변형된 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이고, 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 비변형된 올리고뉴클레오타이드에 비해 표적 서열에 대해 증가된 친화도를 갖는다. 2'-변형된 뉴클레오시드의 구조의 예가 하기에 제공된다:



[0122]

[0123] 이들 예는 포스페이트 기로 제시되지만, 2'-변형된 뉴클레오시드 사이에 임의의 뉴클레오시드간 연결이 고려된다.

- [0124] II. 복합체
- [0125] 분자 페이로드에 공유 연결된 표적화제, 예를 들어 항체를 포함하는 복합체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 근육-표적화 항체를 포함한다. 복합체는 단일 항원 부위에 특이적으로 결합하거나 또는 동일하거나 상이한 항원 상에 존재할 수 있는 적어도 2개의 항원 부위에 결합하는 항체를 포함할 수 있다.
- [0126] 복합체는 적어도 1종의 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 활성 또는 기능을 조정하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체 내에 존재하는 분자 페이로드는 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 조정을 담당한다. 분자 페이로드는 소분자, 단백질, 핵산, 올리고뉴클레오타이드, 또는 세포 내의 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 활성 또는 기능을 조정할 수 있는 임의의 분자 개체일 수 있다.
- [0127] 일부 실시양태에서, 복합체는 분자 페이로드, 예를 들어 돌연변이된 DMD 대립유전자로부터 코딩된 전사체에서, 예를 들어 엑손 스킵핑을 촉진하기 위해 DMD를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 근육-표적화제, 예를 들어 항-트랜스페린 수용체 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 DMD 프리-mRNA에서 엑손 51의 스킵핑을 촉진하기 위해 DMD 프리-mRNA를 표적화한다.
- [0128] A. 근육-표적화제
- [0129] 본 개시내용의 일부 측면은, 예를 들어 근육 세포에 분자 페이로드를 전달하기 위한 근육-표적화제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 이러한 근육-표적화제는, 예를 들어 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합함으로써 근육 세포에 결합하고, 회합된 분자 페이로드를 근육 세포에 전달할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육 표적화제에 결합 (예를 들어, 공유 결합)되고, 근육 세포 상의 항원에 대한 근육 표적화제의 결합 시, 예를 들어 세포내이입을 통해 근육 세포 내로 내재화된다. 다양한 유형의 근육-표적화제가 본 개시내용에 따라 사용될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 임의의 근육 표적 (예를 들어, 근육 표면 단백질)은 본원에 기재된 임의의 유형의 근육-표적화제에 의해 표적화될 수 있다는 것이 또한 인지될 것이다. 예를 들어, 근육-표적화제는 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 펩티드 (예를 들어, 항체), 지질 (예를 들어, 미세소포) 또는 당 모이어티 (예를 들어, 폴리사카라이드)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 근육-표적화제는 소분자를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 예시적인 근육-표적화제는 본원에 추가로 상세히 기재되어 있지만, 본원에 제공된 예시적인 근육-표적화제는 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 것이 인지될 것이다.
- [0130] 본 개시내용의 일부 측면은 근육, 예컨대 골격근, 평활근 또는 심장 근육 상의 항원에 특이적으로 결합하는 근육-표적화제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 근육-표적화제는 골격근 세포, 평활근 세포 및/또는 (예를 들어, 및) 심장 근육 세포 상의 항원에 결합한다 (예를 들어, 특이적으로 결합함).
- [0131] 근육-특이적 세포 표면 인식 요소 (예를 들어, 세포 막 단백질)와 상호작용함으로써, 조직 국재화 및 근육 세포 내로의 선택적 흡수 둘 다 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육 흡수 수송체에 대한 기질인 분자는 분자 페이로드를 근육 조직 내로 전달하는 데 유용하다. 근육 표면 인식 요소에 대한 결합에 이은 세포내이입은 심지어 대형 분자, 예컨대 항체도 근육 세포에 진입하게 할 수 있다. 또 다른 예로서 트랜스페린 또는 항-TfR1 항체에 접합된 분자 페이로드는 트랜스페린 수용체에 대한 결합을 통해 근육 세포에 의해 흡수될 수 있고, 이는 이어서, 예를 들어 클라트린-매개된 세포내이입을 통해 세포내이입될 수 있다.
- [0132] 근육-표적화제의 사용은 다른 조직에서 효과와 연관된 독성을 감소시키면서 근육에서 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)를 농축시키는 데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 결합된 분자 페이로드를 대상체 내의 또 다른 세포 유형과 비교하여 근육 세포에 농축시킨다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 결합된 분자 페이로드를 비-근육 세포 (예를 들어, 간, 뉴런, 혈액 또는 지방 세포)에서의 양보다 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100배 더 큰 양으로 근육 세포 (예를 들어, 골격, 평활근 또는 심장 근육 세포)에 농축시킨다. 일부 실시양태에서, 대상체에서의 분자 페이로드의 독성은 그것이 근육-표적화제에 결합된 경우에 대상체에게 전달되었을 때 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90% 또는 95%만큼 감소된다.
- [0133] 일부 실시양태에서, 근육 선택성을 달성하기 위해, 근육 인식 요소 (예를 들어, 근육 세포 항원)가 요구될 수 있다. 한 예로서, 근육-표적화제는 근육-특이적 흡수 수송체에 대한 기질인 소분자일 수 있다. 또 다른 예로서, 근육-표적화제는 수송체-매개된 세포내이입을 통해 근육 세포에 진입하는 항체일 수 있다. 또 다른

예로서, 근육 표적화제는 근육 세포 상의 세포 표면 수용체에 결합하는 리간드일 수 있다. 수용체-기반 접근법이 세포 진입을 위한 직접 경로를 제공하지만, 수용체-기반 표적화는 목적하는 작용 부위에 도달하도록 자극된 세포내이입을 수반할 수 있다는 것이 인지될 것이다.

[0134] i. 근육-표적화 항체

[0135] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항체이다. 일반적으로, 표적 항원에 대한 항체의 높은 특이성은 근육 세포 (예를 들어, 골격근, 평활근 및/또는 (예를 들어, 및) 심장 근육 세포)를 선택적으로 표적화하는 잠재력을 제공한다. 이러한 특이성은 또한 오프-타겟 독성을 제한할 수 있다. 근육 세포의 표면 항원을 표적화할 수 있는 항체의 예는 보고되었고, 본 개시내용의 범주 내에 있다. 예를 들어, 근육 세포의 표면을 표적화하는 항체는 문헌 [Arahata K., et al. "Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide" Nature 1988; 333: 861-3; Song K.S., et al. "Expression of caveolin-3 in skeletal, cardiac, and smooth muscle cells. Caveolin-3 is a component of the sarcolemma and co-fractionates with dystrophin and dystrophin-associated glycoproteins" J Biol Chem 1996; 271: 15160-5; 및 Weisbart R.H. et al., "Cell type specific targeted intracellular delivery into muscle of a monoclonal antibody that binds myosin IIb" Mol Immunol. 2003 Mar, 39(13):78309]; (이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0136] a. 항-트랜스페린 수용체 (TfR) 항체

[0137] 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합하는 작용제, 예를 들어 항-트랜스페린-수용체 항체가 근육 세포를 표적화할 수 있다는 인식에 기초한다. 트랜스페린 수용체는 세포 막을 가로질러 트랜스페린을 수송하고 세포내철 수준의 조절 및 항상성에 참여하는 내재화 세포 표면 수용체이다. 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 트랜스페린 수용체 결합 단백질을 제공한다. 따라서, 본 개시내용의 측면은 트랜스페린 수용체에 결합하는 결합 단백질 (예를 들어, 항체)을 제공한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체에 결합하는 결합 단백질은 임의의 결합된 분자 페이로드와 함께 근육 세포 내로 내재화된다. 본원에 사용된 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체 항체, 항-트랜스페린 수용체 항체 또는 항-TfR1 항체로서 상호교환가능하게 지칭될 수 있다. 트랜스페린 수용체에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체에 결합 시, 예를 들어 수용체-매개된 세포내이입을 통해 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0138] 항-TfR1 항체가 여러 공지된 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이를 사용하는 라이브러리 설계를 사용하여 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Diez, P. et al. "High-throughput phage-display screening in array format", Enzyme and microbial technology, 2015, 79, 34-41.; Christoph M. H. and Stanley, J.R. "Antibody Phage Display: Technique and Applications" J Invest Dermatol. 2014, 134:2.; Engleman, Edgar (Ed.) "Human Hybridomas and Monoclonal Antibodies." 1985, Springer.). 다른 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 이전에 특징화되거나 개시되었다. 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,364,934, 출원일 12/4/1979, "Monoclonal antibody to a human early thymocyte antigen and methods for preparing same"; 미국 특허 번호 8,409,573, 출원일 6/14/2006, "Anti-CD71 monoclonal antibodies and uses thereof for treating malignant tumor cells"; 미국 특허 번호 9,708,406, 출원일 5/20/2014, "Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use"; US 9,611,323, 출원일 12/19/2014, "Low affinity blood brain barrier receptor antibodies and uses therefor"; WO 2015/098989, 출원일 12/24/2014, "Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier"; 문헌 [Schneider C. et al. "Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9." J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.; Lee et al. "Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse" 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052.] 참조).

[0139] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체에 높은 특이성 및 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체의 임의의 세포외 에피토프 또는 항체에 노출되게 되는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR1 항체는 인간, 비-인간 영장류, 마우스, 래트 등으로부터의 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR1 항체는 인간 트랜스페린 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항

체는 서열식별번호: 105-108에 제공된 바와 같은 인간 또는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체의 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체의 정단 도메인에 존재하지 않는, 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 트랜스페린 수용체의 아미노산 90-96에 상응하는 아미노산 절편에 결합한다.

[0140] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 항-TfR 클론 8)는 TfR1 내의 에피토프에 결합하며, 여기서 에피토프는 서열식별번호: 105의 아미노산 214-241 및/또는 아미노산 354-381의 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105의 아미노산 214-241 및 아미노산 354-381의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 Y222, T227, K231, H234, T367, S368, S370, T376 및 S378 중 1개 이상을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 Y222, T227, K231, H234, T367, S368, S370, T376 및 S378을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0141] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 TfR1 내의 에피토프에 결합하며, 여기서 에피토프는 서열식별번호: 105의 아미노산 258-291 및/또는 아미노산 358-381의 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 서열식별번호: 105의 아미노산 258-291 및 아미노산 358-381의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 K261, S273, Y282, T362, S368, S370 및 K371 중 1개 이상을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 K261, S273, Y282, T362, S368, S370 및 K371을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0142] NCBI 서열 NP_003225.2 (트랜스페린 수용체 단백질 1 이소형 1, 호모 사피엔스(homo sapiens))에 상응하는 인간 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

```
MMDQARSFAFNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNHSHVEMKLAVDEEENADNNTKANVT
KPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLGCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPA
ARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREF
KLSKVWRDQHFKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLV
HANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNA
ELSFHGAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFNGMEGDCP
SDWKTDSTCRMVTSSEKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAGSGVGTALLLKLAKMFSDMVLKDGFPQRSIIHFAWSAGDFGSGVATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTNSFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARA
AAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLVSARG
DFFRATSRLLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRRHVFWGSG
SHTLPALLENLKLKQKNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
(SEQ ID NO: 105).
```

[0143]

[0144] NCBI 서열 NP_001244232.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 마카카 무라타(Macaca mulatta))에 상응하는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNHVMKLGVDDEENTDNNTKPNGT
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK
LSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH
ANFGTKKDFEDLSDPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPS
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAKSSVGTALLLKLQMFSDMVLKDGFPQRSIIFASWSAGDFGSGATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR
AAAEVAGQFVIKLTHTDELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLISA
RGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPRHVFHWG
SGSHTLSALLESLKLRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
(SEQ ID NO: 106)

[0145]

[0146]

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

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNHVMKLGVDDEENTDNNTKANGT
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK
LSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH
ANFGTKKDFEDLSDPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPS
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAKSSVGTALLLKLQMFSDMVLKDGFPQRSIIFASWSAGDFGSGATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR
AAAEVAGQFVIKLTHTDELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLISA
RGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPRHVFHWG
SGSHTLSALLESLKLRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
(SEQ ID NO: 107).

[0147]

[0148]

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

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNHVMKLAADDEENADNNMKASV
RKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMISGYLYCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETE
DVPTSSRLYWADLKTLLSEKLSNIEFADTIKLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFH
EFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGLDPVESPEGYVAFSKPTEVSGKLV
HANFGTKKDFEELSISVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKFPVVE
ADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAELFGKMEGS
CPARWNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVKGYEEDRYVVVGAQRDA
LGAGVAAKSSVGTGLLLKLQVFSDMISKDGFRPSRSIIFASWTAGDFGAVGATEWLEG
YLSSLHLKAFTYINLDKVVVLGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSN
WISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQM
VRTAAEVAGQLIKLTHTDELNLDYEMYSKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQWLIS
ARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRVFMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESPRHIFHWG
SGSHTLSALVENLKLKRNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF
(SEQ ID NO: 108)

[0149]

[0150]

일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기와 같은 수용체의 아미노산 절편에 결합하고:

FKVIQVKDSAQNSVIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFE
DLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLG
TGDPYTPGFPSFNHTQFPSSRSSLNIPVQTISRAAAELKFGNMEGDCPSDWKTDSTCR
MVTSESKNVKLTVSNVLKE (SEQ ID NO: 109)

[0151] , 트랜스페린 수용체와 트랜스페린 및/또는 (예를 들어, 및) 인간 혈색소증 단백질 (또한 HFE로 공지됨) 사이의 결합 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 109 내의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0152] 적절한 방법론을 사용하여, 예를 들어 재조합 DNA 프로토콜의 사용을 통해 항체, 항체 단편 또는 항원-결합체를 수득하고/거나 (예를 들어, 수득하고) 생산할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 또한 하이브리도마의 생성을 통해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kohler, G and Milstein, C. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity" Nature, 1975, 256: 495-497] 참조). 관심 항원은 임의의 형태 또는 개체, 예를 들어 재조합 또는 자연 발생 형태 또는 개체의 면역원으로서 사용될 수 있다. 하이브리도마는 표준 방법, 예를 들어 ELISA 스크리닝을 사용하여 스크리닝되어, 특정한 항원을 표적화하는 항체를 생산하는 적어도 1종의 하이브리도마를 발견한다. 항체는 또한 항체를 발현하는 단백질 발현 라이브러리, 예를 들어 파지 디스플레이 라이브러리의 스크리닝을 통해 생산될 수 있다. 일부 실시양태에서, 파지 디스플레이 라이브러리 설계가 또한 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,223,409, 출원일 3/1/1991, "Directed evolution of novel binding proteins"; WO 1992/18619, 출원일 4/10/1992, "Heterodimeric receptor libraries using phagemids"; WO 1991/17271, 출원일 5/1/1991, "Recombinant library screening methods"; WO 1992/20791, 출원일 5/15/1992, "Methods for producing members of specific binding pairs"; 및 WO 1992/15679, 출원일 2/28/1992, "Improved epitope displaying phage" 참조). 일부 실시양태에서, 관심 항원이 비-인간 동물, 예를 들어 설치류 또는 염소를 면역화하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체가 이어서 비-인간 동물로부터 수득되고, 다수의 방법론을 사용하여, 예를 들어 재조합 DNA 기술을 사용하여 임의로 변형될 수 있다. 항체 생산 및 방법론의 추가의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Harlow et al. "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988.] 참조).

[0153] 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI 화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약 1-10, 약 1-5, 약 5-10, 약 1-4, 약 1-3 또는 약 2개의 당 분자가 존재한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화 항체는 완전히 또는 부분적으로 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 화학 반응 또는 효소적 수단에 의해 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 시험관내에서 또는 임의로 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소, 예를 들어 글리코실트랜스퍼라제가 결핍되어 있을 수 있는 세포 내부에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 W02014065661 (발명의 명칭: "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof")에 기재된 바와 같이 당 또는 탄수화물 분자로 관능화된다.

[0154] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 2-7 중 어느 하나로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 VL 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) VH 도메인을 포함하고, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 이뮤노글로불린 분자, 임의의 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 임의의 하위부류 (예를 들어, IgG2a 및 IgG2b)의 이뮤노글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. 인간 불변 영역의 비제한적 예는 관련 기술분야에 기재되어 있으며, 예를 들어 상기 문헌 [Kabat E A et al., (1991)]을 참조한다.

[0155] 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체에 결합하는 작용제, 예를 들어 항-TfR1 항체는 근육 세포를 표적화할 수 있고/거나 (예를 들어, 있고) 혈액 내 장벽을 가로지르는 작용제의 수송을 매개할 수 있다. 트랜스페린 수용체는 세포 막을 가로질러 트랜스페린을 수송하고 세포내 철 수준의 조절 및 항상성에 참여하는 내재화 세포 표면 수용체이다. 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 트랜스페린 수용체 결합 단백질을 제공한다. 트랜스페린 수용체에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체에 결

합 시, 예를 들어 수용체-매개된 세포내이입을 통해 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0156] 일부 측면에서, 트랜스페린 수용체에 높은 특이성 및 친화도로 결합하는 인간화 항체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체의 임의의 세포외 에피토프 또는 항체에 노출되게 되는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항-TfR1 항체는 인간, 비-인간 영장류, 마우스, 래트 등으로부터의 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항-TfR1 항체는 인간 트랜스페린 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105-108에 제공된 바와 같은 인간 또는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체의 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체의 정단 도메인에 존재하지 않는, 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 트랜스페린 수용체의 아미노산 90-96에 상응하는 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR1 항체는 TfR1에 결합하지만 TfR2에는 결합하지 않는다.

[0157] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 TfR1 (예를 들어, 인간 또는 비-인간 영장류 TfR1)에 적어도 약 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 결합 친화도 (예를 들어, Kd에 의해 나타낸 바와 같음)로 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 TfR1에 나노몰 미만 범위의 KD로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체 1 (TfR1)에 선택적으로 결합하지만, 트랜스페린 수용체 2 (TfR2)에는 결합하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 인간 TfR1 및 시노 TfR1에 결합하지만 (예를 들어, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 Kd로), 마우스 TfR1에는 결합하지 않는다. 항-TfR1 항체의 친화도 및 결합 동역학은 바이오센서 기술 (예를 들어, 옥테트(OCTET) 또는 비아코어(BIACORE))을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 적합한 방법을 사용하여 시험될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 결합은 TfR1에 대한 트랜스페린 결합과 경쟁하지 않거나 또는 그를 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 결합은 TfR1에 대한 HFE-베타-2-마이크로글로불린 결합과 경쟁하지 않거나 또는 그를 억제하지 않는다.

[0158] 항-TfR1 항체의 비제한적 예가 표 2에 제공된다.

[0159] 표 2. 항-TfR1 항체의 예

Ab	넘버링 시스템	IMGT	카바트	코티아
3-A4	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	WIDPENGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 8)	ENG (SEQ ID NO: 13)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWIGWIDPENGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 17)		
	VL	DIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-A4 N54T*	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPETGDT (SEQ ID NO: 19)	WIDPETGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 20)	ETG (SEQ ID NO: 21)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWIGWIDPETGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 22)		
	VL	DIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-A4 N54S*	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPESGDT (SEQ ID NO: 23)	WIDPESGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 24)	ESG (SEQ ID NO: 25)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWIGWIDPESGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 26)		
	VL	DIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-M12	CDR-H1	GYSITSGYY (SEQ ID NO: 27)	SGYYWN (SEQ ID NO: 33)	GYSITSGY (SEQ ID NO: 38)

[0160]

Ab	넘버링 시스템	IMGT	카바트	코티아
	CDR-H2	ITFDGAN (SEQ ID NO: 28)	YITFDGANNYNPSLKN (SEQ ID NO: 34)	FDG (SEQ ID NO: 39)
	CDR-H3	TRSSYDYDVLVDY (SEQ ID NO: 29)	SSYDYDVLVDY (SEQ ID NO: 35)	SYDYDVLVD (SEQ ID NO: 40)
	CDR-L1	QDISNF (SEQ ID NO: 30)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 36)	SQDISNF (SEQ ID NO: 41)
	CDR-L2	YTS (SEQ ID NO: 31)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 37)	YTS (SEQ ID NO: 31)
	CDR-L3	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)	GHTLPY (SEQ ID NO: 42)
	VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYITFDGAN NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCTRSSYDYDVLVDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 43)		
	VL	DIQMTQTTSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWYQORPDGTVKLLIYTSRLHSGVPS RFGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 44)		
5-H12	CDR-H1	GYSFTDYC (SEQ ID NO: 45)	DYCIN (SEQ ID NO: 51)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 61)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQKQPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRITDFLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
5-H12 C33Y*	CDR-H1	GYSFTDYY (SEQ ID NO: 63)	DYYIN (SEQ ID NO: 64)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYYINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 65)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQKQPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRITDFLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
5-H12 C33D*	CDR-H1	GYSFTDYD (SEQ ID NO: 66)	DYDIN (SEQ ID NO: 67)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)

Ab	넘버링 시스템	IMGT	카바트	코티아
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 68)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQKQPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRITDFLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
항-TfR 클론 8	CDR-H1	GYSFTSYW (SEQ ID NO: 138)	SYWIG (SEQ ID NO: 144)	GYSFTSY (SEQ ID NO: 149)
	CDR-H2	IYPGSDST (SEQ ID NO: 139)	IIYPGSDSTRYSPSFQGG (SEQ ID NO: 145)	GDS (SEQ ID NO: 150)
	CDR-H3	ARFPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 140)	FPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 146)	PYDSSGYYSFD (SEQ ID NO: 151)
	CDR-L1	QSISSY (SEQ ID NO: 141)	RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 147)	SQSISSY (SEQ ID NO: 152)
	CDR-L2	AAS (SEQ ID NO: 142)	AASSLQS (SEQ ID NO: 148)	AAS (SEQ ID NO: 142)
	CDR-L3	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 143)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 143)	SYSTPL (SEQ ID NO: 153)

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

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 2에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 인간화 변이체

이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 2에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나에서의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 인간화 중쇄 가변 영역 및/또는 (예를 들어, 및) 인간화 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0165] 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 아미노산 서열의 예가 표 3에 제공된다.

[0166] 표 3. 항-TfR1 항체의 가변 영역

항체	가변 영역 아미노산 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vk4	V _H : EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ETGDTTEYASKFQDR VTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRGLD YWGGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 69)
	V _L : DIVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSK SLLSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSNLA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQHLEY PFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 (N54S*)/Vk4	V _H : EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ESGDTTEYASKFQDR VTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRGLD YWGGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 71)
	V _L : DIVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSK SLLSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSNLA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQHLEY PFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 /Vk4	V _H : EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ENGDTTEYASKFQDR VTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRGLD YWGGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 72)
	V _L : DIVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSK SLLSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSNLA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQHLEY PFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3M12 VH3/Vk2	V _H : QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTSVTGYSIT SGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITF DGANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVL DY WGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	V _L : DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQDISN FLNWYQQKPGQPVKLLI YTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQGHTLPY TFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH3/Vk3	V _H : QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTSVTGYSIT SGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITF DGANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVL DY WGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	V _L : DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQDISN FLNWYQQKPGQPVKLLI YTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQGHTLPY TFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
3M12 VH4/Vk2	V _H : QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYISIT SGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFD GANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVL DYW GQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	V _L : DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQDISN FLNWYQQKPGQPVKLLI YTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQGHTLPY TFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH4/Vk3	V _H : QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYISIT SGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFD GANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVL DYW GQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	V _L : DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQDISN FLNWYQQKPGQPVKLLI YTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQGHTLPY TFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)

[0167]

항체	가변 영역 아미노산 서열**
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk3	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT DYYINWVRQAPGQGLEWMGWIIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYH GMDYWGQGTLLVTSS (SEQ ID NO: 77) VL: DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASE VDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 78)
5H12 VH5 (C33D*)/Vk4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT DYDINWVRQAPGQGLEWMGWIIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYH GMDYWGQGTLLVTSS (SEQ ID NO: 79) VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASE VDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 80)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT DYYINWVRQAPGQGLEWMGWIIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYH GMDYWGQGTLLVTSS (SEQ ID NO: 77) VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASE VDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 80)
항-TfR 클론 8	VH: QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT SYWIGWVRQMPGKGLEWMGHIIY GSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGY SFDYWGQGTLLVTSS (SEQ ID NO: 154) VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTEIK (SEQ ID NO: 155)

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

** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH를 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 아미노산 변이를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 아미노산 변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체의 VH는 인간화 VH이고/거나, 항-TfR1 항체의 VL은 인간화 VL이다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VH와 비교하여 프레임워크 영역에서 적어도 70% (예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VL과 비교하여 프레임워크 영역에서 적어도 70% (예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체의 VH는 인간화 VH이고/거나, 항-TfR1 항체의 VL은 인간화 VL이다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식

별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

- [0179] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0180] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0181] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0182] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0183] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 154의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0184] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 전장 IgG이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄는 중쇄 불변 영역 (CH) 또는 그의 부분 (예를 들어, CH1, CH2, CH3 또는 그의 조합)을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어 인간, 마우스, 래트 또는 토끼의 것일 수 있다. 하나의 구체적 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG (감마 중쇄), 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 것이다. 인간 IgG1 불변 영역의 예가 하기에 주어진다:
- ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)
- [0185] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄는 돌연변이 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 인간 IgG1의 CH2 도메인에서 LALA 돌연변이 (하부 힌지 잔기 Leu234 Leu235를 Ala234 및 Ala235로 대체하도록 돌연변이된 mAb b12로부터 유래된 돌연변이체)의 도입은 Fcγ 수용체 결합을 감소시키는 것으로 공지되어 있다 (Bruhns, P., et al. (2009) 및 Xu, D. et al. (2000)). 돌연변이 인간 IgG1 불변 영역이 하기에 제공된다 (돌연변이는 볼드체 및 밑줄표시됨):
- ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)
- [0187] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 경쇄는 관련 기술분야에 공지된 임의의 경쇄 불변 영역 (CL)일 수 있는 CL을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 일부 실시양태에서, CL은 카파 경쇄이며, 이의 서열은 하기에 제공된다:
- RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)
- [0189] 다른 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역, 예를 들어 IMGT 데이터베이스 (www.imgt.org) 또는 www.vbase2.org/vbstat.php (둘 다 본원에 참조로 포함됨)에 제공된 것은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.
- [0191] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81 또는 서열식별번호: 82에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81 또는 서

열식별번호: 82와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 82에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0192]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0193]

기재된 항-TfR1 항체의 IgG 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기 표 4에 제공된다.

[0194]

표 4. 항-TfR1 IgG의 예의 중쇄 및 경쇄 서열

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCITASGFNIK DDYMYWVRQPPGKLEWIGWIDPE TGDTYEYASKFODRVT VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCT LWLRRLDYW QGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 84)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS NLASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY PF TF GGG TK VEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCITASGFNIK DDYMYWVRQPPGKLEWIGWIDPE SGDTEYASKFODRVT VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCT LWLRRLDYW QGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 86)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS NLASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY PF TF GGG TK VEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 /Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCITASGFNIK DDYMYWVRQPPGKLEWIGWIDPE NGDTEYASKFODRVT VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCT LWLRRLDYW QGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 87)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS NLASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY PF TF GGG TK VEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLCSVTGY SITSGY YWNWIROP PGKLEWMGYITFD GANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATY YCTRSSYDYDVL DYW G QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 88)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS NLASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY PF TF GGG TK VEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)

[0195]

항제	IgG 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASODISNFLN</u><u>WYQQKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTIS</u><u>SLOPEDFATYFCQQGHTLPYTF</u><u>GOGKLEIKRTVAAP</u> <u>SVFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLLNNFY</u><u>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYLSSTLTLSKADYE</u><u>KKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTL</u><u>SLTCSVTGYSITSGYYWNWIROPPGKGLEWMGYITFD</u> <u>GANNYNPSLKNRVSISRDT</u><u>SKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDYYDVL</u><u>DYWG</u> <u>QGITVTVSSASTKGPSVF</u><u>PLAPSSKSTSGGTAA</u><u>LGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLY</u><u>SLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u><u>VDDKVEPKSC</u> <u>DKTHTCPPCPAPELLG</u><u>GPSVFLFPPKPKD</u><u>TLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN</u> <u>WYVDGVEVHNAKTKP</u><u>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQD</u><u>WLN</u><u>NGKEYCKVSNKALP</u> <u>APIETISKAKGQPREPQ</u><u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF</u><u>YPSDIAVEWESNGQ</u> <u>PENNYKTTTPVLDSDGS</u><u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u><u>FSCVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>SLSPGK</u> (SEQ ID NO: 88) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASODISNFLN</u><u>WYQQKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTIS</u><u>SLOPEDFATYYCQQGHTLPYTF</u><u>GOGKLEIKRTVAA</u> <u>PSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLLNNFY</u><u>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS</u> <u>KDSTYLSSTLTLSKADYE</u><u>KKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTL</u><u>SLTCTVTGYSITSGYYWNWIROPPGKGLEWIGYITFDG</u> <u>ANNYNPSLKNRVSISRDT</u><u>SKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDYYDVL</u><u>DYWGQ</u> <u>GTTVTVSSASTKGPSVF</u><u>PLAPSSKSTSGGTAA</u><u>LGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALT</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLY</u><u>SLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u><u>VDDKVEPKSCD</u> <u>KTHTCPPCPAPELLG</u><u>GPSVFLFPPKPKD</u><u>TLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHNAKTKP</u><u>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQD</u><u>WLN</u><u>NGKEYCKVSNKALPA</u> <u>PIEKTISKAKGQPREPQ</u><u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF</u><u>YPSDIAVEWESNGQP</u> <u>ENNYKTTTPVLDSDGS</u><u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u><u>FSCVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>LSPGK</u> (SEQ ID NO: 91) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASODISNFLN</u><u>WYQQKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTIS</u><u>SLOPEDFATYFCQQGHTLPYTF</u><u>GOGKLEIKRTVAA</u> <u>SVFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLLNNFY</u><u>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYLSSTLTLSKADYE</u><u>KKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTL</u><u>SLTCTVTGYSITSGYYWNWIROPPGKGLEWIGYITFDG</u> <u>ANNYNPSLKNRVSISRDT</u><u>SKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR</u><u>SSYDYYDVL</u><u>DYWGQ</u> <u>GTTVTVSSASTKGPSVF</u><u>PLAPSSKSTSGGTAA</u><u>LGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALT</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLY</u><u>SLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u><u>VDDKVEPKSCD</u> <u>KTHTCPPCPAPELLG</u><u>GPSVFLFPPKPKD</u><u>TLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHNAKTKP</u><u>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQD</u><u>WLN</u><u>NGKEYCKVSNKALPA</u> <u>PIEKTISKAKGQPREPQ</u><u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF</u><u>YPSDIAVEWESNGQP</u> <u>ENNYKTTTPVLDSDGS</u><u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u><u>FSCVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>LSPGK</u> (SEQ ID NO: 91) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASODISNFLN</u><u>WYQQKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTIS</u><u>SLOPEDFATYYCQQGHTLPYTF</u><u>GOGKLEIKRTVAA</u> <u>PSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u><u>VCLLNNFY</u><u>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS</u> <u>KDSTYLSSTLTLSKADYE</u><u>KKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 90)

[0196]

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYYINWVROAPGQGLEWMGWIYP GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYHGM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNFSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRAS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLSQAEDVAVYYCQOSSEDPWTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYDINWVROAPGQGLEWMGWIYP GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYHGM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNFSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLSQAEDVAVYYCQOSSEDPWTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYYINWVROAPGQGLEWMGWIYP GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYHGM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNFSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLSQAEDVAVYYCQOSSEDPWTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
항-TfR 클론 8	VH: QVQLVQSGAEVKKPGESLKISKCKSGYSFTSYWIGWVROMPGKGLEWMGHIYPG DSDFTRYSPSFOGQVITISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYCARFPYDSSGYYSF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 156)

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
	VL: DIOMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLOS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLSQPEDFATYYCQOSYSTPLTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)

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

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

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92, 94 및 156 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

- [0202] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92, 94 및 156 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92, 94 및 156 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0203] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0204] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0205] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0206] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0207] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0208] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0209] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0210] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0211] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0212] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0213] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0214] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 무손상 항체 (전장 항체)의 Fab 단편, Fab' 단편 또는 F(ab')₂ 단편이다. 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편은 상용 방법을 통해 (예를 들어, 재조합적으로 또는 전장 IgG의 중쇄 불변 영역을 효소, 예컨대 파파인을 사용하여 소화시킴으로써) 제조될 수 있다. 예를 들어, F(ab')₂ 단편은 항체 분자의 펩신 또는 파파인 소화에 의해 생산될 수 있고, Fab 단편은 F(ab')₂ 단편의 디설파이드 가교를 환원 시킴으로써 생성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 Fab 단편 내의 중쇄 불변 영역은 하기의 아미노산 서열을 포함한다:
- ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:
96)
- [0215]
- [0216] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3,

2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열 식별번호: 96에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0217]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열 식별번호: 83에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0218]

기재된 항-TfR1 항체의 Fab 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기 표 5에 제공된다.

[0219]

표 5. 항-TfR1 Fab의 예의 중쇄 및 경쇄 서열

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>EVOLVQSGSELKPGASVKVSC</u> TASGFNIK DDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE TGDT <u>TEYASKFQDRVT</u> VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRLGLDYW <u>GQGT</u> LTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 97)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIVMTQSP</u> LSLPVTPGEPASISCR SSKSL <u>HSNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u> <u>NLASGV</u> PDREFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY <u>PF</u> TGGG TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>EVOLVQSGSELKPGASVKVSC</u> TASGFNIK DDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE SGDTEY <u>ASKFQDRVT</u> VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRLGLDYW <u>GQGT</u> LTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 98)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIVMTQSP</u> LSLPVTPGEPASISCR SSKSL <u>HSNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u> <u>NLASGV</u> PDREFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY <u>PF</u> TGGG TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>EVOLVQSGSELKPGASVKVSC</u> TASGFNIK DDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE NGDTEY <u>ASKFQDRVT</u> VTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL WLRRLGLDYW <u>GQGT</u> LTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 99)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIVMTQSP</u> LSLPVTPGEPASISCR SSKSL <u>HSNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u> <u>NLASGV</u> PDREFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMOHLEY <u>PF</u> TGGG TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>QVQLQESGPGLVKPSQ</u> TLSTCSVTGY SITSGYYWN WIROPPGKGLEWMG YITFD GANNYNPSL KNRVSISRDTSKNOFSLKLSVTAEDTATYY CTRSSYDYDVL LDYWG <u>QGT</u> TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHT (SEQ ID NO: 100)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIQMTQSP</u> SSLSASVGDRTIT CRASQDIS NFLNWYQOKPGOPVKLLI YTSRLHS <u>GVPSRF</u> SGSGGTDFTLTISLQPEDFATY FCQOQHTLPY TGGG TKLEIK RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) <u>QVQLQESGPGLVKPSQ</u> TLSTCSVTGY SITSGYYWN WIROPPGKGLEWMG YITFD GANNYNPSL KNRVSISRDTSKNOFSLKLSVTAEDTATYY CTRSSYDYDVL LDYWG <u>QGT</u> TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHT (SEQ ID NO: 100)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) <u>DIQMTQSP</u> SSLSASVGDRTIT CRASQDIS NFLNWYQOKPGOPVKLLI YTSRLHS <u>GVPSRF</u> SGSGGTDFTLTISLQPEDFATY FCQOQHTLPY TGGG TKLEIK RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)

[0220]

항제	Fab 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASODISNFLNWWYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCOOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFFPDSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROPKGLLEWIGYITFDG ANNYNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWGQ GTTVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHT (SEQ ID NO: 101) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASODISNFLNWWYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCOOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAA SVFIFFPDSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROPKGLLEWIGYITFDG ANNYNPSLKNRVISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWGQ GTTVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHT (SEQ ID NO: 101) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASODISNFLNWWYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCOOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFFPDSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYINWVROAPGQGLEWMGWYIP GSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDATVYYCAREDYPPYHGM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNSEFMHWYQOKPGOPPKLLIFRAS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEADVAVYYCOQSEDPWTFGQGTKLEIKR TVAAAPSVFIFFPDSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREKAVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYINWVROAPGQGLEWMGWYIP GSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDATVYYCAREDYPPYHGM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 103) 경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNSEFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEADVAVYYCOQSEDPWTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFFPDSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREKAVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTDYINWVROAPGQGLEWMGWYIP GSGNTRYSERFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDATVYYCAREDYPPYHGM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)

[0221]

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐) DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA SNLESVGPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCOQSEDPWTFGGGKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
항-TfR 클론 8 버전 1	VH: QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVROMPGKGLEWMGHYPG DSDTRYSPSFGQVITISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGYYSF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 158) VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCOQSYSTPLTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)
항-TfR 클론 8 버전 2	VH: QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVROMPGKGLEWMGHYPG DSDTRYSPSFGQVITISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGYYSF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 159) VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCOQSYSTPLTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)

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

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

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97-103, 158 및 159 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97-103, 158 및 159 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%만큼 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97-103, 158 및 159 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

- [0233] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0234] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0235] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0236] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0237] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 158의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0238] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0239] 다른 공지된 항-TfR1 항체
- [0240] 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 적절한 항-TfR1 항체가 본원에 개시된 복합체에서 근육-표적화제로서 사용될 수 있다. 공지된 항-TfR1 항체의 예가 연관된 참고문헌 및 결합 에피토프를 포함하여 표 6에 열거된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 제공된 항-TfR1 항체, 예를 들어 표 6에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 상보성 결정 영역 (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)을 포함한다.

[0241] 표 6 - 항-TfR1 항체 클론의 목록, 연관된 참고문헌 및 결합 에피토프 정보 포함.

항체 클론 명칭	참고문헌(들)	에피토프 / 설명
OKT9	미국 특허 번호 4,364,934, 출원일 12/4/1979, 발명의 명칭 “MONOCLONAL ANTIBODY TO A HUMAN EARLY THYMOCYTE ANTIGEN AND METHODS FOR PREPARING SAME” Schneider C. et al. “Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9.” J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.	TfR1의 정단 도메인 (진뱅크에서 입수가능한 인간 TfR1 서열 XM_052730.3의 잔기 305-366)
(JCR로부터) 클론 M11 클론 M23 클론 M27 클론 B84	- WO 2015/098989, 출원일 12/24/2014, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier” - 미국 특허 번호 9,994,641, 출원일 12/24/2014, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”	정단 도메인 (TfR1의 잔기 230-244 및 326-347) 및 프로테아제-유사 도메인 (잔기 461-473)
(제넨테크로부터) 7A4, 8A2, 15D2, 10D11, 7B10, 15G11, 16G5, 13C3, 16G4, 16F6, 7G7, 4C2, 1B12, 및 13D4	- WO 2016/081643, 출원일 5/26/2016, 발명의 명칭 “ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE” - 미국 특허 번호 9,708,406, 출원일 5/20/2014, “Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use”	정단 도메인 및 비-정단 영역
(아마젠으로부터) 8D3	- Lee et al. “Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse” 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052. - 미국 특허 출원 2010/077498, 출원일 9/11/2008, 발명의 명칭 “COMPOSITIONS AND METHODS FOR BLOOD-BRAIN BARRIER DELIVERY IN THE MOUSE”	
OX26	Haobam, B. et al. 2014. Rab17-mediated recycling endosomes contribute to autophagosome formation in response to Group A Streptococcus invasion. Cellular microbiology. 16: 1806-21.	
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).	

[0242]

항체 클론 명칭	참고문헌(들)	에피토프 / 설명		
1A1B2, 66IG10, MEM-189, JF0956, 29806, 1A1B2, TFRC/1818, 1E6, 66Ig10, TFRC/1059, Q1/71, 23D10, 13E4, TFRC/1149, ER-MP21, YTA74.4, BU54, 2B6, RI7 217	상업적으로 입수가 가능한 항-트랜스페린 수용체 항체.	노부스 바이올로지칼스, 미국 80120 콜로라도주 리틀톤 A-8 사우스파크 웨이 8100		
(INSERM으로부터) BA120g	미국 특허 출원 2011/0311544A1, 출원일 6/15/2005, 발명의 명칭 “ANTI-CD71 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF FOR TREATING MALIGNANT TUMOR CELLS”	OKT9와 경쟁하지 않음		
LUCA31	미국 특허 번호 7,572,895, 출원일 6/7/2004, 발명의 명칭 “TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES”	“LUCA31 에피토프”		
(솔크 연구소) B3/25 T58/30	Trowbridge, I.S. et al. “Anti-transferrin receptor monoclonal antibody and toxin-antibody conjugates affect growth of human tumour cells.” Nature, 1981, volume 294, pages 171-173			
R17 217.1.3, 5E9C11, OKT9 (BE0023 클론)	상업적으로 입수가 가능한 항-트랜스페린 수용체 항체.	바이오엑셀, 미국 03784-1671 뉴햄프셔주 웨스트 레마논 스위트 2B 테크놀로지 드라이브 10		
BK19.9, B3/25, T56/14 및 T58/1	Gatter, K.C. et al. “Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance.” J Clin Pathol. 1983 May;36(5):539-45.			
항-TfR1 항체				
CDRH1 (SEQ ID NO: 952)				
CDRH2 (SEQ ID NO: 953)				
CDRH3 (SEQ ID NO: 954)				
CDRL1 (SEQ ID NO: 955)				
CDRL2 (SEQ ID NO: 956)				
CDRL3 (SEQ ID NO: 957)				
VH (SEQ ID NO: 958)				
VL (SEQ ID NO: 959)				
추가의 항-TfR1 항체 SEQ ID NO				
	VH/VL	CDR1	CDR2	CDR3
VH1	967	960	961	954
VH2	968	960	962	954
VH3	969	960	963	954
VH4	970	960	962	954
VL1	971	955	956	115
VL2	972	955	956	115
VL3	973	955	964	957
VL4	974	965	966	957

[0243]

[0244]

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나로부터의 CDR-H (예를 들어, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3) 아미노산 서열 중 1개 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다.

[0245]

일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인을 포함하는 임의의 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 및 경쇄 가변 쌍을 포함하는 임의의 항체를 포함한다.

[0246]

본 개시내용의 측면은 본원에 기재된 것들 중 어느 것에 상동인 중쇄 가변 (VH) 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 (VL) 도메인 아미노산 서열을 갖는 항-TfR1 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 서열 및/또는 임의의 경쇄 가변 서열에 대해 적어도 75% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 중쇄 가변 서열 또는 경쇄 가변 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상동 중쇄 가변 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 아미노산 서열은 본원에 제공된 임의의 CDR 서열 내에서 달라지지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 서열 변이의 정도 (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%)는 본원에 제공된 임의의 CDR 서열을 제외한 중쇄

가변 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 서열 내에서 발생할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 것은 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 프레임워크 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 프레임워크 서열을 포함하는 중쇄 가변 서열 및 경쇄 가변 서열을 포함한다.

[0247] 본 개시내용에 따라 사용될 수 있는 트랜스페린 수용체 항체의 예는 국제 출원 공개 WO 2016/081643 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다. 이 항체의 아미노산 서열이 표 7에 제공된다.

[0248] 표 7. 공지된 항-TfR1 항체의 예의 중쇄 및 경쇄 CDR

서열 유형	카바트	코티아	접촉
CDR-H1	SYWMH (SEQ ID NO: 110)	GYTFTSY (SEQ ID NO: 116)	TSYWMH (SEQ ID NO: 118)
CDR-H2	EINPTNGRTNYIE KFKS (SEQ ID NO: 111)	NPTNGR (SEQ ID NO: 117)	WIGEINPTNGRTN (SEQ ID NO: 119)
CDR-H3	GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)	GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)	ARGTRA (SEQ ID NO: 120)
CDR-L1	RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)	RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)	YSNLAWY (SEQ ID NO: 121)
CDR-L2	DATNLAD (SEQ ID NO: 114)	DATNLAD (SEQ ID NO: 114)	LLVYDATNLA (SEQ ID NO: 122)
CDR-L3	QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)	QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)	QHFWGTPL (SEQ ID NO: 123)
뮤린 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 124)		
뮤린 VL	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKSPQLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYQCQHFHWGTPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 125)		
인간화 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMTVTSS (SEQ ID NO: 128)		
인간화 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 129)		
키메라 전장 IgG의 HC	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 132)		
키메라 전장 IgG의 LC	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKSPQLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYQCQHFHWGTPLTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 133)		
완전 인간 전장 IgG1의 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)		
완전 인간 전장 IgG1의 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 135)		
키메라 Fab의 HC	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 136)		

[0249]

서열 유형	카바트	코티아	접촉
완전 인간 Fab의 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 137)		

[0250]

[0251] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는

표 7에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3과 동일한 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다.

- [0252] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L3과 비교하여 3개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L3과 비교하여 1개의 아미노산 변이를 함유하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 QHFAGTPLT (서열식별번호: 126) (카바트 및 코티아 정의 시스템에 따름) 또는 QHFAGTPL (서열식별번호: 127) (접촉 정의 시스템에 따름)의 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1 및 CDR-L2를 포함하고, QHFAGTPLT (서열식별번호: 126) (카바트 및 코티아 정의 시스템에 따름) 또는 QHFAGTPL (서열식별번호: 127) (접촉 정의 시스템에 따름)의 CDR-L3을 포함한다.
- [0253] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 중쇄 CDR에 대해 집합적으로 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 중쇄 CDR을 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 경쇄 CDR에 대해 집합적으로 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 경쇄 CDR을 포함한다.
- [0254] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0255] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0256] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 128에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 129에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 15개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VL을 포함한다.
- [0257] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 전장 IgG1 항체이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄는 중쇄 불변 영역 (CH) 또는 그의 부분 (예를 들어, CH1, CH2, CH3 또는 그의 조합)을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어 인간, 마우스, 래트 또는 토끼의 것일 수 있다. 하나의 구체적인 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG (감마 중쇄), 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 것이다. 인간 IgG1 불변 영역의 예가 하기에 주어진다:
- ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDITLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)
- [0258]
- [0259] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 경쇄는 관련 기술분야에 공지된 임의의 경쇄 불변 영역 (CL)일 수 있는 CL을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 일부 실시양태에서, CL은 카파 경쇄이며, 이의 서열은 하기에 제공된다:
- RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDDSTYSLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)
- [0260]
- [0261] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 키메라 항체이다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

- [0262] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 완전 인간 항체이다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0263] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편 (Fab)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0264] 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 무손상 (즉, 전장) 항체, 그의 항원-결합 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 쇄 항체, 이중특이적 항체 또는 나노바디를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 항체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 scFv이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 scFv-Fab (예를 들어, 불변 영역의 부분에 융합된 scFv)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 불변 영역 (예를 들어, 서열식별번호: 81에 제시된 바와 같은 인간 IgG1 불변 영역)에 융합된 scFv이다.
- [0265] 일부 실시양태에서, 보존적 돌연변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 표적 항원 (예를 들어, 트랜스페린 수용체)과 상호작용하는 데 관여할 가능성이 없는 위치에서 항체 서열 (예를 들어, CDR 또는 프레임워크 서열) 내로 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 항원-의 존성 세포성 세포독성을 변경시킨다.
- [0266] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가, 예를 들어 미국 특허 번호 5,677,425에 기재된 바와 같이 Fc 영역의 힌지 영역 (CH1 도메인) 내로 도입되어 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는 변경되어, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키거나 또는 링커 접합을 용이하게 할 수 있다.
- [0267] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체 (예를 들어, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시킨다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역 내의 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 그의 단편 내로 이러한 돌연변이를 도입하는 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변경시키도록 제조될 수 있는 항체의 Fc 수용체 내의 돌연변이의 예는, 예를 들어 문헌 [Smith P et al., (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 번호 6,737,056 및 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631에 기재되어 있으며, 이들은 본원에 참조로 포함된다.
- [0268] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킨다. 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예에 대해서는, 예를 들어 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 5,869,046, 6,121,022, 6,277,375 및 6,165,745를 참조한다.
- [0269] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-TfR1 항체의 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 제2 불변 (CH2) 도메인 (인간 IgG1의 잔기

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

[0270] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과와 아미노산 치환이 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입되어 항-TfR1 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시킨다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 종양 국제화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 불활성화시켜 종양 국제화를 증가시키는 돌연변이의 기재에 대해서는 미국 특허 번호 5,585,097 및 8,591,886을 참조한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환이 본원에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거할 수 있으며, 이는 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조).

[0271] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 불변 영역 내의 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체되어 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 변형되어 항체 의존성 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 (예를 들어, 증가시키고) Fc γ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다.

[0272] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인(들) 서열(들)은, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 CDR-그래프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 인간 항체 또는 항원-결합 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에 제공된 임의의 항체로부터 유래된 임의의 변이체, CDR-그래프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 유용할 수 있고, 이러한 변이체, CDR-그래프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 그 가 유래한 원래 항체에 비해 트랜스페린 수용체에 대한 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과와 결합을 갖도록, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0273] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 바람직한 특성을 항체에 부여하는 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 천연 IgG4 mAb에 의해 발생하는 것으로 공지된 Fab-아암 교환으로 인한 잠재적 합병증을 피하기 위해, 본원에 제공된 항체는 세린 228 (EU 넘버링; 카바트 넘버링의 잔기 241)이 프롤린으로 전환되어 IgG1-유사 힌지 서열을 생성하는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993). 따라서, 임의의 항체는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0274] 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약 1-

10, 약 1-5, 약 5-10, 약 1-4, 약 1-3 또는 약 2개의 당 분자가 존재한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화 항체는 완전히 또는 부분적으로 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 화학 반응 또는 효소적 수단에 의해 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 시험관내에서 또는 임의로 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소, 예를 들어 글리코실트랜스퍼라제가 결핍되어 있을 수 있는 세포 내부에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 W02014065661 (발명의 명칭: "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof")에 기재된 바와 같이 당 또는 탄수화물 분자로 관능화된다.

[0275] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 서열에 신호 펩티드 (예를 들어, N-말단 신호 펩티드)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 VH 및 VL 서열 중 어느 하나, IgG 중쇄 및 경쇄 서열 중 어느 하나, 또는 F(ab') 중쇄 및 경쇄 서열 중 어느 하나를 포함하고, 신호 펩티드 (예를 들어, N-말단 신호 펩티드)를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드는 MGWSCILFLVATATGVHS (서열식별번호: 104)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0276] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 1종 이상의 번역후 변형을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성 (피로-Glu)으로도 또한 불리는 N-말단 고리화는 생산 동안 항체에서 N-말단 글루타메이트 (Glu) 및/또는 글루타민 (Gln) 잔기에서 발생할 수 있다. 따라서, N-말단 글루타메이트 또는 글루타민 잔기를 포함하는 서열을 갖는 것으로 명시된 항체는 번역후 변형으로부터 생성된 피로글루타메이트 형성을 겪은 항체를 포괄한다는 것이 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성은 중쇄 서열에서 발생한다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성은 경쇄 서열에서 발생한다.

[0277] b. 다른 근육-표적화 항체

[0278] 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 헤모주벨린, 카베올린-3, 뒤시엔스 근육 이영양증 펩티드, 미오신 IIb 또는 CD63에 특이적으로 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근원성 전구체 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 근원성 전구체 단백질은 비제한적으로 ABCG2, M-카드헤린/카드헤린-15, 카베올린-1, CD34, FoxK1, 인테그린 알파 7, 인테그린 알파 7 베타 1, MYF-5, MyoD, 미오게닌, NCAM-1/CD56, Pax3, Pax7 및 Pax9를 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 골격근 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 골격근 단백질은 비제한적으로 알파-사르코글리칸, 베타-사르코글리칸, 칼파인 억제제, 크레아틴 키나제 MM/CKMM, eIF5A, 엔올라제 2/뉴런-특이적 엔올라제, 엡실론-사르코글리칸, FABP3/H-FABP, GDF-8/미오스타틴, GDF-11/GDF-8, 인테그린 알파 7, 인테그린 알파 7 베타 1, 인테그린 베타 1/CD29, MCAM/CD146, MyoD, 미오게닌, 미오신 경쇄 키나제 억제제, NCAM-1/CD56 및 트로포닌 I을 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 평활근 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 평활근 단백질은 비제한적으로 알파-평활근 액틴, VE-카드헤린, 칼데스몬/CALD1, 칼포닌 1, 데스민, 히스타민 H2 R, 모틸린 R/GPR38, 트랜스젤린/TAGLN 및 비멘틴을 포함한다. 그러나, 추가의 표적에 대한 항체는 본 개시내용의 범주 내에 있고, 본원에 제공된 표적의 예시적인 목록은 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 것이 인지될 것이다.

[0279] c. 항체 특색/변경

[0280] 일부 실시양태에서, 보존적 돌연변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 표적 항원 (예를 들어, 트랜스페린 수용체)과 상호작용하는 데 관여할 가능성이 없는 위치에서 항체 서열 (예를 들어, CDR 또는 프레임워크 서열) 내로 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시킨다.

[0281] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가, 예를 들어 미국 특허 번호 5,677,425에 기재된 바와 같이 Fc 영역의 힌지 영역 (CH1 도메인) 내로 도입되어 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는 변경되어, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키거나 또는 링커 접합을 용이하게 할 수 있다.

[0282] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화

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

[0283] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과인 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킨다. 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예에 대해서는, 예를 들어 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 5,869,046, 6,121,022, 6,277,375 및 6,165,745를 참조한다.

[0284] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과인 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-트랜스페린 수용체 항체의 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과인 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 제2 불변 (CH2) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 불변 (CH3) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447)에 1개 이상의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환)를 가질 수 있으며, 여기서 넘버링은 카바트에서의 EU 인덱스에 따른다 (Kabat E A et al., (1991) 상기 문헌). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 IgG1의 불변 영역은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 위치 252에서의 메티오닌 (M)에서 티로신 (Y)으로의 치환, 위치 254에서의 세린 (S)에서 트레오닌 (T)으로의 치환, 및 위치 256에서의 트레오닌 (T)에서 글루탐산 (E)으로의 치환을 포함한다. 미국 특허 번호 7,658,921을 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. "YTE 돌연변이체"로 지칭되는 이러한 유형의 돌연변이 IgG는 동일한 항체의 야생형 버전과 비교하여 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 일부 실시양태에서, 항체는 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 위치 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 및 428-436에서의 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 또는 그 초과인 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.

[0285] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과인 아미노산 치환이 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입되어 항-트랜스페린 수용체 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시킨다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 중앙 국제화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 불활성화시켜 중앙 국제화를 증가시키는 돌연변이의 기재에 대해서는 미국 특허 번호 5,585,097 및 8,591,886을 참조한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환이 본원에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거할 수 있으며, 이는 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조).

[0286] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 불변 영역 내의 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체되어 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 변형되어 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 (예를 들어, 증가시키고) Fc γ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다.

[0287] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인(들) 서열(들)은, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 CDR-그래프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 인간 항체 또는 항원-

결합 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에 제공된 임의의 항체로부터 유래된 임의의 변이체, CDR-그래프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 유용할 수 있고, 이러한 변이체, CDR-그래프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 그 가 유래한 원래 항체에 비해 트랜스페린 수용체에 대한 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과와 결합을 갖도록, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0288] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 바람직한 특성을 항체에 부여하는 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 천연 IgG4 mAb에 의해 발생하는 것으로 공지된 Fab-아암 교환으로 인한 잠재적 합병증을 피하기 위해, 본원에 제공된 항체는 세린 228 (EU 넘버링; 카바트 넘버링의 잔기 241)이 프롤린으로 전환되어 IgG1-유사 힌지 서열을 생성하는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993). 따라서, 임의의 항체는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0289] 본원에 제공된 바와 같이, 본 개시내용의 항체는 임의로 불변 영역 또는 그의 일부를 포함할 수 있다. 예를 들어, VL 도메인은 그의 C-말단 단부에서 경쇄 불변 도메인, 예컨대 C_κ 또는 C_λ에 부착될 수 있다. 유사하게, VH 도메인 또는 그의 부분은 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 및 임의의 이소형 하위부류와 같은 중쇄의 모두 또는 일부에 부착될 수 있다. 항체는 적합한 불변 영역을 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md. (1991)] 참조). 따라서, 본 개시내용의 범주 내의 항체는 임의의 적합한 불변 영역과 조합된 VH 및 VL 도메인 또는 그의 항원 결합 부분을 포함할 수 있다.

[0290] ii. 근육-표적화 펩티드

[0291] 본 개시내용의 일부 측면은 근육-표적화제로서의 근육-표적화 펩티드를 제공한다. 특이적 세포 유형에 결합하는 짧은 펩티드 서열 (예를 들어, 5-20개의 아미노산 길이의 펩티드 서열)이 기재되었다. 예를 들어, 세포-표적화 펩티드는 문헌 [Vines e., et al., A. "Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery" Biochim Biophys Acta 2008, 1786: 126-38; Jarver P., et al., "In vivo biodistribution and efficacy of peptide mediated delivery" Trends Pharmacol Sci 2010; 31: 528-35; Samoylova T.I., et al., "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening" Muscle Nerve 1999; 22: 460-6]; 2001년 12월 11일에 허여된 미국 특허 번호 6,329,501 (발명의 명칭: "METHODS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING COMPOUNDS TO MUSCLE"); 및 [Samoylov A.M., et al., "Recognition of cell-specific binding of phage display derived peptides using an acoustic wave sensor." Biomol Eng 2002; 18: 269-72]에 기재되었으며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 특이적 세포 표면 항원 (예를 들어, 수용체)과 상호작용하는 펩티드를 설계함으로써, 목적하는 조직, 예를 들어 근육에 대한 선택성이 달성될 수 있다. 골격근-표적화가 연구되었고, 다양한 분자 페이로드가 전달될 수 있다. 이들 접근법은 대형 항체 또는 바이러스 입자의 많은 실제 단점 없이 근육 조직에 대한 높은 선택성을 가질 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 4 내지 50개의 아미노산 길이인 근육-표적화 펩티드이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 아미노산 길이이다. 근육-표적화 펩티드는 임의의 여러 방법, 예컨대 파지 디스플레이를 사용하여 생성될 수 있다.

[0292] 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 특정 다른 세포와 비교하여 근육 세포에서 과다발현되거나 비교적 고도로 발현되는 내재화 세포 표면 수용체, 예를 들어 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 트랜스페린 수용체를 표적화할 수 있고, 예를 들어 그에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 자연 발생 리간드의 절편, 예를 들어 트랜스페린을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 미국 특허 번호 6,743,893, 출원일 11/30/2000, "RECEPTOR-MEDIATED UPTAKE OF PEPTIDES THAT BIND THE HUMAN TRANSFERRIN RECEPTOR"에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 문헌 [Kawamoto, M. et al., "A novel transferrin receptor-targeted hybrid peptide disintegrates cancer cell membrane to induce rapid killing of cancer cells." BMC Cancer. 2011 Aug 18;11:359]에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 미국 특허 번호 8,399,653, 출원일 5/20/2011, "TRANSFERRIN/TRANSFERRIN RECEPTOR-MEDIATED SIRNA DELIVERY"에 기재된 바와 같다.

[0293] 상기 논의된 바와 같이, 근육 표적화 펩티드의 예가 보고되었다. 예를 들어, 표면 헵타펩티드를 제시하는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 근육-특이적 펩티드가 확인되었다. 한 예로서, 아미노산 서열 ASSLNIA (서열식별번호: 943)를 갖는 펩티드는 시험관내에서 C2C12 뮤린 근관에 결합하고, 생체내에서 마우스 근육 조직에 결합하였다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 아미노산 서열 ASSLNIA (서열식별번호: 943)를 포함한다. 이러한 펩티드는 간, 신장 및 뇌에 대한 결합이 감소된 마우스에서 정맥내 주사 후 심장 및 골격근 조직에 대한 결합에 대해 개선된 특이성을 나타냈다. 추가의 근육-특이적 펩티드는 파지 디스플레이를 사용하여 확인되었다. 예를 들어, 뒤시엔느 근육 이영양증에 대한 치료와 관련하여 근육 표적화를 위한 파지 디스플레이 라이브러리에 의해 12개 아미노산 펩티드가 확인되었다. 문헌 [Yoshida D., et al., "Targeting of salicylate to skin and muscle following topical injections in rats." *Int J Pharm* 2002; 231: 177-84]을 참조하며, 이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 여기서, 서열 SKTFNTHPQSTP (서열식별번호: 944)를 갖는 12개 아미노산 펩티드가 확인되었고, 이 근육-표적화 펩티드는 ASSLNIA (서열식별번호: 943) 펩티드에 비해 C2C12 세포에 대한 개선된 결합을 나타냈다.

[0294] 다른 세포 유형에 비해 근육 (예를 들어, 골격근)에 대해 선택적인 펩티드를 확인하기 위한 추가의 방법은 문헌 [Ghosh D., et al., "Selection of muscle-binding peptides from context-specific peptide-presenting phage libraries for adenoviral vector targeting" *J Virol* 2005; 79: 13667-72] (이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 시험관내 선택을 포함한다. 무작위 12량체 펩티드 파지 디스플레이 라이브러리를 비-근육 세포 유형의 혼합물과 함께 사전-인큐베이션함으로써, 비-특이적 세포 결합제를 선택하였다. 선택 라운드 후, 12개 아미노산 펩티드 TARGEHKEELI (서열식별번호: 945)가 가장 빈번하게 나타났다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 아미노산 서열 TARGEHKEELI (서열식별번호: 945)를 포함한다.

[0295] 근육-표적화제는 아미노산-함유 분자 또는 펩티드일 수 있다. 근육-표적화 펩티드는 근육 세포에서 발견된 단백질 수용체에 우선적으로 결합하는 단백질의 서열에 상응할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 높은 경향의 소수성 아미노산, 예를 들어 발린을 함유하여, 펩티드가 근육 세포를 우선적으로 표적화하도록 한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 이전에 특징화되거나 개시되지 않았다. 이들 펩티드는 임의의 여러 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이된 펩티드 라이브러리, 1-비드 1-화합물 펩티드 라이브러리, 또는 위치 스캐닝 합성 펩티드 조합 라이브러리를 사용하여 고안, 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Gray, B.P. and Brown, K.C. "Combinatorial Peptide Libraries: Mining for Cell-Binding Peptides" *Chem Rev.* 2014, 114:2, 1020-1081.; Samoylova, T.I. and Smith, B.F. "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening." *Muscle Nerve*, 1999, 22:4. 460-6.). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 이전에 개시되었다 (예를 들어, 문헌 [Writer M.J. et al. "Targeted gene delivery to human airway epithelial cells with synthetic vectors incorporating novel targeting peptides selected by phage display." *J. Drug Targeting*. 2004;12:185; Cai, D. "BDNF-mediated enhancement of inflammation and injury in the aging heart." *Physiol Genomics*. 2006, 24:3, 191-7.; Zhang, L. "Molecular profiling of heart endothelial cells." *Circulation*, 2005, 112:11, 1601-11.; McGuire, M.J. et al. "In vitro selection of a peptide with high selectivity for cardiomyocytes in vivo." *J Mol Biol.* 2004, 342:1, 171-82.] 참조). 예시적인 근육-표적화 펩티드는 하기 군의 아미노산 서열을 포함한다: CQAQGQLVC (서열식별번호: 946), CSERSMNFC (서열식별번호: 947), CPKTRRVPC (서열식별번호: 948), WLSEAGPVVTVRALRGTSW (서열식별번호: 949), ASSLNIA (서열식별번호: 943), CMQHSRVC (서열식별번호: 950) 및 DDTRHWG (서열식별번호: 951). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 약 2-25개의 아미노산, 약 2-20개의 아미노산, 약 2-15개의 아미노산, 약 2-10개의 아미노산 또는 약 2-5개의 아미노산을 포함할 수 있다. 근육-표적화 펩티드는 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β -아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 선형일 수 있고; 다른 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 시클릭, 예를 들어 비시클릭일 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Silvana, M.G. et al. *Mol. Therapy*, 2018, 26:1, 132-147.] 참조).

[0296] iii. 근육-표적화 수용체 리간드

[0297] 근육-표적화제는 리간드, 예를 들어 수용체 단백질에 결합하는 리간드일 수 있다. 근육-표적화 리간드는 근육 세포에 의해 발현되는 내재화 세포 표면 수용체에 결합하는 단백질, 예를 들어 트랜스페린일 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 트랜스페린 수용체에 결합하는 트랜스페린 또는 그의 유도체이다. 근육-

표적화 리간드는 대안적으로 다른 세포 유형에 비해 근육 세포를 우선적으로 표적화하는 소분자, 예를 들어 친 지성 소분자일 수 있다. 근육 세포를 표적화할 수 있는 예시적인 친지성 소분자는 콜레스테롤, 콜레스테릴, 스테아르산, 팔미트산, 올레산, 올레일, 리놀렌, 리놀레산, 미리스트산, 스테롤, 디히드로테스토스테론, 테스토스테론 유도체, 글리세린, 알킬 설페, 트리틸 기 및 알콕시산을 포함하는 화합물을 포함한다.

[0298] iv. 근육-표적화 압타머

[0299] 근육-표적화제는 다른 세포 유형에 비해 근육 세포를 우선적으로 표적화하는 압타머, 예를 들어 RNA 압타머일 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 압타머는 이전에 특징화되거나 개시되지 않았다. 이들 압타머는 임의의 여러 방법론, 예를 들어 지수적 풍부화에 의한 리간드의 체계적 진화를 사용하여 고안, 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Yan, A.C. and Levy, M. "Aptamers and aptamer targeted delivery" RNA biology, 2009, 6:3, 316-20.; Germer, K. et al. "RNA aptamers and their therapeutic and diagnostic applications." Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2013; 4: 27-40.). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 압타머는 이전에 개시되었다 (예를 들어, 문헌 [Phillippou, S. et al. "Selection and Identification of Skeletal-Muscle-Targeted RNA Aptamers." Mol Ther Nucleic Acids. 2018, 10:199-214.; Thiel, W.H. et al. "Smooth Muscle Cell-targeted RNA Aptamer Inhibits Neointimal Formation." Mol Ther. 2016, 24:4, 779-87.] 참조). 예시적인 근육-표적화 압타머는 A01B RNA 압타머 및 RNA Apt 14를 포함한다. 일부 실시양태에서, 압타머는 핵산-기반 압타머, 올리고뉴클레오타이드 압타머 또는 펩티드 압타머이다. 일부 실시양태에서, 압타머는 약 5-15 kDa, 약 5-10 kDa, 약 10-15 kDa, 약 1-5 Da, 약 1-3 kDa 또는 그 미만일 수 있다.

[0300] v. 다른 근육-표적화제

[0301] 근육 세포 (예를 들어, 골격근 세포)를 표적화하기 위한 하나의 전략은 근육 수송체 단백질, 예컨대 근초 상에 발현된 수송체 단백질의 기질을 사용하는 것이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 조직에 특이적인 유입 수송체의 기질이다. 일부 실시양태에서, 유입 수송체는 골격근 조직에 특이적이다. 다음 2종의 주요 부류의 수송체가 골격근 근초 상에서 발현된다: (1) 골격근 조직으로부터의 유출을 용이하게 하는 아데노신 트리포스페이트 (ATP) 결합 카세트 (ABC) 슈퍼패밀리 및 (2) 골격근 내로의 기질 유입을 용이하게 할 수 있는 용질 담체 (SLC) 슈퍼패밀리. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 ABC 슈퍼패밀리 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질이다. 일부 실시양태에서, ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질은 자연 발생 기질이다. 일부 실시양태에서, ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질은 비-자연 발생 기질, 예를 들어 ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 그의 합성 유도체이다.

[0302] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 수송체의 SLC 슈퍼패밀리를 표적화하는 본원에 기재된 임의의 근육 표적화제 (예를 들어, 항체, 핵산, 소분자, 펩티드, 압타머, 지질, 당 모이어티)이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체의 기질이다. SLC 수송체는 평형화 수송체이거나 또는 기질의 수송을 구동하기 위해 막을 가로질러 생성된 양성자 또는 나트륨 이온 구배를 사용한다. 높은 골격근 발현을 갖는 예시적인 SLC 수송체는 비제한적으로 SATT 수송체 (ASCT1; SLC1A4), GLUT4 수송체 (SLC2A4), GLUT7 수송체 (GLUT7; SLC2A7), ATRC2 수송체 (CAT-2; SLC7A2), LAT3 수송체 (KIAA0245; SLC7A6), PHT1 수송체 (PTR4; SLC15A4), OATP-J 수송체 (OATP5A1; SLC21A15), OCT3 수송체 (EMT; SLC22A3), OCTN2 수송체 (FLJ46769; SLC22A5), ENT 수송체 (ENT1; SLC29A1 및 ENT2; SLC29A2), PAT2 수송체 (SLC36A2) 및 SAT2 수송체 (KIAA1382; SLC38A2)를 포함한다. 이들 수송체는 골격근 내로의 기질의 유입을 용이하게 하여, 근육 표적화를 위한 기회를 제공할 수 있다.

[0303] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 평형화 뉴클레오시드 수송체 2 (ENT2) 수송체의 기질이다. 다른 수송체에 비해, ENT2는 골격근에서 가장 높은 mRNA 발현 중 하나를 갖는다. 인간 ENT2 (hENT2)는 대부분의 신체 기관, 예컨대 뇌, 심장, 태반, 흉선, 췌장, 전립선 및 신장에서 발현되지만, 골격근에서 특히 풍부하다. 인간 ENT2는 그의 기질의 흡수를 이들의 농도 구배에 따라 용이하게 한다. ENT2는 광범위한 퓨린 및 피리미딘 핵염기를 수송함으로써 뉴클레오시드 항상성을 유지하는 데 소정 역할을 한다. hENT2 수송체는 이노신을 제외한 모든 뉴클레오시드 (아데노신, 구아노신, 우리딘, 티미딘 및 시티딘)에 대해 낮은 친화도를 갖는다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 ENT2 기질이다. 예시적인 ENT2 기질은 비제한적으로 이노신, 2',3'-디데옥시이노신 및 클로파라빈을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 근육-표적화제는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 페이로드)와 회합된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 비-공유 연결된다.

[0304] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 나트륨 이온-의존성, 고친화도 카르니틴 수송체인 유기 양이온/카르니틴

수송체 (OCTN2)의 기질이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 OCTN2에 결합하는 카르니틴, 밀드로네이트, 아세틸카르니틴 또는 그의 임의의 유도체이다. 일부 실시양태에서, 카르니틴, 밀드로네이트, 아세틸카르니틴 또는 그의 유도체는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 페이로드)에 공유 연결된다.

[0305] 근육-표적화제는 근육 세포를 표적화하는 적어도 1종의 가용성 형태로 존재하는 단백질인 단백질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 단백질은 철 과부하 및 항상성에 수반되는 단백질인 헤모쥬벨린 (반발성 유도 분자 C 또는 혈색소증 2형 단백질로도 또한 공지됨)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 헤모쥬벨린은 전장, 또는 기능적 헤모쥬벨린 단백질에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 단편 또는 돌연변이체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 헤모쥬벨린 돌연변이체는 가용성 단편일 수 있고/거나 (예를 들어, 있고), N-말단 신호전달이 결합될 수 있고/거나 (예를 들어, 있고), C-말단 앵커링 도메인이 결합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 헤모쥬벨린은 진뱅크 RefSeq 수탁 번호 NM_001316767.1, NM_145277.4, NM_202004.3, NM_213652.3 또는 NM_213653.3 하에 주석달린 것일 수 있다. 헤모쥬벨린은 인간, 비-인간 영장류 또는 설치류 기원일 수 있다는 것이 인지될 것이다.

[0306] B. 분자 페이로드

[0307] 본 개시내용의 일부 측면은, 예를 들어 생물학적 결과, 예를 들어 DNA 서열의 전사, RNA 서열의 스플라이싱 및 프로세싱, 단백질의 발현 또는 단백질의 활성을 조정하기 위한 분자 페이로드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육-표적화제에 연결되거나 또는 달리 그와 회합된다. 일부 실시양태에서, 이러한 분자 페이로드는, 예를 들어 회합된 근육-표적화제에 의한 근육 세포로의 전달 후 근육 세포 내 핵산 또는 단백질에 대한 특이적 결합을 통해 근육 세포에 표적화될 수 있다. 다양한 유형의 분자 페이로드가 본 개시내용에 따라 사용될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 예를 들어, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드), 펩티드 (예를 들어, 근육 세포에서 질환과 연관된 핵산 또는 단백질에 결합하는 펩티드), 단백질 (예를 들어, 근육 세포에서 질환과 연관된 핵산 또는 단백질에 결합하는 단백질), 또는 소분자 (예를 들어, 근육 세포에서 질환과 연관된 핵산 또는 단백질의 기능을 조정하는 소분자)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 돌연변이된 DMD 대립유전자에 대한 상보성 영역을 갖는 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오타이드이다. 예시적인 분자 페이로드는 본원에 추가로 상세히 기재되어 있지만, 본원에 제공된 예시적인 분자 페이로드는 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 것이 인지될 것이다.

[0308] i. 올리고뉴클레오타이드

[0309] 본 개시내용의 측면은, 예를 들어 DMD 대립유전자로부터의 디스트로핀의 발현을 조정하도록 (예를 들어, 증가시키도록) 구성된 올리고뉴클레오타이드에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오타이드는 디스트로핀 단백질 (예를 들어, 기능적 말단절단된 디스트로핀 단백질)의 발현을 촉진하기 위해 DMD 프리-mRNA의 스플라이싱을 변경하도록 구성된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오타이드는 DMD, 예를 들어 돌연변이된 DMD 대립유전자에서 1개 이상의 엑손의 스킵핑을 촉진하여 리딩 프레임을 복원시키도록 구성된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 기능적 디스트로핀 단백질 발현을 가능하게 한다 (예를 들어, 문헌 [Kinali M, Arechevala-Gomez V, Feng L, et al. Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study. Lancet Neurol. 2009;8(10):918-928 및 Watanabe N, Nagata T, Satou Y, et al. NS-065/NCNP-01: an antisense oligonucleotide for potential treatment of exon 53 skipping in Duchenne muscular dystrophy. Mol Ther Nucleic Acids. 2018;13:442-449]에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 엑손 51의 스킵핑을 촉진하여 보다 짧지만 기능적 버전의 디스트로핀 (예를 들어, 인-프레임 결실을 함유함)을 생성하도록 구성된다. 일부 실시양태에서, 엑손 51 스킵핑을 촉진하는 올리고뉴클레오타이드가 제공된다 (예를 들어, 이는 상당수의 환자, 예컨대, 예를 들어 엑손 51 스킵핑이 적용가능한 환자, 예컨대 DMD 엑손 3-50, 4-50, 5-50, 6-50, 9-50, 10-50, 11-50, 13-50, 14-50, 15-50, 16-50, 17-50, 19-50, 21-50, 23-50, 24-50, 25-50, 26-50, 27-50, 28-50, 29-50, 30-50, 31-50, 32-50, 33-50, 34-50, 35-50, 36-50, 37-50, 38-50, 39-50, 40-50, 41-50, 42-50, 43-50, 45-50, 47-50, 48-50, 49-50, 50, 52, 52-58, 52-61, 52-63, 52-64, 52-66, 52-76 또는 52-77에 결실을 갖는 환자에서 적절할 수 있음).

[0310] 표 8은 DMD를 표적화하는 데, 예를 들어 엑손 스킵핑에 및 DMD 내의 표적 서열에 유용한 올리고뉴클레오타이드의 서열의 비제한적 예를 제공한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표 8에 제공된 임의의 안티센스 서열 또는 표 8에 제공된 표적 서열에 대해 상보적인 서열을 포함할 수 있다.

[0311] 표 8. DMD를 표적화하기 위한 올리고뉴클레오타이드 서열.

SEQ ID NO	표적 서열* (5'에서 3')	SEQ ID NO	안티센스 서열* (5'에서 3')	SEQ ID NO	안티센스 서열* (5'에서 3')	표적 부위
160	GUAAGUAUACUGG AUCCCAUUC	384	GAAUGGGAUCCAG UAUACUUAC	608	GAATGGGATCCAG TATACTTAC	인트론 50
161	GUAAGUAUACUGG AUCCCAUUCU	385	AGAAUGGGAUCCA GUUAUCUUAC	609	AGAATGGGATCCA GTATACTTAC	인트론 50
162	GUAAGUAUACUGG AUCCCAUUCUC	386	GAGAAUGGGAUCC AGUAUACUUAC	610	GAGAATGGGATCC AGTATACTTAC	인트론 50
163	GUAAGUAUACUGG AUCCCAUUCUCU	387	AGAGAAUGGGAUC CAGUAUACUUAC	611	AGAGAATGGGATC CAGTATACTTAC	인트론 50
164	UAAGUAUACUGGA UCCCAUUCUC	388	GAGAAUGGGAUCC AGUAUACUUA	612	GAGAATGGGATCC AGTATACTTA	인트론 50
165	AAGUAUACUGGAU CCCAUUCUC	389	GAGAAUGGGAUCC AGUAUACUU	613	GAGAATGGGATCC AGTATACTT	인트론 50
166	AGUAUACUGGAUC CCAUUCUC	390	GAGAAUGGGAUCC AGUAUACU	614	GAGAATGGGATCC AGTATACT	인트론 50
167	GUUAUACUGGAUCC CAUUCUUCUUGG	391	CCAAAGAGAAUGG GAUCCAGUAUAC	615	CCAAAGAGAAUGG GATCCAGTATAC	인트론 50
168	UACUGGAUCCCAU UCUCUUCUUGGCUC	392	GAGCCAAAGAGAA UGGGAUCCAGUA	616	GAGCCAAAGAGAA TGGGATCCAGTA	인트론 50
169	ACUGGAUCCCAUU CUCUUCUUGGCUC	393	GAGCCAAAGAGAA UGGGAUCCAGU	617	GAGCCAAAGAGAA TGGGATCCAGT	인트론 50
170	UGUGGUUACUAAG GAAACUGCCAU	394	AUGGCAGUUUCCU UAGUAACCACA	618	ATGGCAGTTTCCT TAGTAACCACA	엑손 51
171	UGUGGUUACUAAG GAAACUGCCAU	395	GAUGGCAGUUUCC UUAGUAACCACA	619	GATGGCAGTTTCC TTAGTAACCACA	엑손 51
172	GUGGUUACUAAGG AAACUGCCAU	396	AUGGCAGUUUCCU UAGUAACCAC	620	ATGGCAGTTTCCT TAGTAACCAC	엑손 51
173	GUGGUUACUAAGG AAACUGCCAU	397	GAUGGCAGUUUCC UUAGUAACCAC	621	GATGGCAGTTTCC TTAGTAACCAC	엑손 51
174	GUGGUUACUAAGG AAACUGCCAU	398	AGAUGGCAGUUUC CUUAGUAACCAC	622	AGATGGCAGTTTC CTTAGTAACCAC	엑손 51
175	UGGUUACUAAGGA AACUGCCAU	399	GAUGGCAGUUUCC UUAGUAACCA	623	GATGGCAGTTTCC TTAGTAACCA	엑손 51
176	GGUUACUAAGGAA ACUGCCAU	400	GAUGGCAGUUUCC UUAGUAACC	624	GATGGCAGTTTCC TTAGTAACC	엑손 51
177	GAAACUGCCAUUC CCAAACUAGAA	401	UUCUAGUUUGGAG AUGGCAGUUUC	625	TTCTAGTTTGGAG ATGGCAGTTTC	엑손 51
178	AAACUGCCAUUC CAAACUAG	402	CUAGUUUGGAGAU GGCAGUUU	626	CTAGTTTGGAGAT GGCAGTTT	엑손 51
179	AAACUGCCAUUC CAAACUAGA	403	UCUAGUUUGGAGA UGGCAGUUU	627	TCTAGTTTGGAGA TGGCAGTTT	엑손 51
180	AAACUGCCAUUC CAAACUAGAA	404	UUCUAGUUUGGAG AUGGCAGUUU	628	TTCTAGTTTGGAG ATGGCAGTTT	엑손 51
181	AACUGCCAUUCC AAACUAG	405	CUAGUUUGGAGAU GGCAGUU	629	CTAGTTTGGAGAT GGCAGTT	엑손 51
182	AACUGCCAUUCC AAACUAGA	406	UCUAGUUUGGAGA UGGCAGUU	630	TCTAGTTTGGAGA TGGCAGTT	엑손 51
183	AACUGCCAUUCC AAACUAGAA	407	UUCUAGUUUGGAG AUGGCAGUU	631	TTCTAGTTTGGAG ATGGCAGTT	엑손 51
184	ACUGCCAUUCCA AACUAGA	408	UCUAGUUUGGAGA UGGCAGU	632	TCTAGTTTGGAGA TGGCAGT	엑손 51
185	ACUGCCAUUCCA AACUAGAA	409	UUCUAGUUUGGAG AUGGCAGU	633	TTCTAGTTTGGAG ATGGCAGT	엑손 51
186	UCUCCAAACUAGA AAUGCCAUC	410	GAUGGCAUUUCUA GUUUGGAGA	634	GATGGCATTTCTA GTTTGGAGA	엑손 51
187	CUCCAAACUAGAA AUGCCAUC	411	GAUGGCAUUUCUA GUUUGGAG	635	GATGGCATTTCTA GTTTGGAG	엑손 51

[0312]

188	UCCAAACUAGAAA UGCCAU C	412	GAUGGCAUUUCUA GUUUGGA	636	GATGGCATTCTA GTTTGGA	엑손 51
189	GAUUUCAACCGGG CUUGGACAGA	413	UCUGUCCAAGCCC GGUUGAAAU C	637	TCTGTCCAAGCCC GGTTGAAATC	엑손 51
190	GAUUUCAACCGGG CUUGGACAGAA	414	UUCUGUCCAAGCC CGGUUGAAAU C	638	TTCTGTCCAAGCC CGGTTGAAATC	엑손 51
191	AUUUCAACCGGGC UUGGACAGA	415	UCUGUCCAAGCCC GGUUGAAAU	639	TCTGTCCAAGCCC GGTTGAAAT	엑손 51
192	AUUUCAACCGGGC UUGGACAGAA C	416	AGUUCUGUCCAAG CCCGGUUGAAU	640	AGTTCTGTCCAAG CCCGGTTGAAAT	엑손 51
193	UUCAACCGGGCUU GGACAGAA C	417	AGUUCUGUCCAAG CCCGGUUGAA	641	AGTTCTGTCCAAG CCCGGTTGAA	엑손 51
194	UCAACCGGGCUUG GACAGAA	418	UUCUGUCCAAGCC CGGUUGA	642	TTCTGTCCAAGCC CGGTTGA	엑손 51
195	UCAACCGGGCUUG GACAGAA C	419	AGUUCUGUCCAAG CCCGGUUGA	643	AGTTCTGTCCAAG CCCGGTTGA	엑손 51
196	UCAACCGGGCUUG GACAGAA C	420	GUAAGUUCUGUCC AAGCCCGGUUGA	644	GTAAGTTCTGTCC AAGCCCGGTTGA	엑손 51
197	CAACCGGGCUUGG ACAGAA C	421	AGUUCUGUCCAAG CCCGGUUG	645	AGTTCTGTCCAAG CCCGGTTG	엑손 51
198	CAACCGGGCUUGG ACAGAA C	422	GUAAGUUCUGUCC AAGCCCGGUUG	646	GTAAGTTCTGTCC AAGCCCGGTTG	엑손 51
199	CAACCGGGCUUGG ACAGAA C	423	GGUAAGUUCUGUC CAAGCCCGGUUG	647	GGTAAGTTCTGTCTC CAAGCCCGGTTG	엑손 51
200	AUGAUCAUCAAGC AGAAGGUA	424	UACCUUCUGCUUG AUGAUCAU	648	TACCTTCTGCTTG ATGATCAT	엑손 51/인트론 51 접합부
201	AUGAUCAUCAAGC AGAAGGUAUG	425	CAUACCUUCUGCU UGAUGAUCAU	649	CATACCTTCTGCT TGATGATCAT	엑손 51/인트론 51 접합부
202	AUGAUCAUCAAGC AGAAGGUAUGA	426	UCAUACCUUCUGC UUGAUGAUCAU	650	TCATACCTTCTGC TTGATGATCAT	엑손 51/인트론 51 접합부
203	AUGAUCAUCAAGC AGAAGGUAUGAG	427	CUCAUACCUUCUG CUUGAUGAUCAU	651	CTCATACCTTCTG CTTGATGATCAT	엑손 51/인트론 51 접합부
204	UGAUCAUCAAGCA GAAGGUA	428	UACCUUCUGCUUG AUGAUCAU	652	TACCTTCTGCTTG ATGATCA	엑손 51/인트론 51 접합부
205	UGAUCAUCAAGCA GAAGGUAUG	429	CAUACCUUCUGCU UGAUGAUCAU	653	CATACCTTCTGCT TGATGATCA	엑손 51/인트론 51 접합부
206	UGAUCAUCAAGCA GAAGGUAUGA	430	UCAUACCUUCUGC UUGAUGAUCAU	654	TCATACCTTCTGC TTGATGATCA	엑손 51/인트론 51 접합부
207	UGAUCAUCAAGCA GAAGGUAUGAG	431	CUCAUACCUUCUG CUUGAUGAUCAU	655	CTCATACCTTCTG CTTGATGATCA	엑손 51/인트론 51 접합부
208	UGAUCAUCAAGCA GAAGGUAUGAGA	432	UCUCAUACCUUCU GCUUGAUGAUCAU	656	TCTCATACCTTCT GCTTGATGATCA	엑손 51/인트론 51 접합부
209	GAUCAUCAAGCAG AAGGUAUG	433	CAUACCUUCUGCU UGAUGAUC	657	CATACCTTCTGCT TGATGATC	엑손 51/인트론 51 접합부
210	GAUCAUCAAGCAG AAGGUAUGA	434	UCAUACCUUCUGC UUGAUGAUC	658	TCATACCTTCTGC TTGATGATC	엑손 51/인트론 51 접합부
211	GAUCAUCAAGCAG AAGGUAUGAG	435	CUCAUACCUUCUG CUUGAUGAUC	659	CTCATACCTTCTG CTTGATGATC	엑손 51/인트론 51 접합부
212	GAUCAUCAAGCAG AAGGUAUGAGA	436	UCUCAUACCUUCU GCUUGAUGAUC	660	TCTCATACCTTCT GCTTGATGATC	엑손 51/인트론 51 접합부
213	GAUCAUCAAGCAG AAGGUAUGAGAA	437	UUCUCAUACCUUC UGCUUGAUGAUC	661	TTCTCATACCTTCT TGCTTGATGATC	엑손 51/인트론 51 접합부
214	AUCAUCAAGCAGA AGGUAUG	438	CAUACCUUCUGCU UGAUGAU	662	CATACCTTCTGCT TGATGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
215	AUCAUCAAGCAGA AGGUAUGA	439	UCAUACCUUCUGC UUGAUGAU	663	TCATACCTTCTGC TTGATGAT	엑손 51/인트론 51 접합부

[0313]

216	AUCAUCAAGCAGA AGGUAUGAG	440	CUCAUACCUUCUG CUUGAUGAU	664	CTCATACCTTCTG CTTGATGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
217	AUCAUCAAGCAGA AGGUAUGAGA	441	UCUCAUACCUUCU GCUUGAUGAU	665	TCTCATACCTTCT GCTTGATGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
218	AUCAUCAAGCAGA AGGUAUGAGAA	442	UUCUCAUACCUUC UGCUUGAUGAU	666	TTCTCATACCTTC TGCTTGATGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
219	AUCAUCAAGCAGA AGGUAUGAGAAA	443	UUUCUCAUACCUU CUGCUUGAUGAU	667	TTTCTCATACCTT CTGCTTGATGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
220	UCAUCAAGCAGAA GGUAUGA	444	UCAUACCUUCUGC UUGAUGA	668	TCATACCTTCTGC TTGATGA	엑손 51/인트론 51 접합부
221	UCAUCAAGCAGAA GGUAUGAG	445	UCUCAUACCUUCUG CUUGAUGA	669	CTCATACCTTCTG CTTGATGA	엑손 51/인트론 51 접합부
222	UCAUCAAGCAGAA GGUAUGAGA	446	UCUCAUACCUUCU GCUUGAUGA	670	TCTCATACCTTCT GCTTGATGA	엑손 51/인트론 51 접합부
223	UCAUCAAGCAGAA GGUAUGAGAA	447	UUCUCAUACCUUC UGCUUGAUGA	671	TTCTCATACCTTC TGCTTGATGA	엑손 51/인트론 51 접합부
224	UCAUCAAGCAGAA GGUAUGAGAAA	448	UUUCUCAUACCUU CUGCUUGAUGA	672	TTTCTCATACCTT CTGCTTGATGA	엑손 51/인트론 51 접합부
225	UCAUCAAGCAGAA GGUAUGAGAAA	449	UUUCUCAUACCU UCUGCUUGAUGA	673	TTTTCTCATACCT TCTGCTTGATGA	엑손 51/인트론 51 접합부
226	CAUCAAGCAGAAG GUAUGAG	450	CUCAUACCUUCUG CUUGAUG	674	CTCATACCTTCTG CTTGATG	엑손 51/인트론 51 접합부
227	CAUCAAGCAGAAG GUAUGAGA	451	UCUCAUACCUUCU GCUUGAUG	675	TCTCATACCTTCT GCTTGATG	엑손 51/인트론 51 접합부
228	CAUCAAGCAGAAG GUAUGAGAA	452	UUCUCAUACCUUC UGCUUGAUG	676	TTCTCATACCTTC TGCTTGATG	엑손 51/인트론 51 접합부
229	CAUCAAGCAGAAG GUAUGAGAAA	453	UUUCUCAUACCUU CUGCUUGAUG	677	TTTCTCATACCTT CTGCTTGATG	엑손 51/인트론 51 접합부
230	CAUCAAGCAGAAG GUAUGAGAAAA	454	UUUCUCAUACCU UCUGCUUGAUG	678	TTTTCTCATACCT TCTGCTTGATG	엑손 51/인트론 51 접합부
231	CAUCAAGCAGAAG GUAUGAGAAAA	455	UUUUUCAUACCU UCUGCUUGAUG	679	TTTTTCTCATACC TTCTGCTTGATG	엑손 51/인트론 51 접합부
232	AUCAAGCAGAAGG UAUGAGA	456	UCUCAUACCUUCU GCUUGAU	680	TCTCATACCTTCT GCTTGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
233	AUCAAGCAGAAGG UAUGAGAA	457	UUCUCAUACCUUC UGCUUGAU	681	TTCTCATACCTTC TGCTTGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
234	AUCAAGCAGAAGG UAUGAGAAA	458	UUUCUCAUACCUU CUGCUUGAU	682	TTTCTCATACCTT CTGCTTGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
235	AUCAAGCAGAAGG UAUGAGAAAA	459	UUUCUCAUACCU UCUGCUUGAU	683	TTTTCTCATACCT TCTGCTTGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
236	AUCAAGCAGAAGG UAUGAGAAAA	460	UUUUUCAUACCU UCUGCUUGAU	684	TTTTTCTCATACC TTCTGCTTGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
237	AUCAAGCAGAAGG UAUGAGAAAA	461	UUUUUCAUACCU UCUGCUUGAU	685	TTTTTCTCATACC CTTCTGCTTGAT	엑손 51/인트론 51 접합부
238	UCAAGCAGAAGGU AUGAGAA	462	UUCUCAUACCUUC UGCUUGA	686	TTCTCATACCTTC TGCTTGA	엑손 51/인트론 51 접합부
239	UCAAGCAGAAGGU AUGAGAAA	463	UUUCUCAUACCUU CUGCUUGA	687	TTTCTCATACCTT CTGCTTGA	엑손 51/인트론 51 접합부
240	UCAAGCAGAAGGU AUGAGAAAA	464	UUUCUCAUACCU UCUGCUUGA	688	TTTTCTCATACCT TCTGCTTGA	엑손 51/인트론 51 접합부
241	UCAAGCAGAAGGU AUGAGAAAA	465	UUUUUCAUACCU UCUGCUUGA	689	TTTTTCTCATACC TTCTGCTTGA	엑손 51/인트론 51 접합부
242	UCAAGCAGAAGGU AUGAGAAAA	466	UUUUUCAUACCU UCUGCUUGA	690	TTTTTCTCATACC CTTCTGCTTGA	엑손 51/인트론 51 접합부

[0314]

243	UCAAGCAGAAGGU AUGAGAAAAAAU	467	AUUUUUUCUCAUA CCUUCUGCUUGA	691	ATTTTCTCTCATA CCTTCTGCTTGA	엑손 51/인트론 51 접합부
244	CAAGCAGAAGGUA UGAGAAAA	468	UUUCUCAUACCUU CUGCUUG	692	TTTCTCATACCTT CTGCTTG	엑손 51/인트론 51 접합부
245	CAAGCAGAAGGUA UGAGAAAA	469	UUUUCUCAUACCU UCUGCUUG	693	TTTTCTCATACCT TCTGCTTG	엑손 51/인트론 51 접합부
246	CAAGCAGAAGGUA UGAGAAAA	470	UUUUUCUCAUACC UUCUGCUUG	694	TTTTTCTCATACC TTCTGCTTG	엑손 51/인트론 51 접합부
247	CAAGCAGAAGGUA UGAGAAAA	471	UUUUUUCUCAUAC CUUCUGCUUG	695	TTTTTCTCATAC CTTCTGCTTG	엑손 51/인트론 51 접합부
248	CAAGCAGAAGGUA UGAGAAAAAAU	472	AUUUUUUCUCAUA CCUUCUGCUUG	696	ATTTTCTCTCATA CCTTCTGCTTG	엑손 51/인트론 51 접합부
249	AAGCAGAAGGUU GAGAAAA	473	UUUUCUCAUACCU UCUGCUU	697	TTTTCTCATACCT TCTGCTT	엑손 51/인트론 51 접합부
250	AAGCAGAAGGUU GAGAAAA	474	UUUUUCUCAUACC UUCUGCUU	698	TTTTTCTCATACC TTCTGCTT	엑손 51/인트론 51 접합부
251	AAGCAGAAGGUU GAGAAAA	475	UUUUUUCUCAUAC CUUCUGCUU	699	TTTTTCTCATAC CTTCTGCTT	엑손 51/인트론 51 접합부
252	AAGCAGAAGGUU GAGAAAAAAU	476	AUUUUUUCUCAUA CCUUCUGCUU	700	ATTTTCTCTCATA CCTTCTGCTT	엑손 51/인트론 51 접합부
253	AGCAGAAGGUU AGAAAA	477	UUUUUCUCAUACC UUCUGCU	701	TTTTTCTCATACC TTCTGCT	엑손 51/인트론 51 접합부
254	AGCAGAAGGUU AGAAAA	478	UUUUUUCUCAUAC CUUCUGCU	702	TTTTTCTCATAC CTTCTGCT	엑손 51/인트론 51 접합부
255	AGCAGAAGGUU AGAAAAAAU	479	UUUUUUCUCAUA CCUUCUGCU	703	ATTTTCTCTCATA CCTTCTGCT	엑손 51/인트론 51 접합부
256	GCAGAAGGUU GAAAA	480	UUUUUUCUCAUAC CUUCUGC	704	TTTTTCTCATAC CTTCTGC	엑손 51/인트론 51 접합부
257	GCAGAAGGUU GAAAAAAU	481	AUUUUUUCUCAUA CCUUCUGC	705	ATTTTCTCTCATA CCTTCTGC	엑손 51/인트론 51 접합부
258	CAGAAGGUU AAAAAAU	482	AUUUUUUCUCAUA CCUUCUG	706	ATTTTCTCTCATA CCTTCTG	엑손 51/인트론 51 접합부
259	AAAUUAUUAAGU UGGCAGAAGU	483	ACUUCUGCCAACU UUUAUCAUUU	707	ACTTCTGCCAACT TTTATCATTT	인트론 51
260	UCACUUUACUCUC CUAGACCAU	484	AUGGUCUAGGAGA GUAAAGUGA	708	ATGGTCTAGGAGA GTAAAGTGA	인트론 51
261	UCACUUUACUCUC CUAGACCAU	485	AAUGGUCUAGGAG AGUAAAGUGA	709	AATGGTCTAGGAG AGTAAAGTGA	인트론 51
262	UCACUUUACUCUC CUAGACCAUUU	486	AAUUGGUCUAGGA GAGUAAAGUGA	710	AAATGGTCTAGGA GAGTAAAGTGA	인트론 51
263	CACUUUACUCUCC UAGACCAUUUCC	487	GGAAUUGGUCUAG GAGAGUAAAGUG	711	GGAAATGGTCTAG GAGAGTAAAGTG	인트론 51
264	ACUUUACUCUCCU AGACCAUUUCC	488	GGAAUUGGUCUAG GAGAGUAAAGU	712	GGAAATGGTCTAG GAGAGTAAAGT	인트론 51
265	CUUUACUCUCCUA GACCAUUUCCCA	489	UGGGAAUUGGUCU AGGAGAGUAAAG	713	TGGGAAATGGTCT AGGAGAGTAAAG	인트론 51
266	UUACUCUCCUAGA CCAUUUCCCA	490	UGGGAAUUGGUCU AGGAGAGUAA	714	TGGGAAATGGTCT AGGAGAGTAA	인트론 51
267	UUACUCUCCUAGA CCAUUUCCCA	491	GUGGGAAUUGGUC UAGGAGAGUAA	715	GTGGGAAATGGTC TAGGAGAGTAA	인트론 51
268	UUACUCUCCUAGA CCAUUUCCCA	492	GGUGGGAAUUGGU CUAGGAGAGUAA	716	GGTGGGAAATGGT CTAGGAGAGTAA	인트론 51
269	UACUCUCCUAGAC CAUUUCCCA	493	UGGGAAUUGGUCU AGGAGAGUA	717	TGGGAAATGGTCT AGGAGAGTA	인트론 51
270	UACUCUCCUAGAC CAUUUCCCA	494	GUGGGAAUUGGUC UAGGAGAGUA	718	GTGGGAAATGGTC TAGGAGAGTA	인트론 51
271	UACUCUCCUAGAC CAUUUCCCA	495	GGUGGGAAUUGGU CUAGGAGAGUA	719	GGTGGGAAATGGT CTAGGAGAGTA	인트론 51

[0315]

272	UACUCUCCUAGAC CAUUUCCCACCA	496	UGGUGGGAAAUGG UCUAGGAGAGUA	720	TGGTGGGAAATGG TCTAGGAGAGTA	인트론 51
273	ACUCUCCUAGACC AUUUCCCA	497	UGGGAAAUGGUCU AGGAGAGU	721	TGGGAAATGGTCT AGGAGAGT	인트론 51
274	ACUCUCCUAGACC AUUUCCAC	498	GUGGGAAAUGGUC UAGGAGAGU	722	GTGGGAAATGGTC TAGGAGAGT	인트론 51
275	ACUCUCCUAGACC AUUUCCCACC	499	GGUGGGAAAUGGU CUAGGAGAGU	723	GGTGGGAAATGGT CTAGGAGAGT	인트론 51
276	ACUCUCCUAGACC AUUUCCCACCA	500	UGGUGGGAAAUGG UCUAGGAGAGU	724	TGGTGGGAAATGG TCTAGGAGAGT	인트론 51
277	ACUCUCCUAGACC AUUUCCCACCAG	501	CUGGUGGGAAAUG GUCUAGGAGAGU	725	CTGGTGGGAAATG GTCTAGGAGAGT	인트론 51
278	CUCUCCUAGACCA UUUCCCA	502	UGGGAAAUGGUCU AGGAGAG	726	TGGGAAATGGTCT AGGAGAG	인트론 51
279	CUCUCCUAGACCA UUUCCAC	503	GUGGGAAAUGGUC UAGGAGAG	727	GTGGGAAATGGTC TAGGAGAG	인트론 51
280	CUCUCCUAGACCA UUUCCCACC	504	GGUGGGAAAUGGU CUAGGAGAG	728	GGTGGGAAATGGT CTAGGAGAG	인트론 51
281	CUCUCCUAGACCA UUUCCCACCA	505	UGGUGGGAAAUGG UCUAGGAGAG	729	TGGTGGGAAATGG TCTAGGAGAG	인트론 51
282	CUCUCCUAGACCA UUUCCCACCAG	506	CUGGUGGGAAAUG GUCUAGGAGAG	730	CTGGTGGGAAATG GTCTAGGAGAG	인트론 51
283	UCUCCUAGACCAU UUCCAC	507	GUGGGAAAUGGUC UAGGAGA	731	GTGGGAAATGGTC TAGGAGA	인트론 51
284	UCUCCUAGACCAU UUCCCACC	508	GGUGGGAAAUGGU CUAGGAGA	732	GGTGGGAAATGGT CTAGGAGA	인트론 51
285	UCUCCUAGACCAU UUCCCACCA	509	UGGUGGGAAAUGG UCUAGGAGA	733	TGGTGGGAAATGG TCTAGGAGA	인트론 51
286	UCUCCUAGACCAU UUCCCACCAG	510	CUGGUGGGAAAUG GUCUAGGAGA	734	CTGGTGGGAAATG GTCTAGGAGA	인트론 51
287	UCUCCUAGACCAU UUCCCACCAGUU	511	AACUGGUGGGAAA UGGUCUAGGAGA	735	AACTGGTGGGAAA TGGTCTAGGAGA	인트론 51
288	CUCCUAGACCAUU UCCCACC	512	GGUGGGAAAUGGU CUAGGAG	736	GGTGGGAAATGGT CTAGGAG	인트론 51
289	CUCCUAGACCAUU UCCCACCA	513	UGGUGGGAAAUGG UCUAGGAG	737	TGGTGGGAAATGG TCTAGGAG	인트론 51
290	CUCCUAGACCAUU UCCCACCAG	514	CUGGUGGGAAAUG GUCUAGGAG	738	CTGGTGGGAAATG GTCTAGGAG	인트론 51
291	CUCCUAGACCAUU UCCCACCAGUU	515	AACUGGUGGGAAA UGGUCUAGGAG	739	AACTGGTGGGAAA TGGTCTAGGAG	인트론 51
292	UCCUAGACCAUUU CCCACCA	516	UGGUGGGAAAUGG UCUAGGA	740	TGGTGGGAAATGG TCTAGGA	인트론 51
293	UCCUAGACCAUUU CCCACCAG	517	CUGGUGGGAAAUG GUCUAGGA	741	CTGGTGGGAAATG GTCTAGGA	인트론 51
294	UCCUAGACCAUUU CCCACCAGUU	518	AACUGGUGGGAAA UGGUCUAGGA	742	AACTGGTGGGAAA TGGTCTAGGA	인트론 51
295	UCCUAGACCAUUU CCCACCAGUUCU	519	AGAACUGGUGGGA AAUGGUCUAGGA	743	AGAACTGGTGGGA AATGGTCTAGGA	인트론 51
296	CCUAGACCAUUUC CCACCAG	520	CUGGUGGGAAAUG GUCUAGG	744	CTGGTGGGAAATG GTCTAGG	인트론 51
297	CCUAGACCAUUUC CCACCAGUU	521	AACUGGUGGGAAA UGGUCUAGG	745	AACTGGTGGGAAA TGGTCTAGG	인트론 51
298	CCUAGACCAUUUC CCACCAGUUCU	522	AGAACUGGUGGGA AAUGGUCUAGG	746	AGAACTGGTGGGA AATGGTCTAGG	인트론 51
299	CCUAGACCAUUUC CCACCAGUUCUU	523	AAGAACUGGUGGG AAAUGGUCUAGG	747	AAGAACTGGTGGG AAATGGTCTAGG	인트론 51
300	CUAGACCAUUUCC CACCAGUU	524	AACUGGUGGGAAA UGGUCUAG	748	AACTGGTGGGAAA TGGTCTAG	인트론 51
301	CUAGACCAUUUCC CACCAGUUCU	525	AGAACUGGUGGGA AAUGGUCUAG	749	AGAACTGGTGGGA AATGGTCTAG	인트론 51
302	CUAGACCAUUUCC CACCAGUUCUU	526	AAGAACUGGUGGG AAAUGGUCUAG	750	AAGAACTGGTGGG AAATGGTCTAG	인트론 51

[0316]

303	UAGACCAUUUCCC ACCAGUU	527	AACUGGUGGGAAA UGGUCUA	751	AACTGGTGGGAAA TGGTCTA	인트론 51
304	UAGACCAUUUCCC ACCAGUUCU	528	AGAACUGGUGGGA AAUGGUCUA	752	AGAACTGGTGGGA AATGGTCTA	인트론 51
305	UAGACCAUUUCCC ACCAGUUCUU	529	AAGAACUGGUGGG AAAUGGUCUA	753	AAGAACTGGTGGG AAATGGTCTA	인트론 51
306	UAGACCAUUUCCC ACCAGUUCUUAG	530	CUAAGAACUGGUG GGAAAUGGUCUA	754	CTAAGAACTGGTG GGAAATGGTCTA	인트론 51
307	AGACCAUUUCCCA CCAGUUCU	531	AGAACUGGUGGGA AAUGGUCU	755	AGAACTGGTGGGA AATGGTCT	인트론 51
308	AGACCAUUUCCCA CCAGUUCUU	532	AAGAACUGGUGGG AAAUGGUCU	756	AAGAACTGGTGGG AAATGGTCT	인트론 51
309	AGACCAUUUCCCA CCAGUUCUUAG	533	CUAAGAACUGGUG GGAAAUGGUCU	757	CTAAGAACTGGTG GGAAATGGTCT	인트론 51
310	AGACCAUUUCCCA CCAGUUCUUAGG	534	CCUAAGAACUGGU GGGAAAUGGUCU	758	CCTAAGAACTGGT GGGAAATGGTCT	인트론 51
311	GACCAUUUCCCA CAGUUCU	535	AGAACUGGUGGGA AAUGGUC	759	AGAACTGGTGGGA AATGGTC	인트론 51
312	GACCAUUUCCCA CAGUUCUU	536	AAGAACUGGUGGG AAAUGGUC	760	AAGAACTGGTGGG AAATGGTC	인트론 51
313	GACCAUUUCCCA CAGUUCUUAG	537	CUAAGAACUGGUG GGAAAUGGUC	761	CTAAGAACTGGTG GGAAATGGTC	인트론 51
314	GACCAUUUCCCA CAGUUCUUAGG	538	CCUAAGAACUGGU GGGAAAUGGUC	762	CCTAAGAACTGGT GGGAAATGGTC	인트론 51
315	GACCAUUUCCCA CAGUUCUUAGGC	539	GCCUAAGAACUGG UGGGAAAUGGUC	763	GCCTAAGAACTGG TGGGAAATGGTC	인트론 51
316	ACCAUUUCCCA AGUUCUUAGGC	540	GCCUAAGAACUGG UGGGAAAUGGU	764	GCCTAAGAACTGG TGGGAAATGGT	인트론 51
317	ACCAUUUCCCA AGUUCUUAGGCA	541	UGCCUAAGAACUG GUGGGAAAUGGU	765	TGCCTAAGAACTG GTGGGAAATGGT	인트론 51
318	CCAUUUCCCA GUUCUUAGGC	542	GCCUAAGAACUGG UGGGAAAUGG	766	GCCTAAGAACTGG TGGGAAATGG	인트론 51
319	CCAUUUCCCA GUUCUUAGGCA	543	UGCCUAAGAACUG GUGGGAAAUGG	767	TGCCTAAGAACTG GTGGGAAATGG	인트론 51
320	CCAUUUCCCA GUUCUUAGGCAA	544	UUGCCUAAGAACU GGUGGGAAAUGG	768	TTGCCTAAGAACT GGTGGGAAATGG	인트론 51
321	CAUUUCCCA UUCUUAGGCA	545	UGCCUAAGAACUG GUGGGAAAUG	769	TGCCTAAGAACTG GTGGGAAATG	인트론 51
322	CAUUUCCCA UUCUUAGGCAA	546	UUGCCUAAGAACU GGUGGGAAAUG	770	TTGCCTAAGAACT GGTGGGAAATG	인트론 51
323	AGUGUUUUGGCUG GUCUCAC	547	GUGAGACCAGCCA AAACACU	771	GTGAGACCAGCCA AAACACT	인트론 51
324	AGUGUUUUGGCUG GUCUCACA	548	UGUGAGACCAGCC AAACACU	772	TGTGAGACCAGCC AAACACT	인트론 51
325	AGUGUUUUGGCUG GUCUCACAA	549	UUGUGAGACCAGC CAAAACACU	773	TTGTGAGACCAGC CAAAACACT	인트론 51
326	AGUGUUUUGGCUG GUCUCACAAU	550	AUUGUGAGACCAG CCAAACACU	774	ATTGTGAGACCAG CCAAACACT	인트론 51
327	GUGUUUUGGCUGG UCUCACAAU	551	AUUGUGAGACCAG CCAAACAC	775	ATTGTGAGACCAG CCAAACAC	인트론 51
328	GUUUUGGCUGGUC UCACAAUUGUAC	552	GUACAAUUGUGAG ACCAGCCAAAAC	776	GTACAATTGTGAG ACCAGCCAAAAC	인트론 51
329	UUUGGCUGGUCUC ACAAUUGUAC	553	GUACAAUUGUGAG ACCAGCCAAA	777	GTACAATTGTGAG ACCAGCCAAA	인트론 51
330	UUGGCUGGUCUCA CAAUUGUAC	554	GUACAAUUGUGAG ACCAGCCAA	778	GTACAATTGTGAG ACCAGCCAA	인트론 51
331	UUGGCUGGUCUCA CAAUUGUACU	555	AGUACAAUUGUGA GACCAGCCAA	779	AGTACAATTGTGA GACCAGCCAA	인트론 51
332	UGGCUGGUCUCAC AAUUGUAC	556	GUACAAUUGUGAG ACCAGCCA	780	GTACAATTGTGAG ACCAGCCA	인트론 51
333	UGGCUGGUCUCAC AAUUGUACU	557	AGUACAAUUGUGA GACCAGCCA	781	AGTACAATTGTGA GACCAGCCA	인트론 51

[0317]

334	UGGUGGUCUCAC AAUUGUACUU	558	AAGUACAAUUGUG AGACCAGCCA	782	AAGTACAATTGTG AGACCAGCCA	인트론 51
335	UGGUGGUCUCAC AAUUGUACUUU	559	AAAGUACAAUUGU GAGACCAGCCA	783	AAAGTACAATTGT GAGACCAGCCA	인트론 51
336	GGCUGGUCUCACA AUUGUAC	560	GUACAAUUGUGAG ACCAGCC	784	GTACAATTGTGAG ACCAGCC	인트론 51
337	GGCUGGUCUCACA AUUGUACU	561	AGUACAAUUGUGA GACCAGCC	785	AGTACAATTGTGA GACCAGCC	인트론 51
338	GGCUGGUCUCACA AUUGUACUU	562	AAGUACAAUUGUG AGACCAGCC	786	AAGTACAATTGTG AGACCAGCC	인트론 51
339	GGCUGGUCUCACA AUUGUACUUU	563	AAAGUACAAUUGU GAGACCAGCC	787	AAAGTACAATTGT GAGACCAGCC	인트론 51
340	GGCUGGUCUCACA AUUGUACUUUAC	564	GUAAAGUACAAU GUGAGACCAGCC	788	GTAAAGTACAATT GTGAGACCAGCC	인트론 51
341	GCUGGUCUCACAA UUGUACUUUAC	565	GUAAAGUACAAU GUGAGACCAGC	789	GTAAAGTACAATT GTGAGACCAGC	인트론 51
342	GCUGGUCUCACAA UUGUACUUUACU	566	AGUAAAGUACAAU UGUGAGACCAGC	790	AGTAAAGTACAAT TGTGAGACCAGC	인트론 51
343	UGUAAAAGGAAUA CACACGCUGA	567	UCAGCGUUGUGUA UUCUUUUACA	791	TCAGCGTTGTGTA TTCCTTTTACA	인트론 51
344	UGUAAAAGGAAUA CACACGCUGAA	568	UUCAGCGUUGUGU AUUCCUUUACA	792	TTCAGCGTTGTGT ATTCTTTTACA	인트론 51
345	GUAAAAGGAAUAC ACAACGCUGA	569	UCAGCGUUGUGUA UUCUUUUAC	793	TCAGCGTTGTGTA TTCCTTTTAC	인트론 51
346	GUAAAAGGAAUAC ACAACGCUGAA	570	UUCAGCGUUGUGU AUUCCUUUAC	794	TTCAGCGTTGTGT ATTCTTTTAC	인트론 51
347	GUAAAAGGAAUAC ACAACGCUGAAG	571	CUUCAGCGUUGUG UAUCCUUUAC	795	CTTCAGCGTTGTG TATTCCTTTTAC	인트론 51
348	UAAAAGGAAUACA CAACGCUGA	572	UCAGCGUUGUGUA UUCUUUUUA	796	TCAGCGTTGTGTA TTCCTTTTA	인트론 51
349	UAAAAGGAAUACA CAACGCUGAA	573	UUCAGCGUUGUGU AUUCCUUUUA	797	TTCAGCGTTGTGT ATTCTTTTA	인트론 51
350	UAAAAGGAAUACA CAACGCUGAAG	574	CUUCAGCGUUGUG UAUCCUUUUA	798	CTTCAGCGTTGTG TATTCCTTTTA	인트론 51
351	UAAAAGGAAUACA CAACGCUGAAGA	575	UCUUCAGCGUUGU GUAUCCUUUUA	799	TCTTCAGCGTTGT GTATTCTTTTA	인트론 51
352	AAAAGGAAUACAC AACGCUGA	576	UCAGCGUUGUGUA UUCUUUUU	800	TCAGCGTTGTGTA TTCCTTTT	인트론 51
353	AAAAGGAAUACAC AACGCUGAA	577	UUCAGCGUUGUGU AUUCCUUU	801	TTCAGCGTTGTGT ATTCTTTT	인트론 51
354	AAAAGGAAUACAC AACGCUGAAG	578	CUUCAGCGUUGUG UAUCCUUU	802	CTTCAGCGTTGTG TATTCCTTTT	인트론 51
355	AAAAGGAAUACAC AACGCUGAAGA	579	UCUUCAGCGUUGU GUAUCCUUU	803	TCTTCAGCGTTGT GTATTCTTTT	인트론 51
356	AAAAGGAAUACAC AACGCUGAAGAA	580	UUCUUCAGCGUUG UGUAUCCUUU	804	TTCTTCAGCGTTG TGTATTCTTTT	인트론 51
357	AAAGGAAUACACA ACGCUGA	581	UCAGCGUUGUGUA UUCUUU	805	TCAGCGTTGTGTA TTCCTTT	인트론 51
358	AAAGGAAUACACA ACGCUGAA	582	UUCAGCGUUGUGU AUUCCUU	806	TTCAGCGTTGTGT ATTCTTT	인트론 51
359	AAAGGAAUACACA ACGCUGAAG	583	CUUCAGCGUUGUG UAUCCUU	807	CTTCAGCGTTGTG TATTCCTTT	인트론 51
360	AAAGGAAUACACA ACGCUGAAGA	584	UCUUCAGCGUUGU GUAUCCUU	808	TCTTCAGCGTTGT GTATTCTTT	인트론 51
361	AAAGGAAUACACA ACGCUGAAGAA	585	UUCUUCAGCGUUG UGUAUCCUU	809	TTCTTCAGCGTTG TGTATTCTTT	인트론 51
362	AAAGGAAUACACA ACGCUGAAGAAC	586	GUUCUUCAGCGUU GUGUAUCCUU	810	GTCTTCAGCGTT GTGTATTCCTTT	인트론 51
363	AAGGAAUACACAA CGCUGAA	587	UUCAGCGUUGUGU AUUCCUU	811	TTCAGCGTTGTGT ATTCTTT	인트론 51
364	AAGGAAUACACAA CGCUGAAG	588	CUUCAGCGUUGUG UAUCCUU	812	CTTCAGCGTTGTG TATTCCTTT	인트론 51

[0318]

365	AAGGAAUACACAA CGCUGAAGA	589	UCUUCAGCGUUGU GUAUUCUU	813	TCTTCAGCGTTGT GTATTCCTT	인트론 51
366	AAGGAAUACACAA CGCUGAAGAA	590	UUCUUCAGCGUUG UGUAUUCUU	814	TTCTTCAGCGTTG TGTATTCCTT	인트론 51
367	AAGGAAUACACAA CGCUGAAGAAC	591	GUUCUUCAGCGUU GUGUAUUCUU	815	GTTCTTCAGCGTT GTGTATTCCTT	인트론 51
368	AGGAAUACACAAC GCUGAAG	592	CUUCAGCGUUGUG UAUUCU	816	CTTCAGCGTTGTG TATTCCT	인트론 51
369	AGGAAUACACAAC GCUGAAGA	593	UCUUCAGCGUUGU GUAUUCUU	817	TCTTCAGCGTTGT GTATTCCT	인트론 51
370	AGGAAUACACAAC GCUGAAGAA	594	UUCUUCAGCGUUG UGUAUUCUU	818	TTCTTCAGCGTTG TGTATTCCT	인트론 51
371	AGGAAUACACAAC GCUGAAGAAC	595	GUUCUUCAGCGUU GUGUAUUCUU	819	GTTCTTCAGCGTT GTGTATTCCT	인트론 51
372	GGAUACACAACG CUGAAGA	596	UCUUCAGCGUUGU GUAUUC	820	TCTTCAGCGTTGT GTATTC	인트론 51
373	GGAUACACAACG CUGAAGAA	597	UUCUUCAGCGUUG UGUAUUC	821	TTCTTCAGCGTTG TGTATTC	인트론 51
374	GGAUACACAACG CUGAAGAAC	598	GUUCUUCAGCGUU GUGUAUUC	822	GTTCTTCAGCGTT GTGTATTC	인트론 51
375	GGAUACACAACG CUGAAGAACCC	599	GGGUUCUUCAGCG UUGUGUAUUC	823	GGGTTCTTCAGCG TTGTGTATTC	인트론 51
376	GGAUACACAACG CUGAAGAACCCU	600	AGGGUUCUUCAGC GUUGUGUAUUC	824	AGGGTTCTTCAGC GTTGTGTATTC	인트론 51
377	GAAUACACAACGC UGAAGAAC	601	GUUCUUCAGCGUU GUGUAUUC	825	GTTCTTCAGCGTT GTGTATTC	인트론 51
378	GAAUACACAACGC UGAAGAACCC	602	GGGUUCUUCAGCG UUGUGUAUUC	826	GGGTTCTTCAGCG TTGTGTATTC	인트론 51
379	GAAUACACAACGC UGAAGAACCCU	603	AGGGUUCUUCAGC GUUGUGUAUUC	827	AGGGTTCTTCAGC GTTGTGTATTC	인트론 51
380	AAUACACAACGCU GAAGAACCC	604	GGGUUCUUCAGCG UUGUGUAU	828	GGGTTCTTCAGCG TTGTGTATT	인트론 51
381	AUACACAACGCUG AAGAACCC	605	GGGUUCUUCAGCG UUGUGUAU	829	GGGTTCTTCAGCG TTGTGTAT	인트론 51
382	UACACAACGCUGA AGAACCC	606	GGGUUCUUCAGCG UUGUGUA	830	GGGTTCTTCAGCG TTGTGTA	인트론 51
383	ACACAACGCUGAA GAACCCUGAU	607	AUCAGGGUUCUUC AGCGUUGUGU	831	ATCAGGGTTCTTC AGCGTTGTGT	인트론 51

[0319]

[0320]

† 표 8에 제공된 올리고뉴클레오타이드 및/또는 표적 서열 중 어느 하나 내의 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고/거나, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있다. 표 8에 열거된 표적 서열은 U를 함유하지만, RNA 및/또는 DNA에 대한 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드의 결합이 고려된다.

[0321]

일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열의 영역을 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA (예를 들어, 서열식별번호: 130의 Dp427m 전사체)의 영역을 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA (예를 들어, 서열식별번호: 130의 Dp427m 전사체)에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 엑손 (예를 들어, 서열식별번호: 131, 838 또는 854)에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 인트론 (예를 들어, 서열식별번호: 834 또는 846)에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 832, 844, 833, 845, 835, 836, 847-852, 837, 853, 839-843 중 어느 하나에 의해 제공된 서열)의 한 부분에 대한 상보성 영역을 포함한다. DMD 서열의 예가 하기에 제공된다. 하기에 제공된 각각의 DMD 서열은 티민 뉴클레오타이드 (T)를 포함하지만, 각각의 서열은 임의의 또는 모든 T가 우라실 뉴클레오타이드 (U)로 대체되는 RNA 서열 또는 DNA 서열을 나타낼 수 있는 것으로 이해될 것이다.

[0322]

호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 전사체 변이체 Dp427m, mRNA (NCBI 참조 서열: NM_004006.2)

```
TCTTGGCATCAGTTACTGTGTTGACTCACTCAGTGTGGGATCACTCACTTTCCCCCTACAGGACTCAGATCTGGGA
GGCAATTACCTTCGGAGAAAAACGAATAGGAAAAAAGTGAAGTGTACTTTTTTAAAGCTGCTGAAGTTTGTGGTT
TCTCATTGTTTTTAAGCCTACTGGAGCAATAAAGTTTGAAGAAGCTTTTACCAGGTTTTTTTATCGCTGCCTTGATA
TACACTTTTCAAAATGCTTTGGTGGGAAGTAGAGGACTGTATGAAAGAGAAGATGTTCAAAAGAAAAACATTCA
CAAAATGGGTAATGCACAAATTTCTAAGTTTGGGAAGCAGCATATTGAGAACCCTTTCAGTGACCTACAGGATGGG
AGGCGCCTCCTAGACCTCCTCGAAGGCCTGACAGGGCAAAAAGTCCCAAAAGAAAAAGGATCCACAAGAGTTTCATGC
CCTGAACAATGTCAACAAGGCACTGCGGGTTTGCAGAACATAATGTTGATTAGTGAATATTGGAAGTACTGACA
TCGTAGATGGAATCATAACTGACTCTGGTTTGATTGGAATATAATCCTCCACTGGCAGGTCAAAAATGTAATG
AAAAATATCATGTGGATTGCAACCAACCAACAGTGAAGAGATTCTCTGAGCTGGGTCCGACAATCAACTCGTAA
TTATCCACAGGTTAATGTAATCAACTTACCACCAGCTGGTCTGATGGCTGGCTTTGAATGCTCTCATCCATAGTC
ATAGGCCAGACCTATTTGACTGGAATAGTGTGGTTTGCAGCAGTCAGCCACACAACGACTGGAACATGCATTCAAC
```

[0323]

ATCGCCAGATATCAATTAGGCATAGAGAACTACTCGATCCTGAAGATGTTGATACCACCTATCCAGATAAGAAGTC
CATCTTAATGTACATCACATCACTCTTCCAAGTTTTGCTCAACAAGTGAGCATTGAAGCCATCCAGGAAGTGGAAA
TGTTGCCAAGGCCACCTAAAGTGACTAAAGAAAGAACATTTTCAGTTACATCATCAAAATGCACATTTCTCAACAGATC
ACGGTCAGTCTAGCACAGGGATATGAGAGAACTTCTCCCTAAGCCTCGATTCAAGAGCTATGCCTACACACAGGC
TGCTTATGTACCACCTCTGACCCCTACACGGAGCCCATTTCTTCCACAGCATTGGAAGCTCCTGAAGACAAGTCAT
TTGGCAGTTTCATTGATGGAGAGTGAAGTAAACCTGGACCGTTATCAAAACAGCTTTAGAAAGAGTATTATCGTGGCTT
CTTCTGCTGAGGACACATTGCAAGCAACAAGGAGAGATTCTAATGATGTGGAAGTGGTGAAGACCAAGTTTCATAC
TCATGAGGGGTACATGATGGATTTGACAGCCCATCAGGGCCGGTTGGTAATATTCTCAAAATGGGAAGTAAAGTGA
TTGGAACAGGAAAAATTATCAGAAGATGAAGAACTGAAGTACAAGAGCAGATGAATCTCCTAAATTCAGATGGGAA
TGCTCAGGGTAGCTAGCATGAAAAACAAGCAATTTACATAGAGTTTTAATGGATCTCCAGAATCAGAACTGAA
AGAGTTGAATGACTGGCTAAACAAAACAGAGAAAAGAACAGGAAAAATGGAGGAAGAGCCTCTTGGACCTGATCTTG
AAGACCTAAACGCCAAGTACAACAACATAAGGTGCTTCAAGAAGATCTAGAACAAGAACAGTCAGGGTCAATTTCT
CTCACTCACATGGTGGTGTAGTTGATGAATCTAGTGGAGATCACGCAACTGCTGCTTTGGAAGAACAACTTAAGGT
ATTGGGAGATCGATGGGCAAACTCTGTAGATGGACAGAAGACCGCTGGGTCTTTTACAAGACATCCTTCTCAAT
GGCAACGCTCTTACTGAAAGACAGTGCCTTTTAGTGATGGCTTTTCAAGAAAGAGATGCAAGTGAACAAGATTAC
ACAACCTGGCTTTAAAGATCAAAATGAAGTGTATCAAGTCTTCAAAACCTGGCCGTTTTAAAGCGGATCTAGAAAA
GAAAAGCAATCCATGGGCAAACTGTATTCACCTCAAAACAGATCTTCTTCAACACTGAAGAAATAAGTCAGTGACCC
AGAAGACGGAAGCATGGCTGGATAAATTTGCCCGGTGTTGGGATAATTTAGTCCAAAACTTGAAGAGATACAGCA
CAGATTTTCAAGGCTGTCAACCACTCAGCCATCACTAACACAGACAACCTGAATGGAAACAGTAACCTACGGTGAC
CACAGGGAACAGATCCTGGTAAAGCATGCTCAAGAGGAACCTCCACCACCACTCCCAAAAGAGAGGAGGATTA
CTGTGGATTCTGAAATTAGGAAAAAGTTGGATGTTGATATAACTGAACCTTCACAGCTGGATTACTCGCTCAGAAGCT
GTGTTGCAGAGTCTCAATTTGCAATTTTCGGAAGGAAGGCACTTCTCAGACTTAAAGAAAAAGTCAATGCCAT
AGAGCGAGAAAAAGCTGAGAAGTTTCAAGAACTGCAAGATGCCAGCAGATCAGCTCAGGCCCTGGTGGAAACAGATGG
TGAATGAGGGTGTAAATGCAGATAGCATCAAAACAGCCTCAGAACAACCTGAACAGCCGTTGGATCGAATTTCTGCCAG
TTGCTAAGTGAGAGATCTAATGCTCGGATATCAGAACAACATCATCGCTTTCTATAATCAGTACAACAATTTGGA
GCAGATGACAACTACTGCTGAAAACTGGTTGAAAAATCCAACCCACCCCATCAGAGCCACACGCAATTAAGAGTC
AGTTAAAAATTTGAAGGATGAAGTCAACCGGCTATCAGGTCTTCAACCTCAAAATGAACGATTAAAAATTCAAAGC
ATAGCCCTGAAAGAGAAAGGACAGGACCCATGTTCTGGATGCGAGCTTTTGGGCCCTTACAATCAATTTAAGCA
AGTCTTTTCTGATGTGCAGGCCAGAGAGAAAGAGCTACAGACAATTTTGACACTTTGCCACCAATGCGCTATCAGG
AGACCATGAGTGCCATCAGGACATGGGTCCAGCAGTCAGAAACCAAACTCTCCATACCTCAACTTAGTGTCACCGAC
TATGAATCATGGAGCAGAGCTCGGGGAATTCAGGCTTTTACAAAGTTCTCTGCAAGAGCAACAAAGTGGCTATA
CTATCTCAGCACCACCTGTGAAGAGATGTCGAAGAAAGCGCCCTCTGAAATTAGCCGGAATATCAATCAGAATTTG
AAGAAATTTAGGGACGCTGGAAGAGCTCTCCTCCAGCTGGTTGAGCATTGTCAAAAGCTAGAGGAGCAAAATGAAT
AACTCCGAAAAATTCAGAAATCACATACAAACTGAAAGAAATGGATGGCTGAAGTTGATGTTTTCTGAAGGAGGA
ATGGCCCTGCCCCTGGGGATTTCAGAAATTTTAAAAAGCAGCTGAAACAGTGACAGCTTTTAGTCAGTGATATTCAGA
CAATTCAGCCCATCTAAACAGTGTCAATGAAGGTGGGCAGAAAGTAAAGAAATGAAGCAGAGCCAGAGTTTGCTTCG
AGACTTGAGACAGAACTCAAGAACTTAACACTCAGTGGGATCACATGTGCCAACAGGTCTATGCCAGAAAGGAGGC
CTTGAAAGGAGGTTTGGAGAAATCTGTAAGCCTCCAGAAAGATCTATCAGAGATGCAAGAAATGGATGACACAAGCTG
AAGAAGAGTATCTTGAGAGAGATTTTGAATATAAACTCCAGATGAATTAAGAAAGCAGTTGAAGAGATGAAGAGA
GCTAAAGAAAGAGGCCCAACAAAAAGAGCGAAAGTGAAGTGAAGTCTTACTGAGTCTGTAATAGTGTCATAGCTCAAGC
TCCACCTGTAGCACAGAGGCCCTTAAAAAGGAACCTGAAACTCTAACCCCACTACCACTGAGCTGCTGCACTAGGC
TGAATGGGAAATGCAAGACTTTGGAAGAAATTTGGGCATGTTGGCATGAGTTATTGTCACTTTGGAGAAAGCAAAAC
AAGTGGCTAAATGAAGTAGAATTTAACTTAAACCACTGAAACATTTCTTGCGGAGCTGAGGAAATCTCTGAGGT
GCTAGATTCACTTGAAAAATTTGATGCGACATTCAGAGGATAACCCAAATCAGATTGCGATATTGGCACAGACCTTAA
CAGATGGCGGAGTCATGGATGAGCTAATCAATGAGGAACCTTGAGACATTTAATTTCTGTTGGAGGGAACATACATGAA
GAGGCTGTAAGGAGGCAAAAGTTGCTTGAACAGAGCATCCAGTCTGCCAGGAGACTGAAAAATCCTTACACTTAAT
CCAGGAGTCCCTCACATTCATTGACAAGCAGTTGGCAGCTTATATTGCAGACAAGGTGGACGCACTCAAAATGCCCT
AGGAAGCCAGAAAAATCCAACTGATTGACAAGTCATGAGATCAGTTTGAAGAAATGAAGAAACATAATCAGGGG
AAGGAGGCTGCCCAAGAGTCTGTCTCAGATTGATGTTGCACAGAAAAATTAACAAGATGTCTCCATGAAGTTTCG
ATTATTCCAGAAACAGCCAATTTTGAAGCAGCTCTACAAGAAAGTAAAGATGATTTTAGATGAAGTGAAGTGCAT
TGCTGCTATTGGAACAAAGAGTGTGGAACAGGAAGTAGTACAGTCACAGCTAAATCATTTGTGTAACCTGTATATAA
AGTCTGAGTGAAGTGAAGTCTGAAGTGGAAATGGTGATAAAGACTGGACGTCAGATTGTACAGAAAAAGCAGACGGA
AAATCCCAAGAACTTGATGAAAGAGTAAACAGCTTTGAAATTGCAATATAATGAGCTGGGAGCAAAAGGTAAACAGAA
GAAAGCAACAGTTGGAGAAATGCTTGAATTTGCCGTAAGATGCGAAAGGAATGAATGTTCTTGACAGAAATGGCTG
GCAGCTACAGATATGGAATTGACAAGAGATCAGCAGTTGAAGGAATGCCTAGTAATTTGGATTCTGAAGTTGCCCTG
GGGAAAGGCTACTCAAAAGAGATTGAGAAACAGAAGGTGCACCTGAAGAGTATCAGAGGTTAGGAGAGGCCCTTGA
AAACAGTTTTGGGCAAGAAAGGAGACGTTGGTGGAGATAAACTCAGTCTTCTGAATAGTAACCTGGATAGCTGTACCC
TCCCAGCAGAAAGAGTGGTTAAATCTTTTGTGGAATACAGAAACACATGGAACTTTTGACCAGAAATGTGGACCA
CATCACAAAGTGGATCATTTCAAGGCTGACACACTTTTGATGAATCAGAGAAAAAGAAACCCAGCAAAAAAGAGACG
TGCTTAAGCGTTTTAAAGGCAGACTGAATGACATACGCCAAAGGTGGACTCTACACGTGACCAAGCAGCAAACTTG
ATGGCAAAACCGGCTGACCCTGCAGGAAATTAGTAGAGCCCAATCTCAGAGCTCAACCATCGATTTGCAGCCAT
TTCACACAGAAATTAAGACTGGAAGGCCCTCATTCTTTGAAGGAATTTGAGCAGTTTAACTCAGATATACAAAAAT
TGCTTGAACCACTGGAGGCTGAATTCAGCAGGGGTGAATCTGAAAGAGGAAGCTTCAATAAGATATGAATGAA
GACAAATGAGGGTACTGTAAAGAAATTTGTCAAAGAGGAGACAACCTTACAACAAAGAAATCAGAGATGAGAGAAAGCG

[0324]

AGAGGAAATAAAGATAAAACAGCAGCTGTTACAGACAAAACATAATGCTCTCAAGGATTTGAGGTCTCAAAGAAGAA
 AAAAGGCTCTAGAAATTTCTCATCAGTGGTATCAGTACAAGAGCAGGCTGATGATCTCCTGAAATGCTTGGATGAC
 ATTGAAAAAAATTTAGCCAGCCTACCTTGAGCCAGAGATGAAAGGAAAAATAAGGAAATTTGATCGGGAATTCAGAA
 GAAGAAAGAGGAGCTGAATGCAGTGCCTAGGCCAAGCTGAGGGCTTGTCTGAGGATGGGGCCGCAATGGCAGTGGAGC
 CAATCAGATCCAGCTCAGCAAGCGCTGGCGGGAAATTTGAGAGCAAAATTTGCTCAGTTTCGAAAGACTCAACTTTGCA
 CAAATTCACACTGTCCGTGAAGAAACGATGATGGTATGACTGAAGACATGCTTTGGAAATTTCTTATGTGCTTTC
 TACTTATTTGACTGAAATCAGTCATGCTCACAAGCCCTATTAGAAGTGGAACAACTTCTCAATGCTCCTGACCTCT
 GTGCTAAGGACTTTGAAGATCTCTTTAAGCAAGAGGAGTCTCTGAAGAATAAAAAAGATAGTCTACACAAAAGCTCA
 GGTGCGATTGACATTTATCATAGCAAGAAAGCAGCATTGCAAAAGTGCAACGCTGTGGAAAGGGTGAAGCTACA
 GGAAGCTCTCTCCAGCTTGATTTTCCAATGGGAAAAAGTTAACAAAATGTACAAGGACCGCAAGGGCGATTTGACA
 GATCTGTTGAGAAATGGCGGCTTTTCAATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAACTGAACAGTTT
 CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAGGAACTCCAGGATGGCAT
 TGGGCAGCGGCAAACTGTTGTCAGAACATTGAATGCAACTGGGGAAGAAATAATTCAGCAATCTCAAAAAACAGATG
 CCAGTATTCTACAGGAAAAATTTGGGAAGCCTGAATCTGCGGTGGCAGGAGGTCTGCAAAACAGCTGTGAGACAGAAAA
 AAGAGGCTAGAAAGAAACAAAGAAATATCTTGTCAGAAATTTCAAGAGATTTAAATGAATTTGTTTATGGTTGGAGGA
 AGCAGATAACATTGCTAGTATCCCACTTGAACTGGAAAAGAGCAGCAACTAAAAGAAAAGCTTGAGCAAGTCAAGT
 TACTGGTGAAGAGTTGCCCTTGGCCAGGGAATTTCTCAAACTAAATGAAGTGAAGGACCCGTGCTTGTAAAT
 GCTCCCATAGCCAGAGAGCAAGATAAACTTGAAAAATAAGCTCAAGCAGACAAATCTCCAGTGGATAAAGGTTTC
 CAGAGCTTTACCTTGAGAAAAACAGGAGAAATTTGAAGCTCAAAATAAAGACCTTGGGCAGCTTGAAAAAAGCTTGAAG
 ACCTTGAGAGCAGTTAAATCATCTGCTGTGTGTTATCTCCTATTAGGAATCAGTTGGAATTTTATAACCAACCA
 AACCAAGAAGGACCAATTTGACGTTTCAGGAACTGAAATAGCAGTTCAAGCTAAACACCGGATGTGGAAAGAGATTTT
 GTCTAAAGGGCAGCATTGTTACAAGGAAAAACAGCCACTCAGCCAGTGAAGAGGAAGTTAGAAGATCTGAGCTCTG
 AGTGAAGGCGGTAAACCGTTTACTTCAAGAGCTGAGGGCAAAGCAGCCTGACCTAGCTCTGAGCTGACCACTATT
 GGAGCTTCTCTTACAGACTTGTACTCTGGTGACACAACTGTGGTTACTAAGGAACTGCCATCTCCAACTAGA
 AATGCCATCTCTCTGATGTTGGAGGTACCTGCTCTGGCAGATTTCAACCGGGCTTGGACAGAACTTACCAGCTGGC
 TTTCTCTGCTTGATCAAGTTATAAACTTCAAGAGGGTATGTTGGGTGACCTTGAGGATATCAACGAGATGATCATC
 AAGCAGAAGGCAACATGCAAGATTGGAACAGAGCGTCCCACTTGGGAAGAACTCATTACCGCTGCCAAAAATTT
 GAAAAACAGACAGCAATCAAGAGGCTAGAACAACTATTACGGATCGAATTTGAAAGAATTCAGAATCAGTGGGATG
 AAGTACAGAACACCTTCAGAACCGGAGGCAACAGTTGAATGAATGTTAAAGGATTCACACAAATGGCTGGAAGCT
 AAGGAAGAAGCTGAGCAGTCTTAGGACAGGCCAGAGCCAGCTTGAATGATGGAAGGAGGGTCCCTATACAGTAGA
 TGCAATCCAAAAGAAATCACAGAAACCAAGCAGTTGGCCAAAGACCTCCGCGAGTGGCAGACAAATGTAGATGTGG
 CAAATGACTTGGCCCTGAACTTCTCCGGGATTATTCTGCAGATGATACCAGAAAAGTCCACATGATAACAGAGAAT
 ATCAATGCCCTTTGGGAAGGATTCATAAAAGGGTGAAGAGCAGAGGCTGCTTTGGAAGAACTCATAGATTACT
 GCAACAGTTTCCCTTGGACCTTGAAAGGTTTCTTGCTGGCTTACAGAAGCTGAAACAACTGCCAATGTCCTACAGG
 ATGCTACCCGTAGGGAAGGCTCTTAGAAGACTCCAAGGGAGTAAAAGAGCTGATGAAACAAATGGCAAGACCTCCAA
 GGTGAATTTGAAGAACTCACACAGATGTTTATCAACCTGGATGAAAACAGCCAAAAATCTGAGATCCCTGGAAGG
 TTCCGATGATGCAGTCTGTTTACAAAGACGTTTGGATAACATGAACTTCAAGTGGAGTGAACCTCGGAAAAAGTCTC
 TCAACATTAGGTCCCATTTGGAAGCCAGTTCTGACCAGTGGGAAGCGCTGCACCTTTCTTGCAGGAACCTTCTGGTG
 TGGCTACAGCTGAAAAGATGATGAATTAAGCCGGCAGGCACCTATTGGAGGCGACTTCCAGCAGTTTCAAGAGCAGAA
 CGATGTACATAGGGCCTTCAAGAGGGAATTTGAAACTAAAGAACCTGTAATCATGAGTACTCTTGAGACTGTACGAA
 TATTTCTGACAGAGCAGCCTTTGGAAGGACTAGAGAACTCTACCAGGAGCCAGAGAGCTGCCTCTGAGGAGAGA
 GCCCAAGATGCTACTCGGCTTCTACGAAAGCAGGCTGAGGAGGTCAATACTGAGTGGGAAAAATTTGAACCTGCCTC
 CGCTGACTGGCAGAGAAAAATAGATGAGACCTTTGAAAGACTCCAGGAACCTCAAGAGGCCACGGATGAGCTGGACC
 TCAAGCTGCGCCAAAGCTGAGGTGATCAAGGGATCCTGGCAGCCGCTGGGCGATCTCTCATTGACTCTCTCCAAGAT
 CACCTCGAGAAAGTCAAGGCATCTCAGGAGAAATTTGCCCTCTGAAAGAGAACGTGAGCCACGTCAATGACCTTGC
 TCGCCAGCTTACCACCTTTGGGCATTGAGCTCTCACCCTATAACCTCAGCACTCTGGAAGACCTGAACACCAGATGGA
 AGCTTCTGCAGGTGGCCGCTGAGGAGCCAGGTGAGGAGGTCAATACTGAGTGGGAAAAATTTGAACCTGCCTCAG
 CACTTTCTTTCCAGCTGTCTCCAGGGTCCCTGGGAGAGAGCCATCTCGCCAAACAAAGTGCCTTACTATATCAACCA
 CGAGACTCAACAACTTGTCTGGGACCATCCCAAAATGACAGAGCTCTACCAGTCTTTAGCTGACCTGAATAATGTCA
 GATTCCTCAGCTTATAGGACTGCCATGAACTCCGAAGACTGCAGAAGGCCCTTTGCTTGGATCTCTTGAGCCTGTCA
 GCTGCATGTGATGCTTTGGACAGCACAACCTCAAGCAAAATGACCAGCCATGGATATCTCTGAGATTTATTAATTTG
 TTTGACCACTATTTATGACCGCTTGGAGCAAGAGCACAACTTTGGTCAACGCTCCCTCTCTGCTGGATATGTGTC
 TGAACCTGGCTGCTGAATGTTTATGATACGGGACGAACAGGGAGGATCCGTGCTCCTGCTTTTAAAACTGGCATCATT
 TCCCTGTGTAAGCACATTTGGAAGCAAGTACAGATACCTTTTCAAGCAAGTGGCAAGTTCAACAGGATTTTGTGA
 CCAGCGCAGGCTGGGCTCCTTCTGATGATTCTATCCAAATTTCAAGACAGTTGGGTGAAGTTGCATCCTTTGGGG
 GCAGTAACTTGAAGCAAGTGTCCGAGGCTGCTTCCAATTTGCTAATAATAAGCCAGAGATCGAAGCGGCCCTCTTC
 CTAGACTGGATGAGACTGGAACCCAGTCCATGGTGTGGCTGCGCCGCTGCAACAGAGTGGCTGCTGCAGAACTGC
 CAAGCATCAGGCCAAATGTAACATCTGCAAGAGTGTCCAATCATTGGATTACAGTACAGGAGTCTAAAGCACTTTA
 ATTTAGACATCTGCCAAAGCTGCTTTTTTCTGGTGGAGTTGCAAAAGGCCATAAAATGCATATCCCATGGTGGAA
 TATTGCACTCCGACTACATCAGGAGAAGATGTTGAGAGCTTTGCCAAGGTACTAAAAACAAATTTGCAACCAAAAG
 GTATTTTGGGAAGCATCCCGAATGGGCTACCTGCCAGTGCAGACTGTCTTAGAGGGGGACAACATGGAACCTCCCG
 TTACTCTGATCAACTTCTGGCCAGTATGATTTGCGCTTGCCTGCTCCCTCAGCTTTCACACGATGATCTCATTCA
 CGCATTTGAACATTATGCTAGCAGGCTAGCAGAAATGGAACAGCAATGGATCTTATCTAAATGATAGCATCTCTCC
 TAATGAGAGCATAGATGATGAACATTTGTTAATCCAGCATTTACTGCCAAAGTTTGAAACAGGACTCCCCCTGAGCC

AGCCTCGTAGTCCTGCCAGATCTTGATTTCCTTAGAGAGTGAGGAAAGAGGGGAGCTAGAGAGAATCCTAGCAGAT
CTTGAGGAAGAAAACAGGAATCTGCAAGCAGAATATGACCGTCTAAAGCAGCAGCACGAACATAAAGGCCTGTCCCC
ACTGCCGTCCCCCTCTGAAATGATGCCCACCTCTCCCAGAGTCCCGGGATGCTGAGCTCATTGCTGAGGCCAAGC
TACTCGTCAACACAAAGGCCCGCTGGAAGCCAGGATGCAATCCTGGAAGACCACAATAAACAGCTGGAGTCACAG
TTACACAGGCTAAGGAGCTGCTGGAGCAACCCAGGCAGAGGCCAAAGTGAATGGCACAACGGTGTCTCTCCTTC
TACCTCTCTACAGAGTCCGACAGCAGTCAAGCCTATGCTGCTCCGAGTGGTTGGCAGTCAAACCTCGGACTCCATGG
GTGAGGAAGATCTTCTCAGTCTCTCCAGGACACAAGCAGGGTTAGAGGAGGTGATGGAGCAACTCAACAACCTCC
TTCCCTAGTTCAAGAGGAAGAAATACCCCTGGAAAGCCAAATGAGAGAGGACACAATGTAGGAAGTCTTTTCCACATG
GCAGATGATTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTA
CAACTCCTGATCCCCCATGGTTTTTATAATATTCATACAACAAAGAGGATTAGACAGTAAGAGTTTACAAGAAATA
AATCTATATTTTGTGAAGGGTAGTGGTATTATACTGATAGATTTCAGTAGTTTCTAAGTCTGTATTGTTTTGTAA
CAATGGCAGGTTTTACAGCTCTATGCAATTGTACAAAAAGTTATAAGAAAACATACATGAAAACTTGTATAGCTAA
ATAACTTGCCATTCTTTTATGGAACGCATTTTGGGTTGTTTAAAAATTTATAACAGTTATAAGAAAAGATTGTAA
ACTAAAGTGTGCTTTATAAAAAAAGTTGTTTTATAAAACCCCTAAAAACAAAACACACACACACACATAC
ACACACACACAAAACTTTGAGGCAGCGCATTGTTTTGCATCCTTTTGGCGTGATATCCATATGAAATTCATGGCT
TTTTCTTTTTTTGCTATTTAAAGATAAGACTTCTCTACCAACACACCAAAATGACTACTACACTGCTCATTGAG
AACTGTCAGCTGAGTGGGCGAGGCTTGAGTTTTTCATTTCATATATCTATATGCTATAAGTATATAATACTATAGT
TATATAGATAAAGAGATACGAATTTCTATAGACTGACTTTTTCCATTTTTTAAATGTTTATGTCACATCCTAATAGA
AAGAAATTTACTTCTAGTCAGTCATCCAGGCTTACCTGCTTGGTCTAGAATGGATTTTTCCCGGAGCCGGAAGCCAGG
AGGAAACTACACCACTAAAAACATTGTCTACAGCTCCAGATGTTTCTCATTTTAAACAACCTTCCACTGACAACGA
AAGTAAAGTAAAGTATTGGATTTTTTAAAGGGAACATGTGAATGAATACACAGGACTTATTATATCAGAGTGAGTA
ATCGGTTGGTTGGTTGATTGATTGATTGATACATTGAGCTTCTGCTGCTAGCAATGCCACGATTAGATTTA
ATGATGCTTCAGTGGAAATCAATCAGAAGGTATCTGACCTTGTGAACATCAGAAGGTATTTTTTAACTCCCAAGCA
GTAGCAGGAGCATGATAGGCTGGAGGCTATGGATTCCCAGCCATCCCTGTGAAGGAGTAGGCGCACTTTTAAAT
GAAGGATTGGATGATTGTTTCATAATACATAAAGTTCTCTGTAATTACAACATAAATATTATGCCCTCTTCTCACAGT
CAAAAGGAACCTGGGTGGTTTTGTTTTTAAAGGGAACATGTGAATGAATACACAGGACTTATTATATCAGAGTGAGTA
CAAGACATAATTTAAATAAATAAATCTTGGGAAAAGGTGTAAACAGTAGCCCCATCACATTGTGATACTGACAG
GTATCAACCCAGAAGCCATGAACGTGTTTTCCATCCTTTGCACTTCTCTGCGAGTAGTCCACACAGGTTTGAAG
TAAGTAAGAAAAGGCAAAATGATTCAAAATGTTACAAAAAACCCCTTCTGGTGGATTAGACAGGTTAAATATATA
AACAACAAACAAAAATTTGCTCAAAAAGAGGAGAAAAGCTCAAGAGGAAAAGCTAAGGACTGGTAGGAAAAGCTT
TACTCTTTTCATGCCATTGTTGTTTTTAAATCATTCAATAGATACCAAGGTGTGACCTATAATT
TTGCAAACTCTGTACCTCTGACATCAAGTGTAAATAGCTTTTGGAGAGTGGGCTGACATCAAGTGTAAATAGCTTTT
GGAGAGTGGGTTTTGTCCATTATTAATAATTAATTAATTAACATCAACACGCGCTTCTCATGCTATTTCTACCTCAC
TTTTGTTTTGGGGTGTTCCTGATAATTGTGCACACCTGAGTTCACAGCTTCACCACTTGTCATTGCGTTATTTTCT
TTTTCTTTATAATCTTTCTTTTCCTTCATAATTTCAAAAGAAAACCCAAAGCTCTAAGGTAAACAAATACCAA
ATTACATGAAGATTGGTTTTTGTCTTGCAATTTTTCTCTTTATGTGACGCTGGACCTTTCTTTACCCAAGGATT
TTAAACTCAGATTAAAAACAAGGGGTACTTTACATCCTACTAAGAAGTTTAAAGTAAGTAAGTTTCATTCAAAAT
CAGAGGTAATAGAGTGCATAAATAATTTGTTTTAATCTTTTGTGTTTTCTTTTAGACACATTAGCTCTGGAGTGA
GTCTGTCAATAATTTGAACAAAAATGAGAGCTTTATTGCTGCATTTAAGCATAAATAATTGGACATTATTTTCG
TGTTGTGTTCTTTATAACCAACAGTATTAACTGTAAATCATAATGTAAGTGAAGCATAAATCAGATGGCATGT
TTTGTCAATTGTTTTTCAGGTACTGAGTTCTTACTTGAGTATCATAATATATTGTGTTTTAACCAACACTGTAAAT
TTACGAATATTTTTTAAACTTCAGTTTTACTGCAATTTTCAACATATCAGACTTCACCAATATATGCCTTACT
ATTGTATTATAGTACTGCTTTACTGTGATCTCAATAAAGCAGCAGTTATGTTAC (SEQ ID NO: 130)

[0326]

[0327]

호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 전사체 변이체 Dp427m, 엑손 50 (NCBI 참조 서열: NM_004006.2의 뉴클레오티드 위치 7445-7553; NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오티드 위치 1524527-1524635)

[0328]

AGGAAGTTAGAAGATCTGAGCTCTGAGTGGAAGCGGTAAACCGTTTACTTCAAGAGCTGAGGGCAAAGCAGCCTGA
CCTAGCTCCTGGACTGACCACATTGAGGAGCCT (SEQ ID NO: 131)

[0329]

호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD) 엑손 50/인트론 50 접합부 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오티드 위치 1524606-1524665)

[0330]

TAGTCTCTGGACTGACCACATTGAGGAGCTGTAAGTATACTGGATCCCATTTCTTTGGC (SEQ ID NO: 832)

[0331]

호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD) 엑손 50/인트론 50 접합부 표적 서열 1 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오티드 위치 1524626-1524677)

[0332]

ATTGGAGCCTGTAAGTATACTGGATCCCATTTCTTTGGCTCTAGCTATTTG (SEQ ID NO: 833)

[0333]

호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 50 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오티드 위치 1524636-1570417)

GTAAGTATACTGGATCCCATTCTCTTTGGCTCTAGCTATTTGTTCAAAAGTGCAACTATGAAGTGATGACTGGGTGA
GAGAGAAAAATTTGTTTCAATTTCTAAAGATAGAGATAAACCTTTGTGTTATTGACTGTGCAAAAAGTCTTAGAGTACA
TTCCTTGGAAATTGACTCTGTAATTCAAAGTGTTGCATGACAACGGGATATGGGGAGTGTTCTCTGGAGATACACCCAC
AAGGAAGAGAAGAGCACAAGGGAGATTGTGGGAGAGTCTGAAATGTGATTGTCTGCAGCAGAGGCCCTAAGCCAGTC
TGCAGGAGCCCTACATCTGGGCTGGCTGTGCAGAGCTGTCTGAATTTGCAGGCAGTGGGCCCTGGCCCTTGTAATTC
TGATCCAGCCAGCCATTGGCCAGGGGCTGGCTGCTGCTGAGAGTGGAAGGACAACCTGGACAAGTTTTCTGAGGCC
GAAGGCAATTTCTTAGTAAGGAACACCATTAACAACCAATATTCTAGCATCCAGGGATGTGTGCATTGTTCTCTGAAG
AGGGACAAGTATGTTCTACAAAAATCACAGAAACACAGAAACACACAGTCCTACTAGCACCTCTCCCTGTCCCAT
TTGCAACAATTTAAGAGCTCTCCCATTTTTAGTTCAAGAAAAAGAAAAATGGATTGGGAGGACCACAAGCTGACTT
GGGGGAGGAATATTTCTCATTTAGCTGTAGTTTTAACTTTTGTTTTCTACATGATATTTTCAGTCTATTTTATTTTC
TTTCCTCTTCAGTTGTTGATAGAAGGTATTCTATAAATTTCTCATGGCAATGTTAATGCTGGCTTTGACTCTCAGGGGA
AAGAGGCCAGAAAACTTCTTTGCTGTACCATTCCTAATTAGGCAGAACTAAAAACATCTTTGGGTGTTGTTTTTG
TTTTTGTTTTTTTTTTGGCTTGTCTGCTTTTCAAAGATCAAATGATTGAAGCATTAAAGCATGGTGACTGGTCTT
CAGGTAAAGTTGATTTTTTATTTTATGTCAAGTAGAAAAATCTGAAGTGAAGAAATCACAGCTGGGGTAGCACAATC
ATAATTCATTAGAAGGCATAAATAGTGCTTGGATTAAAAAGAAGCCCTACAATCTGGGGACAGTGATCTCATGTGCC
CTCTGGGATTACTCGGCAGTCTACAGAGTTAGATTTAACGACTTTGGAGACTTAAGCATTATGGTTTTTTTTTTTTTG
TCAATCTGGGACACTGAAATGCTGTATCAGGGTTATACTCAACTGTGTGAGTTTTATTGTTTTTATGAGCTGTAA
TTTTGGTTCCTCAGCGCATATGCATAGTTTGTCTTATGTTATCATTTATTGGTGTCTGTTTTCTGGCTGTCTCT
GGTAGGTTTCAGCCTCAGAGCTCTGTAACCTCCATGAAGAGATTATGTTCCAATGATGTTTTATAAGTTTTGTAAACTCT
GAATCTCATGAGTTTATGTCCCATATAAGCCAGCTTACACATGGTAGGAAGGCTCCAAAACAGGGCGCCGAAATCCA
TTTAACGTGTAACCTTACCTAAATGTAAACATGTTTATAAGAAAAATACATTGGAAGTTCCAGTTTGTACTTCCAGCA
ACATATATAATTCATCCACTTTATTTATTAACCTCCATGTGTGAGCATCATACTGGTGTGCGAGTACAGCATAGA
ATAAAAGTCTCTCCTTTTCATAAAACATATATTGTAATTGAAGAGAGAAGACAATAAACTAATGAAGAAAAATATAC
TGCTCTAATAATTATAAGTCTGTAGAGTGATGCTACAGATTGATGTCAATGGGTATTTGTTAGACACACAGAAATC
TGAGGCCCTTATCTAGACCCACTGAATCACAATCTGCATTTTAATAGAATCCCAAGGTGAATCTGTGCACACTGA
CATTGAGAAACACCATTCACAGAGACAACCTAAGCAGGGAGATGGGATGAGGGTATTATTGTCTATAGTGTGGTCAG
GGAAGCTGTCTGTTAAGAGAATCATCAGAAAACTGATGTAAGTGAGGAAGTGAGCCTGGTGTATTCTGGGAAAAAT
ATTCAGGCAGGGAGAGAAAAAGCTGAGCAACGATACTGAAGTAGGAACAAGATGACGGGAATTAAGGAGATCAGT
GAGACTAGAGGAGTGGGTGAGGGGAAGTGTGATGGAAGCCATGAGAGATACCTCATCTTTTCATAGCACTGCCCTACTT
CCTTCTCCCAACATGAGGGTCTCATACCCCCCACCCTCTGTCTCTCCTATGTCTCCACATTTGCTGCCAGTA
TGGAGAGTCTGGGAATGCCCTCAGCTCAAAGCTGTTTGGTGATAGCTGGCAGAGTTGTGGTAGTACTAAAAAGAA
TTAAGGGAAGAGGAATTTTCTAAAAGCAGGTGCTTTTCTATCTCTTTAGCAAAACCGAAACAGATCTGAGCATTAA
GTCAAGATGTTAAATACACAAATGTTGAATGAAAAAAGCAAAAGGTAGTCATTAAATTCAGAGCTGCTTTTAT
TAAAAAAGATTTTCTTTTTTCTTTTACTGTGGTAGTTCAAATATCAGAAATAAGAAATGTTTCTATTTCCGACTTCC
TGACTTCAGGAAGTTAATCAGAAATAAATGCAATATAAAAAAGAAAAATCTAATTTGTTATATGCTTCTGTATAT
GTTTTATTATTCTGACTGTATTACAAATGTAATAGAATTTATAATTCATTATAGCAGATTGTTTCCATTGCATTCC
TACTATTAATATGTAGAAGCTACACATATACTTGTAGCTTTAACATATATGCTTTTATCTCAAAAATAACTGCAAA
GAACATATAGATAATTTTAAAGATTAAAGAGCCTGAGGTTTAGAGGGGAGATAGCTAGATTAAAGGCCACACAGCTA
GAAAGCAAGCAAGCAAGGGTTTCAGTCCACATGTCAAGCTCCACAGCCTGTGTTTTGTTTTGTGGCTGTGCTTTACA
CTATCTCTGTGCCAAGAACCTTAATGGAAATACAGATACAGATGCAAGCTGGCCAGCAGTTAATATAATTTAACTC
AATCTTAAATTTATCTGGAGTAAAGTGATACAAGTTTCCGTGTTTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTCTTTTCTTTGTGT
GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGACAGAAATCTTGCTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCATCTCGGTTTA
CTACAACCTCTGCCTTTTCAGGTTCAAGCGATTCTCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATACAGGTGCGCACCA
CCATGCCCAGCTAATTTTGTAGTTTTAGTAAAGACGGGGTTGCTCCATGTTGATCAGGTGGTCTTAAACTCCTGA
CCTCAAGTGATCCGCTGCCTCAGCCTCTCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACCTTGACTGGCCTGTTTCT
GTGTTTTTCTACTTAAGAAGTAGAAAAAATTGGTTCACCTCTATTGAAATTTCTTAGAACCATAGAAATCCAACTT
GGAATAATTTATGCAATTTATCTAGTTGAGTATTCTCTTTTATAGATGTAGAAGCTGAGGCCATAAGTTGCTTG
TTTTGTTTTATGAACACTAAACCAAACTACCTTGTGGCTGCTTACTTAAATTTATAAATATAATGGGGTGGCCTTGC
CTGAGCTGTATAAATGTTTTTAAATATCAGGACAAATCAACATACTGGAAGAAAAAGCAAACTTGCAATTTGTGT
TGCTTAGACACCTGTCCATATCAGTTTCTATTGTTGCATAGAAGCACCCTAACTTAACAGTTTCAAAACGAGTGAT
TTATTGCTCATAATCTGTGTGTCTGAAGTTTGTCTGTGATTAGCTGGATAGTTATTCTGATGGTCTTGTCTGGTG
TTACTTATGTGGATGCAGTTATCTAGCAAGTGAACAGGAGCTAGATGGTCTAAAATGCATCTCTCAGATATCTGAC
AGCTGGCTGTTGTTGCAGAACCTTGATTCTTATAAGGCCACTCATCATCTGTAGGCTAGATTAGGCTTCATTAC
ATGGTATTCTCAGGGCAGTTTTCCAAGAGAGGGCGGGTGGAAGCTACAAGACCTTCTGATGCCTAGGCTTTGAAACG
TGTAGGTTACTTGTCTAAGTTATATTGGTCAAAGCACCTCAAAGATCAGCCAGATTCAAGAGATGAGGAAATTA
CTTCATCTCGTGAAGGAGGAGATGCCACATCGCATATCAAAGGGGTATGCATATTGGGGATAGAAGGTTTTATTGT
CACCGTATTTATACAAAACTACTACATTGGGGAAAAGGAGGAAACTGGAGATCAAAAGTGTGGTCTTAATCCAA
CTTAATTTCTCAAAATTTACCATGCGTTAGAACCACCCAGTCTCTCGCAAAGTATAGATTACTGGGCTTCAACCCAG
AGTTTTCTGATTTACTAGCTCTGGGGTAGACCTGCATCTCTCTCTCTCTTTTTTTTTGAGACTGAGTCTTGCTCT

[0334]

GTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCATCTCGGCTCACAGCAACCTCTGCCTCTGGGTTGAAGCGGTTCTCCTG
CCTCAGCCTCTGAGTAGTAGGATTATAGGCACCCGCCACCACGCTGGCTAATTTTTGTATTTTAGTAGAGACA
GGGTTTACCATGTTGGTCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCTCAGGTGATCCACCTGCCTCAGCCTCCCATAGTGC
TGGGATTACAGCGGTGAGCCACTGTGCCAGCCAAAGACTTGCATCTCTGAAAGTTTCTAGGTTATGCTGATGCTGG
CCTATGCTTTGAGAACTACTACCACAGACATACAGTGGTGGGGAAGAATAAATTCATCCCTTCTGCTGTGTGCAGC
AAGGAGTGGGATCCAAATGAGATCCAGTGCCTGTGAATGCTAAAGGGAAATCCATCTTATTTAGCACCTCTACTCCC
CATCTCCCCACCCCGAGGATGTTATAGCTTAGAAGTTCAAGGAGATGGACAACACACTAAACCAGGCAGTATTGGCC
CTGCAGAGCTGTTTCAGTGTCTTGATGAGTCTGAGACCTCTGAGAAGAAAAGCCATAAGTTCCCTCTAGAGACTTTCACAATC
ATTTAGGTAGACAGGACTTTGCATGGGTCTGAAGGCTTGCATGGCAGATGGAGGCCAAAGAGCCAGCAAAATCTGGTTG
TAAATGTCATGTGAATCTCTTCTTATCCACAAGCTGCTGGGCTGAGAACATTATGTTCTACAATACCCGATTTA
GCATTTTGAAGAAATTCATATAGACATGCTTAATGTGAAGACTCCAAATCAGGATATTTGATTCAAAATGCTCT
TGGTAAATACATATGGAATGAATAACCCATTGTATATGGACATATAGAAGAGCCAGTTAACAGAGTTTCTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACGGAGTCTCACTCTGTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGCATCTCG
GCTCACTGCAAGCTCCGCCCTCCGGGTTACGCCATTCTCTGCTCAGCCTCCCCCGTAGCTGGGACTACAGGCGC
CGGCCACCACGCCCGCTAATTTTTTGTGTTTTTAGTAGAGACGGGTTTCACTGTGTTAGCCAGGATGGTCTCG
ATCTCTGACCTCGTGATCCGCCCGCTCGGCCCTTCCAAAGTGTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCGCCGGCC
CAGAGTTTTCTAGTTGATTAAACACTGGTAAATCATCTCTCTGTAAATTAAGTTTGGAGAGAGCAAGTCTCAAGT
GTAATTAGGAAGCAGAGTATGGAGGTCAAGAAGCTAAATTCGTATATCTCAGTTGTGCTACCAACTATATAAGG
GATCAACAGACTGTTCTGCAAGGACCGGATAGATATTTCTGCTTTATGGGTCATGTGGTCAACTCTGTCAAT
GTATACTAAAAGCCACAGACAATACCTAAATAAAGGGACATGGCTGTGCTCCAGTGACACTTTATTACAGAAACGA
GCAGGTAAGATAGATTGACCTTAGTGGGCTACCCATTTCCTTAGCACTCAGCCTTCTATAAACCATGAAGC
GTCTAACTACAAGTACCTGTGAGTCTTCTGAGTCTTCTGTGCTGTAGGAGTAGCTCTCCCACTTGAGAGCAG
GCTGGAAGCTGGGAGGAGATTATCTGGAATAGCACTTAACCAATGGACAAAAGCTGGGGGATAAAGGTGTTGGT
CTTCATAGTTTTTCACTCTCTATGAAGAAATACCCGAGACTGGATAATTTATACAGGAAAAAGAGTTTAAATGGACT
CACAGTTCACATGGCTGGAGAGGCTCACAATCATGGCAGAGGCGAAGGAAGAGCAGAGGCACTTCTTACATGAC
AGCAGGCAAGAGAGCATGTGCGAGGAACTGCTCTTTATAAACCATCAGATCTCATGAGACTTATTCACTATCAGG
AGAACAGCACAGGAACCCCAACCCCATGATTCAGTTACCTCCCACTAGTCCCTCCCAACACAGTGGGATTAT
TGGAGTTACAATTCAAGATGAGATTGGGTGAGAACACAGCCAAACCATATCAATAAATATCCCACTTCTCTCCC
CTTGGGTAGGACACTCCAATGCCATGTTCCACACTAAAAATCTCCAGTGAATGGGCAGTTGACCACAATGATAAGC
ATACTTATAGCATGCTCGTATAGGCTTCTTCCGATGTGTAGGCTTCTTCCCACTTTTGGCAGAACTCTGGACCA
ACCCACATCTCTGAGTTGATTTCAGTCTCTTCAGTATTCTCATATATCTCAACTTTGTTCCCTGCTGAGATAC
AACTGACAGATATATATGATCTTCAGCTCTGCACTCTATCTTCTTCTACCATGGCTTCTGGGATCAGCTCCC
AATTGAATATTTGTATTTAAATCTTGTCTCAGGCTCTACTTCTGAGCAAACTAAATTAATACAAGTCTTAGAAT
TAGTCCACAGTTATACCTTTTGAAGTATGTTGCAATTCCTATTTATAGATGAGATAACCAAGGTCAGAAA
GGTTAAATTAATTTGTCCAGGTTACAGAGCTAGTCAAGTACAGAGTGGGTATTCAAAATAAGTCTCTATGATTCCA
GAGCTTATGCTATTATATCAGTGCACCATGATCAAGCAGTGATTAGTTATCTTCACTTTGAATTTTTGAAGTCTCT
ATTTAAATGAATATCAAACTCTCACATATAAGGTTATTTATACCTTTTTATTGTTTTATTATTATTTATTTT
GCTTAACTTTTTTTATTATCTTTAAGTTTTAGGTACATGTGCAAAATGTGCAGGTCTGTTACATATATATACAT
GTGCCATGTTGGTGTCTCAACCCATTAACTCGTCAATTGAACATTAGGTATATCTCTCAATGCTATCCCTCCCCCT
CCCCCCCCCAGCAGGAGGCGGCTGTTGTGATGTTCCCTTCTGTGACCATGTGTTCTCATTGTTCAATCCCAC
CTGTGAGTGAGAAATATGCGGTGTTTTGTTCTTGGCATAGTTTGTGAGAAATGATGGTTTACAGCTTCATC
CATATCCCTACAAAGGACATGAACCTATCATTTTTTATGGCTGCATAGTATCCATGGTGATTATACATTTTAAT
TGAACCTCACTACCTCTACAAAGTTAAATAAGCATTCCATTTCCATTTCAATAATCTTTAAATATCTAGGCAGT
TAAAGCATGAGGTTACTTGGCACTTAAATGTACTTGTGCATACTACTTTTGTGGCTTAAATTGCAAAAAA
ATGGTTAATTTATGTGCAAAATCCCTACATTTATCTGAGTATCATTTTTTTGTGAAATGGCCTTCGTTTATC
TGCAGCAAGGAAAAAGGAGTGGCAATTAGTCTTGCATTCTTATCTCTCTTGGGTCCTGATCCTTCTCATTAA
TAGAAACATGGCAGGGGAGGGGTATATAACCCACACCCCTTCCCTGTTGGTTATGTTTCCACTGTTGATTCTGCTT
CAGGTGAACCTTTAGGATTAGGCAAAATAAATTTCCGTGAGGCCAAATCTTTTCTTCTCATTAAACAGATGATTCT
CTGCTAAAAACACTTACGACATGGCTATACATTGCGGTTTTATAGTTACAGGCTCTAAACCTTGAAAACTTCTC
AAAGTCTAATACCTCAGGAGCAAGCTTTGTACAAAAATGTGAAGACCTTAAATCAGTTCCAATAACAAAAATAAT
CCATTTTAAACCTATCCCAAGATCTGCAAGGCTTGGAGCAGCTGGAGAGACTCCTTAACCTCTGACATTAATTA
ATTAATTTAAAAATTCATATTTGTATGTATCAGTGAGGTAAAGTGCCTTGAATATAATGAGATGTGTACACTGTA
GAAAGGGGAGTGACAACAGAAAGCCCTGGCTGGTGGGAGGCGGCACTTCTCACATCATCAGAAAGGAGTCTTCC
ATGAAGGCAGTAGGGGTCCTGGTCCGAGGCGAGTCTTCAACAATGCTCACTGGTTAACAGGAAAGGCACTACA
GTGGCATCATTTGTTAACTCCAGACAGTGATAGAATGTGAACCTTCTACTGTTTAGTATTAGTATTACAGATTTA
GATGTTAATATCCATTTTGTGATGAAGTTCCTTTCTCTCTCTCTTAACCTTTTGGTAGTTTTATTGCATGGT
TACATTTCCAGTTAGGTTGTGCTTTGGGCTGTAACCTGATGAAGGAAGAGAACTCTAGTTTCACTATTCTTAGGA
AAAAGAGAGGCTAACATCAATCTGATGATTAGAGATTTTGTATTACCTATGTCTGCTTTTAAACAGAAATAAA
ATGTTAATTACAGTAACTTACTTTAACCTTCTTATGCTATTTAACACTCTTCAAGAAAGGACTTTTGTGTTAAATC
ACTACAGAGTATACCATAATCTGACTGTCTACTCTGACCAAGAAACAGAACTATTAGGCATATTTATGAGAGT
AAGTACCTACCGCTCAAAATGGAAGGCTTCAACATGTATTCCTAATATTTCTTAAACCTTCACTGAATAGTTTTAA
AATTGAATATACTTTACCTTCAGAGAGAAACAAGATTTCAAGAGGAAATGTAGCAGTTTGTACTTCAATTGTCG
ATTTTAAGATTGTGGCTGAAAAGTATTTGAACAGTCATTCTTCTTTCCACTATCTCAGGAAAGGCTCTCATCTC
ATTAGAAGCAATCTTAGAAGCGTAACCTCAACTCTCTTCTTAAAAAGTGAAGAGCAGATGGAGTTCTACCAATCTG

CTATACTTGACAGTTTTTCAACTACCTAACCTAAGTTCCAGTTACTGTCTAAATATTTTTATTTCGAATAGGAAAAA
TACATTTATGCTTACTGTACATTTTCGACAGTGTTCATTCTTTGAGGTCTGTTATTTAATCTCCTTCCCACCTTTTCTT
TTCTATCTTAAATCAGATGAGTCCCCATGGTCTGGCAACAAAACAGCTGTTTCTCAAATTTTAAACGTCTCTGTGGC
CCTCCTCCTACCCCTTCCAAGTGTTCCTACATACTATTTTCTGTTGTGGGCTTCAGAATTGGATGCTGTTCCATAATT
ACTGGTCTTCCCATGACTCTGTCACATCATAAAGTCTATATATACCCCTTTTCCCTACGTTTACATGCCAAATACCAGG
TGTGCTAGCTTTAATTCAATGACTAGCATATGGTAGGTATGCACTAATATTTTTTGGTCAAGTGAACATATATTT
TACAGATAGATCAAAATACATCAACCTTCCCATGTAAATAATAATAATACCAAGAAGATTAATGATCGCGTGCTTGAC
CAGCTGTTTGTGGCAGAACTCTGGACCCAAACCCACATCTCCTGAGTTAATTTTCACTGCTCTTCAGCACTTCTTATA
TATCTCAACTTTTGTCCCTGCTGAGACACAGCTGACAGATATATATATATCTTCACAATCTCAGTAGTAAGCCCT
ATTTTTTAAAGATTACAGTGTGATCAAGAGGGATATTTCTATGGCATTGATGCAAAATCTTCCAGGCCAGATATAAC
CCCTATCTCCTTAAACCCCTCATTTCTTGACTGTGCTTGAATCAAAATTTGAGAACCTCTGCTTTACATGCTACCTTC
CTCTTAAATTCATAAGGTTTATCTCTCTCATCTTCAGTATTTTATGAAAATATGTTTACTCTTATTTCCAA
AGTGCTTGGCAGCCCATGCTGAGTTTCATTAGACAAACAATCTAGGTATCCTAATATTAGGTAAATTTGCTAGCAGC
ACTAACTATACCAGTACCCACTTAAATTGCAATATAAACCTACAATAGGAAAAAAAAGTCAAAATTTACTACTTT
CAATTCCTACTTTTGGAAATATTTATCACACCTTCAAAAAAATCATAAATTGTTCTCCAATATTTAAAAACCAGGAAT
AAATTACATCACTATATATATAGCTATATAGACATATACTGTATATAGTTTATATATATATATACATGTCACATAT
ATATGGTTATATATACAGATAGCTATATCTCTATATAGTTTTTATATAGGAACTATATATATAAACTCATATATAT
TTATATATAAACTCATATATATATAAACTCATATATATTTATATATAAACTCATATATATTTTATATATAAACTCATA
TATATATAAGAGATTTTATATGTATATATGAGAGACAATATTGAAATAAAACAACTAGCCAATCTCCAATGTCCCT
TCATTTTCCCAGGACTCTCTTTATTTCTCAAAGAAATGTATGAATACACAATATAAAATAAATGTTCTATAATGTTCA
TTATGGATTATAAATGTTTCTTGTCATCTACTGAAAGTGAATGGGAATTTGTTCTCGATTATAGCATACTTTTCATA
ACTATGTGATTGTGTATAGGCATTTTGGCTTACTAAGTTGAGCATGATCAAAACAGAATCTCTATTTTTTTATTG
TTGATTCTTATTTCTTAAAGTAAATATGCCCTTTTCCCTTTGAACCTGACACTGTTTAAACAAATAAGCACATAAC
TCAGGATTGAATTTGACACTTCGATTGTAGCTTTTTTTTCAAGGTACAGGACCCAGTTTCAAGAAGTTTATTTTT
TCCAATACAATGACATCCACTCCACCAGCTGAAAGACAAGAAAAATTTGCTAATAAAGCTTTTCAAGTTCAATTT
GCTGGCTGCATACAGCTTGAAGAACTCTGAGGCTCACTCAGCATGTGTTGCAACCCCAACAGGAGAGAATG
AAAAGATTCTAGTTAAAGGCTGACACTGCCCTTCCAACCTCTTGAATGTGAATATAAAGCCAGTTTACAGAC
GCAATCTCTATGATTCGGGGATTTCCATCTTGATCTCTGACTCCAAGGAACATTTGAATGCATGGATTTGTATCC
ATATCTGGGTGAATAAATGCTTCATATTTGAAAAAGGGTGTCTTAAACAACATAAGTCTGATGTAAATCAGGCAAA
ACAACATTGTCACTTCATGTTTAACTCTCCTGGAGGGTCTCTAAGGTCTCAGCTTTGGTTCTATTCCAGTAATA
TAGGCCTATCATAGCCATTTTCAAAATAATACCTGCTTTTCAATTTCGATTATTTCCCTTAGCTTTTGCAATGACCCG
AACATACCTAATATTTATCTTAGGGCTAACACGCATTAATGCCTTGCTCTGTACCAGGCATTTTGCCAAGTATCTT
TGTGCATTTTCTGTTTAACTCTTACAGCAGCTTATGAAATAGGTACTACATTTATTTATTTTCCACCATGAGAGG
AAATGAAAGCTAGAGAGAATGGTTATCCAAAAACACCCAGCTACTAAGTGGGCACAGCATGGCCTTGAACCTGAGT
CTTTATAAAGTTTATGCTCTTTTACCTTTATGTATAACATCTGAATCTTGGTCATGAGCTATGAATGAAGA
CTCCATATACCTTAGGACCAATTTACCATTTGTGCATGCTTTTGTACATATTTTCCAATGAAATTAACAACAA
TACTCTCTCTCCCTTTCTTTCCGTTTTCATGACATCTAAATCTTTTATTAATCTCCGTGGGTGGAATTTGGG
CTTAAGTAGTAGTACCTTTGAAGCTTAACTATAACTCAGAGTTACGGAAGTGGTTTCAATATGAAGAAATATAT
ACGTTCTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTGGCTCCTTAGAATAGAGGCAATCAGGAGAGAAAAAGACATTA
AGATGATAGGCTTGAATCTCCACAGTGTACTACTTAGCTTTATTTATCTCCACATCTGTAACGTCAATTCAA
GGTCAAAAAGCCAGTACAGCAGCAGAATTAACAAAAGTAGATCTGGAAAATCTATAGGGTACCATAGTCCAGCACCC
TGCTGCAAGTCAAAATCAATTAATAAATATGTTTAAACAGCACTTCATTTAATCTTAAAGGCACCAGCTCCCTT
GGAAAATCTTTTTTGTGTTTCAAGCTGATTCTCTGAAAGTATTTTCTAGTGTTTCTTTGTTTCGGTGGCTGTGGTG
AATAAGTGGACCCCAATTGCCTACAGCATGAAATCGTAGAAATGAATATGGGCTGGAATCTCAATCAATCACACAAAC
CAGAAACATAGAGTTTCACTACCTTCTGGAAGCGTCCCTTCGGCCGTCAAAGGGTAGAGTTTCTCCCAACATA
TGTTCAACTCTCCCTTTGGCTCCCATTCGCAATTTCAACAGCTCTGTTGCTCTCGCCCTTTTAGGCTTCACATACC
GGATTTCTTCTTAGGAGCTCACTTGA AAAAGGGTGTATGCTTTAAAAATACTAAAAGTCACTGGACTAGATGATA
ATAAAATTTCTGTAATAATAAAGGGAGTTAACAGAGGTGTACCCTTATCATAATGGATATTTGTGACCTTTCCCT
CTAGCCAGTGTCCCACTTAAAGCATGCTTCTTGGCTGGAATTTATTTTCTCATCTGGATAAATCTGAAGCATTATAG
TAAACCCAGTGTGAGCAAGGCCATGGATGCAAGTGGATTGAGATGAATGAGTGGATAGACCTTCGCTGGGCAGAAAT
AATGAGGTGAGCAATAAGCCATACCAAGGGATGCACACTCAAGGAATAAATTTGGAGGTAGCAGAATAACTGAACAAA
TGATACATTTGATCAGACTGTACATGAATATCAACTGAAACAAGTTATGACTGTAGTTAGTGAACCCATAGAGTGAA
GAAAAACAAATATTGAAATCCATCTGATCAAAAAATAAATAAATTTGTTTACATGTATATATATCTAAAAATTTCCCT
TAAGAAATGAAGATTATAAATTTCCCGCAGTTGAGGAACTGAATAAGAGGAGAATCAGGACAGAACTTTTCTCTTCG
TATTCCTAGTCCATTTTCTTCTAATACAGTAGTGAGAACAGAATTTATTCACCAAAATCATATACTATGCAATT
AGGGGATGCCATTTGAATCTTGAAGACACGATTTGAGGCAATAAAAAATCCATATTTATAAAGTCAATTTATGGT
TTATATAATTTACTGTTTACGCGGGAGGTATAGGTTAGTAATGTAAGTCACTTCAAGAAGGTTTTGGTCAAGTTTT
GCCAATTTTTCTGTA AAAAGCCAGATAGTAAATTTTGGGTTTTACAAGCCAGAAGATCTTTGTTGAAGTTACTC
AACTCTGCTAATGAGGTGCAAGCAGCCATAGGCAGTTTGTAAATGCATAAGTGTGGCTGTGTTCCAATAAAGTGT
GTTTGAAGAACAGGCAGTTGTTGGATTGCCCCACAAGCCGTAGTTTCACTGACCCCTGTTTATGATAAATACTAG
TCAATAGATTCCTTGTAGCTAATAAGGGAATATAGATTGTTTAAATGTGTTTCCCTAATCTTCTTAAAGGCTTCTCCTC
AGGGGAAAAAATATTTCTTATCATCAGCAGTGTATTAAATGCTTACTCAGAACAAAGAAATACCCTTACTTAGCATA
GAATGGACATTTATAAGCCACTCATGGAAGAATAAAGAGATGTGAAATACCTGGTACAACCTTTAAGAGTGTTC
ACTATCATTTGAAAAATGATGAGTAGTAGTTATATAAAGGACTCGAGCCTAAACATTTGTTCTCACTTTGGATA

[illegible]

CTGAGAAATACAAGCTGGCTGCAGAACTTTGCTTAAAGTAAAGGAGCCAAATGTTAAGCGCCAAGACAATGGGGAAGA
TGCTCTCCAGGGCATGTGAGAGTCTTAATGGCAGCCCCCTCCCATCACAAGCCAGAGGCCTAAAAGGAAACATGGT
TTCACGGGCCAGGCACAGGGCCGTGCTGCTTTGTGGAGTCTCAGGACTTCGTGCCCTGCATACCAGCTGTGGCTCAA
AGAAGCCAAAGTACAGCTCAGGCTGTTGCTTTCAGAGGGTGCAGGCCTTAGTGCTTACATGTGGTGTGGGCTGGG
GTTGGACAGAAGTCAAGAATTGAGGTTTGCACCTCTGCCTAGAATTAGAGGATGTATGGAAGGCTAGGTGTCC
AGGCAGAAGTTTCTGCAGGGGCAGGGCCCTCATGGAAACCTCTCTGCTGGGACAGTGCAGAAGGAAATGTGGGG
TCGGAGCTCCACACAGAGTCCCCACTGGGCACTGCCTAGTGGAGCTGTGAGAAGAGGACCACCATCATCCAAACCC
CAGAATAGTCAGAAATGCTGATAGTTTGAACCATGCATCTAGAAAAGCTGCAGATACTCAGTGCTAGCCATGATAGC
AGCTGGGAGGGGGCTGTACCTGCAAGGCCACAAGGGCAGAGCTGCCAAGGCCATGGGAGCCACCTCTTGCAATCA
GCATGACCTGGATGTGAGACATGTAGTCAAAGGAGATCATTGGGCAGTTCAAAGTGTAAATGACTGCCCTATTGGAT
TTAAGACTTTGCATGTGGCTGTAAACCCCTTTATTTGGCCAATTTCTCCCATTCGGAACAGGTGTATTACCCAATG
CCTGTACCCCCCATTTGATCTCGGAAGTAACTAACTGTTTTGGATTTTCAGGCTCATAGGCGGATGGGACTTGCTT
TGCCCTTAGATGAACCTTTGGACTTGGACTTTTGGGTTAATGTTGGAATGAGTTAAGACTTTGGGTGACTGTTGGGAA
GGCATTATTGTGTTTTGAAATGTGATGACATGAGATTGGGAGGGGCCAGGAGCAGAAATGATATGTTTTGGCTGTGT
CCCCACCCAAATCTACCTTGAATTTGTAATCTCCAAATCCCAAGTGTGATGGGAGGGACCCAGTGAGAGGTAAAT
GAATCATGGAGGAGTTCGCCCATGCTATTCTCATGATAGTGGGTGATTTACATGAGATCTGATGTTTTATAAG
TGCTTGCGCTTTCCCTGCTGCGCACTCATTCTCCCTCTGCCACCCTGTGAAGAGGTGCTTCTGCCATGATTGTAA
GTTTCTTGAGGCTCCCCAGGCTCAGAAATGGTGAATCAATTAATACTGTTTTCTTCATAAATACCCAGTCTCGG
GTATTTCTTCATAGCAGCATGAGAACAGACTAATACAACCAACATCCCTCTTGTGATTTTCATTGAATCCCAT
ACCTGGGAATGAATGAGGAAGGCAGAAATAGAAATCAGCGTATTGTTCAATATAGAAATCTGAAAGTTACACAAGAT
AATTACGAGCAAGACTTTCACAGAGAGGAACCCCTGAGCTGGGGATCAGAGTCTTCTGGAACAAGGAGTACCAA
AGGGGAGTGAAAGAGAGTGGGAATGAGTAGTAGCAGTAAAGAGGAGATGTAAAGAAATGGAATAAAGAT
GAAATAAACTGTCTGTTCCAGAGACAAAGCTAGCTAGGGGAGCTAAGGAAATTTAGAGGGATAAAAAGTCTCA
TCCAAACCTTCATAATGAGCTAAGGGCTAGTTTTTCATAGACCTTAGCCCAACTTGCAACCTCTCACTCTCTTACT
TTTTCTCGCTCTGTTTTGCTTTACTGCTTTTCATATAATCTAAATGATGTTAAATGATATTTCTGCTCTCTT
TCTATATCAGAAATATAAATTCACATGAGGCAATGCGCTGTGCCACATTTACCAGTGTATCCAGTGTCTAGAAATGGT
GCCAGATCAAGTAGACTCCAGAGTGTCTGTTGTCAAATGATTTCTAGTCCAGTGATGTTGCACTACATGGTGTCT
GCCACTTTTTTTTTTTTTTACTTCAATTCATTTGGAATTTGGATCATTGTTGCCAATTTAGGGTTTTATCTCTCT
TATTTCCCTGTGTTTTGCTGAAATCTGACTATCTATTTTTCTCAGCTCTCTCTCTCACACTTTGCCCTCAACT
CCTCTCTGCTACAAATTTACTATGACACAAGACTGGAGCCACTTTTCATTGATTTGATGTGCTGCTTGTAGTGACA
ACTCCATGTGGAGAACTTTCAACCTCTGCTGCTGCTGTTTTGCTTTGAAAAAATACTCATCTCTCTCTGCTG
AACCCACTGGGTAAATTTATGCTCACAAAAAGACAAAACCTCTAGAACAAAACTGTATGAGCTTCAAAAGTATTA
GTTTTCCCTGATTTTGAGACTCAAAAGTACCATAGAAATTTTAAAGGGGGATGAAGTAATTTTGTCTTCAACCC
GATATATTTTACAATTTGAATGTGAGAACCATGAAATGCTTTTTCAGTGACTATCATCTCTCACTATTTCACCTAT
AAAAGAAAAGCAAAATATTGTTGAGAACAAAAAATATTGAGTAGCGGAAAAATTCACTTTAAAGTCTTTTTTG
GAGTTGCCACATCAGCGCTGCTTCAAGCTCTCTCACTGAAGATTTCTGTTTTCTTGAACAGTGTGCTCACTTC
CAATTTTACCACCTATAAATCTCTCTGGTTCTTTATATTTTCACTTTATATGTCCTTATCTCTCTGATTTTTGT
CCAGTCTTTTCAATTTTTTACATCTTTGTCTCTCTATATGTCAGAAAGAACTGCCACTCCAAATTCCTTAATATAT
TATCTACCAAGTGTATTTGCTGCTGCTGACTCTTCAGTAATCCATTGACTTGAAAACTTTCTACTCTGCTCTT
CTTACTATAGTTTGTCTTGTAGTTCAAAATATTATATATATTAGTCAAGTAATCTATTTTATGACATTTTACC
TAACATTTCTGGTAAATATAATTTGTTTTAAATTTGCATCACATGGTGAGTATTAATTTAAGACGTAATTAGTATTA
ATCTACTGGACAAGATTTTATTTATTAAGTGTTTTGCCCTTTGCTAGGGTTCTGTAATCTCACCTCAGTGCCTTTA
AATAGTCTTACCAAGGATCACCATTCCCTCTTCAATTTAAATTTCTATTTGTGTTAGTTTCTGAGATTGCACATTC
TCTGGTTTGGTTTTGGTTTTTTCAGTGATCTCTGTTGCTCACTTCAACCATTTCTACTTAGTTTACTTTTTCCCTGTT
AGCCCTCTTCAAGTGTAAATATCACCTGGAAGTTAACCCATTCTTAGTCTGCATTGCTCTATGGCCAGCATCTTGGCT
GATTGGCCATCACCATTCTCTGACTTATTGTCATTTTAAATTTTTTATGTTGGCAACAGCACATAACGGAAA
ATTTACCATTCTGCTTTGTTGATGTATGTTGCTATAAAGGAATGCCAGAGACTGGGCAATTTATAAAGAAATGGAAGG
TTTTATTTGGCTCATGTTCTGCTGAGGCTGTACAAAAAGCATGGCACCACCTCAACCTTCTCATGAGGGCTCAGGCT
TCTTCCATTCAAGTGAAGGGCAAGGGGAGCTGGTGTGTAGAGATCACATGGTTAGAGAGCATAAACAAGAGAGAG
AGGGGAAGTGCCAGGCTGTTATTTGGCACTAGCTCTTGCAAGACCTAACAGAAATGAGCAGTCACTCAACCTGCCCC
CAGGAAGGGCATTAAAGCATTCAAGAAGGATCCACCCCATGACCCCACTTCCCGTTAAGCCCCACCTCCAATAT
TGAGGATCAAAATTTCAACATGAGATTTGGAGGGGACAACATCTGAACATAGCATTATCTTAATTCAAATAATTTTA
CTACCAATTCATTTATAGAGAACTAAGATTAAAGACTACTGAAACTATGCCAATGATTATCTCTAGTTTCAAGCTT
CTCTCTTCAATTTCAACTCATATTTTCACTGCTGACAAGCTACCAGTAGATGTTCCACAGGTATTCTAACTCA
GGATATGTAAATTTGATGTTATCATTTATTTCTGAAATCTATTCTCTTACTATATTTCCCTATTTTTGTGAATGAC
ACAATCTAATGGACTGGCCATGTTAAAAATCAGGAAGTTTTCTGGCACTTTCTTTATTCCTTAATATTAAAGCCCCA
CGATAAATTTACCAATCTTTTCATCTTGTAAAGACAAATAAGCTTGAAATTTCTTATCTTTATTAGCACTGCAAT
TTTGTCTTCTCATTCTCAGATAGCATCTTCTACAAAACCTCTTCACTAGTTTTCTGTCTCTCAGCTCATCTGT
ACACTGCAAAATCCATTAAACTACATTTTTTAAACATGCCAATCATAATGATTAGTAAAGGTTGTATAATAGTTCT
TTTCTCTTCTAGGATAAAAGCTAAATTTTTAGCTTGGTACACAAGGCCGTTTCAATGGATTGGTACCTACTAGTCTA
TCTAGGGTATTTCTACATCTTCCCTCTCTCTTGAAGAAATCAAGTAATATAAATATTGTAAGTCCCTAAATC
ACCAATTGCTGCTTTTATCTTTAACATATATTCTTCTTTGCTAGAAATACATTTGTCATAATAGGCTCTTTGGT
AAACTTACCATTACATTTCTCAGTTTATAATATTATTGTTGAAGTACCTTTTTCTCTACTAGTCTCCAGGGGAAT
GCATGTGCTTCTCTCCATATTATCATTTTTAAATTTTACTCTTATTTACGCAAGTATCATATATTTTACTGAGAT

[0338]

TAATTGTTGGCATATTTATGTTACCCCTGGTGACATATTTAATAGTTAAGATGCTTTGGGGTGAAGAAAGAGAAATGC
ACTTTCAAAGTGGCTTCAAAAATAAGAAATAATCAACTCACATAACTGGAAGTTTCAAGAGTTAAAGCTGGCTCCAGA
TGAAGTACAAGCAGAGCTCTGTCACTCTTTCTCTATGACTTTCTTTGTCTGATTTTTTCTCTGCTCAGCTTTGA
CCTCCTCACTAGTTGGCCCTCCAGGTTCCAAGATGACTGCCAGCAACAATGGGTAACATAATTTCTTGTGTACAGTGA
GAGACATAAACACTTACCTCACAGATTTCAGAGATTTTCAACCTCAGATAAGAACAATCAAAATTTTAATTGTGTATCT
ACTGTATCATTATATATGATATAGGTATTCATATATATCTACTATTGTACTAAAGATGATTCAAGATGGTTTCATA
AGCTGGTGTATTTAACTTTTCTCTGAAACCAAGAGGATGAGATTATCTTGAAGCTGGCTTGAATTCGAAGATTAGG
TGAATCTAAATCCATCTCCAGAACTGAGGATGGATTCCGTAGAACTTGAAGACAATTGGAATTTCTCTAGAAAGCA
GAATTTCAAGAGTGGGTGTAGGATATCTTTGAATGGAAGTTGTTAAGCCACCAACAATATTCACTCCATTGGGGTG
ACACTGGGCCCAAAGGTACCCAGTTAATATTTGTTCAACGAACCTATAGGAAGACAATATTATCTGCAAGCTATTTA
TAACTAAATGACAACGAGAAGTATTTTAGAAAAGTTAATCATATACAATTTAGTCATTACATTGGGAGGCTCTT
CCTAAATTTCTGTTCTGATCCTTATCTTGTATCTTTGACGCAATCATATCTTGGCCTCCATCTAAAGCCAGTAGAAG
CCTCTGGCCATTTTTTAAACAATTTGGTTTAAACAACATTAATTGGAATCTATATAGCTCAACTTAAAAAAAAAAAA
GAGGAACTAGCTTATCATATAACAATATTGTCAAGGCAAGTGATACTTCCATGCAGCTATTTCAGCATTGGGTGATT
CTTGGTTTCTGCAAGCTAATAAAAAAGAGATTATCTCAGCGTCTCTAGGTTTAAATTTTAAAAACAAGAAACCATG
AACAATGAAAATGATTTCAAAACATCTTCACTCACATCTAAATATGAAATAGCTAGATCAGAGGTTCTTAATAATT
TAATCGGTGAAGCATAACTGAAGGATTTAGAAAAGTGCCATAAATATTAAGATTCTTCAGCTGCTGCTTAATGT
TGATATCAAGTTATTTTTTACACTGGCAACAGCTAAGCCATTCCCTGGTCACATCCACTTTTCAGCATTTCAGCCT
CCTCTCAATCATCCCGATCACAGCCCCAGGAATGTTTCATGGCATCTCCGCAATAATAGTATATTACTATTGGGTCC
TGAATTTTGAAGTAGTTTATCTTTTCAAGAGGATATGAATAGAGCAATAAGTCCAAGTAGAGTGGGCTTTATTAATG
ATGCCAAGATTTTAGAGGATTTACTATAATCTTCAATCAATTTTAAACCACTTCCCTTACCCTAGTTTATAGCTAA
ACCACTCCAACTGTGCTGTAGCTCAGATAATAACAATGTTAGATTTTTTTTTTCAAGATATAGAATTGTCGGGAAAA
CTTGTATGTAACCTATACCAATCTAAATTTCTTAGCATTTAACTCTAAAGAGTAAAGCTTTTAGCACTTCTCTGTGTA
ATACAAGGGCAAGTGCTGATTTCTCTCAAGTATAAATTTTCCCTTGTAGCACATATGTTCACTGTTTAAATAAAAAATA
GAATGCTTCAATATATCTCTTTTGTCAAGGGCTGAGAAATAAGAAATATACAGAGGGTCCCAATCTAAAAATGTT
TTGATTTACAATGGTTTCGAACTTACATAATCTTCAATCAATTTTAAACCACTTCCCTTACCCTAGTTTATAGCTAA
ACTTCAAGTACTCATACACTGTTCTGCTTTTCAATGTTCAATACAGTATTCAATAAATTACATGAGATGTTCAACAC
CTTTAATAAAATAGGCTTTGTGTAGATGATTTTGGCCAACTGTAGGCTAATGTAAGTGTTCGACCATGTTGAAGG
TAGGCTAGGCTAAGCAATGATGTTCTCAGTAAATGATTTTATTAATGCAATTTTCAATTTATGATGTTTCAACTTA
TGATGGGTTTTCAATTTATGATGTTTCAACGTATGATGGGTTTATCAGGAATAATCCCATTTGACGTTGAGGAG
CACCTGTATCAATGATGAGGCTTACACAACTCTCGTACTGATAGCGGCAGGAGGCAGAGAAGCTCTAGGCAGAAAA
GGATGGTCCCCAGCAAAAACCCACCCCTCAAGCCAAAAAGCCTGAACCCGAGCTCAAAGTGGGAACCTATATCCCA
GTTTTCTGCTCGAATGTTGCTTTTTTCTAAACACCCCATGGCCCCACCCCACTCTGTGCTTATAAAAAACCC
CAGACTCAGCTGGTAGACAGGACTACAGCTGGACATCAGAGAGAAGCAGCTTGACTTCAGAGGGACAACCTGATGGC
ATAACTTTAGAGAAGAAATCCGCTGGACTTCAGGGGAAGATTACTTGCCACCCCATCCCTTTTTCAGCTCCCTTC
CCACTGAGAGCCACTTTTATCGGCAGTACAAATCCCTCACATTTACAATCCTTCAATTTGTTTATGTGACCTCATTTT
CCCTAGATGCTGGACAAGAGCTCAGGAGCCACAAGTGTGAATACAAAAGGCCCTTTGCCCCTTGGCTGGAGGGCAG
CTGCCTCTGTGAAAAGACAAATGGCCCACTGAGCTGTAAACGCCTAAGCTGTCCGTGGATGGCAGAGCTAACAGAG
CACTGTAAACACACCTCTGGGGCTTCAGGGGTCGAGAGCGCTCCACCTAGATGCTGCTCCAGTGCTCATGCACTCC
AGTTCACCACTCTGTTTGTCTGACACTCCCTCCAGTGAGGAGTTGAGAGCAGTGGGCTAAGTAAATAAGGCACCCCT
GTTGCGAGTTCCCAAAAGGGGTCAGGGAATAATCTGCTTTCGTTACTAAGTAGGTATAAACCCCTTACTAAGTTAGT
AATTATTCAGTAATAACTTAAATGAAAGCTATTCTGTTAGACTAAATTCAGATTATCAAAGACACGACAGAAAAAC
AGCTTTCTCATTTGAAACCTATTTATTTCTTTTTGTAATAATATGTTAAATGAAAATACAGCCGTCATGCTAATTTCT
AATGGTAGAACATATTTTGAAGCTCTTTATGTTTGGAGATTTTGCTTTAGTGACATAATCAGAAATGATGTGAT
ATACTAAGAAATAATTTTAAATGAGATGTGACATTTCTCATAATCTAAATAAGAAATGGCAAAACATTGTCTTAA
GCTAAATAACTCATATGAAAGTATGAATAATTTGCTTTCTAAAGGTCCATGATATGTAGTGATTCTAATGTGTTTAA
TAGCATTTGATCCTATTGGGTAATTTGGGTGTTTCAACATGTAAGGAAGGCCCTCCAGTACTAATTTTCATGTACTGGGA
AACTACTGGGCAGGGATGAATCCCTTAACTCCTAAGTAAGACTATCAGATCATATAAATCTGCTTTTGTATTGCAA
AGACTCTTAGGCATACCTCTTGAGAAATTAACATCTACTAAATATATGTAAGACATTTCAGTCTAAGATTTACA
ATGCTCAAAGGAGAAAGATTTTAAAGTTCAGCATTTGGAATTTCCATAATTTCTTCCAATTGTAGAATTTTACAAT
GAGATAGCAATAATAATAATAAATATGTAAGACTGAAATCAACATAGGAGTTTGGAAAGAAGACTGTATGGGT
TAACTAGAGTTGTCAACAAGAGCTCACAGAAGATTGTGATCGTAGACATTAGTAAGGAATAAATGGGTGCAAAAA
AAAGTCTAAGAAACAACAAGGATAAATTTATTTTGAAGAGTGAAAGCATATTGGGTATTACATAAAGAGACTGGC
TAGTTTGACACAATGTGTACTTTTGGGGTAAGCAGTGGGAAATCACTTTCTGTAAGTAAAGTGGAAAGAAATTCAGG
TATTGGATATGGTCTATAGGATTTTTCAACCTTTGTTTTGCCCCCATCCCTATCTACCAGTATCATCACAGATGT
TGGCAATATTCACCTCACTTGCCCTGAAGATAGATATTCATGTGAGGGCTACAGATATGTAAGGTGAATGAAGTTAA
ATAGCAAAATTCAGGCACACTAGTTCTGACTGTGCACCTCTCTCACTCAGAAAAGCACTTTGGAATGGCAGAGTAC
TCTTATATTGACAACCTTTTAGTTGGTTCTAATTTATAAAAAAATAAAAAATATTAGACAATTTGGATATTTTATA
TCTATGCCACAACCCATTGTCAAATGATTGAGATATCATTGTTTGGCAACAATGAACTGAAATCAACTCTAAGAGT
AAAGAGTACGACTTTTAAAGATATTGGTTAAGAGTAATGTTGCAAGGCAGAGACCAATATAGAAGTTCTCAAC
CTGTGTGCTGGATATAGCTAAAAATTTCCAGGACCAATTGAAAGAAATTTCTCAATCCACAACCACTCAAGTGTGT
CTGTGAATCAAAGGAGTGATGCAATCCCAACAACATGTAGTAGACATTTTAAAGTATGTAGATGCTACTGCAAT
TAATAAATGCAAAATATATTAACAATATTACTGAATTCAGAATAAGTTGATTTTGTCACTATTTTCTCAATCTACG
CATGCTAGATATAAAGTTATTTATAGAGACGTAAACATTTTAAATATTTTCAAGCATGCTCATGATATTGTAACC

AGGCACTGTTAAAGATCACTGGATTGGGAATTAATAAACCTGGGATCTAGTCCTCATTGATCTCTTGTGGCTAT
GGTTTGGGGGTTTTGGGCAAACTATTCAACCTTTCTGCCTTGGTTTAAATTGATAAATGATGGTGTTCCTCCAGATA
AATCCCTTCCCACTTAATATTACCAGATGTAGCATCTATGGTTTGAAGTGTACAGTATAAATTAACCTTCCCTGAAG
ATCTTTCACAGTTACTATAACCTATATTTTCATGGCAGTGAAGTAACTAAGTTTTTGATAGCTTACGTTTTTATAATA
ATTTACTTACTCATTTTTATCATAATAATAAATCTGATTCTACTAATCACCAGAAATATCATTTTTGAAAAATAGATGCA
TGAAAGGATCCGAACCTTGTATGGTTTTATCTGTTCAAGTCACTAATTTTGGTAGCCACAGGCCCCCATTTGTCAAT
AGGGGAGAGATTATCCATTTTAGCAATACAGTCTCTGATAAATCTCAGCCCATATGCCCTTCAATTCACCTTTTACGTC
AGATTGAATGGGAATGTAGGCCCCAGTAGTAACTAACCTACTTTCTCTTTGGAAATTGGTCTTTCTACCTAGC
TCTTTGCCCTGTTCACGTTCTGTATTCCACAGAAAAATATATACATTAGGTGTTAAATCACAATGATTAACCAATT
TTTAAGTAGAAATAGTTATTAAGTATAGCATAATCATGCCCTTTGAATTAGTACAAAAGTAGGAAACAGAGCTTTAGT
GACTTTTTTCATTCTTTCCACCATTTCACGGGCAAAAAATGAAGAATTTTACCAATTCAAAACATATGCACATGTATAG
TTTCACCAGATTATTTAGTAGTTATGTTTCTCAAGATGTATAATTCCTTTCCCTTCTGTTTTCTGTAGTTTGATAAAC
CCTAGATAGGAGTTAATGTTGTTTCAGTTAGGTTTATTATTCTTTTATGTGGTTTAAATTCATGCAATAAGCTAGA
GATTTTGTAAACATAACTTGATAAAAAATTTCTCCCTTCGTATCTTTTTGTTTTAAAAATTAATGGATTAAATATAGATTG
TAATTTTACAGTAGAGGAATACATTTTACTTTTAGTTCTTATCTAGATATCTTAGGAAAAAAGAAACATCATTTTT
AAGGATTATTATTTTTCTACTAAATGAAAAAATAGCATGATTTTCCATTCTGAGCTTTGTAATTAACCTTTACCTTGG
AATAATTGAATCTTAAATATAACTTCATTGAAAAATTTTATTTTCAAGTAACATTTTAAATGCAAAATTTGTGTGAT
CTCTACTAAAAAGAACTCTCAGCATCCCAATGTGCTTATAGCTACAATAATTGGTTTAAAGAGACAAATTTATAAGAA
GATATAGGTTGTGACATTGAAATTAACAAATGTGGATTAGGGAAGTAAGCGTGTAGAGTTTTGTATGCAATCAAAGT
TAAGTTATTACCAGCTTAAAAAACCTTACGTAAGATGTAAAGAAAAGCAAAACCTATAGTAGCAAAAGCAAAAC
CTATAGTAGATATACAAAAGTTAAAAAGTAAGGAATCAAAGTATATACTAGTGAAGCAAGTCAAAACATAAAAGAA
GACACAAAAAAGGCATATAGACAAAGGATCTACAAAACAAATAGAAAACAACTTTTAAATGGCAGTAGTAAAT
TCCTACCTATCAATATTTTACTTTGAATGTAAATGGATTAAATTCACAGTCTAAAGATAGAGTGGCCAAATGGATT
AAACAACAAGACTCAACTACATGTGCCCCATAAGAGACTCACGTCATCTTTTAGGACACATGTTGACTGAAATAGAA
GAGATAGAAAAAGATATTTTGGTTTCCATGCAATGGAACCAAAAAGAGAAATGGGGTAGCCACTACTTCTATTAGAC
AAAAATAGGCTTTAAAAAATCAAAAGTAAAAAGACACAAAGAGGTCAATTAATAATGATAAAAGGATCAATTCATCA
AGAAGGTTAACAATTTGTAATATATATGACCCCAACATTGGAGTACCTAAATATATAAGCAAAATATAAGTGATA
AAAAAAGAGACAACTACAGTACAATAATAGTAGGGGACTTCTACCCCAAATTCACAATAGACAGAAAAATCCAC
ATTAAAAAATCAATAAGAATGCATTGGACCTTTATGCTTTAGATCAAAATAGACCTAGCAGACATATACAGTACATCTC
ATCTAAACAGCAGGAGATATACATTTCTTATCAAGTGCACAAAGAACAAATCTTCAGGGTAGATCATATGTTAGGCCA
CAAAATAGTCTTAAACAAATTTAAACAAATTTAAAGCATGATTTTATGTAAACAAACGCCATCATGGAAGAAATGAC
TAGTGTAAACAAAGTTTAAATATGATTTACTGATTGTTTAAAAAGGAATATCTTAGCCCTGATCTGATGGGATTTT
CCCTTTGTAAGCAGCAAAAAATAGTTTCAATGAAGCAACTGTAAATAACAGCTTCACAGATCTTTCTGAATAAAC
AGAGTTGGATATGTTTCTACTTCAGAAACCAATTTACTGTGGGCTCACAGCTTTTCCATACACTCTTTACACTCTTAA
TTTTAAACCCATTATCAAAAGGATTAAAGCAATGAGATTCAAGTCCAGACAAATAGGAAGTATGTGCATCAAAAT
GTCATGCTAATGCTCTGAGGAACCTTGTATTTCAATAGCATAAATTTAAACCACTGAAACCATGTTTTATTATGA
TTACCTTTTCATAGCTTCAAAAGAATTTGAGATGGTTTGGCAGGGATGTCTTAAAGAAACAAACACCAAAATTTTAT
TTGTTGTGCTTTAAACAGCAATTTTCTACGTAAGTGTACCTGTTTTCTCCCTTGATTTTGATCTCTTTTGTA
TGGTTGGTAGTTTGTGCACTTTCTGGGCATAGTATGGTTTTCTACAAGTAAATAAAAAACATAAATGATTTTGATGT
AGCTAGTTCCACTATTTCAGTTAGTGTGTTTTCCATACCTGCAATTATCAACATGTTTACTGAGCCGAGACGTTAA
ACTCAAGTTTAGTTCAATACAGTCACTTCAACCAACTTAAGATAGCAGTTACATTTCCAAGTCAATTATGAAGACG
GAGTTCAAGACTTCAGCAGTTGAATTTGTCAAGCTCATGGGTCTTTTAGTTACAGGAAGTGTGCATATTTACATAA
GAAACAGCAACTCTGATGATACATTGAACTCAAAATATACCAAGGAGTGTAAACCTACTTTATAAGCCCTTAAACA
ATAAATATGCCAACAACTCTCTGATACCTTTTGTGATTTTTTAGAGCATTCATTTGAATTATATAACATGTGATAC
CAATAAAATTAACTTTTTATTATTATTATAGAGAAATGATTCTGCTTTGTCTCCAGGCTGGAGTGCATAGGCA
TGATCTCAGCTCACTGCAACCTCCACCTCTTAGTTTCAAGTGATTTCTCTGCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATT
ACAGCCATGCACCACCACGCTGGCTAATTTGTACTTTTAGTAGAGACAGGGTTTACCATAATGATCAGGCTGGC
CTTGAACCTCCGGACCTCAGGTGTTTCTACCACCTCAGCCTCCCAAGTGCTGGTATTACAGGCATGAGCCACAGCGCC
TGGCTTATAATTAACCTTAAAAAATATTCTACTATCGAATGCCTGAAAAAATCATATTACTTCTATGTATTAACAA
AACTATTACGTAATAGACCAGAGATACGGTGTGAGATGAGATTCTTGGCAACAGTCTCTGAGACAAAAAGTT
GCACACAGAAAGTATTTGAGAAGTATTGTGCTATTATGAAGGAAGTGAAGGAGGCAGTATTGGGCAGAGAGAAAA
GCTCATCCACACTGCAGTTGCTACTGAGGCTTCAGCCCATGTGACAGGGACACTGGAGCTGGGATGGTCTTTTCAGAG
TTCTACCAAAATGAGGCAAAATGGGCGAGACTTTGTATCTTTGCACTAGCCAAAGAGCAGGCCACAGGGAGAAATGCA
GCTGTGATCCTTTTGTAGATATTATTCTGGAGTCAATGCAACCAACCAACAAATACTAGGAATAATATTGGTAG
TGTGGGTGCATCGACTCCAGAAAGAGGATCTTGATGAAGCATTACAGTATCCACTACAGAGAGGCACTGGCATATTTCT
GCTTACCCCAAAATTTGCAATGAGGATGCAAGTAGGAGTAGTGAGGACATAAAATAAATCGATTATTTTCCACTG
GGCCTTAATATATCAGAACTTTGGAATTTACAGGATGATATTTATTATAGTACTCAAAAAATCTCTTTTAAATCT
CCTTAACTCAGAAAGGGAATTTTAAAAAGTCCCAATTCACCTGGTCTATGAATTCCTTTTAAAAATAAATGTGGTT
TAATCAAAATTTACAAGAAAAAACAACCAACCCATCAAAAAGTGGGGGAAGGATATAAACAGACTCTTCTCAAAAG
AAGACATTTATGTGGCCAAAAAGACACATGAAAAAAGCTCATCATCTAGTGGTCATTAGAGAAATGCAAAATCAAAACC
GCAATGAGATACCATCTACATCAGTTAGAAAGGCATCATTAAGTGAAGGAAACACAGATGCTGGAGAGGATG
TGGAGAAATAGGAACGCTTTTACACTGTGTGGTGGAGTGTGAATTACTTCAACCATTTGTGGAAGACCGTGTGGCGAT
TCCTCAAGGATCTACAACAGAAATACCATTTAACTCAGCCATCCCATTTAGGGTATATACCCAAAGGATTATAAA
TCATTTACTGTAAAGACACATGCACAGTACGTTTGTTCAGCACTGTTTACAATAGCAAGACTTGAACCAACC

CAAAATGTCATCAATAATAGACTGGATACAGAAAAATGTGGCACATATACCCATAGAACTACTATGCAGCCATAAAAA
 AGGATGCGTTTCGTGTCCTTTGTAAGGCATGGATGAAGCTGGAAACCATCATTCTCAGCAAACTAACACAGGAACAG
 AAAACCAAAACACCGCATGTTCTCACTCATAAAGTGGGAGTTGAACGATGAGAACACATGGAGATGGGGGAGGGGAACA
 TCACACACCCAGTTGGGGGATTTGGGGGCGAGAGGGAGGGATAACGTTAGGAGAAATACCTAATGTAGATGAAGGGTTG
 ATGGGTACAGCAAAACACCATGGCACGTGTATACCTACGTAGCAAACTGTACATTCTGCACATGTATCCAGAACT
 TAAAGTATAATTTAAAAAATGTGGTTGAAAAACAAACCCACATAATACAAACTTTGCCAGCTTAACTGTTTTATGT
 GTACAAACCCAGTAGTGTAACTATACATACATTGTTATTCAACAGATCTCTAGAATGTTTTCTACTCTCAAAATCCGA
 AACTCCAAACCCACTGAAGAGCTCCCATTTGCTCCCTGTACCCAGCACTGGCAATATGACCACTCTACTTTCTGTCT
 CTAAGAGTTTAACTACTTTAGATTACATCATATAAAAGGAAGCATGCAGTATTGTCATTTTTATGACTGGCTTATTT
 CACTTAGCATAAATGTCTTCAAGGTACACCCATGTTGTAGCATAGGAAAGGATTCTCTCTTTTTTTGGCCGAGTA
 ATAATATTCCGTTGTGTCCTATACCACATTTTAAATCCGTTTATCAATCAATGGACATTTTAGTTACTTCAATTTT
 TGGCTATTGTGAATTATGCGCGAGTTAATATGAGTGTGCAATATCTCTTTAAGATCCGTGTTTTAATCTTTTGGGA
 TATACAGATGCTCATTGATTACACTGGGATTACATCCCAATCAGCCCATCATAAGTTGAAAAATATCATGTCAAAAA
 TTAATTTAATATGCCTAAAGTACCAACATCATTTGCTTAGTCTAGCATACTTTAAATGTTATCAGAACATGTAGATT
 ACAGTACATCTGGGCAAAATCATCTTGCAACACAGTACATAGTAGAGTATCAATTATTTATCCTCATGATAAATATC
 ATGCTGCAACCCCAATATGTGAGAGAGAGTATCATACTGCATATTTACTAGCCCTAGAAAAGATCAAAATTCAAAT
 TTGAAGTATGGTTTCTTAATGAATGCATATCGCTTTACACCCATTGTAAAGTCCAAAAATTACAAAGTTAGACCTTAG
 TAAGTTGGGGACTAACCGTACACCCAGAAATGGGATTGCTGGATTATATGATAATCTATTTTTATTTTTTGGAGAC
 TGGATTATATGATAAATCTATTTTTATGTTTGGAGAACTTCCATACGGTTTCCATAGTGGCTACACCTTTTACACA
 TTCCACCAACAATGCAGAAAGTGTTCAGTTTCTCCACATCCTTGCCAGCACATGTTATTTCTGTTTATGATCGTG
 GCTATCCCTATGTTTGTGAGTTCAATCTCATTGTGGTTTTCGTTCTTATTGCACTTTCCCGATGATTGACGATG
 TTGAGTATGTTTTCAGATGCTTGTGGCTGTGTATATTTTTCTTTGGAGAAATGTCTATTTAAATCCTTGCCCAT
 TTAAATCAGGTTAATTTGTTTTGGTGAAATCTCTTATTAATTACTCACCTCAGAGCCTTTCTCTTAAAAATACAGAT
 TTCTCAGAACTTTTCACTTAATTTACTAAATGTTGATCTTGAAGAAATGTTTAAATTTATCTGAATTTAGTTTCCCG
 TTCTATAAATGTATAGTAATCATGTTTTCCCTATCCACACAGAGTGGTATGATGAGGAACCAATGCAGAAAAATGAC
 TAAAAAGGCATTTTATGCTGTCAGATCTTTGTCAAATATATTAATTTGATTGAAACCAAAAGAATCTACATTTT
 AAGACTATTTAATATTTGTCGATTTTACATTGCCTAAATGGTTCTCTTTTTTCTCACTGATGAAGTTCTAGATTGAA
 ACTCTGAGGAACTGTAAATCAGAGTTACATAACTCTGTATATTAATTTATATAACTTCTCTGTCTCTCTAAAT
 ATATATATTTAGACTATATATACATATGATATATATATTTAGAGAGAGAACGAGATTACACTTAAGGACTCTGCTT
 AGTACATTGCAACTTGCACTCATTTCTAATTTGTGAAAAACAACAATTTTGAATGAGACCTGTTATTTTTCAGA
 CCTTTGGTCTTGTGAGGAAGGAATGATTCTGATCTTATCTCAAAATAGCTTATCATCTCCTCTGGTGGATGAG
 GCTTGTGAGGGCTGACACATGGTAGAGGATCTTATTCATTATATAACAACCTTCAAAACACATCACTAATTTTTT
 TCTGCTTAAGGTGAAACAGTAGCTCTCCCAACAATAAGAGATTAGACTGAATTTCTGTAGAAAACTGCTTACC
 CATTTTGGCTTATGTTTTCTACTGCAGAGTCTTGTCTCAACATTGAGGTAGGAGAACTCTATTTTAAAAAATGAAT
 AAACAACCCCAATCAGAATAAATTTAATTTAGGAGTGTGTTAAGGTGCTCAGAAATTTGGTAGAATAGCAGTG
 TATTTTCTGTAATAAGAACTACACAATGTTCTCTAGCTGGTTATACTCAATGGTTATATGGATTTTTATCTGATAT
 CAGTTTTGCAATTTGATGACCACTTATCATCAATAGCGTGGTCTTTATTATGGTTTTCATCTGGCTTTTTCTTCCCTTG
 TCTTCTGCACCTGGGCTGCCACTCTTCTTGGCTCTTATTATTACATACTCTACTTTTTCTATATACAAAGGCTCTTAGTG
 CATTAATAGTGAGTTTTCTGCTAAAGTGTACTTTCTTCAATATCCTGTCAAAATGCTGGCTGCCTGATTATTGAC
 CTCATAGAGTGACTATGTGAATCTTCCATTCTCTGTGGAATTCATTCCACATTTTAACTTAAAGACTCCGCTCTTT
 CCAGCTGTGTTCTCTCTGCTGGATAAGCATTTTTCTTTAATTTCTGTGGTAATGGGAAGGGAATTTTAAATCCTGT
 TTTGCTACAAAGTGTAAACAGGTAAAAATGGATGCTGTGTCAGCTATCTATTGCTGTGTAACAAGCTACCCCAAT
 GTAGAGACTTAAAAAAGAAATCATTTTTTTTTTAGCTCATGATCTTGATTCTGCTTGGGGCTTGGTTTCATCGAG
 GCGATTTCTTTTGTAGACTCAGCTGTGCTCATTCATGCACCTCGTGGTCAGCTGGTAGTTGATGACCACATGTGGCAT
 TCATATGCTGGTATAACTTTTTGGTTATAAGTTGAGACGGTGTGGGTGACAGGATCACTTGCTGTAATTTATTCAT
 CAGGCTAGCATAGTTCCATAGCGGTGGAAGAGTTCCAAGCATAGCCCAACACCCCAAGCATTTGTTAAGCCTCTGCTTA
 TGTCTATGTTTGTGATACCTCATTAGCCGAAACAAGTGACTTGACCAATCCATATTCAAGGAGTGGAGAAACAGAT
 ATGGCTCTTAATGGGAGAACTGGAATATCTCTTGACAAAAGTGATAGTCAAGAGGAGAACTGTGGACATTTACT
 CTCAGCAGAGATGTTGTCAATTTTGTCACTAAGACAGTTCTGTGTAATATTATTATTCTTGGCAGCCATA
 AGTTTGTGGTTTACTTATGGATACCTCAGTGCCTGCCAATATCATGTTGGAAGAGAAAGCCCTTAAACAATTTCTCT
 TAAATTTCTACTCTGAGGAATGAGAAAAAATAATGGATAGGCATAAATGATTCCAGCACAAATTTAAGCAGCT
 ATTTGAGAGTGGGTGGGTAGGAGAGATGGAAAAATCCTTTAATTGAGACATGCTCAACCATAAGCAATTTTTCTT
 TCCTCAGGAGACATTTGGTAATGTGAGGAGACATTTTGGTTGTATACATCTAGGAGGGAGCTCTGGCCAGAGATACTG
 ACAAGCAATTTCTGATCCTCAATGCACAGGACAGCCACTCACGACAAAAAATATCTGGGACAAAAATGTCAATAGT
 GCTGAGATTGAGAAACCCCTGCTTTTCACTGAGCGCATGTAGATGAATTCATATAATGTTAGTTATAGAAGGGCACTT
 AGATGATGCCAACTAAAAACAGGAAAGGCAATGATTATTTCTTATTCAAGTTAGTGAAGGAAGGATATGTTTAAAG
 TCAGGTTGGAGATATTTCTAAGGGTAATTTAAGTTGTGAGTGGATGCCAGATGCGCTTGATTGTTACAATCCAT
 ATTTTTATAGCTATATCAAAATGATCTTCTCCTCCAAATTAAATGGATATTAGATATATTTTCATGGATACCATATAT
 TATAAGCTATAGCTCTTAGAAGTATTTGAGTGATTAATAATCTTGCATATTGAATGAGACATGTAAGAAAGATACC
 TGATGCTCATGATTCTTAGAAATATGTGAGTGGTTAAGCACATTGCTTTGGAACATCACTTGTTAATGTGAGAT
 CCTGAACAAGTTTCGTTACCTTGGTAAAGGGGGATGATAACATCTACCTGAAGATGGTTTGGTAAAGGTGAAATA
 AAAGAGGGTTTATGAAGAACCTTGCTAGCACATAAAGATCACTGAGTAAATGATGGGGGTGATGGCAGTGTGGTG
 GCAATTTATCTTACTTGAAGTAGTAGCAAAATTTTATTTGGATTATTTTTTAAATAGCAAGAAAGAAATCTATTAAAA
 TGTAAGCAATAGCACCATTAAAGCTTTAAAAATCCATAGCTCCCAACTTAACATTTTTTTTTCTTAAATCCAGAAA

[0341]

[0342]

[0343]

[0344]

GTATGAGAAAAATGATAAAAGTTGGCAGAAGTTTTCTTTAAATGAAGATTTTCCACCAATCACTTTA
CTCTCCTAGACCATTCCCACAGTTCTTAGGCAACTGTTTCTCTCTCAGCAAAACACATTACTCTCACTA
TTCAGCCTAAGTATAATCAAGGATATAAATTAATGCAATAACAAAAGTAGCCATACATTAAGGAAAA
TATACAAAAAAGGAGCAAAACCTTACAAAGATAGTTGTCTCAGTTAAATTTACTAAAC
AACCTGGTATTTTAAATCTATTTTATACAAATAAGTCACTCAACTGAGCTATTTACATTTAACTGT
TTGTTTTGGCACTACGCAGCCCAACATATTGCAGAATCAAATATAATAGTCTGGGAATTGATTATTATCC
ACTCTTCTAAGTTGTCTGTGCCAATTTGCCCTTCTCCAATGATAAGGATAATTGAAAGAGAGCTATAACT
AAAAAGAGAAAGTAAACAAACATAAGATATTTAAATTACCCTAGATCTTAAAGTTGGCATTATGCAA
TGCCATGTTCAAATGAACATGTTTTTAATACAAATAGTGCATTTTTCAGCCCTCAGTGTAATCCATTGGT
AAAATTATGACATCAACTAGAAACATTAGAATACATTGATGTAATATGGTTTACCTAGCTAGATCAAAT
ATACTATATATCTTTTATTTTGTGAATGATTAAGAAAAAATATGTGGAATTGTTATACATTAAGTTT
TTTCACTTGTAACAGCTTTCAAGCCTTTCTAAAGAAATACAAAGTTGTGCTGAAGGTATTTAGGTATTAA
AGTACTACCTTTTGAAGAAACAAAGAGTGAAGGCAGACAGAGTAAGGGGAATTTCTTTGTAATAAATCACT
CACCATTCCATAGGAATAAAGTAATTTGATAGTAACAACCTGCATTTAAAGGCCCTTGAGCTTGAATA
CAGAAGACCTGAATTCAGTGCCATTGCAAAATGATGATTGTGGTCAAGCCATCTCTGGATCTTCGTTTCC
TATTTCTGAGTACAGAGCATACAGATACACATTACATTCACAATATAGTTATGGATATGGATGTATATA
AATATATGTAATACTACATATATGTACCTAAAATTTGTTTTACTTCTGCTTTAAAAAAGTAATTTATAG
CCACATTTTTCAGAAAAAGTAACTGAGGCTCATAGATGTCAAATTTCCAGTAAGTAGCAGAACAGGATT
CAAATCCAAGTCCATTGATTCTTAAGCTTGTGTTATTACTTGTCTACTGACAGAGATACAGTAGCAAGT
AATATATGTAAGTCAAGCAATACATATCTATTGCTGCGGTAATACTGTAAGTGCAGTTTACTATTAGTGA
TTGTATGTAGATGTAGATGTAGTCTATGTGACACACTATGCTGAGCATTTTATGGTTGCTATGTAAGTGA

[0367]

TACATACAGAAACAGAGGTACGTTCTTTTACAATACCATATTGAGTTATATAAATCTCCAGGACTTTT
ATTTACCAAGGAAACAAATTTTTATAATGTTTAAAGCCAGGTTTGAAGTTACATTGTCTGGGTTCAA
AGCTTGCTCCCAAGCTGTGTGACCTTGAGTAAGTTATCTGCCTACCTGAGCCCAAGTTTATCTAGCTA
TAAATGGGGATAGTTGTACTATCTGCCTTGCAAGTTTGTCTCAGGATTAAGTTGGTATGATGAAAA
ATGCTTCCCCTTTGCCCTTGCTTACTGCTTACTGCTAGTATTGAACAAATGTTAGTAATTTATTTGGTT
CCACCACGAATCTAGAAATCTAACCAATGATGGCATTGTATTATGCAAACTGTATATCACATCAATA
ATTATATGGAATGAGAGCTTGTGTTCCGCTTCTGTAGCCTAGTCTACCATTTGACATGAGCTTCTGCA
GTTACCAGATAATAGATTGGGAGAGAAAGTCCACACTTCTTGTGACGGGTTTGTGAGTCCAGCATTAG
GGAAGCCATTGATGTGCTCAGTAGTCTCCAGAGTTCTCTAAATAAATGTGCTCTTTTTCAGAAAGGACTAC
TGATTTGATGCCCTCAGAGAGTCTGCTTTAAATATAGGTCAAAACTAATGTAGAGGGCCAGGTGCA
ATGTTTTCAGCCTGCCTCCAGCGCTTTGGGAGGCTGAGGCAGGTGGATCACTTGAGGTGAGGAGTTTG
AGACCAGCCTGGTCAACATGGCCAAACCCCATCTCTACTGAAAAAATAAATAATAGCTGGTGTGGTGGCC
CATGCCCTATAATCCAGCTACTAGGGAGGCTGAGGCAGGAGAAATCACTTGAATCCTGGACAGAGGTTCC
ATTGAGCTGAGATCACACCATTGCACTCCAGACTGAGTGACAGAGTGAGACTCCATCTCAGAAAAAATA
AATTTAGGGGAAAAATCAAAAGCCATTCTGAGACACAAAAATACAGGATTATATAAATATATATGGTA
TATATAAAAAATTTTTAAATAGTTATATATAGCATATTATATATAATGATATGTAATGTTTCATATATTA
CATATTTATAAAAAATCTAATCTCCCTTCTCTTGTGCTGAATAGGGGGATGCTTTGCCCTGCCTCTTC
CTCTTATATTAATAAATAATCTTAAAGACATTGTGCTTCTTGGCTTTTATAGCCTCAATCACCATAAT
TTCGGTAAAAATGGCCCTAAATTAATCATTAACAAATGTGTGTGAGAGGGGAAATAAGAAGGATAAGTAAG
TATGGGGAGGATTTTGTATATAATTCAGGAAATCAATATCAATTTTATGTAAGTTTAAATAAAGCAAT
CCCAACTTTAATGTTGATGTGTGAAAAATTAGGCAAAATCCAAAGGGCTTTATAAATGAAAAAAC
TTTACTAACACCTATCCCTTTTATTTTAACTTCTATTGAGCTGCCACTAAGTACCTGGGAAAT
CATAAAGTTGTACAACATAGAATGTGCAGGTAAGAGAGGTTGAAGGAAGAAAAATAAACAACATATGATAG
AGATAAATTTTAGGATAATAGCTAACACATATGATATGCCAGTCAATTGATCTAAGTACTTCACGTGAATT
CTTTAATGCTTACAACATTACTGTGAGGTAGATAGAGAGGCACAGTAAGGATAAATAACCTGCCTGAGAT
GAGGAAGAAAGACAAATGATGAGATTGTGAACCTCAGGCAGTTTGGTTCCAGAGTCTCTCCCTTAAACCTCA
TAGTTTTCACTTCTCTGATATTGTGTGGGTGATGCTGTTGGGGCTTTCTTCAGGGAAAACTAAGCCAGG
AGAGAGAATGGATGCTAGTGAGATATCTCTGAAGAAAGAAAACTTAAGCCAGGCATTAAAGAAATGAGTT
GGAATTACCTAGCTAGATATAAAGCAGAAAGGCAATCCAGGCAGAGGGAACAGAGCTGTGCTTTTCACTGAG
GTGGAAAAAAGCAGAGTATATCAGAGGAATGTGATTCCATATGGCTGAAAGTTAAGGGTATATGATGAG
GAAGAAATGATGAGGTTGAATAGAGAGGACTGGGGCTAAATAATGGGAATCCTTTTGTGCCAGACTGAG
GAATTTGTATGATGGCTACAGGCAGTGGCAACTCTGAAAGGATTGTAACACAGGAAAAATAAATCATCAC
ATATAGTTTAGTTGCCATCAATATAGAGCTCTCTGGATGCAAGCAACAGAAATCATTCTCTGATTAAATC
AGGCAGAAAGTAAATGTGCTGTAATTAGCACAAAGGCATTGGAACAAAACCTTACAAAAGGAAAAAGAAATC
TGAGCATGCTTTCTGAGCATGTGGCTAGCAAGAAGTATTCCAGTCTGTTTGTGATACCTCTTTTCTCC
ATCCTGTGTGTAACCTCTGTTCAAATTTTAAAGTCTTAAAGAGAGTCCAGTTTACCTTGTTTGGGTGACA
TGTTAATACATGAGCTAGAAGGGAGCAGAAAACTTTGATTAAATCCCTCTCCTCCCAAGTCTCAAAAT
TAGGGAAGGCAATTTCTCTGAATAGAACTGGGTTCTATTGACAAATAGAAAGGAAATGATTCTGACC
AACCCTAAACCAATATTTGCTCACTGAACCTCAGTCAAGAACATGTAGAATAAGTTGGAGGATAGAGCAAA
TAAAGGAGATTTGTAGGAGGTAATTTATGATCTAAAGCAAGCTTGTTCACCTCATGGCCTGTGAGCCA
CATGCGTCCCAGGATGGCTTTGAATGTGGCCCAACACAAATTTGTAACTTTCTTAAACATAGAGTACT
TTTTGTGACTTTTTTTGCTCATCAGCTATCATTAGTGTAGTGATTTTATGTGTGGCCAGGACAATTT
TCTCTCCAGTGTGGCCAGGGAAGCCAAAAGATTGGATACAGCTGATCTAAAGCAACAGGTTTCATCTAC
TCAACTTCACAACGTGTAGACCTGAAATAAAGACCATTCATATACCAATACCTGAAATATAAATTTGTTT
GACCATGACAGCTACAGTAATTTGGTTCTCAATAAATGTGGATAGCTTGATGGATAATGTGAATGCAATGT
GATAAGGAACTTCATATTCACAAGAGCTGGAATGTGAGGATTATAATCCAAAGCACCAGAAAGATAGA
TAAGATAATGCAATGAGACATTTTATGACTCAAGGCAAGTTAGTTATGAGATTGAGACCAACCTTAGA
CGTGCAGTAATTGAAATATTTGCCACAGAAAGGGTATAAGGACATGACATTCAGTAAGCTAACCTTTCA
CTAGCTTTAGACTTTGAACCTCAGAAAAATATTTGGTGAAGGCTTATGGTCCCCCTTTAGTATGTATTGC
TTGATTAAAGTATTTTATGAAAAATGGTGAAGTGTGCTGCTTCCATTTTGAATAAAAAATAATTTTACTAAGT
GAATTTATATTCAGTGAAGAAAAATGGAAGCTACAATTACAACCTTTAATTTTTTAAAGTTTAAAGAAACAG
CCATTTAAAAAATTAAGCAATCTGCTTCATTTTAGACAGTAGAAAAATATACCATTATCTTTTAGAAGA
ATAGAGATGTGAATATGCAAAATTAAGCCTTTAGAAGTAAAGCACACATGAAGTTTCAAGTTTAAATTTCT
AGAATTTGTGAATCAATAGCAGTGGATGATTTGTACTTTATAGCTTAGTGTGCGAGAAATCTGATTAAAAA
ATGCTTTTTCTGTTTTCATACATAAACAATAAGTAAAAATGTCTGAAACAACAATATTTGACAAGAAATTA
GCAGTTTTCTTTTTGACATAATCTCAATGAAGGAAAAAATATGCTCGGGTTTTGCTTTGAGAGTG
ATTACTAAATCTGACCTTAAGGAAAGGAAGGAGAAACAAAGAGGGAGGAAAGAAAGGGAAGGGAAGGA
GGAGGAAAGGAAAAAAGAAAGGAAGAGAGGAAGGAAAGCAGGAAAAAGGGGAAGGAGAGAGAAAAAGACA

[0368]

AAAGAAAGGTAGCAAGGAAAGAAAAAGACAAGAAAGGAATATTAAGAGGACAAAAGAGGAGTGAGGA
 AAGGAGGAAATGGAAGAGGGATGGTGGGAGACAGGAGGGAGAAAGGTGGAGGGGGAAATATGAAGAGAGG
 TCCAGAGCTGGAGACTAGTGTTCATCAACAAATAGAAATTTAGATGGCCATATGATATTTTTC
 TAATACTGGTGTCTGATTGGCTGTCTGAGTTAATTGTAGTCTTTTTTTCAATTCGGTTTGGCCAGGTG
 TTCAGGATAAATTCACACAAAATCTCAACCACTGCATTGTATTGAATAAAGAAATGAGTTGGCAAAGGC
 ATTTTATCCTCCAGTAAGACCTTTCCAGATTGGGTTGAGACAAATTGGCCAATCTGGACAAGATGATAA
 TAGCATTGTTCAAGATTAATTTTTAACACACATTGCACTGTTACCTGGGAGATTTCATTATCTAAAAAT
 TGAATGAGCAGTTTTAGTGGGTATAGTGATATTTAAATGGGACATAATTACTTGAATGAGTTAATTTT
 TGTGTGTTGTTAAGGTCAAAGTACTTAAAAATTATGATTTTTTAAACTCTGTCTATACACAAAAAGC
 ATTTGAATTAGCTACAGAATAATTTCTGATTATAACTTTTGGTGAATAGATTCAAGTCAAAATCTGATTACT
 AAACAACCTTGTGTAGTATAGCCCTGGAAGAATTGATGGGACAAATGTGTGGGTAAAGTGGCATTGGCTATT
 TAAACTAAAAGCAATACAAAACAGAATGTTTCTTGGTTTTATTCTGTTGTCACAAACCCAGCAGAAAGTG
 GCTATTACATAAGTTTTCCCTTATTTCAACAAATGAGAGAAGTTATAGACAATTTAGTTAATTGATCTAAAG
 TCACTTAGTAAATGTAATTTGCTTAAACATAAACCCAGACCCCCAGACCTCTTGGGAATAGATAATGTTTC
 TTACTTCTTTTCTATTTCTCAGCCACCCCTCAACTTCTTACACATCTCATTCTCCATCCAAATTTAT
 AACAAAACAAAGCAAAATGAGTTTATTTCCATGGGCATCAAAATGGATTTCACGAGGTTGGGTGACAGTCA
 TCTTAGGGTGAGGAGATTGATTATCTGTTTTCTCTTTCATCGATCAACAATCCAGCCCTTCTCATCTC
 ATCATTCTATTCTGCACAACTTGTTTAAGAAATACCAATTAAGAAATTAATTAAGAAATTAATGTTGT
 AATCTGTTTGGCTACAGAATAATTTACAAATTTTGTGCTTAAATTTCTTCCAAACAAATGTACATGTCTGT
 GTAGACAGCTTGCAGCCTATCTGGATGACTGATCCATATTTATATAATTTCTTTTACCTAATGAGAC
 CAAATCCACTATTATCTTCAACGAAGATGTAAAGATATGTCAGTGTGAGTAAATGAGTCTATTTTATAT
 TCTCTGGTCATAACAAAAATAAACCCCTTAAATAAAAAGGTCATAGAGTTGCAACACACACACACACA
 CACACACACACACAAAAATCATATTTCTAAGTCTCCTAATTACCTTTTTATGGAATGATACCATAT
 GCTTTTTTCTTAAAGAACTACATAAACTTATAAACTATACTAACTACACATTTCAAAGTCTATGAATG
 GAAATGTGTATCTTATATATTTTAAATTCATCTGTAACCTTTTCTGCAAAATCTTATCAAGCAAA
 ACTGATCCAGGATATTTACATGAATTTCTGATGGAAGTCACTGTACTGTGTTTTCCATAAAATACCAAGTGG
 GATTCTGATAAGGAAGTTTATGTTTGCATTGTGTTTAAATAGAGAATCTGGGCCGGGCATGGTAGCTC
 ACGCCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGCGGGTGTATCACCTGAGGTGAGGAGTTTGAGACCGAG
 CCTGACCAACATGGAGAAACCCGCTCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCCGGGCTGGTGGCGCATGCCT
 GTAGCCCCAGCTACTCTGAGGCTGAGGCAAGGAGATCGCTTGAACCCGGGAGGCAGATGTTGCAGTGAG
 CCGAGATCACCAATTTGCACCTCCAGCCTGGGCAACAAGAGCGAAACTCCGCTCAAAATAAATAAATAAT
 AGAGAATCTATTTACAAATTTCTTTCTTGGATCTAGTTAGGGCTCCTTTATATGAGAGTGAATTTTAT
 GTTTTCATAGAAATACGTAGAATCTGGGCTCTTCTTAACTTTCTTACAGGAAAGCAATGTAATAAGGTTT
 TTTTTTAATTTCTGAAAGTTATATAATGTTATGTTCCCTAAAGTTTAGGACCTGCCTTTTAGGCTTTC
 CATTTTACCATAAATTTTGGTCTTAAAGTCTGTAATGAAGTTACAGTGTGTTATGATGTAATTTTTTC
 TTATTATTACCTTTAATGTTAGGGTAATGTTAACTAATGTTAATGTTAGGTATATGTTGTTTTTTTCAT
 TCCTTCGTTCAACAAATTTGCTTTTGAACCCATGTTACAAAGCACTCTAGAGTCAGGTTGAAGACTATTA
 AGAAAGGAGAATAGAAAGAGACACTAGAGTAATAATTTGGATTTAAATTTGATTTCTTGTGTATGATAG
 TGAATAAGTGTGAATAAGATGAGGCACTGATCAGATCACTATTAGTAAAGTGTCTTGTACCTGTAT
 CCACACTTTTATGTATATGTTTACTTATGTTAAAGTGATACATATTTATATAAAATTAACGTATACATTAA
 GTAGATATTTTAAATAGTCTGTAATTAATACTACTAGTATTTCTTTCTCTTCAAGTGCTTACTTTTG
 ATACCTCGAGTTACAGTGTCAAAAGATTCTTTAGAAATATATTGACTGTCTTTAAGAGCTTTTGATAC
 AATACTGAGTTTACATTCTCTGTTATTTTATGAACACTTGTGTTGAAAGGCATCAGTGTATCTGCTC
 TTAGGGAAACAAAATTTAAAGGGATAGGCCCTAATTTTAGAGTGTATCCTCTATAAGAAAAACATAAAA
 GATAGGGCAGTCATGGCCACAAAAGAAAAAGTGTATGTTGTTTCAATCATATATGTATTAGAATGAA
 TAAATCAACTGATCAATTTGATTCTTATTCTAAATATGTGCTGCTTTTTCATATAGATGAAAATTA
 AGCTATGTTTATCTTTCCAGGGATCTTGTGATTATTTTATTCAATAACTTGGGAGTGAAAGTTGATTTTG
 CATATGTTTTAATGTTTTTAAATTTCAATAATGAATGATCAGTAATTTCCAAGTAGTAATGGCTGCAT
 TGTTTTTGAAAAAAAAGCAACAGGATTGATTGTGCTTTTATGATTTTAAAGAAATTCATTAAAAAT
 AATGCCACGGTTTCTAAAAATGATTGAGTCAATTTCTTATTCGATTTATAAAAAATAACTTTGAATACAAT
 TTTAGTAATTCACAAATGCTTTTCAAGTTTACCTTTATATTTTATATTCTGTGTAACCAAGTGACATA
 ATATTTAAGAATTATATATCTCCTATGATTATTCAAGAAAAGAATATATACTGTATTATTTATTTCAG
 AACAGAAATGCTTTGATTTAACTGTCTCTCTCTCTCAATTATGGAAGCAAAATAAACTGTAATGACC
 AATGTAACCCCTCCCCATATCAAGTTAATCTATGTTCACTCCAGAATTAATTTTGAACACTCAAACCTA
 GAAATTAAAAAAATTAATCCATGAAGACGATTTTGGCAAAAGCATATAGATAAATGAGTTGATTCT
 ATACTTAAGAAAGTGGAGAGGAGAGTAATTTGGAGAGAGTAATTTACTCTTAATCCCATATTTTTTCC
 CTAATGTAAGAAAGTAGATTGTAGTGAGAGGAAAAAACCTGTAGCAACTTCATTGAGGCTAAGCTT
 TCTGTCTATGTTATATTATAGAAAGTAATGAAATGCTTCCACAGATAGAATCAGAAGTCCCATCTGAGAA

ATTCTACATAAAAAATTAGCCTGCCACTTTACACACTTACTCAAGTTTGATTTTTTTAAGTTATGTAATA
GATGTTAGGCACCTAGAGAGGACATTTACTGGGGGCAAGATCAGTAGTTGGAAAGAAATGCAAGCAGGCA
AGAAGCTATATATAATGAGATTTTACAGTACAATTGTTTTCTAAATGAAAATGAGGACGGGTCCAGACAC
AATGGCTCACACTTGTAAATACAGTGCCAGGATGGAGGATCCCTTGAGGCCAGAAAGTTCAAGAGCAACCT
GGGCAACAGAGTGAGACTTCTCTCACAAAAAATGAAATAAAAAGTTAGCTGGCTGTGATGGTGTGGG
CTTGAGCCTTAGCTACTCAGGAGGCTGAGGTGACATGATCTCTGGGCCAGGAGTTCGAGGCTGCAGT
GAGCTATGATAGGCCACTGGATTCCAACCTGGGCAATGGAACAAAACCTCCATTTCTAAAAAAGAAATAAA
ATATAAAACATAAATAAATAAATAAATAAATAAAGGATATATTTATTTTAACTTTGGAAACTTTGTAG
GTGAGGACCATGCAAAACATTCAAGGTGTGAGTTCTGACCAAAATCCAATTATTAACCATACCAATGACTTA
AGGTTTCTTCACACTCCTTAAAGTTGATTAAATAAATGATTATATAGTTGACTGGTATGTCACAGCTTGA
AGCCTTTGAGATTTATTCCTGCCTTTTCTGTAAAGGTTGTTTTGTTAATCCAGTATGTAAGTGGTCTTT
TTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGAGATGGAGTCTCGCACTGTTGCCCGGGCTGGA
GTGCAATGGCACGATCTCGCTCACTGCAACCTCCGCCACCTAGGTTCAAGCGATTCTCCTGCTTCAGCC
TCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGCCTCACCACCACACCCGGCTAATTTTTTTTATTTTAGTAGAGATG
GGGTTTCACTATGGTGCCAGGCTGGTCTCAAATACCTGACCTCATGATCCACCTGCTTGGCCTCCCAA
AGTGCGGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGTGCCCGGCTGCCAATATGTATTGGTCTTTTTTCATCAATGAT
TCAGTCCAAAATCATTTTGCTTTAACTATATATTTCTTGTAAGCTGCTTCTGTTGCTTGAACCTTT
TCTTTTCAAATGTATGTTGCTTTGACTTTTAGATTGTTATTTCTGGTCTCGAAATAAAATTTAAAT
TTCTGTAAAGGAAGGTGTAATTTCTATTGACATAGCCGCTAAAGATGTACTAGGTGCTTTATAAATA
TTGTTGATTTACTTTATCTTCACAGATTACTAGTTTACTTAGTATTGGAATATGACAACATTTTATAG
AGCTATATTCATATATATGTTTATCTTAACTGTTAAATGCAATATGATTCATGCTGTTTTGGTCAATG
ATGAATGAAAGTCTCCTGAGAAATTAATTTACTGCATCGATGCAAAAACAATCAATTTTAGACACTCT
AAGAATTTAGAAATTAAGGATTTTTTTTTTCCAGTTTACTCTGTTAAGATTGTGTTTAGCTATGCGTG
ACAGCATTTCTACTACAGTGGCTTATCCAGATAGTTTCTTTTTCTCATAGAGCAAGACTTCCAGAAATTA
GTGTTCCAGGATCAGTGACGACCTCCAAAACCGTATGTCCCACTTTTCTCCAAACCCAGTCATCTC
CAACATGAGACTTTCTTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGAGATGGAGTCTCT
GTCGCCAGGCTGGAGTGCACTGGCGCGATCTCGACTCACTGCAACCTCTGACTCCCTGGTCAAGGGATT
CTCCTGCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACGGGAACGCACCACCACGCCAGCTAATTTTTGTATT
TTTAGTAGAGACGGGTTTCCCATGTTGGCCAGGATGGTCTCGATCTCCTGACCTCATGATCTGCCTGC
CTCAGCCTCCCAAAGTGGTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGTGCCAGCAAGACTTTTTTCTGTTGGT
CTCAACATGGCTACTCTGCCTCAGGCACTATGTCTGTAATTTAAATGGAAGAAGGAAAAATGGGAAA
GTAAAGCATATTCAGCTGTGTCAGCTCCTGTTTGAAGGAAAACAGTGCTTTTCTGGCAGCCCCACA
CAGAAGAGTTTCTACTTGAACAGTGCAATTAACAGAAATGTGTACGTGACCATTCCTAACTTCTAAGGA
TCTTGGGAGGATCAGTGAGTGTGTTTAACTGAATAGGTGTGTTTCTTCTTCATTAATCAAAATGTGAAAATTG
GTAACCTTAGTTATAAAACCTTGCTAGTCTGAACAGAATTTGGATTTTTTAGCTAAGAAGGAAAGAAAGG
GTATCGGATAGGCAGCTGGCTATGCTAGCCAAAGATACTCTTAATAATGCACATTTTCTTCTTTGGACAT
AAGCAGTTTTAACTTAGCTAAATATGATGTGATTGTTTTCTGTCTTCTTAGTTCTGTTTAAATTTGTTT
CAGAAATCAAGGAAATAAATGGAGAAAAAATCTATTATTCATGTCTATCTTCTGCCTCTGAATATTT
TTATGTTGGAGAAAGGAAAGCAGTAACCTTTCATAATAGCTTACATAGTCTGACAAATCTTAAACATGTC
CGTTAGCATCAATATACGTGGTATTAGGTCATCAGTTTTTATATTCTGAATTATTAAGACCCAAATAAAC
CCACTGAGTTCAAGAGAAAGTATACACTGAGCAATAAAACATTACCAGTTCTAGCAATGATAATCAAC
AAGAAAAACAGTAATATAGTCTGTTTGAATAACATGTTTTAAAGATCAAGTTTTTCTTCTTACCAATG
TTGCCTTTCTTGTAACACTTTTTTCTTCTTGAGATAGGCTTTCCTATCTTTTGTACAAACCCCAAT
ATTTACATGGCCATTCGTAGTCTATTTCATAGCAGCACCACCCCATGGCCCAAACCTGTAGATATTGCCCT
CCTTCTATGGTTGTTCTAATAAGAAATAACCACTCTGTCTCTCATAATCTCAGCTGTTTTGTGCCGTTAA
AATGGAAAAATAATGAGTATTAAAGATACTAATAAGGGGCCAGGCGCGGTGGCTCAGCCTGTAATCCAGC
ACTTTGGGAGGATGAGGCGGGCGGATCAGAGGTGAGAAGATTGAGACCATCCTGGCTAACACGGTGAAA
CCACGTCTCTACTAAAAATACAAAAATAGCCAGGCGTGGTGGTGGTGGCTGTGGTCCCAGCTACTCG
GGAGGCTACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCAAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAATAC
TAACTAGGTTTCACTCATATGAGATGAATAAGTCTCAAAATCTGTACAGCCTAGGGCTTGTAGTTAACA
ATGTTTTATATTTAAACCTTTGCTAAGAGAGTAATCTTTTTTACCTGTTATTATCGTACATGCAAAAA
TAATAGTAATAAAGGAAGGTAAGAGAAAAATTTGGAGGTGATGCATAGGTTTATGGCATAGATTCTGGA
CATGATTTTACAGGGGTATACAGTCATGCATTGCTCAACAACAGATATACATTCGGAGAAATGCATGGTT
AGCTGATTGATCTTGTGTGCAACATCATACAGTGTACTTACACAAACCTAGATGGTACATCCTACTAT
ACATCTAGGTTGTATGGTATAGCCTATTGCTCCTAGGCTATAAACAGTACAGCATGTGACTGTACTGAA
TACTTTCAGGCAATTGGAACACGATGGCAAGTATTGTGTATCTAATCACATCTAAACATAGAAAAGTTAC
AGAAAAATATTATAATCTTATAGGACCACTGTCTACATGTATACAGACTGTGCACATGATAGTGGTCCA
TTGATCAAAATGTCCTTATGCAGCACATACTGTAATTATCTCGAACTCATCAAGCTGTGTTTCATTAA

[0370]

GAATATGAATCTTGAGCAGGCACTGAGAAGCTTGTGGAAGGCCAAGATAAAAAATGTCAGAGAGGAGAAT
 ATTTTGGCAGCTCAGATGAGCCCCAGAGGGTGGGAGGCAATGATCTCACCAGCTCTCGTATCTGAACC
 CCAGGTTTTGTCATCTCCATAAAGTAATTTCTTACACCCCTCAATAATGATCGGGCTTACTCTCAATCTC
 TCGCTCTCTCTGTGTCTCTCTCACGCACACAAACATGCAGAACATTTCTTGACATGCATAACTCATA
 AGACGATTATGTAATACCAAGCCTTTTTATTTTATACTAAATTACAGGCCTGGTTATTGTTTGGACTG
 TGAATAAATAATATGTGAATAGGTGCCTCAAGATGAAAGACAAGGCAAGATTGTGAATATTTCATATG
 ATAGTAATAGTATGCAAAAAATAACACAATCTTTAAAGATCTTTAAGCAGCTAGTTATAAACCATGCTT
 TATAACAAATATAACCATGAGGAATAAAAGAAAAATGTAATAATATACTCCAGAATAAAGTCAAATG
 TATTGTTGAATGTAAGGAGTTGGTTACACTTCCTTATAGTGGAGGTTATTTTAAATTTTGTGGCTTACGT
 GGTGTTATGAATTTGCGCTAGATCAACACTATTATGCAAGGCCAATATTAGGTTATTTTGGTAGATAAC
 CACAGCAAACTTTAGTATAATAGGTAAGGTTAGCTACACTCCCATACCTCCTCAGGTGTTGTCA
 TACTCCGTATAAAGGTTCAATCAAGGGAGACATGAGAATATCCAGAATCTAGAGGCAGGATGCAGTTA
 ACCTTAGAGAAGGCATCAGACAACATGAATCTTCGGATTCAATGTGGAACAAAGCATAGTTTAGGCATT
 AATCTTGGGCACCATTTCCAAAGATACAGGTTCCATAACTTACTATATTTTTATACCTAGCAAGCTAGA
 GATGAGGAATTGCTCTCAATATTTTAAACCAAGCATGTATCTTAAGTAACACTAATCTCATAAGTGAA
 ACTCATTCTTAATATTCAATTTTGTCTCATTAGCAAGGCTCTAGTGTGACTGTGATAAAAAATAGTTCAA
 ATGCTGGTAGAACCCACCCAGAGACTGGCCTTTCTGATTAAATTTCAACTCTATCCCCAGCTGAATTC
 CTGACTTAAGTAAGTGTCTCTGCACATCAGAATATAAGTATATTATAGATATAAAAAACATATGTAATT
 AATAAATATTTTAAAGTGGCAACTCTTTTCACTTTTATGGCTTAACATATCAGACATTTGATTATTTTT
 AGCGGTCTAACTACAAACAAAACACAAGCCCACTAAATTTCTTTGTATATATTGCAAGAGGC
 AACCATTTGGTGTCAATTCATGAGTGAATGCTATTATACGAGTACATCTCCCTGGCTTGTATGGG
 GGTAAAGGCAATGGAATTTACAGATTCAACAATACTGAGATATTCACAATAACAAAGATATCAATATGT
 AGCTTTTCCCATAACTTTGGTGAATGAATCCTCAGTTTGTGCTGTGTAAGGCTTATTGTTTACTTCT
 CATGAAATCATCTTAGTTTTATCTTTTAAATAGTCTGTAATTTGGGGGTAATACATTCTGTTTTGTT
 GATACATGTGAAGTGGCAAGCAGAAAAATTTCAACAGGAATAGATAAGCAAGTATCCTATAAATCAGAGT
 CAGTGTCTCTCTCTCTCTCTTTAATGAGTCAGTCTGTCTCTCTCTTTTTCCCTGCCTGGCTATCTAT
 CTGTATTTTTCAGTTTTGCTTTGCAATAAGAGAATTTGTGTGTTGTAACCAACCAACTTACCATTAAAT
 TTCTCTGAATTCAAAAGCAATTAACAAGCGGACTCTTGAGTTTGTGCTGCCTGGTTGTCTGCATATAGGCC
 AGATGTCTAGAATAGGATCTTTTACTATTTTACCCTCCTAATTTTCATGGTAACCTCAAGGTAGATG
 ATATTTGTAATCGTACACTACTTGTGCAAAATCTTTCTAATAACACTGCTATTTTATAAAAAATAAAT
 AATTCAGTATAAAATTTTATTTTAAATTTGTAATTCAGCAAAATCAGTGAGGTAACCTTTTACACTGCCGA
 GCGTACGTGTGTGTGGATTAGTACAGCCATGCCATAGACTTCATTGTAATCTTTTCTTTATATTTTTTA
 TACACCTGAAATGTTTCATCATTGTGCTGTAGAAAACAAATCTCATTGTGTTTTTAAAGCTAGAGTGGGTA
 TTGAGAAGGGGAAGAGGATCATGAGAAAGTTGGTTAACAATGCTACTTAACACTTCAATCTTTACTCGA
 TGTCATCATCAGCAACATTTTAAATTTATGCTTCTACTAGTTTGCAGTCTTTTTCTTTGATTATCTTA
 TGATACAAGCCTTTCCACACAAAATTTATGTACAGGAATTTGTGTAGAAATTTTCTTTGGAAAAATAGGTG
 ATTTATTACAATTTGGGCACATCATCATTTTAAAAATTCAGAATTTGATTTTTCTCAGAAATCATCAGAA
 AGAATAAAGCATATATATGTTTCATGTGAGGAGATTAGAACATGAGAATTAATATATCTCTGATCTTTT
 AAAATATTTTCATGTTTTGTGAATCAGCAGATTTTCTAGTTTGAGATTTAAAAATCTAGATATAATTA
 AAATCTCACTGATGTTTACCATCAGATGATTTTATATTTGTATTTTCTTCCACTTCATAACTTGTATAG
 AGAAGATAGAGAAGAAAAAGGGAGGATTGATAATCTTCTCTCTCAGTCTTATAGCACTTCATTTT
 TTAACCTTATTACTTCTCTGCTGCTTTGTTTGTCTACATGTTTGTATTTTCATGATTTCTTAGAAATC
 CATCTACTGCCATTCTGAAGGTCATTTACCTGAAAAATGATAGAAAGCAGCATATTTCAACAACTGCAG
 AGTAATGTCTATATCAGTTATCATTGTTTCTTACTTTTCTGTTTTAGGATTGAGGGGCTGCCTCGCCAC
 CTCCCTCACACCCCGAGCATATATCACAAAGCCTACTGATTCATTACATCCCTGGGCTGAATTTGCCA
 CCCACTGTGTGTTCCCTGTTGTTTTGTGTATGGAAGTGAAAGATTTAATTTGATGTTGTTGAAAAAGAC
 AGAGGCTAACTTTCAATTTTATATGTAGTTCTTCCCTCTCCCTCTGCACCACCTCTTTACTTGTGAG
 AAAATTTGCCCTCTCCATGTTAACAATAGAAGAGCTTTTCAATTTTAGTAGTAGTTGTTGCAGAGAAAAG
 AATTCAAAAAGTAGATGAAGTTTAAAAATGAAAAAGAGAGGAAGACAGCTGGGAAGAAGGCTTAATGT
 TTATGAGTGGGTGTGGAGGGGAAGAACTAAGTTGAATGAACAAAGCTGAGCTAAGGGGAAGATGGTTTTT
 CTGCATCCCAAGAGGCAATACCTAGCCTTTCTGCGAGCCTTCACTCCCCAAAAGATAAGAGCTTTATCT
 GAAATTTTATAGGATTCATTTCTGAAGAGCAGCTTGTACCAAAACAGAAACACTGTGATTTCTCAGGG
 AGTCACAGTTTATTATATTTTTTAAATGTAACGCTTTTGTGAACCTCAGTTTCCACCTCAATTCAAATG
 GTCTTTTGGTTACAGGGTGAAGAGACCAACAATACACCTTTCCCACTTCCGGAGGCCTTTGGTTAAAC
 CATGCTGCCACAAGGACACAGGAGCCTGGTATGACTGGTTGTTTTTGTGTTTTTGTGCTTCTCTGTG
 CTTTCTAGATTGTGAGATACTGTAACCTTTGTGCGATGACACATAGTACCGAACCACCCGAAGAAGTATG
 TCAGTATGTCACATTTGTGACAAACAGCTTCTCATGCTAAGTAAATGCAGAACCATTTGTGAAGGTTTAAAT
 AATGCCCACTCTCCCCGCCAAAGATGTCATATCCTAATCCAGGAACCTGTGAATATGTTACCTTAC

[0372]

ATGGCAAAGGCTTTGTATTAACAGATGTGGTTAAGTTAAAAATCTTGACACGGAGAGATAGCCTGGGTT
 ACCCCAGTGCGCCCAATGTAAATCACAAGAGTCCCTCCTAAGAGAGAAGGAGGTGATGATACAAGCAGAGTA
 AAAGAGAGATTGGAAGATGCTACACTACTGGCATTGAAGATGAAGGACAGGGCCAAAGGCCAAGAAATGC
 AGGCAGGCTCTAAAAGCTGGAAAAGGCATGGAAAAGATCCTCCCTACATCCCTTAGAGGGAATGCAAG
 CTCTGCCAACACATTGTTTCTAGCTTGTGAGACCCATTTTTGGACTTTGGACCTCCAAAATTGTAAGAT
 AATAAATTTGGGTTGTTTTAAGCCATTAAAGTCTGTAATCATTTGTTACAACAGCCACAGGCAGCTAATAC
 AGCCATGAACATTAGTAATGACTAACTTTGCACAATTTAATAACAAGCTTCTTATTAAGGTTATTTTT
 TCTTAATTACAAGGAATAAAAGTGGGCTCTGGGGGCAATGTCATGGTCCACTCCGTTTTAGCCATATGAA
 TTTGTATTTCCAGCATTAGAACAAAAGGTGACAAATCTGAATGTATTTGTGTGAATAATAATAAGCAG
 AACAAAAGGGAAAAGTGTCCAGCTGGAAATGAAGTTAGAGAAAGATGAGGAGAAGCAAGCCAATTGTGT
 AGTTTTCCCTTCTGCTTTTTAAAAATCATGATTTGTTTAACCCACTGAATTCATTTTAAAAACAGGACTG
 CAAGGAAGTGTGATGGATTGTGTGGCATGAGAACAGAGTCAAGAGGCAGGAAAGTAAGGAATAAGTG
 TTAGAATAGGAAGCAGAGTTGCTTGGGAAGAGACCTTATGACATGTGGACAGGGCTAGACTTAGGAGTCA
 GAAAGACCTGAGTTCAATGCTATCCTTTAGTATAGTTTGAAGTCAGGTAGCGTGATGCCTCCAGCTTTG
 TTCTTTTGGCTTAGGATTGACTTGGGCATGCGGGCTCTTTTTTGGTTCATATGAACCTTTAAAGTAGTTT
 TTTCCAAATCTGTGAAGAAAAGTGTGCTTGGTAGCTTGATGGGATGGCATTGAATCTGTAAATTACCTTGG
 CAGTATGGCCATTACACGATATTGATTCTTCTACCCATGAGCACGGAATGTTCTTCCATTGTTTGTG
 TCCTCTTTTATTTCCCTTGAGCAGTGGTTGTAGTTCTCCTTGAAGAGGTCCCTTACATCGCTTGAAGTT
 GGATTCCCTAGGTATTTTATTCTCTTTTGAAGCAATTGTGAATGGGAGTTCACTCATGATTGGCTCTCTGT
 TTGCTGTGCTGGTGTATAAGAAATGCTTGTGATTTTGTACATTGATTTTGTATCCTGAGACTTTGCTG
 AAGTTGCTTATCAGCTTAAGGAGATTTTGGGCTGAGACAAATGGGGTTTTCTAGATATACAATCATGTCTG
 CTGACAAACAGGGACAAATTTGACTTCTCTCTCTCTAATTGAATACCCCTTATTTCTCTCTCTGCTGAT
 TGCCCTGGCCAGAATTTCCAACACTATGTTGAATAGGAGTGGTGAGAGAGGGCATCCCTGTCTTGTGCCA
 GTTTTCAAAGGGAATGCTTCTATAGTACAAGGCTACAGTAACCAAAACAGCATGGTACTGGTACCAAAAC
 AGACATATAGATCAATGGAAACAGAACAGAGCCCTCAGAAGTAACGCCGCATATCTACCCTATCTGATCT
 TTGACAAACCTGAGAAAAACAAGCAATGGGGAAGGATTCCTATTTAATAAATGGTGTGGGAAAACCTG
 GCTAGCCATATGTAGAAGCTGAAACTGGATCCCTTCTTACACCTTATACAAAATCAATTCAAGATGG
 ATTAAGACTTAAACGTTTAGACCTAAAACCATAAAAACCCTAGAGAAAACCTAGGCATTACCATTACAG
 ACATAGGCATGGGCAAGGACTTTCATGTCTAAAACACCAAAAGCAAGGGCAACAAAAGCCAAAATTGACAA
 ATGGGATCTAACTAACTAAAGAGCTTCTGCACAGCAAAAGAACTACCATCAGAGTGAACAGGCACCT
 ACAACATGGGAGAAATTTTCGCAACCTGCTTATCTGACAAAGAGCTAATATCCGAATCTACAATGAAC
 TCCAACAAATTTACAAGAAAAAACAACCAACCCATCCAAAAGTGGGCGAAGGACATGAACAGACACTT
 CTCAAAAGAGACATTTATGCAGCCAAAAGACACATGAAAAAATGCTCACCATCACTGGCCATCAGAGAA
 ATGCAATCAAAACCAACATAGTACCATCTCACACCAGTTAGAATGGCAATCATTAAGAAAGTCAGGAA
 ACAACAGGTGCTGGAGAGGATGTGGAGAAATAGGAACACTCTTACACTGTTGGTGGGACTGTAACTAGT
 TCAACCATTTGTGAAGTCAGTGTGGGCTTCTCAGGGATCTAGAACTAGAAATACCATTGTACCCAGCC
 ATCCCATTTAGTGGGTATATACCCAAAGGACTATAAATCATGCTGCTATAAAGACACATGCACATGTATGT
 TTATTGAGGCACTATTTACAATAGCAAGACTTGAACCAACCCAAATGTCCAACATGATAGACTGGAT
 TAAGAAAATGTGGCAGATATACACCATGGAATACTATGCAGCCATAAAAAGGATGAGTTCTATGCTCTTT
 GTAGGGACATGGATGAAATTGGAATCATCATTTCTCAGTAACTATTGCAAGAACAAAAAACCACACCC
 GCATATTTCTCATTAGTGGGAATTGAACAATGAGAACACATGGACACAGGAAGGGGAACATCACACT
 CTGGGACTGTTGTGGGTGGGGGGAGGGGGAGGGATGGCATTGGGAGATATACCTAATGCTAGATGAC
 GGGTTAGTGGGTGCAGCTGCCAGCATGGCAGATGTATACATATGTAACCTAACCTGCACATTGTGCACAT
 GTACCTTAAACTTAAAGTATAATAATAATAATAATAATAAATCTCAAAATAATTAAAAAAGAAACAA
 ACAATGCTATCCTGATCCTAAGTGGCTGGCTGCTTTGGGGAAGTTGGTAATCTTTCTGTGCTTATTT
 CCTCATGTGTAAAAAATGAATATAGTACCCAGCTAGGTAGAGTTGTTGTTGGGATTAATGATGACTAT
 AAAGCATCTAGCCAGCTTCGGCTACATTATAGCTGCTTACGAAATTGTAGTTACGATGTAAAAGAGAAA
 AACACTGGAAGAGGAGATATGGGCCATTTTATCCACCTTACCACCTTTTAGCTTGGTGACCTTGGGC
 AAATTATGCTTCATTCCGTGCTTCAATTTTCTTGTCTATAAAAGGGTGAAGTACAGAACCATTTGAGGGG
 TGGTCATTATTAACCTACCTCAATGGTGTCTGTAAGTTAATATATATTGTGCTTTTCTATGTACAATA
 TCTAGACATAAATTACAAATCAATCCATCCCATGTGCAATATCTAGCACATAGGAAAAGCACATAAAT
 AGTTATTACTCTTTGTTAGTAATTGCTACGCTGTAGGAGTTTGAATTGTAAGGCAGTGGAGAGTCACTG
 ACCTTTACAGGAAAGTGTAGCAGAACATTTGAGTAGATAGTAATGGGGAATATTACATAAATGGATAGAT
 ATTAGGGGAGATATTACTATTAATAATTACAGCATGGATATTATTAAGCCAAACTGGTTAATTAGT
 TGCATCTCTCAGGTTCCTAATGTTGCTTAATTTTTAACCTCCCATTTTGTGCTGCCCTTTGTACGAATA
 TTTAATGCTCCCAACACCTCTTCACTAGCACATGTACTGTGAGTTTGTGTTTATTACTTGTGTGATT
 AGCATTCCTTTGTGAACCAAAAGCATGGAATTAGCTGTTGCCTCTAGGCTACCTAGTTTGTAGTTTGA
 TTGAAGCCTTCACTCAGTAACACCTATTCTGTCTACTATCTTACAGAAAATTTGTAATAAAGACAGA

[0373]

TCATTAATATAGCAGAAAGAGACAAAGGGCAGAGAACATTGAGATACTGGATATTGGAACCAACCAATAG
TGTGATTTATTTATGATTAATCAGTTTTTGTCTCTGCCTAGCCTCATGCCACTAAAGTCTCTGAGGCAAC
AAAGAATAAGCAATTTTGTCTCACCTTATACAAATAAAACACAGAAAAAGGAATCAGTAGAGAAATGGTAC
TGCAGCCTTTCTGCAGGGATTACTGCTTATTTTTAAATTAATAAAAGGTATTGAAATTTATTGTTTCATAA
TGAGAAACCTGCTTAATAAAACAGAAAAATTAACCTTAACACTTCCTTATAATGTAAACAGCTCGGTTAGG
AACACAACTTACAGAAACCACTTAAGAATTGATTGTACTTGTCTTGGAGCAGAACTAGAAGCTCACCG
TTTAGAAGCTGTGCACATTTCCTATCAAAACAGTACATAAAGTTTCCATATTCCCTCAGAATCGGCTTCAT
TTGTGCCATGTGTTTGTCTGGAACATATGCCACAGAAAGCAGTTCTCCCTCAAGCTGGGCTCCTTTTCAT
GCCGCAGTGCAGTGTGTATATACTGGCACCATGTGCTAATGTAGACCATTTTATATGATAAGAATT
AGTACGGCCTAGGGAAATAGACAAGTATGTCTAAAATCCTCCCCATAGAAATATGTCCTTCCCTTAAAGC
TGTCACTACTGTAAGTTCCAGCTGAGTTAAAGGCCACTGTGCTCCTATAGGGAAATATATTCTATTGTAAT
TTTTACGTTCTCAATAACAGTCTGTTCTTTGTTTACTGAAGAGAGCTTTCATGTCATAAAATGGTGT
TTTGACAGAGAAAGCAAGTATTGTTTATATAGAAATTTGCTCTTACAAACAGCAAAAAATAAATAGCTC
ATCTCTTAAGCTCCTGATCAATGTCTAACACCTCCTACCCCAAGCAACTTCAGTGCAGTATATTAAAC
ACTCTATAATAGCAATTCACCTCACCTACCAAGAAATGATCTTCACAAATGATTTACAGCTAAACAGAG
CTTAAACACATAGCACCAATCAAGGGCAGATTTTATCTTTTCCAGTCATATAAGTTCTGAGAGAA
ATAGATTAAATGTTGATCTCCAGCAACTGCTGAGAAATGTACAAAGGATGTTGTTTATTTGAAGAAT
GAGACCTAGTTGTTAAGCACTTTTCCCTTATATGTACGTCCAAAGGTAACCATACACCATTTTGATG
CAAAATTTAGGATATATTTATTTACATCTCTCTCTCCATTGCGATGTTGCTGTGTGAGTGCTCACAG
ACACATGCACACATACACATGCACTCCTGTTTACACTTATTGTTAAACTCACAAGGATTTCCAAGC
CATTAATATAGCATTGTTTAAAGGTGAACACATGGTTGTTTACCATTCCATATGTATCTTCACTTTGTAGCA
CTCAGAAATTTGGCAAGATCAGAAAGCTGAAACCTCAGGATTAATATATCTATATAACATATGCTTA
ATTGCTGTTACTGTAAAGAACCTGGACTAGCCATATTGACTAATTTCTACCTAAGGTATTGAAATCT
TATAAATAGATTGCTTTTAAATCACACAAGAGTGGTTTATATGAATGAATTTATCTCCACTTTATAGC
TGAAATAAACTGAGCCTGATCTATCCCTATATGGGAAACATGAATTGAACAGCTGTGCCAATTTATTGA
TAATTCAAATTTACATCTACCATGTGAAGACAGCAGAAAGAGGGTTAGGGGGCTTGAATTTATCTGATTA
ACTGTGTTGATGAGTGAATCGCTCTAGATAATCACTCATTCTTCACTTCACTTCCATCTACAGGTA
GTATCAGCGAATGGTAACATCTCTGCTTTGCTCAGTTTATTGATGGCTGCCGTTAGAAATAAAAGCA
TGGTTTTGTTTCACTTAAATGAATTAATCTTCAAAATGTTTTTAAACGTTGAAAGGTTGAATGCA
TTTTTAACAAAATGTTTGTAGCTTTGACTTTTATTTTGAACAGATGAGCAACAATACCCAGTACTCCT
TTCCAGAAATAGGAGTACTACCTGAAGACTTATTTCCCAAGAAAAATATCAGGTCTAGTGCAGCAATA
CGTATTAAGGGCATTGAAAGTTTATTTCAAAATGTGACATCATACATATGTTAATACTTCTTATCA
CTGATAAATCCTTGAAGTTGTATTTCCAGAGAGATCTCAATTTCTTCTCACACTCTGAAAGTCTCTGT
TTATCCTTTAGAGTAGGAATGTAAGAATTTAACAAAACATCTGAATGTTTACCTTTTTCTAAACTGAA
ACTACAACTCCTTTTTACCCTATATAGTAAATATAATATTACAAAGTAGAATCAGCAAAATTTGTTAAT
AATCTTTGGGACAGTTTTTACAAGCAATGGGGTTGAATTTATGTTCTTGTGTGCAGTGGAGTTATTAT
ATTCTTTCTAAAAAGATGCATGAAGGTAAATTAGAAATGTTTTACATGTTTTCATGACAGGACATTTAAT
CAAAGAGGAGATACAAGAGGCTTTTCTTGGGTACTGCAATTTAATTTTCCATTTCTTTCTTGGAAAGGA
CATTGGATGCAGTTGTACGAGGTTAATATTCTAACATGCCACTTTTATTGTGGCATTCTCTGCTCTCA
AACCTCTGATGATTTCCCATGGCCTTCAACATGATGTCCTTATTGGGCATCTAGTGTCTGAGCCCTCA
CATTCTGGCCCCAGCTTCCCTTCTCAACTTGATCACAGCCATCGTAATTTCTGCTAACTAATTACACAGCT
GCCCTTCCCACTCTTCTCAACCACTCTGCTGTATTCTGACTTCTACACTTTAGTTTTAAAGCTACTCCT
TGCTCTGAAATTTCTTCCCATTAGGTCAATTATTAATTGAGTTTCTCCTTAAGTTACAGTTTCTGTTG
CTGTTCTCTATGGCACCTTCCCTGAACCTGGTCCCATATAAAATCCCATCTCTCAGAATCCCATTAGGG
TAGGATATGGGTCTGTAGACTATTACGTTTGTCAATTTACATATTGCTTCTATTATTGGGTAACGTGCGT
GTGCGAGCATGCATGGGTGGCCTGAAGGTCACTCCCAACTGCATTGAAAGTTTCAATCACAGTTCAAT
TATTTCACTAGAGAGTCTCTTTTATGTCATCCATGAGGCACATTCCTACTGTGATGTGTATGCATACA
ATTATTTCAATAAATATTCTAGCTCTTTGATTGACCAAGGCTTAATTACCTGTCAACTCTAGCCTCTT
GTATCTGGAATTTCTACAGTCTTTGGATAGTATCTTTAGGATGCAAAATTAGGAGGAGTATGTACCAGGC
AAACTATTACAAATAATGCCCTCAATAGTTACATTTCACTATTGATGCTTGTAAATTTATCTTCTGCTT
TGGTATTTTAGTACACTTATGATTTCAATTTGCTGTATAGATTCTCTGAATAGGGACAAGAGAATTCGTC
TTGATAAGTGGAAGTTTCAAGGATTCCAAAATGATGTTATTCAAGGTAGAACAAAGAAATTAATACTGAAA
AAATTGAGGAGTAATAATCCCAAAATATGTACATGCGTATCTCGTTTTATTGGGTTTCACTTTATTGCAC
TTTGCAGATATTTCACTTTTGTAAATGAAAGTTTGTGGCAAGGCTGCATTGAGCAAGTCCGTCGGGCA
CAATTTTTCCCAAGCATGTGCTCGCTTACGTCTCTGTGTCAGTTTTTGGTAATTTGCTCAATATTTCA
AACATTATTATTATTATTATTATTGTTATGATCTGTGATCAGTGACCTTTGATGTTACTATTGTAATTGT
TTTGAGATGTCATGAAGTGCATCATATGAGATGGCAAACTTTGTGGGGTGCAGTGGCTCACACCTGTAA
TCCTAACACTTTGGGAGGCCAAGGCAAGGAGATCGTGTTAGCCCAAGATTTGAGACCAAGTCTGGGAAAC

[0374]

AAAGTGAGACCCGTGCTTTTAAATATATATGTAGAAAAATTAACGGGCATGGTGGCACATGGCTGTAAG
GAGCCCTGCCAGCTGCATGGGAGGCTGACACAGGAGGATCACCTTGAGCCAGGAGGTCAAGCGGCAGTA
AGCCATGTTCACTCCAGTCCCTCCAGCCAGAATGACAGAGCAAGACCCCTGTGTGGAAAAAAG
ACAAACATTTTTCAACTTTGATTTTAGATTCCAGGGAGTACATGTGTAGGTTTATTACCTTGATATATTA
CATGATGCCGAGGTTTGGAGTACAAATGATACTGTCAACCAGGTACTGAGCATAGTAACCGATAGTTAGT
TTTTCAACCCCTGTTCCCTCCCTCCCACTCTAGTAGTCCCTCCGTTTCTATTGTTGCCATCATTATGTC
CATGACAAACGCACTGTTTAGCTCCACATGAGAACACGTGGTATTGGTATTGTTTCTGCATTAAATCA
CTTAGAATTAATGGCCTCCAGCTGCATCCATGTTGCTGCAAAGGACATGATTTTGTCTTTTTATGGCTG
CATAGTATTCCATGGTGTATATGCACCGTATTTTCTTTCTCCAGTCTGCCACTGATGGGCACCTAGGCTG
ACTTCATACCTTTGCTATTGTGAATAGTGCTGAAATGAGGATGAGAATACATGGGTTTTTATGTAAGC
AATTTGTTTTATTGGGCTATATGCCAGTAATGGGATCACTAGGTTGAACGATAGTTGTGTTTTAAGTC
CTTTGAGAAATCTTCAAACTGTTTCACTGTGGCTGAACATAATTGCAATCCCAAGCAACAGTGTATCAGAG
TTCCCTCTCTCTACAGCGCTGACGAGCATCTGTCATTTTTTGACTTTTAAATAATAGCCAGTATGAATG
GTGTGAGACGGTATCTCGTTGGTTTTGATTTGCATTTCTCTGATGTTGAGTGATGTGGAGCATTTTTT
CATGTTTGTGGCCACTTGTATGCTCTTTTGGTAGTGTCTGTTTATGCTTTTGGCCATTTTTTTTGT
ATGGGGTTATTTGTTTTTGACTTGTGTAATTGTTTAAAGTTCCCTATAGATTCTGAATATTAGACCTTTGT
CAGATGCATAGTTTGAATATATATTCTCTTATTCTGTAGACTGTCTGTTTACTCTGTTGATAAATCTTT
CACTGTGAAGAGCTCTTTAGTTTAAATTAAGTTCCACTTGTCAATTTTTGGTTTTGTATAATTGCTTTTGT
AGGACTTAGTTATAAATCTTTCCCAAGTCTGATGTCCAGAGTGGTGTTCCTAGGCTTTCTTATAGGAT
TCTTATAATTTGAGATCTAATGTTTAAACCTTTATTCATCTTGAGTTAATTTTTGTATATGGTGAAGG
AGGGGGTCCAGTTGCATTTCTTGCATATGGCTAAACAGCCATCCAGCATCATGTCTTAAATACAGAGT
CCTTTTCCATTACTTTATTTTCATAAGATGGCAAACTTAATCAATCAATGTTTGTGTGTTCTGGCTACT
CCACTGATCAGCCATTCCCTCATCTCTCTTCTCTCTTGGGCTCCCTATTCCTCTGAGACACAACAATA
TTGAAATTTAGCCAGTCAGTAACCCCTACAAATGTCCTCTAAGTGTTCATGGGAAAAAAGAGTCACATGT
TGTCACTTTAAATCAAAAGTCAGAAATGATTAAAGATTGGTGAGGAAGGCATGTCAAAGGCCAAGACAGG
CTGAAAGCCAGACCTCTTGTGCCAGTTGGCCAAGTTGTGAATGCAAAGGAAACGTTCTTGAAGAAAATTA
AAAGTGCTACTCTGTTGAACACAGGAATAAGAAAGTGGAACGGCCTTATTTTTAATATGGAGAAATGCTT
AGTGGTCTGGATAGAGGATCAAAACAGCCACACCATTATCTTAAGCAAAAGGCTAATCTAAAGCAAAGGA
CTAATTTCTCTGAATTTCTGTGAATGCCGAGAGAGGTGAGGAAGCTGCAGCAGAAAAGTTGGAAGCTAGCA
GAAGTATGTTTCATGAGCCTTAATGAATAAGCCCTCTCTATAACATAAAAGTGCAAGGCAGAGCAACAAGT
GCTGATGGAGAAAGCTGCAGCAAACTATCCAGAAGATCAAACATCAATCTAAGTTAATAAAGGTGGCAATA
CTAAACAACACATTTTCAATATAGACGAAACAGCCTTCTATTGGAAGGATGCCATCTAGGACTTTTCAT
AGCTAGAGAGAAAGTCAATGCCCTGGCTTCAAAGTTCAAAGGACAGGCTGACTGTCTTGTGAGGGGCTAAT
GCAACTGGTGACTTTCAAGTTGAAGCCAGTGTCTGTTTACCATTCCAAAAATCCTAGGGCCCTTCAGGTTA
TGCTAGATCTAGTCTGCCTATGCTCTGTAAATCAAACAACAAAGACTAGATGACTGCACATCTCTTTACA
GCATGGTTTGTAGAACATTTTGTAGCCCTCTGTTGAGACCTACTTCTCAAAAAATGTGTCTTTCAAAATA
TTACTGCTCTTTGACAATGTCCCTGGTCAACCAAGAGCCCTGAGGAATATGTCCAAAGAGAATGATTTTA
TTTTCATACCTGCTAACACAACATCCATTCTGCAGTCCCTGGATCAAGAAGTCACTTCAACTTTCAAGTC
TTATTACTTAAATCATACATTTTATAAAGGTATAGCTGCTATATTGTGGTGAGTCCACTGATGGATCTGG
ATAAAGTAAACTGAAACCGAAAGTCTCACCATTCCAGATGCCATGAAGAAAATTCATGATTGAGGGGA
GGAGGTCAAAATATCAACATTATCAGGAGTTTGGAAAGTAGTTAATTTCAACACTCATCAATGACTTTGAG
GGTCCAAGACTTCAGTAGAAGAGTCACTGCAGATGTGGTAGAAATAGCATGAGAACCAGAATGAGAAGT
GGAGTCAGAAGGTGTGACTGAATAGCTGTAATCTCAAGGTAAACTTCAGCGGATCCAGAGTTGCTGCTT
ATGGATGAGCAAAAGATTGTGGTTTTCATGAGATGCACCTCTACTCTGGTGATGATGCTGTGAACATTGTTG
AAATGACAAACAAAGGATTTAGAATATTTCCATAAACTTAGTTGATAAATTAGCATCAGGGTTTGAAGAT
TGACTCAAAATTTTGAAGAAGTTCTACTGAGTAAATGCTATCAAACAGCATCACATGCTACAAAGAAAT
CATTGGCTATAAAGGAGAGCCAAATCGATGCAGCAAACTTCGTTGTTGTCTTATTTTGAAGAAATGCTACA
GCCATCCCGACCTTCAGCAACCGCCACCCTGATCAATCAGCAGCCATCCTCACTGAGGCAAGAGCCTGTA
CCAGCAAAAAGATTATGACTCCCTGCAGGCTCAGATGATTGTTACCATTTTTTTTAGGAGTAATGTATTT
TCAAATTAAGGTATGTACATTTTTTAGATACAATGCTATTGCACACTTGACAGATGATAGTAGAGTGTA
ACATAACATTTAATGCACTGGGGAACCAAAATATTGCTGTGCCTCATTTTATTGTGATATTTACTTTAT
TGCAGCAGTCTGGAACCAACACACAATATTCCAAGGCAGTCCCTATATATTGTTTCAATGCTCTCTTTCT
TCTAAATGTGTGAGGAGAAAAATATATCACTTATGTTACTGGGCCATAATATCAAAGCCTGCGAA
TCTGATGCACATGATAAACTGGTCTTAAACCTGTCTTGATTATCCTTTGTTAATATGCCAAATTTATA
GAACAATAGAGTTTCAAGAAATGTGAACAATGTAGAATAACTAAAAGATCTAACGTTGAATAGCTAAAT
TATCAACGCCCTTTATATCACTTTAGAAATGCGTTTGCAAATCATTATCAACAAATTTAGCATAAAAAT
CTTTTTTTTCTTGACTTTGAAATGTATTTCAAGATCCGCAATTTACACCACATTTTACTTACTGGC
TTGTGAAAGTGAAGGCATTTTCATTTTTGGATGTTAAGGGTTTTAGTAAATGACAAGTAAATCAATCCT

[0375]

CTAATGCAGATCCTTGTGTAACCTAAGTGCACAAGTTATACGTTCAAGAAGCTGGTCTGGTTGAGGTCTT
 TGCTACCTAGGCGACTTCTCACTCAGAGAGGTGGAATAATCTTAACCTTCTGTCTTCCGTCACTGAAA
 ACTTGCCCCAAAGTTCCTTTTGCCATCTCTTGACAGCAACCTAGTGGTTGTTATCTGTTAAGGATTCCTG
 GTGGCTTGCTTTAGTTTCCCTACAGTTCTTGAGCTGCATGTGTTGAATGGAACTCCACCATTACCATGTAA
 CACATCTGAATCTCTTATTTTCTCCAGTTAAATTTGCGCTCCTTGGAAATAATGGTCATGCACCCTA
 CCTTAGTGATTTCTAATAGAGGTAGTATGTAAAAATACATATTTACTTGAATTGCATCTTAAGAGGCCA
 GCCCATGGGAGGCATGAAGAAACCTATGTTACTAATTAATATTCATAATTGACAGTTACACATTCAGGT
 AGTAGTGTCAATGGAACCATCACGTACATGGAAGTGAAGAGCTGATGAGAGGTTTAGGGTCTAGGAGGAC
 AAAAGTGAGTGTATTAGTCAGGGCCTGAGGTTATATGTACCCAGACAGGATAAAATGGGACAATATTTTA
 TTAGTGGAAATCTCTATGTGAAAGAAAGAGGAGGAAGCCAAAGGAAGGTGCAAGAGATGTTAGATCAAG
 ATGCAATTCTGACTCTGCAAGGAAGAGAGGGGAGAGAAGGCTAGGCAGAAAGCATCCCAAGTGTGCGGTCT
 AGTGGAAAGGAAATTTTGGCAAGCTGTTGGGAAGTCATTGAGGCAGAGCCAGGCAAGAAAGTCCCATGTC
 TCCCAAGGAAGGCTCTGCTGCCTTAGTATTTCCACACACCCCAATCATTGGGTGAGGAGAAGTCTGTGAGA
 AGCTTGGCTTTGGTGCAAGTCAATCATGGATTTCAAAATGCAGTAACAGGAGTCCCTCAGTCAGTTAAGAC
 CCAATAATAGAAGGCTGCATATTTCTCATGGTGGCCACTTGGGTATGAGGAGCAGTGGTGTAAAACTG
 TTTTGTATAAATTTAAATTAAGAAAGCTGAGGACTACTTAAGCTTGATTCTTCCAGAGACAGTCTTTGG
 CCTTTATATTTTCAATGTGATATCTTTGCCATATGCTCTGATAACTCTCCATGTTTCCCTTACCATAATACC
 TCAGGTTGTTGCAATTTGCTTTTTTATTGCTGTCTACTACTCGTTTGTCTTTTCTCTTTGAGAACAGGAA
 TTATTTTCTCCTTCACTGCTACAGCCCTGCACCTAGCTCAATGAGTGACACAAAGCAAGCACTTAAAA
 ATTGCTATAACTCAAATTTGGGGGATATTCTACAAAATACCTGGCTCTGTTGGTCAAACTGTAAAGTGT
 TATAAAGTTCAAAGAAAGGCAAAATACTATTTCAACTTAAAAAGACTAAGGAGATACGACAACTAAAAAG
 CAATGCGTGAGTCTGGACGAGCCAGGAAATAAAAAATATAGCTATAAAGTTTCAATTAATGGGGTAATTGTC
 ATACTCTGAATATAGAGTATGGATAAGATTATGTTACTAAAGCCACGCTAAATTTCTGACTTTGAAACT
 GAGCTGAGGTTATTTAAGAGAAATGCTTTTGCTATTAAGAAATAAAACCTAAAGTATTTAAGGGTAAAGGG
 GCATGATATCTGCAAAATTTCTCAAAATGATTGAGAAAAAATATATATATAAAACATTACATATAC
 AGTTATATATCTATACACAGAGAGAAATGATAAATGATAAATAATTAATAAATATGTGGCAAAATGTT
 AACAAATGGTGAATCCGGGCAAGGGTTACCTGGGAGTCTTTATCTTGCAAAATTTCTGCAAGCTTGA
 TTATATAAAAAATAAAATGCAATCTTATAAAGTATTTATTCAGTGAATAAAGAACAAAAAGGCTAACTGCA
 GTTGGAAAGATATTTATGAAAGTTGGTTATGAAGATTCTTAAGAAGTTACCGATGGAGGTGCTAGTAGAAC
 TTCAAAAAAGAGTAGGGAAGGTTGACCAAGTAGGAAATATCAATATCCCAAGCCAGTATAAAATGGAAA
 TGAGAAAGTGAGGAAGTAAAGTGAAGACAATGAGGATGGTTTTCGATTTGGCCACTCTATTGGAGAGGCA
 GCCGAATGCAAGAAATAGAAGCCAGAAGATGCTCAGTGAGATGGTTGAAAGCTAGATAGATTACAGCA
 TCCTCACCAGTAAACCCCTTTCCGTAAGTGAAGGCTACAATTTAGTACCTTCTGACTTCTATGCTTA
 TTTTCTTCAATACATAAAATGGTTCCGTAACTCTTTTACCTTCTGAATTTCTTATATTAATTTTTTGAA
 GTTGTAAATAAAATAGCATCAGTTCTACATTTGTTACATTTGAGCTTAATTCATATTCATTTACTGAAAA
 GGAACATTTGAAAAATCATCATGGGCATTTATGCTATGTAGATTGTTGATTTTTATAGAAAAATATAAA
 AATATGACCAGTTTGATTTTCAAAGTCTTTTCTTAGACATGTAATACTAAGCATTCAACTCAACATATA
 GAGTTTTTATTTGAGTATTTTATAGTGGAATTTCTATTTAATGAATACAATAAAAAATTTGTAATTTTGT
 CTAAAAGCCTAAAATGCCCAGTTTATATATGTATGATTTCACTGTTTAACTTCTCTATTTTATAGGGTTG
 CTATTTATAACCACTTCACTCAACTCTGGGGGACTTAGTGAGATTAAGACTTCTGATTCACTTTGTAT
 TTGAAGAATTTTTTCTCCATCTTTGCTCAGCTAGTGGAATCCATGATGAATTTCTCATCTCCAAGGGG
 TAAGCAGTTTTTAGTAAAGCCAGTAGCTGACTTATGACTCCTTAGAAATAGCATTGATTCCTTCTCTCT
 CCTGTGTTTTGTTTTCTCTAGAAATGATAGAAATCCATGTAGACACGATCCATTATCATGCTTAGGTACTGG
 TAAGCATGTAATGATTTTAGTTTTGTTGCTTTAAGTTATTTGTGTACAAATATCTGGGATCATATCAG
 AGAAATAAATAAGCACAAATAGCATTCTACTTGTGTTATGACTAAAGCTAGGTTGAGGAAACAGAAAA
 GGACCAGAGGTATATGAGGATGAAGATAATACTAGGAACAGCATGTTTGGGAGAGTAACATCTGGTAGG
 GGTAGCAGATTGGGGGCAGAGAACAGAAATTTATAGATGGATATTTTGGAGGCAAGTAGTTTGAATATG
 ATTAGATCTAAGGTGTTTTCTCATCTGTGGTGGCTCGAAGGAATAGAGGTGAAGGTGAGTTTATTTGAG
 AAGTTCTGGAATTTATAAACTAAGTTGAAGTCAAAGAAAGTATAGTAGCAAAATAAATAGAATACCCCTAA
 AAGGAAACCAATGAAAAATAATCGTTACTCTCACCATATGCTTGTGTTCTTATTAGCAAGAAATTTCTT
 TAACCACTGTTTTTATAATATCTTAATGAAAAATACTGAAGCGTATGCCATATTAATCCCTCTCTTTA
 TTTCTAGAAAGGGAATCAAAGGAGAAATTTCCATTTCTGCTATACTAAAAGACCCTAAGTAAAGAGCCT
 ATTAGTGTATGATAAATCCCATAGCAATATACATTATCATTTTACAGCTTCTTTGTTGAAATGAATGTTT
 GTATGTGTTGACCATAGAGTGGGATAAAAGTTGAAATTTGTTTTGAAATATTTTAGAAATGCATAGTT
 GTACTGCAGTTGTGAACCTCCTTAGATTTTTAAGGAGGCTGCTTCAAAGGATCTCATTAAATAATCTTCTC
 AGGTGCTTACAAAGCATGTGTCTGTGACGAGAAATAGAGAATCACCCAACTAGAGAACAGGTTTCACAAT
 ACCCTGAGACCTATTTTGTTCATTAGAGAGGAAATGGCTTGTGTTGAGTCTAAGTTGACATGCTTGCTA
 ATTTACAGCAATAAAGCTGTTTCTGTTGAGGTTTAAATTTAGAGCCTGGTAAGGTTGAGATTAAGGTT

[0377]

GATCAACTTACTTTTACACATACTTCTTAAATGAACTTTGAAATCTTAAAAGAAGGAAAAAAGTATAGC
AAACAGTGAATAATGTATCTAAAACCTGAGAAGCAAAAAAATCTGGTTATGTGAGAGTGAATTAAAAGAA
GAACAACCCAATAAAGATAATCTTTGTTATATAAAAAATTTCCAAGTATCGAAAAGCAGATTTTTCATGT
GAGTTACACACTATACCGAATATATTTGTCCACTGCCACATGCATAGTCCCTAGAATAGTGCCCTAGTGCT
GAAAAATATTTATTAATAATGAATGGATGAGTAAATGAATTTATGTATTTGCCAGCCCTGTGTATTTAAA
GTTCTCTGTTAACTTTGAGGTGAAAAATTTGACTTCATCTGAGGTTTCTGGGTAAGTCCGTTTTAAAAAT
CTATTGAACATATTTCAAACATTTTAGGGTAGGCAATTCCAAGCAACCTTTTCAGCTTCCCATGTACAGAA
TGACCAGAGTTTACATTTCTAACACTGGAAAACATCTTATTTCTATAAAATCTACCTGCTACTATATGGTT
CCTACTTTAAAAATTTGTTCCAGTACTCTCCAGCTGACTTATGCCACTTACTTCAATAGCTGTCTTTTGGCAA
TTTGTTCATATTTCAAACATCTGTTGTGTAAAGAAACCATAAAAAGTTAGAAAACCTGAAAAATTTGGATTT
TTTTTCTGAGCAATCAGAGCTTACAAATGTGGAATAATTTGTTAAAAGTTAGCCCCCTCAATTTTCAATA
CAGAGAGGAGAAAGTGCCATAAGTAGATGTACAATGTTTGGAAAAGTTTTTGTGCAATTTTACTATTAC
CAAAAGCAATTTGAGTTTAAATCACAAGCCCTGTCTCCCTACCTCTTCACAGAAGAAACACTACAGAATGA
TCAAAATTTGGCCCTTTCCAAAACCAAAATTCGTTAGAAAATCAGCAGGAGTCAAAGTACAGAGTAAATAA
CTAAGTTTCATATAAGTTTTCAGATACATTACTATCTACCCTTTTCATCTCTTCATCTTCATTGGCCCTCAT
GTGGTAGAACATCATATTTAAAAATTATACAACTTGCTGGCTTGTTTACTAGTGTGGTTATTATAAGAAA
AAAATGAGAAAAATATAGATAAAACATCTGTACATATTGCTTATAAACTAACAGTAAATATTACTTGTAT
TTTCCCCAATTAATAAAAAATTTACTGAGTTTGTAGAACCAGAGCTAGTCAGATGCCTTTTTTTCATAAAT
TTCTTCTATAAATACCTCTGAGATTGTGGTCCTTAAATCTAGAGAGACTAAGATGACAGAGAAAAATAGACA
CTGAAGAAAGGGAAGAATATCTTAATGATTACATTACTACCTATAAATTAATAATTTGTTAACTTTATTA
TATTTGTATTTTATTTTAAAAATAGTGTATATTAAAGTCATTTATAATACAGGGGAATAGGAATACTAAC
CTGTAATCTGATGCTCTCCAACTTGCCATAAATCATAAAAGTTAATTAGATAATTTATTTAAAAATGCAAG
ATTTGCAGCCCTTTCCACTACATATTCAATAGTTCTGGAGGAGGCAAAAAGGTTTGGTGATTCTTACGG
ACAGGCAGCTTAGGAGAAAAGCTGATTAGCTCGTCTACTTCACCTTTTCATTTGACAGGTGAGAAATCT
CGGGGTACAATGAAGTTAAATGAAGTAAATCTTAAATCGGTTCTGTGCTTTTCTGTTTTTAAAAATA
AATATACCTTAATTTTGACGTCACACAGAATGATATTATAAGTATAAATAGTTATCTATCTTTTAAATAC
ATTGTGTAATCAGAAATAACATTTCTTACTCAAGGCATTGACAGAGTGGTTTAAAGTAATCCGAGGTACT
CCGGAATGTCCTCATTGAGCCCTTAAATGAAGAAAATCTATAGTCAAGATTTTCATTGAAATATTTT
GATATCTAAGAATGAACATATTTCTGTTAAATGTTTTCTATAAACCCCTTATACAGTAACATCTTTT
TATTTCTAAAAGTGTTTTGCTGGTCTCACAATTGTACTTTACTTTGTATTATGTAAAAGGAATACACAA
CGCTGAAGAACCTGTACTAAGGGATATTTGTTCTTACAG (SEQ ID NO: 846)

[0378]

[0379] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 51 표적 서열 1 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1570651-1570700)

[0380] GTATGAGAAAAATGATAAAAGTTGGCAGAAGTTTTCTTTAAATGAAG (SEQ ID NO: 847)

[0381] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 51 표적 서열 2 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1570651-1570693)

[0382] GTATGAGAAAAATGATAAAAGTTGGCAGAAGTTTTCTTTAA (SEQ ID NO: 848)

[0383] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 51 표적 서열 3 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1570703-1570765)

[0384] TTTCACCAATCACTTTACTCTCTAGACGATTTCACCAGTTCTTAGGCACTGTTTCTCT (SEQ ID NO: 849)

[0385] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 51 표적 서열 4 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1614751-1614804)

[0386] TATTTCTAAAAGTGTTTTGCTGGTCTCACAATTGTACTTTACTTTGTATTATG (SEQ ID NO: 850)

[0387] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 51 표적 서열 5 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1614793-1614847)

[0388] CTTTGTATTATGTAAAAGGAATACACAACGCTGAAGAACCCTGATACTAAGGGAT (SEQ ID NO: 851)

[0389] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 인트론 51 표적 서열 6 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1614612-1614861)

[0390] CGGAATGTCCTCATTGAGCCCTTAAATGAAGAAAATCTATAGTCAAGATTTTCATTGAAATATTTTATATCTA
AGAATGAACATATTTCTGTAAATGTTTTCTATAAACCCCTATACAGTAACATCTTTTATTTCTAAAAGTGT
TTTGCTGGTCTCACAATTGTACTTTACTTTGTATTATGTAAAAGGAATACACAACGCTGAAGAACCCTGATACTAA
GGGATATTTGTTCTTACAG (SEQ ID NO: 852)

[0391] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD) 인트론 51/엑손 52 접합부 (NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1614832-1614891)

[0392] CCTGATACTAAGGGATATTTGTTCTTACAGGCAACAATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGT (SEQ ID NO: 853)

[0393] 호모 사피엔스 디스트로핀 (DMD), 전사체 변이체 Dp427m, 엑손 52 (NCBI 참조 서열: NM_004006.2의 뉴클레오타이드 위치 1614832-1614891)

드 위치 7787-7904; NCBI 참조 서열: NG_012232.1의 뉴클레오타이드 위치 1614862-1614979)

GCAACAATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGTCCCCAGTTGGAAGAACTCATTACCGCTGCCCAAAATTTGAAAAACAA
GACCAGCAATCAAGAGGCTAGAACATCATTACGGATCGAA (SEQ ID NO: 854)

[0394]

[0395]

일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열 (예를 들어, DMD 프리-mRNA) 내의 스플라이싱 특징부를 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD 서열 내의 스플라이싱 특징부는 DMD 서열 내의 엑손 스플라이싱 인핸서 (ESE), 분지점, 스플라이스 공여자 부위 또는 스플라이스 수용자 부위이다. 일부 실시양태에서, ESE는 DMD 서열 (예를 들어, DMD 프리-mRNA)의 엑손 51에 있다. 일부 실시양태에서, 분지점은 DMD 서열 (예를 들어, DMD 프리-mRNA)의 인트론 50 또는 인트론 51에 있다. 일부 실시양태에서, 스플라이스 공여자 부위는 DMD 서열 (예를 들어, DMD 프리-mRNA)의 엑손 50과 인트론 50의 접합부에 걸쳐, 인트론 50에, 엑손 51과 인트론 51의 접합부에 걸쳐 또는 인트론 51에 있다. 일부 실시양태에서, 스플라이스 수용자 부위는 DMD 서열 (예를 들어, DMD 프리-mRNA)의 인트론 50에, 인트론 50과 엑손 51의 접합부에 걸쳐, 인트론 51에 또는 인트론 51과 엑손 52의 접합부에 걸쳐 있다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 유용한 올리고뉴클레오타이드는, 예컨대 DMD 서열 (예를 들어, DMD 프리-mRNA) 내의 스플라이싱 특징부 (예를 들어, ESE, 분지점, 스플라이스 공여자 부위 또는 스플라이스 수용자 부위)를 표적화함으로써 엑손 51의 스킵핑을 촉진한다. ESE, 분지점, 스플라이스 공여자 부위 및 스플라이스 수용자 부위의 예가 표 9에 제공된다.

[0396]

일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열 내의 엑손 스플라이싱 인핸서 (ESE)를 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 엑손 51 내의 ESE (예를 들어, 표 9에 열거된 ESE)를 표적화한다.

[0397]

일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 전사체의 1개 이상의 전체 또는 부분 ESE (예를 들어, 표 9에 열거된 1개 이상의 전체 또는 부분 ESE)를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 DMD 엑손 51의 1개 이상의 전체 또는 부분 ESE를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 860-894에 제시된 바와 같은 1개 이상의 전체 또는 부분 ESE를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 ESE의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 904-938 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 ESE 안티센스 서열의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0398]

일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 DMD 엑손 51의 1개 이상의 ESE (예를 들어, 2, 3, 4개 또는 그 초과)의 인접한 ESE)의 적어도 6개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과)의 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 860-894에 제시된 바와 같은 1개 이상의 ESE (예를 들어, 2, 3, 4개 또는 그 초과)의 인접한 ESE)의 적어도 6개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과)의 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 904-938에 제시된 바와 같은 1개 이상의 ESE 안티센스 서열 (예를 들어, 2, 3, 4개 또는 그 초과)의 인접한 ESE의 안티센스 서열)의 적어도 6개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과)의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0399]

일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 18-35개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 ESE의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-30개 (예를 들어, 20, 25, 30개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 ESE의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-25개 (즉, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 ESE의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 30개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나에 제시된 바와

같은 ESE의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다.

[0400] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열 내의 분지점을 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 인트론 50 또는 인트론 51 내의 분지점 (예를 들어, 표 9에 열거된 분지점)을 표적화한다.

[0401] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 전사체의 전체 또는 부분 분지점 (예를 들어, 표 9에 열거된 전체 또는 부분 분지점)을 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 DMD 인트론 50 또는 인트론 51의 전체 또는 부분 분지점을 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 856-858, 896 및 897 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 전체 또는 부분 분지점을 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 856-858, 896 및 897 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 분지점의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 900-902, 940 및 941 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 분지점 안티센스 서열의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0402] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 18-35개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 856-858, 896 및 897 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 분지점의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-30개 (예를 들어, 20, 25, 30개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 856-858, 896 및 897 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 분지점의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-25개 (즉, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 856-858, 896 및 897 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 분지점의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 30개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 856-858, 896 및 897 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 분지점의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다.

[0403] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열 내의 스플라이스 공여자 부위를 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 엑손 50과 인트론 50의 접합부에 걸쳐, 인트론 50에, 엑손 51과 인트론 51의 접합부에 걸쳐 또는 인트론 51에 있는 스플라이스 공여자 부위 (예를 들어, 표 9에 열거된 스플라이스 공여자 부위)를 표적화한다.

[0404] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 전사체의 전체 또는 부분 스플라이스 공여자 부위 (예를 들어, 표 9에 열거된 전체 또는 부분 스플라이스 공여자 부위)를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 DMD의 엑손 50과 인트론 50의 접합부에 걸쳐, 인트론 50에, 엑손 51과 인트론 51의 접합부에 걸쳐 또는 인트론 51에 있는 전체 또는 부분 스플라이스 공여자 부위를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 855 또는 895에 제시된 바와 같은 전체 또는 부분 스플라이스 공여자 부위를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 855 또는 895에 제시된 바와 같은 스플라이스 공여자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 899 또는 939에 제시된 바와 같은 스플라이스 공여자 부위 안티센스 서열의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0405] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한

올리고뉴클레오타이드는 18-35개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 855 또는 895에 제시된 바와 같은 스플라이스 공여자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-30개 (예를 들어, 20, 25, 30개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 855 또는 895에 제시된 바와 같은 스플라이스 공여자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-25개 (즉, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 855 또는 895에 제시된 바와 같은 스플라이스 공여자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 30개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 855 또는 895에 제시된 바와 같은 스플라이스 공여자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6 또는 7개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다.

[0406] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 서열 내의 스플라이스 수용자 부위를 표적화한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 인트론 50에, 인트론 50과 엑손 51의 접합부에 걸쳐, 인트론 51에 또는 인트론 51과 엑손 52의 접합부에 걸쳐 있는 스플라이스 수용자 부위 (예를 들어, 표 9에 열거된 스플라이스 수용자 부위)를 표적화한다.

[0407] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD 전사체의 전체 또는 부분 스플라이스 수용자 부위 (예를 들어, 표 9에 열거된 전체 또는 부분 스플라이스 수용자 부위)를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 DMD의 인트론 50에, 인트론 50과 엑손 51의 접합부에 걸쳐, 인트론 51에 또는 인트론 51과 엑손 52의 접합부에 걸쳐 있는 전체 또는 부분 스플라이스 수용자 부위를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 859 또는 898에 제시된 바와 같은 전체 또는 부분 스플라이스 수용자 부위를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 859 또는 898에 제시된 바와 같은 스플라이스 수용자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 903 또는 942에 제시된 바와 같은 스플라이스 수용자 부위 안티센스 서열의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0408] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 18-35개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 859 또는 898에 제시된 바와 같은 스플라이스 수용자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-30개 (예를 들어, 20, 25, 30개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 859 또는 898에 제시된 바와 같은 스플라이스 수용자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에, 예컨대 엑손 51을 스킵핑하는 데) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 20-25개 (즉, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개)의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 859 또는 898에 제시된 바와 같은 스플라이스 수용자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 30개의 뉴클레오타이드 길이이고, 서열식별번호: 859 또는 898에 제시된 바와 같은 스플라이스 수용자 부위의 적어도 4개 (예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개)의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다.

[0409] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 엑손과 인트론의 접합부 (예를 들어, 서열식별번호: 832, 833, 837, 844, 845 및 853에 의해 제공된 엑손/인트론 접합부 중 어느 하나)에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 엑손과 인트론의 접합부 (예를 들어, 서열식별번호: 832, 833, 837, 844, 845 및 853에 의해 제공된 엑손/인트론 접합부 중 어느 하나)의 적어도 10

개 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과)의 연속 뉴클레오타이드에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 832, 833, 837, 844, 845 및 853 중 어느 하나에 대해 상보적이다.

[0410]

일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 표적 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 833, 835-837, 845, 847-853 및 839-843 중 어느 하나에 의해 제공된 표적 서열)에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 표적 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 833, 835-837, 845, 847-853 및 839-843 중 어느 하나에 의해 제공된 표적 서열)의 적어도 10개 (예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과)의 연속 뉴클레오타이드에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 833, 835-837, 845, 847-853 및 839-843 중 어느 하나에 대해 상보적이다.

[0411]

표 9. 예시적인 표적 서열 모티프

DMD에서의 위치	유형	SEQ ID NO:	모티프 서열*	SEQ ID NO:	모티프 안티센스 서열*
엑손 50/인트론 50 접합부에 걸쳐	스플라이스 공여자	855	CTGTAAG	899	CTTACAG
인트론 50	분지점	856	TATTAAT	900	ATTAATA
인트론 50	분지점	857	TTGAC	901	GTCAA
인트론 50	분지점	858	TTCTAAT	902	ATTAGAA
인트론 50/엑손 51 접합부에 걸쳐	스플라이스 수용자	859	TATTTTAGC	903	GCTAAAATA
엑손 51	ESE	860	CTACTCA	904	TGAGTAG
엑손 51	ESE	861	CAGACTG	905	CAGTCTG
엑손 51	ESE	862	GA CTGTTA	906	TAACAGTC
엑손 51	ESE	863	TTACTCT	907	AGAGTAA
엑손 51	ESE	864	ACTCTGG	908	CCAGAGT
엑손 51	ESE	865	CTCTGGT	909	ACCAGAG
엑손 51	ESE	866	TGACACA	910	TGTGTCA
엑손 51	ESE	867	GACACAA	911	TTGTGTC
엑손 51	ESE	868	ACACAAC	912	GTTGTGT
엑손 51	ESE	869	AACCTGTG	913	CACAGGTT
엑손 51	ESE	870	CCTGTGG	914	CCACAGG
엑손 51	ESE	871	CTGTGGT	915	ACCACAG
엑손 51	ESE	872	GGTTACTA	916	TAGTAACC
엑손 51	ESE	873	TTACTAA	917	TTAGTAA
엑손 51	ESE	874	CTAAGGA	918	TCCTTAG
엑손 51	ESE	875	CTGCCAT	919	ATGGCAG
엑손 51	ESE	876	CAAACTA	920	TAGTTTG
엑손 51	ESE	877	TGGAGGT	921	ACCTCCA
엑손 51	ESE	878	GGTACCTG	922	CAGGTACC
엑손 51	ESE	879	GATTTCAA	923	TTGAAATC
엑손 51	ESE	880	TTTCAAC	924	GTTGAAA
엑손 51	ESE	881	TCAACCG	925	CGGTTGA
엑손 51	ESE	882	CAACCGG	926	CCGTTTG
엑손 51	ESE	883	GGACAGAA	927	TTCTGTCC
엑손 51	ESE	884	CCGACTG	928	CAGTCGG
엑손 51	ESE	885	CGACTGG	929	CCAGTCG
엑손 51	ESE	886	TTTCTCTG	930	CAGAGAAA
엑손 51	ESE	887	TCTCTGC	931	GCAGAGA
엑손 51	ESE	888	TCACAGA	932	TCTGTGA
엑손 51	ESE	889	CACAGA	933	TCTGTG
엑손 51	ESE	890	ACAGAGG	934	CCTCTGT
엑손 51	ESE	891	CAGAGGG	935	CCCTCTG
엑손 51	ESE	892	CTTGAGG	936	CCTCAAG
엑손 51	ESE	893	TGAGGA	937	TCCTCA
엑손 51	ESE	894	GAGATGA	938	TCATCTC
엑손 51/인트론 51 접합부에 걸쳐	스플라이스 공여자	895	AGGTATG	939	CATACCT
인트론 51	분지점	896	TTTTGAT	940	ATCAAAA
인트론 51	분지점	897	CCCTGAT	941	ATCAGGG
인트론 51/엑손 52 접합부에 걸쳐	스플라이스 수용자	898	TCTTACAGG	942	CCTGTAAGA

[0412]

DMD에서의 위치	유형	SEQ ID NO:	모티프 서열*	SEQ ID NO:	모티프 안티센스 서열*
엑손 50/인트론 50 접합부에 걸쳐	스플라이스 공여자	855	CTGTAAG	899	CTTACAG

[0413]

- [0414] † 표 9에 제공된 서열 중 어느 하나 내의 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있다. 표 9에 열거된 모티프 서열 및 안티센스 서열은 T를 함유하지만, RNA 및/또는 DNA 내의 모티프 서열의 결합이 고려된다.
- [0415] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나는 포스포로디아미테이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다.
- [0416] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 돌연변이 DMD 대립유전자, 예를 들어 프레임시프트 및 부적절한 RNA 스플라이싱/프로세싱을 유도하는 인간 DMD의 엑손 1-79 중 어느 것 내의 적어도 1개의 돌연변이를 갖는 DMD 대립유전자에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다.
- [0417] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나는 염 형태, 예를 들어 나트륨, 칼륨 또는 마그네슘 염일 수 있다.
- [0418] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 임의로 스페이서를 통해 아민 기에 접합된다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 지방족 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 포스포디에스테르 연결은 스페이서와 올리고뉴클레오타이드의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 사이에 존재한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드 중 어느 것의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, -N(R^A)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^AC(=O)R^A-, -C(=O)R^A-, -NR^AC(=O)O-, -NR^AC(=O)N(R^A)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)N(R^A)-, -S(O)₂NR^A-, -NR^AS(O)₂- 또는 그의 조합인 스페이서에 접합되고; 각각의 R^A는 독립적으로 수소 또는 치환 또는 비치환된 알킬이다. 특정 실시양태에서, 스페이서는 치환 또는 비치환된 알킬렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, -N(R^A)- 또는 -C(=O)N(R^A)₂ 또는 그의 조합이다.
- [0419] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드는 화학식 -NH₂-(CH₂)_n-의 화합물에 접합되며, 여기서 n은 1 내지 12의 정수이다. 일부 실시양태에서, n은 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다. 일부 실시양태에서, 포스포디에스테르 연결은 화학식 NH₂-(CH₂)_n-의 화합물과 올리고뉴클레오타이드의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 사이에 존재한다. 일부 실시양태에서, 화학식 NH₂-(CH₂)₆-의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 (NH₂-(CH₂)₆-OH)과 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오타이드에 접합된다.
- [0420] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적화제, 예를 들어 근육 표적화제, 예컨대 항-TfR1 항체에, 예를 들어 아민 기를 통해 접합된다.
- [0421] a. 올리고뉴클레오타이드 크기/서열
- [0422] 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어 포맷에 따라 다양한 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 75개 또는 그 초과 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 8 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오타이드 길이, 8 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오타이드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오타이드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오타이드 길이, 20 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이 등이다.
- [0423] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 목적을 위한 올리고뉴클레오타이드의 핵산 서열은 표적 핵산에 특이적으로 혼성화가능한 경우에 표적 핵산에 대해 "상보적이다". 일부 실시양태에서, 표적 핵산 (예를 들어, mRNA 또는 프리-mRNA 분자)에 혼성화하는 올리고뉴클레오타이드는 표적의 활성 또는 발현의 조정 (예를 들어, 감소된 mRNA 번역, 변경된 프리-mRNA 스플라이싱, 엑손 스킵핑, 표적 mRNA 분해 등)을 유발한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드의 핵산 서열은 비-특이적 결합의 회피가 요구되는 조건 하에, 예를 들어 생리학적 조건 하에 비-표적 서열에 혼성화하지 않도록 그의 표적 핵산에 대해 충분한 정도의 상보성을 갖는다. 따라서, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산의 연속 뉴클레오타이드에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적

어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상보적 뉴클레오타이드 서열은 표적 핵산에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이 되기 위해 그의 표적의 서열에 대해 100% 상보적일 필요는 없다. 특정 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산에 비해 1개 이상의 미스매치된 핵염기를 포함한다. 특정 실시양태에서, 표적과 관련된 활성은 이러한 미스매치에 의해 감소되지만, 비-표적과 관련된 활성은 더 많은 양으로 감소된다 (즉, 표적 핵산에 대한 선택성은 증가되고, 오프-타겟 효과는 감소됨).

[0424] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 8 내지 15, 8 내지 30, 8 내지 40, 또는 10 내지 50, 또는 5 내지 50, 15 내지 20, 20 내지 25, 또는 5 내지 40개의 뉴클레오타이드 길이의 범위인 표적 핵산에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 핵산에 대한 올리고뉴클레오타이드의 상보성 영역은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 적어도 8개의 연속 뉴클레오타이드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산의 연속 뉴클레오타이드의 부분과 비교하여 1, 2 또는 3개의 염기 미스매치를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 15개의 염기에 걸쳐 3개 이하의 미스매치 또는 10개의 염기에 걸쳐 2개 이하의 미스매치를 가질 수 있다.

[0425] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오타이드) 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 384-831에 의해 제공된 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 표 8에 열거된 올리고뉴클레오타이드에 대해 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 서열식별번호: 384-831에 의해 제공된 올리고뉴클레오타이드에 대해 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 본원에 제공된 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다.

[0426] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 표적 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 의해 제공된 표적 서열)에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 DMD RNA의 표적 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 의해 제공된 표적 서열)의 적어도 8개 (예를 들어, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과)의 연속 뉴클레오타이드에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적이다.

[0427] 일부 실시양태에서, DMD를 표적화하는 데 (예를 들어, 엑손 스킵핑에) 유용한 올리고뉴클레오타이드는 본원에 제공된 DMD-표적화 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 안티센스 서열)의 적어도 8개 (예를 들어, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과)의 연속 핵염기를 포함하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 적어도 8개 (예를 들어, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과)의 연속 핵염기를 포함하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함한다.

[0428] 일부 실시양태에서, C5 위치에서의 핵염기 우라실의 메틸화는 티민을 형성한다는 것이 인지될 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서, C5 메틸화 우라실 (또는 5-메틸-우라실)을 갖는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드는 동등하게 티민 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드로서 확인될 수 있다.

[0429] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오타이드) 중 어느 하나 내의 티민 염기 (T) 중 어느 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)일 수 있고/거나 본원에 제공된 올리고뉴클레오타이드 내의 U 중 어느 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 T일 수 있다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 608-831에 의해 제공된 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 올리고뉴클레오타이드 내의 티민 염기 (T) 중 어느 1개 이상은 임의로 우라실 염기 (U)일 수 있고/거나 올리고뉴클레오타이드 내의 U 중 어느 1개 이상은 임의로 T일 수 있다. 일부 실시

양태에서, 서열식별번호: 384-607에 의해 제공된 올리고뉴클레오타이드 중 어느 하나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 올리고뉴클레오타이드 내의 우라실 염기 (U) 중 어느 1개 이상은 임의로 티민 염기 (T)일 수 있고/거나 올리고뉴클레오타이드 내의 T 중 어느 1개 이상은 임의로 U일 수 있다.

[0430] b. 올리고뉴클레오타이드 변형:

[0431] 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드는 변형될 수 있으며, 예를 들어 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오시드간 연결, 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 그의 조합을 포함할 수 있다. 추가로, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 특성 중 1종 이상을 나타낼 수 있다: 대안적 스플라이싱을 매개하지 않음; 면역 자극성이 아님; 뉴클레아제 저항성임; 비변형된 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 개선된 세포 흡수를 가짐; 세포 또는 포유동물에 대해 독성이 아님; 세포 내부에 개선된 엔도솜 출구를 가짐; TLR 자극을 최소화함; 또는 패턴 인식 수용체를 피함. 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과와 상이한 유형의 변형이 동일한 올리고뉴클레오타이드 내에 포함될 수 있다.

[0432] 일부 실시양태에서, 변형이 혼입되는 올리고뉴클레오타이드를 천연 올리고데옥시뉴클레오타이드 또는 올리고리보뉴클레오타이드 분자보다 뉴클레아제 소화에 대해 더 저항성으로 만드는 이러한 특정 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드 변형이 사용될 수 있고; 이들 변형된 올리고뉴클레오타이드는 비변형된 올리고뉴클레오타이드보다 더 긴 시간 동안 무손상으로 생존한다. 변형된 올리고뉴클레오타이드의 구체적 예는 변형된 백본, 예를 들어 변형된 뉴클레오시드간 연결, 예컨대 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, 메틸 포스포네이트, 단쇄 알킬 또는 시클로알킬 당간 연결 또는 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로시클릭 당간 연결을 포함하는 것을 포함한다. 따라서, 본 개시내용의 올리고뉴클레오타이드는 예컨대 변형, 예를 들어 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드 변형의 혼입에 의해 핵산 분해적 분해에 대해 안정화될 수 있다.

[0433] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 올리고뉴클레오타이드의 2 내지 10, 2 내지 15, 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 25, 2 내지 30, 2 내지 40, 2 내지 45개 또는 그 초과와 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오타이드/뉴클레오시드인 50개 이하 또는 100개 이하의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 올리고뉴클레오타이드의 2 내지 10, 2 내지 15, 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 25, 2 내지 30개의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오타이드/뉴클레오시드인 8 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 올리고뉴클레오타이드의 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 2 내지 7, 2 내지 8, 2 내지 9, 2 내지 10, 2 내지 11, 2 내지 12, 2 내지 13, 2 내지 14개의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오타이드/뉴클레오시드인 8 내지 15개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 임의로, 올리고뉴클레오타이드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오타이드/뉴클레오시드가 변형된 것을 제외하고는 모든 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드를 가질 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 변형은 본원에 추가로 기재된다.

[0434] c. 변형된 뉴클레오시드

[0435] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드는 당의 2' 위치에서 변형된 적어도 1개의 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1개의 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드 내의 모든 뉴클레오시드는 2'-변형된 뉴클레오시드이다.

[0436] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드는 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0437] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드는 리보스 고리가 고리 내의 2개의 원자를 연결하는, 예를 들어 메틸렌 (LNA) 가교, 에틸렌 (ENA) 가교 또는 (S)-구속성 에틸 (cEt) 가교를 통해 2'-O 원자를 4'-C 원자에 연결하는 가교 모이어티를 포함하는 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드를 포함한다. LNA의 예는 2008년 4월 17일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO/2008/043753 (발명의 명칭: "RNA Antagonist Compounds For The Modulation Of PCSK9")에 기재되어 있으며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. ENA의 예는 2005년 5월 12일에 공개된 국제 특허 공개 번호 WO 2005/042777 (발명의 명칭: "APP/ENA Antisense"); 문헌 [Morita et al., Nucleic Acid Res., Suppl 1:241-242, 2001; Surono et al., Hum. Gene Ther., 15:749-757, 2004; Koizumi, Curr. Opin. Mol. Ther., 8:144-149, 2006 및 Horie et al., Nucleic Acids Symp. Ser (Oxf),

49:171-172, 2005]에 제공되어 있으며; 이의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. cEt의 예는 미국 특허 7,101,993; 7,399,845 및 7,569,686에 제공되어 있으며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0438] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 미국 특허 또는 특허 출원 공개 중 하나에 개시된 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다: 2008년 7월 15일에 허여된 미국 특허 7,399,845 (발명의 명칭: "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2010년 6월 22일에 허여된 미국 특허 7,741,457 (발명의 명칭: "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2011년 9월 20일에 허여된 미국 특허 8,022,193 (발명의 명칭: "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2009년 8월 4일에 허여된 미국 특허 7,569,686 (발명의 명칭: "Compounds And Methods For Synthesis Of Bicyclic Nucleic Acid Analogs"); 2008년 2월 26일에 허여된 미국 특허 7,335,765 (발명의 명칭: "Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues"); 2008년 1월 1일에 허여된 미국 특허 7,314,923 (발명의 명칭: "Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues"); 2010년 10월 19일에 허여된 미국 특허 7,816,333 (발명의 명칭: "Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same") 및 미국 공개 번호 2011/0009471이며 2015년 2월 17일에 허여된 현재 미국 특허 8,957,201 (발명의 명칭: "Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same") (이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨).

[0439] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖지 않는 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 1°C, 2°C, 3°C, 4°C 또는 5°C 범위의 올리고뉴클레오타이드 T_m의 증가를 유발하는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 올리고뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드를 갖지 않는 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 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 또는 그 초과 범위의 올리고뉴클레오타이드의 T_m의 총 증가를 유발하는 복수의 변형된 뉴클레오타이드를 가질 수 있다.

[0440] 올리고뉴클레오타이드는 상이한 종류의 뉴클레오타이드의 혼합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드와 2'-플루오로 변형된 뉴클레오타이드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드와 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오타이드와 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오타이드와 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오타이드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me)와 2'-4' 비시클릭 뉴클레오타이드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)의 혼합을 포함할 수 있다.

[0441] 올리고뉴클레오타이드는 상이한 종류의 교대되는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드는 교대되는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 교대되는 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 및 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 교대되는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오타이드 및 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 교대되는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오타이드 및 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 교대되는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오타이드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me) 및 2'-4' 비시클릭 뉴클레오타이드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)를 포함할 수 있다.

[0442] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드는 5'-비닐포스포네이트 변형, 1개 이상의 무염기성 잔기 및/또는 1개 이상의 역전된 무염기성 잔기를 포함한다.

[0443] d. 뉴클레오타이드간 연결 / 백본

[0444] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오타이드간 연결을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 2개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 모든 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오타이드간 연결에 변형된 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다.

[0445] 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸

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

[0446] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 헤테로원자 백본, 예컨대 메틸렌(메틸이미노) 또는 MMI 백본; 아미드 백본 (문헌 [De Mesmaeker et al. *Ace. Chem. Res.* 1995, 28:366-374] 참조); 모르폴리노 백본 (미국 특허 번호 5,034,506 (Summerton and Weller) 참조); 또는 펩티드 핵산 (PNA) 백본 (여기서 올리고뉴클레오타이드의 포스포디에스테르 백본은 폴리아미드 백본으로 대체되고, 뉴클레오타이드는 폴리아미드 백본의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합됨, 문헌 [Nielsen et al., *Science* 1991, 254, 1497] 참조)을 가질 수 있다.

[0447] e. 입체특이적 올리고뉴클레오타이드

[0448] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드간 인 원자는 키랄이고, 올리고뉴클레오타이드의 특성은 키랄 인 원자의 배위에 기초하여 조정된다. 일부 실시양태에서, 적절한 방법을 사용하여 P-키랄 올리고뉴클레오타이드 유사체를 입체제어된 방식으로 합성할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Oka N, Wada T, *Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms.* *Chem Soc Rev.* 2011 Dec;40(12):5829-43.]에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 실질적으로 모든 Sp 또는 실질적으로 모든 Rp 포스포로티오에이트 당간 연결에 의해 함께 연결된 뉴클레오시드 단위를 포함하는 포스포로티오에이트 함유 올리고뉴클레오타이드가 제공된다. 일부 실시양태에서, 실질적으로 키랄 순수한 당간 연결을 갖는 이러한 포스포로티오에이트 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어 1996년 12월 12일에 허여된 미국 특허 5,587,261 (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 효소적 또는 화학적 합성에 의해 제조된다. 일부 실시양태에서, 키랄 제어된 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산의 선택적 절단 패턴을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 키랄 제어된 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어 2017년 2월 2일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20170037399 A1 (발명의 명칭: "CHIRAL DESIGN") (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 핵산의 상보적 서열 내에 단일 부위 절단을 제공한다.

[0449] f. 모르폴리노

[0450] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 모르폴리노-기재 화합물일 수 있다. 모르폴리노-기재 올리고머 화합물은 문헌 [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]; 및 1991년 7월 23일에 허여된 미국 특허 번호 5,034,506에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 모르폴리노-기재 올리고머 화합물은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다 (예를 들어, 문헌 [Iverson, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 3:235-238, 2001; 및 Wang et al., *J. Gene Med.*, 12:354-364, 2010]에 기재된 바와 같고, 이들의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0451] g. 펩티드 핵산 (PNA)

[0452] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 단위의 당 및 뉴클레오시드간 연결 (백본) 둘 다는 신규 기로 대체된다. 일부 실시양태에서, 염기 단위는 적절한 핵산 표적 화합물과의 혼성화를 위해 유지된다. 탁월한 혼성화 특성을 갖는 것으로 나타난 올리고뉴클레오타이드 모방체인 하나의 이러한 올리고머 화합물은 펩티드 핵산 (PNA)으로 지칭된다. PNA 화합물에서, 올리고뉴클레오타이드의 당-백본은 아미드 함유 백본, 예를 들어 아미노에틸글리신 백본으로 대체된다. 핵염기는 보유하고, 백본의 아미드 부분의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 제조를 보고하는 대표적인 공개 문헌은 미국 특허 번호 5,539,082; 5,714,331; 및 5,719,262를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다. PNA 화합물의 추가의 교시는 문헌 [Nielsen et al., *Science*, 1991, 254, 1497-1500]에서 찾을 수 있다.

[0453] h. 믹스머

[0454] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드는 믹스머일 수 있거나 또는 믹스머 서열 패턴을 포함할

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

[0455] 일부 실시양태에서, 믹스머는 반복 패턴의 뉴클레오시드 유사체 및 자연 발생 뉴클레오시드, 또는 한 유형의 뉴클레오시드 유사체 및 제2 유형의 뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 그러나, 믹스머는 반복 패턴을 포함할 필요가 없고, 대신에 변형된 뉴클레오시드 및 자연 발생 뉴클레오시드의 임의의 배열 또는 한 유형의 변형된 뉴클레오시드 및 제2 유형의 변형된 뉴클레오시드의 임의의 배열을 포함할 수 있다. 반복 패턴은, 예를 들어 매 두 번째 또는 매 세 번째 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA이고, 나머지 뉴클레오시드는 자연 발생 뉴클레오시드, 예컨대 DNA 또는 2' 치환된 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 2' MOE 또는 2' 플루오로 유사체 또는 본원에 기재된 임의의 다른 변형된 뉴클레오시드일 수 있다. 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA 단위의 반복 패턴은 고정된 위치, 예를 들어 5' 또는 3' 말단에서 변형된 뉴클레오시드와 조합될 수 있다는 것이 인식된다.

[0456] 일부 실시양태에서, 믹스머는 5개 초과, 4개 초과, 3개 초과 또는 2개 초과의 연속 자연 발생 뉴클레오시드, 예컨대 DNA 뉴클레오시드의 영역을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 믹스머는 적어도 2개의 연속 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 적어도 2개의 연속 LNA로 이루어진 영역을 적어도 포함한다. 일부 실시양태에서, 믹스머는 적어도 3개의 연속 변형된 뉴클레오시드 단위, 예컨대 적어도 3개의 연속 LNA로 이루어진 영역을 적어도 포함한다.

[0457] 일부 실시양태에서, 믹스머는 7개 초과, 6개 초과, 5개 초과, 4개 초과, 3개 초과 또는 2개 초과의 연속 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 LNA의 영역을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, LNA 단위는 다른 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 본원에 언급된 것으로 대체될 수 있다.

[0458] 믹스머는 친화도 증진 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 비제한적 예에서 LNA 뉴클레오시드 및 2'-O-Me 뉴클레오시드의 혼합물을 포함하도록 설계될 수 있다. 일부 실시양태에서, 믹스머는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 또는 그 초과 뉴클레오시드 사이에 변형된 뉴클레오시드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 또는 다른 연결)을 포함한다.

[0459] 믹스머는 임의의 적합한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 믹스머의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허, 미국 특허 공개 및 PCT 공개는 미국 특허 공개 번호 US20060128646, US20090209748, US20090298916, US20110077288 및 US20120322851, 및 미국 특허 번호 7687617을 포함한다.

[0460] 일부 실시양태에서, 믹스머는 1개 이상의 모르폴리노 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 믹스머는 1개 이상의 다른 뉴클레오시드 (예를 들어, DNA, RNA 뉴클레오시드) 또는 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, 2'-O-Me 뉴클레오시드)와 혼합된 (예를 들어, 교대 방식으로 혼합된) 모르폴리노 뉴클레오시드를 포함할 수 있다.

[0461] 일부 실시양태에서, 믹스머는, 예를 들어 문헌 [Touznik A., et al., LNA/DNA mixmer-based antisense oligonucleotides correct alternative splicing of the SMN2 gene and restore SMN protein expression in type 1 SMA fibroblasts Scientific Reports, volume 7, Article number: 3672 (2017), Chen S. et al., Synthesis of a Morpholino Nucleic Acid (MNA)-Uridine Phosphoramidite, and Exon Skipping Using MNA/2'-O-Methyl Mixmer Antisense Oligonucleotide, Molecules 2016, 21, 1582] (이들 각각의 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 보고된 바와 같이, 스플라이스 교정 또는 엑손 스킵핑에 유용하다.

[0462] i. 다량체

[0463] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 링커에 의해 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드의 다량체 (예를 들어, 콘카테머)를 포함할 수 있다. 이러한 방식으로, 일부 실시양태에서, 복합체의 올리고뉴클레오티드 로딩은 표적 화제 상의 이용가능한 연결 부위 (예를 들어, 항체 상의 이용가능한 티올 부위)를 넘어 증가되거나 또는 달리 특정한 페이로드 로딩 함량을 달성하도록 조정될 수 있다. 다량체 내의 올리고뉴클레오티드는 동일하거나 상이할 수 있다 (예를 들어, 상이한 유전자 또는 동일한 유전자 상의 상이한 부위 또는 그의 생성물을 표적화함).

[0464] 일부 실시양태에서, 다량체는 절단가능한 링커에 의해 함께 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

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

[0465] 일부 실시양태에서, 다량체는 단부-대-단부 (선형 배열로) 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 올리고뉴클레오타이드 기반 링커 (예를 들어, 폴리-dT 링커, 무염기성 링커)를 통해 단부-대-단부 연결된 2개 이상의 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 한 올리고뉴클레오타이드의 5' 단부가 또 다른 올리고뉴클레오타이드의 3' 단부에 연결된 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 한 올리고뉴클레오타이드의 3' 단부가 또 다른 올리고뉴클레오타이드의 3' 단부에 연결된 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다량체는 한 올리고뉴클레오타이드의 5' 단부가 또 다른 올리고뉴클레오타이드의 5' 단부에 연결된 것을 포함한다. 또한, 일부 실시양태에서, 다량체는 분지화 링커에 의해 함께 연결된 다수의 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 분지형 구조를 포함할 수 있다.

[0466] 본원에 제공된 복합체에 사용될 수 있는 다량체의 추가 예는, 예를 들어 2015년 11월 5일에 공개된 미국 특허 출원 번호 2015/0315588 A1 (발명의 명칭: Methods of delivering multiple targeting oligonucleotides to a cell using cleavable linkers); 2015년 9월 3일에 공개된 미국 특허 출원 번호 2015/0247141 A1 (발명의 명칭: Multimeric Oligonucleotide Compounds); 2011년 6월 30일에 공개된 미국 특허 출원 번호 US 2011/0158937 A1 (발명의 명칭: Immunostimulatory Oligonucleotide Multimers); 및 1997년 12월 2일에 허여된 미국 특허 번호 5,693,773 (발명의 명칭: Triplex-Forming Antisense Oligonucleotides Having Abasic Linkers Targeting Nucleic Acids Comprising Mixed Sequences Of Purines And Pyrimidines)에 개시되어 있으며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0467] C. 링커

[0468] 본원에 기재된 복합체는 일반적으로 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나를 분자 페이로드에 공유 연결하는 링커를 포함한다. 링커는 적어도 1개의 공유 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체를 분자 페이로드에 공유 연결하는 단일 결합, 예를 들어 디설피드 결합 또는 디설피드 가교일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나를 다수의 공유 결합을 통해 분자 페이로드에 공유 연결시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 절단가능한 링커일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 비-절단가능한 링커일 수 있다. 링커는 전형적으로 시험관내 및 생체내에서 안정하고, 특정 세포 환경에서 안정할 수 있다. 추가적으로, 전형적으로 링커는 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드의 기능적 특성에 부정적인 영향을 미치지 않는다. 링커의 합성의 예 및 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Kline, T. et al. "Methods to Make Homogenous Antibody Drug Conjugates." Pharmaceutical Research, 2015, 32:11, 3480-3493.; Jain, N. et al. "Current ADC Linker Chemistry" Pharm Res. 2015, 32:11, 3526-3540.; McCombs, J.R. and Owen, S.C. "Antibody Drug Conjugates: Design and Selection of Linker, Payload and Conjugation Chemistry" AAPS J. 2015, 17:2, 339-351.] 참조).

[0469] 링커는 전형적으로 항-TfR1 항체 및 분자 페이로드 둘 다에 대한 부착을 가능하게 하는 2종의 상이한 반응성 종을 함유할 것이다. 일부 실시양태에서, 2종의 상이한 반응성 종은 친핵체 및/또는 친전자체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 2종의 상이한 친핵체 또는 친전자체에 특이적인 2종의 상이한 친전자체 또는 친핵체를 함유한다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 항-TfR1 항체에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 말레이미드-함유 링커를 통해 항-TfR1 항체의 시스테인 잔기에 공유 연결되며, 여기서 임의로 말레이미드-함유 링커는 말레이미도카프로일 또는 말레이미도메틸 시클로헥산-1-카르복실레이트 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 3-아릴프로피오니트릴 관능기를 통해 항-TfR1 항체 또는 티올 관능화된 분자 페이로드의 시스테인 잔기에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체의 리신 잔기에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 독립적으로 아미드 결합, 카르바메이트 결합, 히드라지드, 트리아졸, 티오에테르 및/또는 디설피드 결합을 통해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다.

[0470] i. 절단가능한 링커

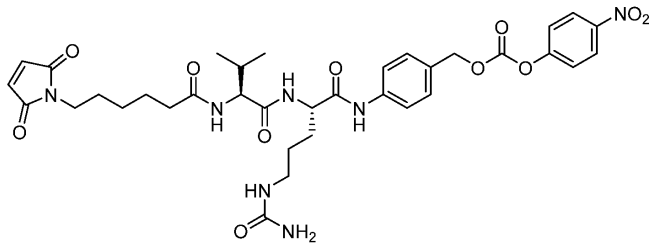
[0471] 절단가능한 링커는 프로테아제-감수성 링커, pH-감수성 링커 또는 글루타티온-감수성 링커일 수 있다. 이들 링커는 전형적으로 세포내에서만 절단가능하고, 바람직하게는 세포외 환경, 예를 들어 근육 세포에 대한 세포외 환경에서 안정하다.

[0472] 프로테아제-감수성 링커는 프로테아제 효소적 활성화에 의해 절단가능하다. 이들 링커는 전형적으로 펩티드 서열을 포함하고, 2-10개의 아미노산, 약 2-5개의 아미노산, 약 5-10개의 아미노산, 약 10개의 아미노산, 약 5개의 아미노산, 약 3개의 아미노산 또는 약 2개의 아미노산 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 펩티드 서열은 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β -아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 프로테아제-감수성 링커는 발린-시트룰린 또는 알라닌-시트룰린 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 프로테아제-감수성 링커는 리소솜 프로테아제, 예를 들어 카텝신 B 및/또는 (예를 들어, 및) 엔도솜 프로테아제에 의해 절단될 수 있다.

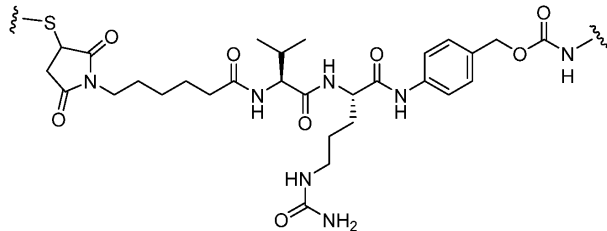
[0473] pH-감수성 링커는 높은 또는 낮은 pH 환경에서 용이하게 분해되는 공유 연결이다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 4 내지 6 범위의 pH에서 절단될 수 있다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 히드라존 또는 시클릭 아세트알을 포함한다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 엔도솜 또는 리소솜 내에서 절단된다.

[0474] 일부 실시양태에서, 글루타티온-감수성 링커는 디설피드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 글루타티온-감수성 링커는 세포 내부의 글루타티온 종과의 디설피드 교환 반응에 의해 절단된다. 일부 실시양태에서, 디설피드 모이어티는 적어도 1개의 아미노산, 예를 들어 시스테인 잔기를 추가로 포함한다.

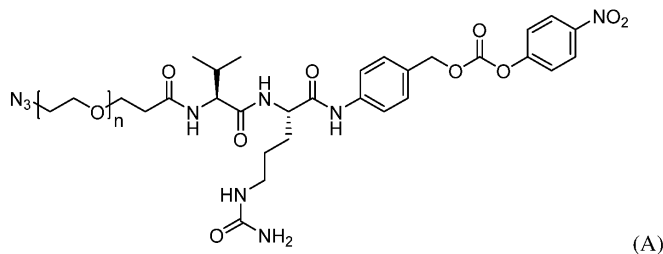
[0475] 일부 실시양태에서, 링커는 발린-시트룰린 서열을 포함한다 (예를 들어, 본원에 참조로 포함된 미국 특허 6,214,345에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 접합 전에, 링커는 하기의 구조를 포함한다:



[0476] 일부 실시양태에서, 접합 후에, 링커는 하기의 구조를 포함한다:

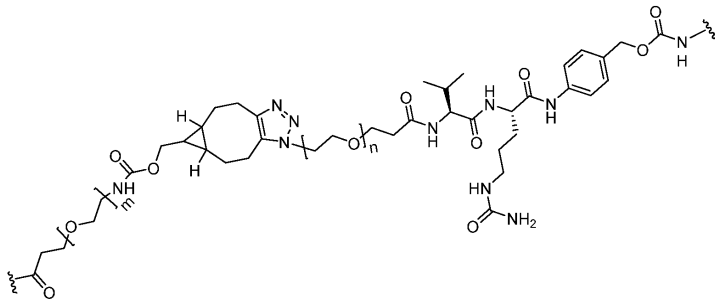


[0478] 일부 실시양태에서, 접합 전에, 링커는 하기의 구조를 포함한다:



[0480] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이다.

[0482] 일부 실시양태에서, 링커는 하기의 구조를 포함한다:

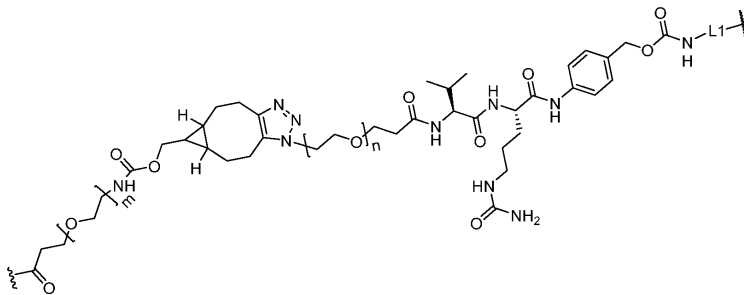


(H)

[0483]

[0484] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m은 4이다.

[0485] 일부 실시양태에서, 링커는 하기의 구조를 포함한다:



(I)

[0486]

[0487] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m은 4이다.

[0488] ii. 비-절단가능한 링커

[0489] 일부 실시양태에서, 비-절단가능한 링커가 사용될 수 있다. 일반적으로, 비-절단가능한 링커는 세포 또는 생리학적 환경에서 용이하게 분해될 수 없다. 일부 실시양태에서, 비-절단가능한 링커는 임의로 치환된 알킬 기를 포함하며, 여기서 치환은 할로겐, 히드록실 기, 산소 중 및 다른 통상의 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 임의로 치환된 알킬, 임의로 치환된 알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 포함하는 펩티드 서열, 말단절단된 글리칸, 효소적으로 분해될 수 없는 당 또는 당들, 아지드, 알킨-아지드, LPXT 서열을 포함하는 펩티드 서열, 티오에테르, 비오틴, 비페닐, 폴리에틸렌 글리콜의 반복 단위 또는 등가 화합물, 산 에스테르, 산 아마이드, 술폰아미드 및/또는 알콕시-아민 링커를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 소르타제-매개된 라이게이션은 LPXT 서열을 포함하는 항-TfR1 항체를 (G)_n 서열을 포함하는 분자 페이로드에 공유 연결시키는 데 이용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Proft T. Sortase-mediated protein ligation: an emerging biotechnology tool for protein modification and immobilization. Biotechnol Lett. 2010, 32(1):1-10.] 참조).

[0490] 일부 실시양태에서, 링커는 치환된 알킬렌, 임의로 치환된 알케닐렌, 임의로 치환된 알킬닐렌, 임의로 치환된 시클로알킬렌, 임의로 치환된 시클로알케닐렌, 임의로 치환된 아릴렌, N, O 및 S로부터 선택된 적어도 1개의 헤테로원자를 추가로 포함하는 임의로 치환된 헤테로아릴렌; N, O 및 S로부터 선택된 적어도 1개의 헤테로원자를 추가로 포함하는 임의로 치환된 헤테로시클릴렌; 이미노, 임의로 치환된 질소 중, 임의로 치환된 산소 중 0, 임의로 치환된 황 중 또는 폴리(알킬렌 옥사이드), 예를 들어 폴리에틸렌 옥사이드 또는 폴리프로필렌 옥사이드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 비-절단가능한 N-감마-말레이미도부티릴-옥시숙신이미드 에스테르 (GMBS) 링커일 수 있다.

[0491] iii. 링커 접합

[0492] 일부 실시양태에서, 링커는 포스페이트, 티오에테르, 에테르, 탄소-탄소, 카르바메이트 또는 아마이드 결합을 통해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 올리고뉴클레오타이드 백본의 포스페이트 또는 포스포로티오에이트 기, 예를 들어 말단 포스페이트를 통해 올리고뉴클레

오티드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체 상에 존재하는 리신 또는 시스테인 잔기를 통해 항-TfR1 항체에 공유 연결된다.

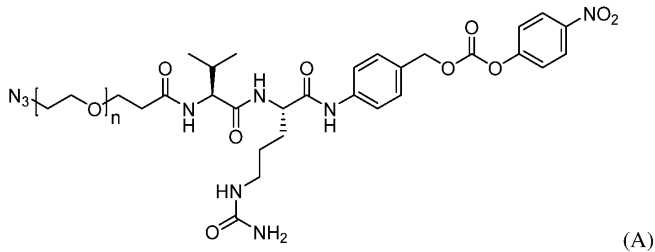
[0493] 일부 실시양태에서, 링커 또는 그의 부분은 아지드와 알킨 사이의 고리화첨가 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결되어 트리아졸을 형성하며, 여기서 아지드 또는 알킨은 항-TfR1 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 알킨은 시클릭 알킨, 예를 들어 시클로옥틴일 수 있다. 일부 실시양태에서, 알킨은 비시클로노닌 (비시클로[6.1.0]노닌 또는 BCN으로도 또한 공지됨) 또는 치환된 비시클로노닌일 수 있다. 일부 실시양태에서, 시클로옥탄은 2011년 11월 3일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2011136645 (발명의 명칭: "Fused Cyclooctyne Compounds And Their Use In Metal-free Click Reactions")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 아지드는 아지드를 포함하는 당 또는 탄수화물 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 아지드는 6-아지도-6-데옥시갈락토스 또는 6-아지도-N-아세틸갈락토사민일 수 있다. 일부 실시양태에서, 아지드를 포함하는 당 또는 탄수화물 분자는 2016년 10월 27일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2016170186 (발명의 명칭: "Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A β (1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 아지드와 알킨 사이의 고리화첨가 반응으로 트리아졸을 형성하며, 여기서 아지드 또는 알킨이 항-TfR1 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다는 것은 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof"); 또는 2016년 10월 27일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2016170186 (발명의 명칭: "Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A β (1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase")에 기재된 바와 같다.

[0494] 일부 실시양태에서, 링커는 스페이서, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 스페이서 또는 아실/카르보모일 술폰미드 스페이서, 예를 들어 히드라스페이스(HydraSpace)TM 스페이서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 문헌 [Verkade, J.M.M. et al., "A Polar Sulfamide Spacer Significantly Enhances the Manufacturability, Stability, and Therapeutic Index of Antibody-Drug Conjugates", Antibodies, 2018, 7, 12]에 기재된 바와 같다.

[0495] 일부 실시양태에서, 링커는 친디엔체와 디엔/헤테로-디엔 사이의 딜스-알더 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결되며, 여기서 친디엔체 및 디엔/헤테로-디엔은 항-TfR1 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 다른 페리시클릭 반응, 예컨대 엔 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 아미드, 티오아미드 또는 술폰아미드 결합 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 축합 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결되어 링커와 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드 사이에 존재하는 옥심, 히드라존 또는 세미카르바지드 기를 형성한다.

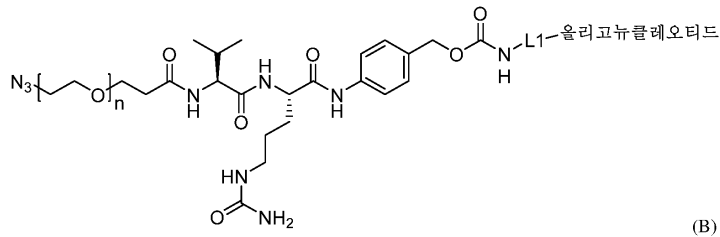
[0496] 일부 실시양태에서, 링커는 친핵체, 예를 들어 아민 또는 히드록실 기와 친전자체, 예를 들어 카르복실산, 카르보네이트 또는 알데히드 사이의 공액 첨가 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 친핵체는 링커 상에 존재할 수 있고, 친전자체는 링커와 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 사이의 반응 전 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 상에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친전자체는 링커 상에 존재할 수 있고, 친핵체는 링커와 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 사이의 반응 전 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 상에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친전자체는 아지드, 펜타플루오로페닐, 규소 중심, 카르보닐, 카르복실산, 무수물, 이소시아네이트, 티오이소시아네이트, 숙신이미딜 에스테르, 술포숙신이미딜 에스테르, 말레이미드, 알킬 할라이드, 알킬 슈도할라이드, 에폭시드, 에피술피드, 아지리딘, 아릴, 활성화된 인 중심 및/또는 활성화된 황 중심일 수 있다. 일부 실시양태에서, 친핵체는 임의로 치환된 알켄, 임의로 치환된 알킨, 임의로 치환된 아릴, 임의로 치환된 헤테로시클릴, 히드록실 기, 아미노 기, 알킬아미노 기, 아닐리도 기 및/또는 티올 기일 수 있다.

[0497] 일부 실시양태에서, 링커는 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학을 위한 아지드 모이어티 또는 BCN 모이어티)에 공유 연결된 발린-시트룰린 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학을 위한 아지드 모이어티)에 공유 연결된 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커는 하기의 구조를 포함한다:



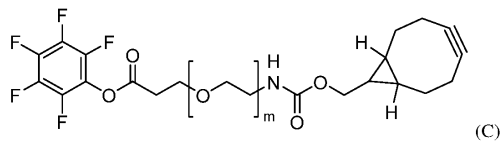
여기서 n 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이다.

일부 실시양태에서, 화학식 (A)의 구조를 포함하는 링커는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)에 (예를 들어, 임의로 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (A)의 구조를 포함하는 링커는, 예를 들어 카르바메이트 결합을 형성하는 아민-L1-올리고뉴클레오타이드로의 친핵성 치환을 통해 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결되어 하기의 구조를 포함하는 화합물을 생성한다:



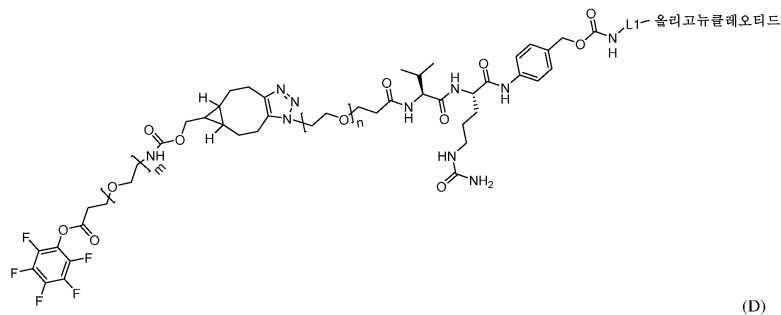
여기서 n 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이다.

일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 화합물은 트리아졸을 통해 추가의 모이어티에 추가로 공유 연결되며, 여기서 트리아졸은 화학식 (A) 또는 화학식 (B)의 아지드와 비시클로노닌 상에 제공된 알킨 사이의 클릭 반응에 의해 형성된다. 일부 실시양태에서, 비시클로노닌을 포함하는 화합물은 하기의 구조를 포함한다:



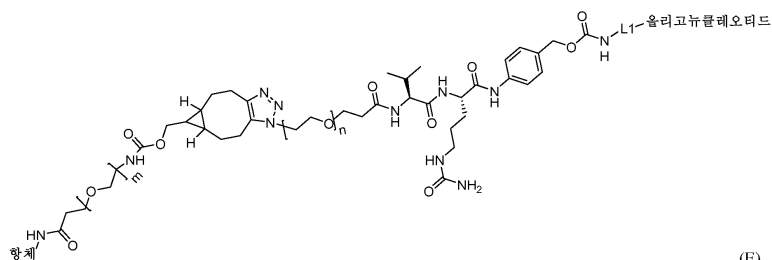
여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, m 은 4이다.

일부 실시양태에서, 구조 (B)의 화합물의 아지드는 구조 (C)의 화합물의 알킨과의 클릭 반응을 통해 트리아졸을 형성하여 하기의 구조를 포함하는 화합물을 형성한다:



여기서 n 은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이고, m 은 4이다.

일부 실시양태에서, 구조 (D)의 화합물은 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되어 하기의 구조를 포함하는 복합체를 형성한다:



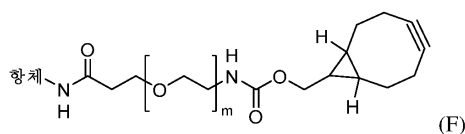
[0510]

[0511]

여기서 n 은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m 은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0512]

일부 실시양태에서, 화학식 (C)의 화합물은 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되어 하기의 구조를 포함하는 화합물을 형성한다:



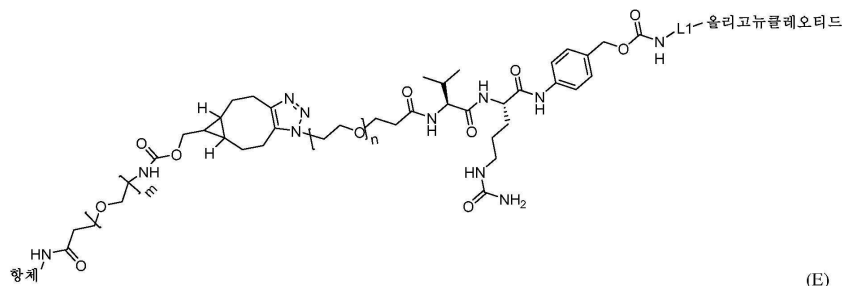
[0513]

[0514]

여기서 m 은 0-15 (예를 들어, 4)이다. 화학식 (F)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0515]

일부 실시양태에서, 구조 (B)의 화합물의 아지드는 구조 (F)의 화합물의 알킨과의 클릭 반응을 통해 트리아졸을 형성하여 하기의 구조를 포함하는 복합체를 형성한다:



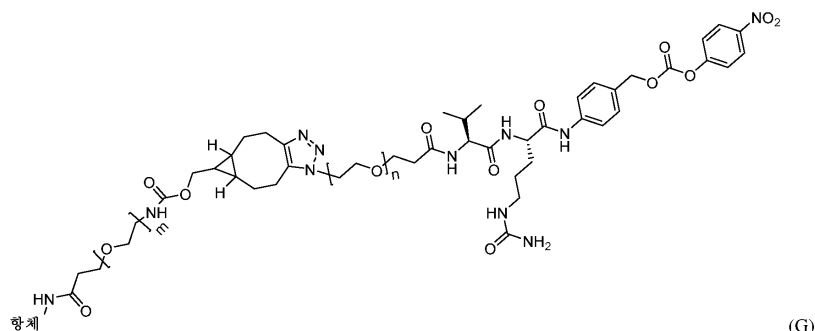
[0516]

[0517]

여기서 n 은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m 은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0518]

일부 실시양태에서, 구조 (A)의 화합물의 아지드는 구조 (F)의 화합물의 알킨과의 클릭 반응을 통해 트리아졸을 형성하여 하기의 구조를 포함하는 화합물을 형성한다:



[0519]

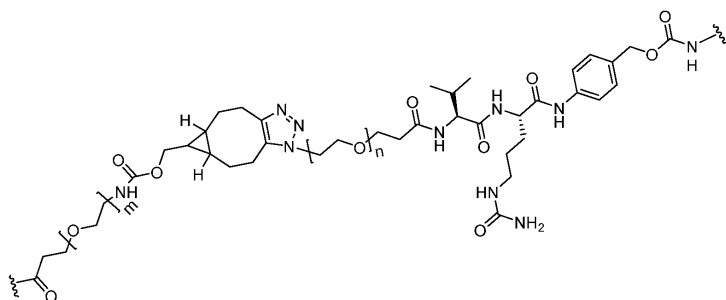
[0520]

여기서 n 은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m 은 4이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 화학식 (G)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결되어 화학식 (E)의 구조를 포함하는 복합체를 형성한다. 화학식 (G)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제

시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0521]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나에서, 항-TfR1 항체는 하기의 구조를 포함하는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)에 항-TfR1 항체의 리신을 통해 공유 연결된다:



(H)

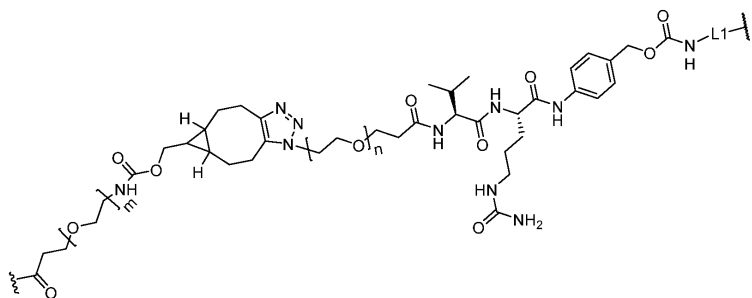
[0522]

[0523]

여기서 n 은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m 은 4이다.

[0524]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나에서, 항-TfR1 항체는 하기의 구조를 포함하는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)에 항-TfR1 항체의 리신을 통해 공유 연결된다:



(I)

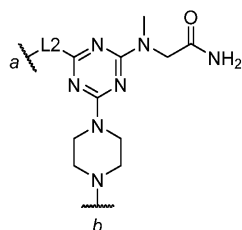
[0525]

[0526]

여기서 n 은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n 은 3이고/거나 (예를 들어, 이고) m 은 4이다.

[0527]

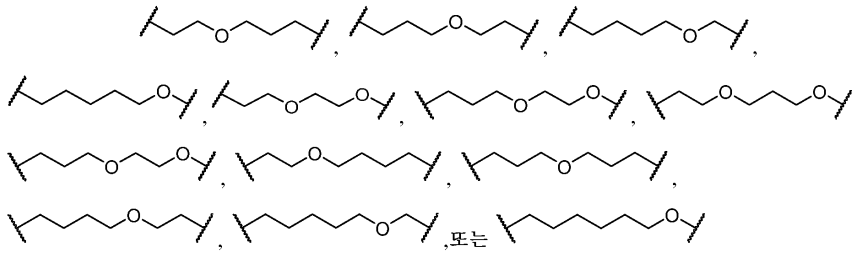
일부 실시양태에서, 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)에서, $L1$ 은 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, $-O-$, $-N(R^A)-$, $-S-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-C(=O)NR^A-$, $-NR^AC(=O)-$, $-NR^AC(=O)R^A-$, $-C(=O)R^A-$, $-NR^AC(=O)O-$, $-NR^AC(=O)N(R^A)-$, $-OC(=O)-$, $-OC(=O)O-$, $-OC(=O)N(R^A)-$, $-S(O)_2NR^A-$, $-NR^AS(O)_2-$ 또는 그의 조합인 스페이서이고, 여기서 각각의 R^A 는 독립적으로 수소 또는 치환 또는 비치환된 알킬이다. 일부 실시양태에서, $L1$ 은 하기이다:



[0528]

[0529]

여기서 $L2$ 는

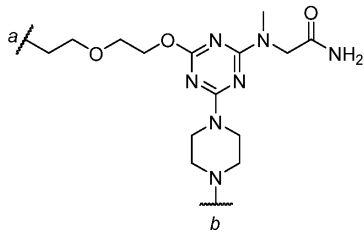


[0530]

이고, 여기서 a는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결된 부위를 표지하고; b는 올리고뉴클레오타이드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된 부위를 표지한다.

[0531]

일부 실시양태에서, L1은 하기이다:



[0532]

[0533]

여기서 a는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결된 부위를 표지하고; b는 올리고뉴클레오타이드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된 부위를 표지한다.

[0534]

일부 실시양태에서, L1은 이다.

[0535]

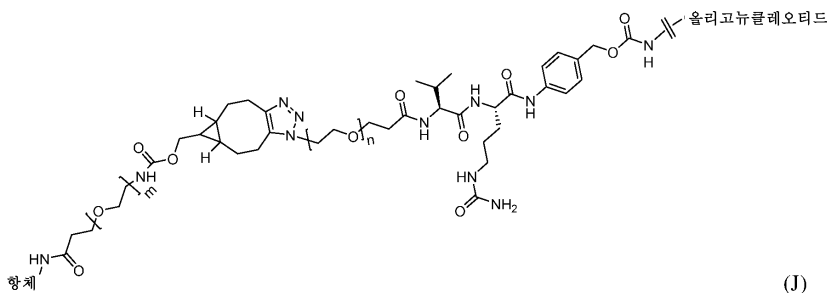
일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스페이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, 포스페이트는 포스포디에스테르이다. 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스포로티오에이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스포노아미데이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, L1은 포스포로디아미데이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드의 5' 단부에 연결된다.

[0536]

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

[0537]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나는 하기의 구조를 갖는다:

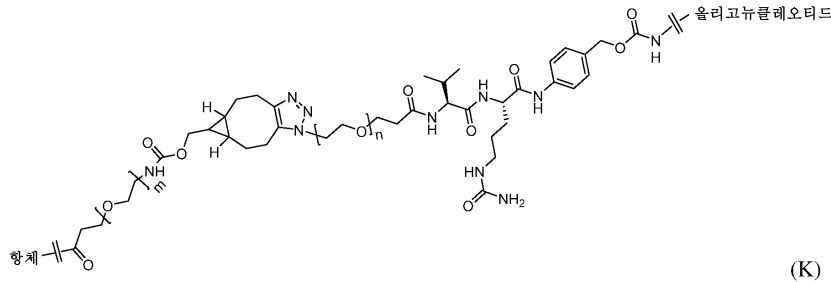


[0538]

[0539]

여기서 n은 0-15 (예를 들어, 3)이고, m은 0-15 (예를 들어, 4)이다. 화학식 (J)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 앵실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0540] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나는 하기의 구조를 갖는다:



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

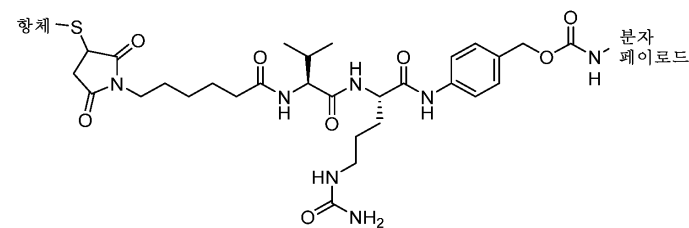
[0542] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 화합물, 예를 들어 화학식 (A) 또는 화학식 (G)의 화합물에 연결되기 전에 5' 단부, 3' 단부 또는 내부에 (예를 들어, 아민 관능화된 핵염기로서) 아민 기를 포함하도록 변형된다.

[0544] 링커 접합이 항-TfR1 항체 및 올리고뉴클레오타이드 분자 페이로드와 관련하여 기재되지만, 다른 근육-표적화제, 예컨대 다른 근육-표적화 항체 및/또는 다른 분자 페이로드 상에서의 이러한 링커 접합의 사용이 고려된다는 것이 이해될 것이다.

[0545] D. 항체-분자 페이로드 복합체의 예

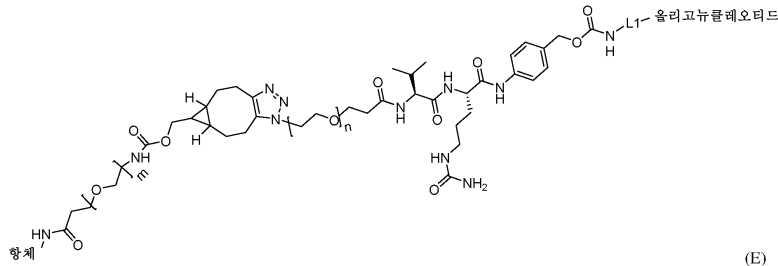
[0546] 본원에 기재된 임의의 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)에 공유 연결된 본원에 기재된 어느 하나의 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체의 비제한적 예가 본원에 추가로 제공된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나)는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 표 8에 제공된 올리고뉴클레오타이드)에 공유 연결된다. 본원에 기재된 임의의 링커가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오타이드인 경우에, 링커는 올리고뉴클레오타이드의 5' 단부, 올리고뉴클레오타이드의 3' 단부 또는 올리고뉴클레오타이드의 내부 부위에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항-TfR1 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR1 항체)에 아민 기를 통해 (예를 들어, 항체 내의 리신을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.

[0547] 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체의 구조의 예가 하기에 제공된다:



[0548] 여기서 링커는 항체에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.

[0550] 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체의 구조의 또 다른 예가 하기에 제공된다:



[0551]

[0552]

여기서 n 은 0-10의 수이고, 여기서 m 은 0-10의 수이고, 여기서 링커는 항체에 (예를 들어, 리신 잔기 상의) 아민 기를 통해 연결되고/거나 (예를 들어, 연결되고), 여기서 링커는 올리고뉴클레오타이드에 (예를 들어, 5' 단부, 3' 단부 또는 내부에) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항체에 리신을 통해 연결되고, 링커는 올리고뉴클레오타이드에 5' 단부에서 연결되고, n 은 3이고, m 은 4이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0553]

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

[0554]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR1 항체)에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR1 항체)에 아민 기를 통해 (예를 들어, 항체 내의 리신을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.

[0555]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 2에 열거된 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.

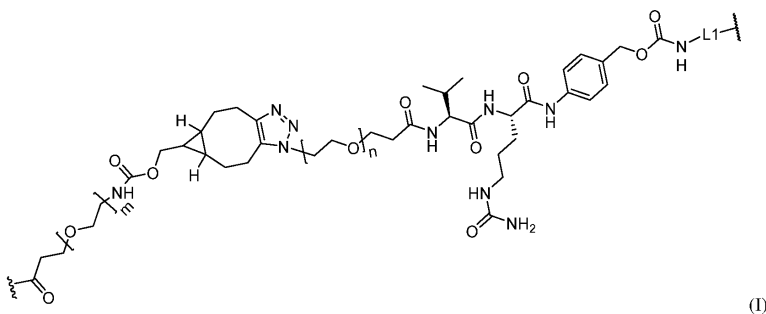
[0556]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 69, 서열식별번호: 71 또는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.

[0557]

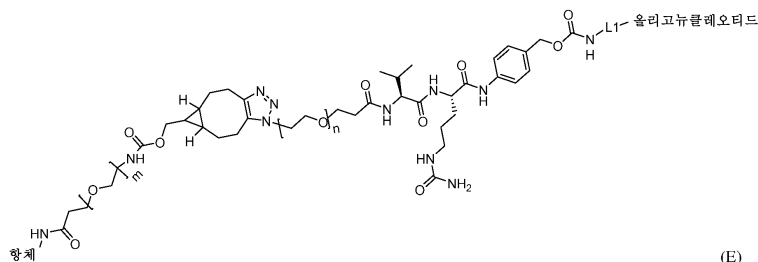
일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73 또는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드

- [0567] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0568] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98 또는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0569] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100 또는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0570] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100 또는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0571] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0572] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102 또는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0573] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 158 또는 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)이다.
- [0574] 본원에 기재된 임의의 예시적인 복합체에서, 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기의 구조를 포함하는 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된다:



- [0575]
- [0576] 여기서 n은 3이고, m은 4이다.

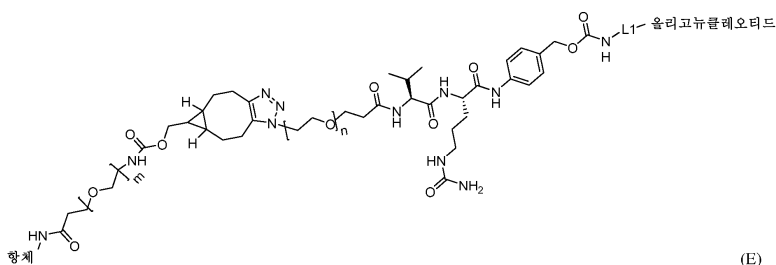
[0577] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체를 포함하고, 이는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)의 5' 단부에 공유 연결되고, 여기서 항-TfR1 항체는 표 2에 열거된 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하며, 여기서 복합체는 하기의 구조를 갖는다:



[0578]

[0579] 여기서 n 은 3이고, m 은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 앵실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

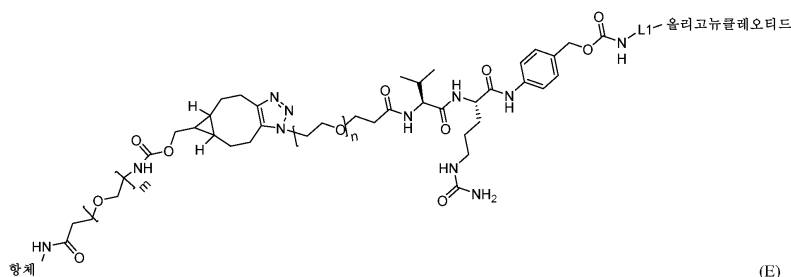
[0580] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체를 포함하고, 이는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)의 5' 단부에 공유 연결되고, 여기서 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 항체 중 어느 하나의 VH 및 VL을 포함하며, 여기서 복합체는 하기의 구조를 갖는다:



[0581]

[0582] 여기서 n 은 3이고, m 은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 앵실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0583] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체를 포함하고, 이는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)의 5' 단부에 공유 연결되고, 여기서 항-TfR1 항체는 표 4에 열거된 항체 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서 복합체는 하기의 구조를 갖는다:

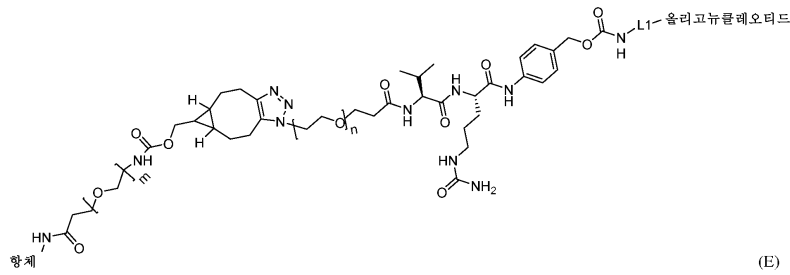


[0584]

[0585] 여기서 n 은 3이고, m 은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 앵실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

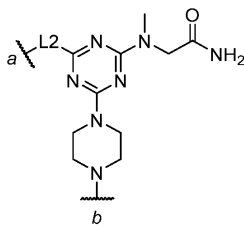
[0586] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 Fab를 포함하고, 이는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나에 의해 제공되거나 또는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인, 표 8에 열거된 DMD-표적화 올리고뉴클레오타이드)의 5' 단부에

공유 연결되고, 여기서 항-TfR1 Fab는 표 5에 열거된 항체 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서 복합체는 하기의 구조를 갖는다:

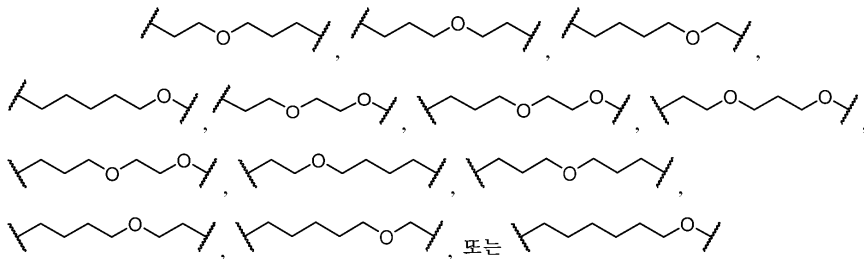


여기서 n 은 3이고, m 은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체의 예 중 어느 하나에서, L1은 하기이다:

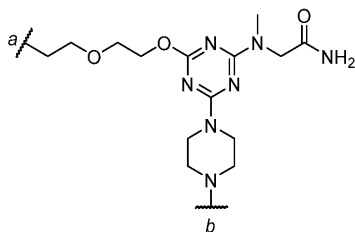


여기서 L2는



이고, 여기서 a 는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결된 부위를 표시하고; b 는 올리고뉴클레오타이드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된 부위를 표시한다.

일부 실시양태에서, L1은 하기이다:



여기서 a 는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결된 부위를 표시하고; b 는 올리고뉴클레오타이드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된 부위를 표시한다.

일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스페이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, 포스페이트는 포스포디에스테르이다. 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스포로티오에이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오타이드의 5' 포스포노아미데이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, L1은 포스포로디아미데이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드의 5' 단부에 연결된다.

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

[0598] III. 제제

[0599] 본원에 제공된 복합체는 임의의 적합한 방식으로 제제화될 수 있다. 일반적으로, 본원에 제공된 복합체는 제약 용도에 적합한 방식으로 제제화된다. 예를 들어, 복합체는 분해를 최소화하거나, 전달 및/또는 (예를 들어, 및) 흡수를 용이하게 하거나, 또는 제제 중 복합체에 또 다른 유익한 특성을 제공하는 제제를 사용하여 대상체에게 전달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 이러한 조성물은 대상체에게 표적 세포의 바로 옆 환경으로 또는 전신으로 투여되는 경우에, 충분한 양의 복합체가 표적 근육 세포에 진입하도록 적합하게 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체는 완충제 용액, 예컨대 포스페이트-완충 염수 용액, 리포솜, 미셀 구조 및 캡시드 중에 제제화된다.

[0600] 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 제공된 복합체의 1종 이상의 성분 (예를 들어, 근육-표적화제, 링커, 분자 페이로드 또는 이들 중 어느 하나의 전구체 분자)을 개별적으로 포함할 수 있다는 것이 인지될 것이다.

[0601] 일부 실시양태에서, 복합체는 물 또는 수용액 (예를 들어, pH 조절이 동반된 물) 중에 제제화된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 염기성 완충 수용액 (예를 들어, PBS) 중에 제제화된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 제제는 부형제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 조성물에 활성 성분의 개선된 안정성, 개선된 흡수, 개선된 용해도 및/또는 (예를 들어, 및) 치료 증진을 부여한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 완충제 (예를 들어, 시트르산나트륨, 인산나트륨, 트리스 염기 또는 수산화나트륨) 또는 비히클 (예를 들어, 완충 용액, 페트롤라툼, 디메틸 술폰소드 또는 미네랄 오일)이다.

[0602] 일부 실시양태에서, 복합체 또는 그의 성분 (예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 또는 항체)은 그의 보관 수명을 연장시키기 위해 동결건조된 다음, 사용 (예를 들어, 대상체에 대한 투여) 전에 용액으로 만들어진다. 따라서, 본원에 기재된 복합체 또는 그의 성분을 포함하는 조성물 중 부형제는 동결건조보호제 (예를 들어, 만니톨, 락토스, 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리비닐 피롤리돈) 또는 붕괴 온도 조절제 (예를 들어, 텍스트란, 피콜 또는 젤라틴)일 수 있다.

[0603] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 의도된 투여 경로에 적합하도록 제제화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어 정맥내, 피내, 피하 투여를 포함한다. 전형적으로, 투여 경로는 정맥내 또는 피하이다.

[0604] 주사가능한 용도에 적합한 제약 조성물은 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제제는 조성물 중에 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨 및 염화나트륨을 포함한다. 멸균 주사가능한 용액은 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합과 함께 선택된 용매 중에 요구되는 양의 복합체를 혼입시키고, 이어서 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다.

[0605] 일부 실시양태에서, 조성물은 적어도 약 0.1% 또는 그 초과인 복합체 또는 그의 성분을 함유할 수 있으며, 활성 성분(들)의 백분율은 총 조성물의 중량 또는 부피의 약 1% 내지 약 80% 또는 그 초과일 수 있다. 용해도, 생체 이용률, 생물학적 반감기, 투여 경로, 생성물 보관 수명, 뿐만 아니라 다른 약리학적 고려사항과 같은 인자가 이러한 제약 제제를 제조하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 고려될 것이고, 따라서 다양한 투여량 및 치료 요법이 바람직할 수 있다.

[0606] IV. 사용 / 치료 방법

[0607] 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체는 디스트로핀병증, 예를 들어 뒤시엔느 근육 이영양증을 갖는 대상체를 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, 복합체는 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 돌연변이된 DMD 대립유전자로부터 발현된 프리-mRNA의 엑손 스킵핑을 용이하게 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드인 분자 페이로드를 포함한다.

[0608] 일부 실시양태에서, 대상체는 인간 대상체, 비-인간 영장류 대상체, 설치류 대상체 또는 임의의 적합한 포유동물 대상체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 뒤시엔느 근육 이영양증 또는 다른 디스트로핀병증을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 돌연변이된 DMD 대립유전자를 가지며, 이는 프레임시프트 돌연변이를 유발하고 부적절한 RNA 스플라이싱/프로세싱을 유도하는 DMD 엑손 내의 적어도 1개의 돌연변이를 임의로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 중증 디스트로핀병증의 증상, 예를 들어 근육 위축 또는 근육 손실을 앓고 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 크레아틴 포스포키나제 (CK)의 혈청 농도의 무증상 증가 및/또는 (예

를 들어, 및) 미오글로빈뇨를 동반한 근육 경련을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 진행성 근육 질환, 예컨대 뒤시엔느 또는 베커 근육 이영양증 또는 DMD-연관 확장성 심근병증 (DCM)을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 디스트로핀병증의 증상을 앓고 있지 않다.

[0609] 일부 실시양태에서, 대상체는 엑손 51 스킵핑이 적용가능한 DMD 유전자 내의 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체는 엑손 51 스킵핑이 적용가능한 DMD 유전자 내의 돌연변이를 갖는 대상체를 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, 복합체는 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 돌연변이된 DMD 유전자 (예를 들어, 엑손 51 스킵핑이 적용가능한 돌연변이된 DMD 유전자)로부터 코딩되는 프리-mRNA에서와 같이, 프리-mRNA의 엑손 51의 스킵핑을 용이하게 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드인 분자 페이로드를 포함한다.

[0610] 본 개시내용의 한 측면은 대상체에게 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 복합체를 투여하는 것을 수반하는 방법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 유효량이 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 복합체를 포함하는 제약 조성물은 정맥내 투여를 포함할 수 있는 적합한 경로에 의해, 예를 들어 볼루스로서 또는 일정 기간에 걸친 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여는 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활막내 또는 척수강내 경로에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 고체 형태, 수성 형태 또는 액체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 수성 또는 액체 형태는 네블라이징되거나 동결건조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 네블라이징 또는 동결건조된 형태는 수성 또는 액체 용액으로 재구성될 수 있다.

[0611] 정맥내 투여를 위한 조성물은 다양한 담체, 예컨대 식물성 오일, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 에틸 락테이트, 에틸 카르보네이트, 이소프로필 미리스테이트, 에탄올 및 폴리올 (글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등)을 함유할 수 있다. 정맥내 주사의 경우, 수용성 항체가 점적 방법에 의해 투여될 수 있고, 이에 의해 항체 및 생리학상 허용되는 부형제를 함유하는 제약 제제가 주입된다. 생리학상 허용되는 부형제는, 예를 들어 5% 텍스트로스, 0.9% 염수, 링거액 또는 다른 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 근육내 제제, 예를 들어 항체의 적합한 가용성 염 형태의 멸균 제제는 제약 부형제, 예컨대 주사용수, 0.9% 염수 또는 5% 글루코스 용액 중에 용해되어 투여될 수 있다.

[0612] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 부위-특이적 또는 국부 전달 기술을 통해 투여된다. 이들 기술의 예는 복합체의 이식가능한 데포 공급원, 국부 전달 카테터, 부위 특이적 담체, 직접 주사 또는 직접 적용을 포함한다.

[0613] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에 대해 치료 효과를 부여하는 유효 농도로 투여된다. 유효량은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인식되는 바와 같이, 질환의 중증도, 치료될 대상체의 고유한 특징, 예를 들어 연령, 신체 상태, 건강 또는 체중, 치료 지속기간, 임의의 공동 요법의 성질, 투여 경로 및 관련 인자에 따라 달라진다. 이들 관련 인자는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 단지 상용에 지나지 않는 실험으로 다루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 유효 농도는 환자에게 안전한 것으로 간주되는 최대 용량이다. 일부 실시양태에서, 유효 농도는 최대 효능을 제공하는 최저 가능한 농도일 것이다.

[0614] 경험적 고려사항, 예를 들어 대상체에서의 복합체의 반감기는 일반적으로 치료에 사용되는 제약 조성물의 농도의 결정에 기여할 것이다. 투여 빈도는 치료 효능을 최대화하기 위해 실험적으로 결정되고 조정될 수 있다.

[0615] 치료 효능은 임의의 적합한 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료 효능은 디스트로핀병증과 연관된 증상, 예를 들어 근육 위축 또는 근육 약화의 관찰의 평가에 의해, 대상체의 자기-보고된 결과, 예를 들어 이동성, 자기-관리, 통상의 활동, 통증/불편감 및 불안/우울증의 척도를 통해, 또는 삶의 질 지표, 예를 들어 수명에 의해 평가될 수 있다.

[0616] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 표적 유전자의 활성 또는 발현을, 대조군, 예를 들어 치료 전의 유전자 발현의 기준선 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%에 대해 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%만큼 조정하는 데 충분한 유효 농도로 대상체에게 투여된다.

[0617] 추가의 실시양태

[0618] 1. DMD 프리-mRNA에서 엑손 51의 스킵핑을 유도하도록 구성된 분자 페이로드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수

용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체로서, 여기서 항-TfR1 항체는 표 2-7 중 어느 하나에서 확인된 항체인 복합체.

2. 실시양태 1에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

(i) 서열식별번호: 33의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 서열식별번호: 34의 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 서열식별번호: 35의 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 서열식별번호: 36의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 서열식별번호: 37의 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2) 및 서열식별번호: 32의 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3);

(ii) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 8의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;

(iii) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 20의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;

(iv) 서열식별번호: 7의 CDR-H1, 서열식별번호: 24의 CDR-H2, 서열식별번호: 9의 CDR-H3, 서열식별번호: 10의 CDR-L1, 서열식별번호: 11의 CDR-L2 및 서열식별번호: 6의 CDR-L3;

(v) 서열식별번호: 51의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3;

(vi) 서열식별번호: 64의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3; 또는

(vii) 서열식별번호: 67의 CDR-H1, 서열식별번호: 52의 CDR-H2, 서열식별번호: 53의 CDR-H3, 서열식별번호: 54의 CDR-L1, 서열식별번호: 55의 CDR-L2 및 서열식별번호: 50의 CDR-L3.

3. 실시양태 1 또는 실시양태 2에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

(i) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(ii) 서열식별번호: 69에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(iii) 서열식별번호: 71에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(iv) 서열식별번호: 72에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 70에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(v) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(vi) 서열식별번호: 73에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 75에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(vii) 서열식별번호: 76에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 74에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(viii) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 78에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(ix) 서열식별번호: 79에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(x) 서열식별번호: 77에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및/또는 서열식별번호: 80에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL.

4. 실시양태 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:

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

- [0640] (ii) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0641] (iii) 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0642] (iv) 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0643] (v) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0644] (vi) 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0645] (vii) 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0646] (viii) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0647] (ix) 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
또는
- [0648] (x) 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL.
- [0649] 5. 실시양태 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, scFv, Fv 또는 전장 IgG인 복합체.
- [0650] 6. 실시양태 5에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab 단편인 복합체.
- [0651] 7. 실시양태 6에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:
- [0652] (i) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0653] (ii) 서열식별번호: 97에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0654] (iii) 서열식별번호: 98에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0655] (iv) 서열식별번호: 99에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 85에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0656] (v) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0657] (vi) 서열식별번호: 100에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 90에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0658] (vii) 서열식별번호: 101에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 89에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0659] (viii) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 93에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0660] (ix) 서열식별번호: 103에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는
- [0661] (x) 서열식별번호: 102에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 서열식별번호: 95에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0662] 8. 실시양태 6 또는 실시양태 7에 있어서, 항-TfR1 항체가 하기를 포함하는 것인 복합체:
- [0663] (i) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0664] (ii) 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0665] (iii) 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는

경쇄;

- [0666] (iv) 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0667] (v) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0668] (vi) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0669] (vii) 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0670] (viii) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- [0671] (ix) 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 또는
- [0672] (x) 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0673] 9. 실시양태 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 트랜스페린 수용체 1의 트랜스페린 결합 부위에 특이적으로 결합하지 않고/거나 항-TfR1 항체가 트랜스페린 수용체 1에 대한 트랜스페린의 결합을 억제하지 않는 것인 복합체.
- [0674] 10. 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것인 복합체.
- [0675] 11. 실시양태 10에 있어서, 올리고뉴클레오타드가 DMD 프리-mRNA에서 안티센스-매개된 엑손 스킵핑을 촉진하는 것인 복합체.
- [0676] 12. 실시양태 10 또는 11에 있어서, 올리고뉴클레오타드가 DMD 프리-mRNA의 스플라이싱 특징부에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.
- [0677] 13. 실시양태 12에 있어서, 스플라이싱 특징부가 DMD 프리-mRNA의 엑손 스플라이싱 인핸서 (ESE)인 복합체.
- [0678] 14. 실시양태 13에 있어서, 스플라이싱 특징부가 DMD 프리-mRNA의 엑손 51에 있으며, 임의로 여기서 ESE는 서열식별번호: 860-894 중 어느 하나의 서열을 포함하는 것인 복합체.
- [0679] 15. 실시양태 12에 있어서, 스플라이싱 특징부가 분지점, 스플라이스 공여자 부위 또는 스플라이스 수용자 부위인 복합체.
- [0680] 16. 실시양태 15에 있어서, 스플라이싱 특징부가 DMD 프리-mRNA의 엑손 50과 인트론 50의 접합부에 걸쳐, 인트론 50에, 인트론 50과 엑손 51의 접합부에 걸쳐, 엑손 51과 인트론 51의 접합부에 걸쳐, 인트론 51에 또는 인트론 51과 엑손 52의 접합부에 걸쳐 있으며, 임의로 여기서 스플라이싱 특징부는 서열식별번호: 855-8595 및 895-898 중 어느 하나의 서열을 포함하는 것인 복합체.
- [0681] 17. 실시양태 12 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 상보성 영역이 스플라이싱 특징부에 대해 상보적인 적어도 4개의 연속 뉴클레오타드를 포함하는 것인 복합체.
- [0682] 18. 실시양태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 분자 페이로드가 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 서열을 포함하거나 또는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타드를 포함하며, 여기서 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있는 것인 복합체.
- [0683] 19. 실시양태 10 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오타드가 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타드간 연결을 포함하는 것인 복합체.
- [0684] 20. 실시양태 19에 있어서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타드간 연결이 포스포로티오에이트 연결인 복합체.
- [0685] 21. 실시양태 10 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오타드가 1개 이상의 변형된 뉴클레오타드를 포

합하는 것인 복합체.

- [0686] 22. 실시양태 21에 있어서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드가 2'-변형된 뉴클레오타이드인 복합체.
- [0687] 23. 실시양태 10 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오타이드가 1개 이상의 포스포로디아미테이트 모르폴리노를 포함하며, 임의로 여기서 올리고뉴클레오타이드는 포스포로디아미테이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)인 복합체.
- [0688] 24. 실시양태 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 절단가능한 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 것인 복합체.
- [0689] 25. 실시양태 24에 있어서, 절단가능한 링커가 발린-시트룰린 서열을 포함하는 것인 복합체.
- [0690] 26. 실시양태 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 것인 복합체.
- [0691] 27. DMD 프리-mRNA에서 엑손 51의 스킵핑을 유도하도록 구성된 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.
- [0692] 28. 실시양태 27에 있어서, 항-TfR1 항체가 표 2-7 중 어느 하나에서 확인된 항체인 복합체.
- [0693] 29. DMD 프리-mRNA에서 엑손 51의 스킵핑을 유도하도록 구성된 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 DMD 프리-mRNA의 스플라이싱 특징부에 대한 상보성 영역을 포함하는 것인 복합체.
- [0694] 30. DMD를 표적화하는 올리고뉴클레오타이드로서, 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대한 상보성 영역을 포함하는 올리고뉴클레오타이드.
- [0695] 31. 실시양태 30에 있어서, 상보성 영역이 서열식별번호: 160-383 중 어느 하나에 대해 상보적인 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 것인 올리고뉴클레오타이드.
- [0696] 32. 실시양태 30 또는 31에 있어서, 올리고뉴클레오타이드가 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 임의로 여기서 올리고뉴클레오타이드는 서열식별번호: 384-831 중 어느 하나의 서열을 포함하며, 여기서 각각의 티민 염기 (T)는 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)로 대체될 수 있고, 각각의 U는 독립적으로 및 임의로 T로 대체될 수 있는 것인 올리고뉴클레오타이드.
- [0697] 33. 세포를 실시양태 1 내지 26 중 어느 하나의 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에 분자 페이로드를 전달하는 방법.
- [0698] 34. 세포를 실시양태 27 내지 29 중 어느 하나의 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에 올리고뉴클레오타이드를 전달하는 방법.
- [0699] 35. 실시양태 1 내지 26 중 어느 하나의 복합체를 세포에 대한 분자 페이로드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인, 세포에서 디스트로핀 단백질의 발현 또는 활성을 촉진하는 방법.
- [0700] 36. 실시양태 27 내지 29 중 어느 하나의 복합체를 세포에 대한 올리고뉴클레오타이드의 내재화를 촉진하는 데 유효한 양으로 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 임의로 여기서 세포는 근육 세포인, 세포에서 디스트로핀 단백질의 발현 또는 활성을 촉진하는 방법.
- [0701] 37. 실시양태 35 또는 36에 있어서, 세포가 시험관내 세포인 방법.
- [0702] 38. 실시양태 35 또는 36에 있어서, 세포가 대상체 내의 세포인 방법.
- [0703] 39. 실시양태 38에 있어서, 대상체가 인간인 방법.
- [0704] 40. 실시양태 39에 있어서, 대상체가 엑손 51의 스킵핑이 적용가능한 DMD 유전자를 갖는 것인 방법.
- [0705] 41. 실시양태 35 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 디스트로핀 단백질이 말단절단된 디스트로핀 단백질인 방법.
- [0706] 42. 디스트로핀병증과 연관된 돌연변이된 DMD 대립유전자를 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 실시양태 1 내지 29 중 어느 하나의 복합체를 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0707] 43. 세포를 유효량의 실시양태 1 내지 29 중 어느 하나의 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 DMD 프리-mRNA 전사체의 엑손 51의 스킵핑을 촉진하는 방법.

[0708] 44. 디스트로핀병증과 연관된 돌연변이된 DMD 대립유전자를 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 유효량의 실시양태 1 내지 29 중 어느 하나의 복합체를 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0709] 실시예

[0710] 실시예 1. 뒤시엔스 근육 이영양증 환자 근관에서 항-TfR1 항체 접합체의 엑손-스킵핑 활성화

[0711] 본 연구에서, DMD 엑손 51-스킵핑 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ASO)에 공유 연결된 항-TfR1 Fab (3M12 VH4/Vκ3)를 포함하는 항-TfR1 항체 접합체의 엑손-스킵핑 활성을 평가하였다. DMD 엑손 51-스킵핑 ASO는 30개의 뉴클레오타이드 길이의 포스포로디아미테이트 모노폴리노 올리고머 (PMO)이고, 서열 TGGAGGT (서열식별번호: 877)를 갖는 DMD 엑손 51 내의 ESE를 표적화한다. DMD 유전자 내에 엑손 52 결실을 보유하는 불멸화 인간 근모세포를 해동시키고, 프로모셀 골격 세포 성장 배지 (5% FBS 및 1x Pen-Strep 함유) 중에 넣어 1e6개 세포/플라스크의 밀도로 시딩하고, 전면생장물로 성장하도록 하였다. 전면생장되면, 세포를 트립신처리하고, 원심분리를 통해 펠렛화하고, 신선한 프로모셀 골격 세포 성장 배지 중에 재현탁시켰다. 세포 수를 계수하고, 세포를 매트릭스-코팅된 96-웰 플레이트에 50,000개 세포/웰의 밀도로 시딩하였다. 세포를 24시간 동안 회복되도록 하였다. 성장 배지를 흡인하고 혈청이 없는 분화 배지로 대체함으로써 세포를 근관으로 분화하도록 유도하였다. 이어서, 세포를 10 μM ASO의 DMD 엑손 51-스킵핑 올리고뉴클레오타이드 (항체에 공유 연결되지 않음 - "네이키드") 또는 10 μM ASO 등가량의 DMD 엑손 51-스킵핑 올리고뉴클레오타이드에 공유 연결된 항-TfR1 Fab (3M12 VH4/Vκ3)로 처리하였다. 세포를 시험 물질과 함께 10일 동안 인큐베이션한 다음, 96 웰 플레이트로부터 총 RNA를 수거하였다. 총 RNA 75 ng에 대해 cDNA 합성을 수행하고, 돌연변이 특이적 PCR을 수행하여 세포에서 엑손 51 스킵핑의 정도를 평가하였다. 돌연변이-특이적 PCR 생성물을 4% 아가로스 겔 상에 전개시키고, SYBR 골드를 사용하여 가시화하였다. 밀도측정법을 사용하여 스킵핑된 앰플리콘 및 스킵핑되지 않은 앰플리콘의 상대량을 계산하고, 엑손 51 스킵핑된 앰플리콘을 존재하는 앰플리콘의 총량으로 나눈 비로서 엑손 스킵핑을 결정하였다:

[0712]
$$\% \text{엑손 스킵핑} = \frac{\text{스킵핑된 앰플리콘}}{(\text{스킵핑된 앰플리콘} + \text{스킵핑되지 않은 앰플리콘})} * 100.$$

[0713] 결과는 접합체가 환자 근관에서 네이키드 DMD 엑손 51-스킵핑 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 증진된 엑손 스킵핑을 유발하였다는 것을 입증한다 (도 1). 이는 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3이 접합체의 근육 세포 내로의 세포 내재화를 가능하게 하여 근육 세포에서 엑손 51-스킵핑 올리고뉴클레오타이드의 활성을 유발하였다는 것을 나타낸다. 유사하게, 항-TfR1 항체 (예를 들어, 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3)는 다른 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 제공된 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 엑손 51 스킵핑 올리고뉴클레오타이드)에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체의 근육 세포 내로의 내재화를 가능하게 하고, 근육 세포에서 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오타이드의 활성을 용이하게 할 수 있다.

[0714] 실시예 2. 시노물구스 원숭이에서의 생체내 항-TfR1 Fab-ASO 접합체의 엑손 스킵핑 활성화

[0715] 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 실시예 1에서 사용된 DMD 엑손 51-스킵핑 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ASO)에 공유 연결시켰다. 접합체의 엑손 스킵핑 활성을 건강한 비-인간 영장류에서 생체내 시험하였다. 나이브 수컷 시노물구스 원숭이 (군당 n= 4-5마리)에게 제1일 및 제8일에 2회 용량의 비히클, 30 mg/kg 네이키드 ASO (즉, 항체에 공유 연결되지 않음) 또는 DMD 엑손 51-스킵핑 올리고뉴클레오타이드 (30 mg/kg ASO 등가량)에 공유 연결된 122 mg/kg 항-TfR1 Fab (3M12 VH4/Vκ3)를 정맥내 주입을 통해 투여하였다. 동물을 희생시키고, 제1 용량이 투여된 지 2주 또는 4주 후에 조직을 수거하였다. 프로메가 맥스웰(Promega Maxwell)® RSC 기기를 사용하여 조직 샘플로부터 총 RNA를 수집하고, q스크립트 cDNA 슈퍼믹스를 사용하여 cDNA 합성을 수행하였다. 종점 PCR을 사용하여 엑손 51 스킵핑의 평가를 수행하였다.

[0716] PCR 생성물의 모세관 전기영동을 사용하여 엑손 스킵핑을 평가하고, % 엑손 51 스킵핑을 하기 식을 사용하여 계산하였다:

[0717]
$$\% \text{엑손 스킵핑} = \frac{\text{스킵핑된 밴드의 몰농도}}{(\text{스킵핑된 밴드의 몰농도} + \text{스킵핑되지 않은 밴드의 몰농도})} * 100.$$

[0718] 계산된 엑손 51 스킵핑 결과가 표 10에 제시된다.

표 10. 시노물구스 원숭이에서의 DMD mRNA의 엑손 51 스킵핑

시간	2주			4주	
군	비허클	네이키드 ASO ^a	접합체	네이키드 ASO ^a	접합체
접합체 용량 ^b	0	n/a	122	n/a	122
ASO 용량 ^c	0	30	30	30	30
사두근 ^d	0.00 (0.00)	1.216 (1.083)	4.906 (3.131)	0.840 (1.169)	1.708 (1.395)
횡격막 ^d	0.00 (0.00)	1.891 (2.911)	7.315 (1.532)	0.717 (1.315)	9.225 (4.696)
심장 ^d	0.00 (0.00)	0.043 (0.096)	3.42 (1.192)	0.00 (0.00)	4.525 (1.400)
이두근 ^d	0.00 (0.00)	0.607 (0.615)	3.129 (0.912)	1.214 (1.441)	4.863 (3.881)
전경골근 ^d	0.00 (0.00)	0.699 (0.997)	1.042 (0.685)	0.384 (0.615)	0.816 (0.915)
비복근 ^d	0.00 (0.00)	0.388 (0.573)	2.424 (2.329)	0.00 (0.00)	5.393 (2.695)

^a ASO = 안티센스 올리고뉴클레오티드.

^b 접합체 용량은 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3-ASO 접합체의 mg/kg으로서 열거된다.

^c ASO 용량은 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3-ASO 용량의 mg/kg ASO 또는 ASO 등가량으로서 열거된다.

^d 엑손 스킵핑 값은 괄호 안의 표준 편차를 갖는 평균 % 엑손 51 스킵핑 (n=5)이다.

ASO 서열에 대해 상보적인 프로브에 의한 혼성화 ELISA를 사용하여 조직 ASO 축적을 또한 정량화하였다. 표준 곡선을 생성하고, 표준 곡선의 선형 회귀로부터 ASO 수준 (ng/g)을 유도하였다. ASO는 네이키드 ASO의 투여와 비교하여 항-TfR1 Fab VH4/Vκ3-ASO 접합체의 투여 후에 더 높은 수준으로, 평가된 모든 조직에 분포되었다. 네이키드 ASO의 정맥내 투여는 제1 용량이 투여된 지 2 및 4주 후에 평가된 모든 조직에서 배경 수준에 근접한 ASO의 수준을 유발하였다. 항-TfR1 Fab VH4/Vκ3-ASO 접합체의 투여는 제1 투여 2주 후에 심장>횡격막>이두근>사두근>비복근>전경골근의 순위 순서로, 평가된 조직에 걸친 ASO의 분포를 유발하였다. 조직 농도의 지속기간을 또한 평가하였다. 사두근, 이두근 및 횡격막에서의 ASO의 농도는 평가된 기간 (2 내지 4주)에 걸쳐 50% 미만만큼 감소한 반면, 심장, 전경골근 및 비복근에서의 ASO의 수준은 실질적으로 변하지 않고 유지되었다 (표 11). 이는 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3이 생체내에서 접합체의 근육 세포 내로의 세포 내재화를 가능하게 하여 근육 세포에서 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오티드의 활성을 유발하였다는 것을 나타낸다. 유사하게, 항-TfR1 항체 (예를 들어, 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3)는 생체내에서 다른 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 본원에 제공된 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오티드, 예컨대 엑손 51 스킵핑 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체의 근육 세포 내로의 내재화를 가능하게 하고, 근육 세포에서 엑손 스킵핑 올리고뉴클레오티드의 활성을 용이하게 할 수 있다.

표 11. 시노물구스 원숭이에서의 DMD 엑손 51 스킵핑 ASO의 조직 분포

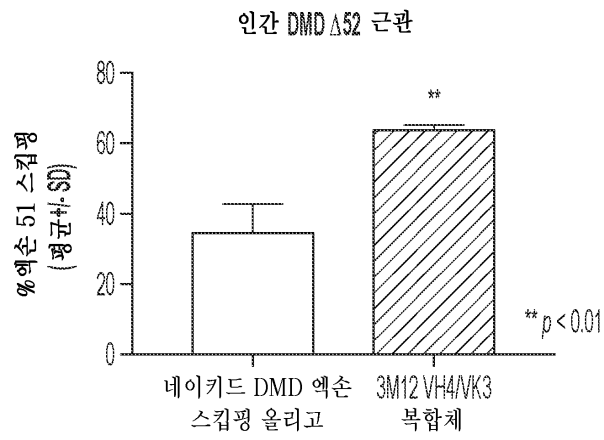
시간	2주			4주	
군	비허클	네이키드 ASO ^a	접합체	네이키드 ASO ^a	접합체
접합체 용량 ^b	0	n/a	122	n/a	122
ASO 용량 ^c	0	30	30	30	30
사두근 ^d	0 (59.05)	696.8 (868.15)	2436 (954.0)	197 (134)	682 (281)
횡격막 ^d	0± (144.3)	580.02 (360.11)	6750 (2256)	60 (120)	3131 (1618)
심장 ^d	0 (396.03)	1449 (1337)	27138 (6315)	943 (1803)	30410 (9247)
이두근 ^d	0 (69.58)	615.63 (335.17)	2840 (980.31)	130 (80)	1326 (623)
전경골근 ^d	0 (76.31)	564.71 (327.88)	1591 (253.50)	169 (110)	1087 (514)
비복근 ^d	0 (41.15)	705.47 (863.75)	2096 (474.04)	170 (69)	1265 (272)

^a ASO = 안티센스 올리고뉴클레오티드.

- [0729] ^b접합체 용량은 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3-ASO 접합체의 mg/kg으로서 열거된다.
- [0730] ^cASO 용량은 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3-ASO 접합체 용량의 mg/kg ASO 또는 ASO 등가량으로서 열거된다.
- [0731] ^dASO 값은 괄호 안의 표준 편차를 갖는 ng/g으로서의 조직 내 ASO의 평균 농도 (n=5)이다.
- [0732] 등가물 및 용어
- [0733] 본원에 예시적으로 기재된 본 개시내용은 본원에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소 또는 요소들, 제한 또는 제한들의 부재 하에 적합하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어 본원의 각각의 경우에서, 용어 "포함하는", "로 본질적으로 이루어진" 및 "로 이루어진" 중 임의의 용어는 다른 두 용어 중 어느 하나로 대체될 수 있다. 사용된 용어 및 표현은 제한이 아닌 설명의 용어로서 사용되었으며, 이러한 용어 및 표현의 사용에 있어서 제시 및 기재된 특색 또는 그의 부분의 임의의 등가물을 배제하려는 의도는 없지만, 본 개시내용의 범주 내에서 다양한 변형이 가능하다는 것이 인식된다. 따라서, 본 개시내용이 바람직한 실시양태에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본원에 개시된 개념의 임의적인 특색, 변형 및 변경이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 재분류될 수 있고, 이러한 변형 및 변경이 본 개시내용의 범주 내에 있는 것으로 간주된다고 이해될 것이다.
- [0734] 추가로, 본 개시내용의 특색 또는 측면이 마쿠쉬 군 또는 다른 대안적 군의 면에서 기재되는 경우에, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용이 또한 마쿠쉬 군 또는 다른 군의 임의의 개별 구성원 또는 구성원의 하위 군의 면에서 기재된다는 것을 인식할 것이다.
- [0735] 일부 실시양태에서, 서열 목록에 제시된 서열은 올리고뉴클레오타이드 또는 다른 핵산의 구조를 기재하는 데 언급될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 이러한 실시양태에서, 실제 올리고뉴클레오타이드 또는 다른 핵산은 명시된 서열과 본질적으로 동일하거나 유사한 상보적 특성을 보유하면서 명시된 서열과 비교하여 1개 이상의 대안적 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드 (예를 들어, DNA 뉴클레오시드의 RNA 대응부 또는 RNA 뉴클레오시드의 DNA 대응부) 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드/뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 다른 변형을 가질 수 있다.
- [0736] 본 발명을 기재하는 문맥에서 (특히 하기 청구범위의 문맥에서) 단수 용어 및 유사한 지시대상의 사용은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 명확하게 모순되지 않는 한, 단수 및 복수 둘 다를 포괄하는 것으로 해석될 것이다. 용어 "포함하는", "갖는", "포함한" 및 "함유하는"은 달리 나타내지 않는 한 개방형 용어 (즉, "포함하나 이에 제한되지는 않음"을 의미함)로서 해석될 것이다. 본원에서 값의 범위에 대한 언급은 본원에 달리 나타내지 않는 한, 단지 상기 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 지칭하는 약칭 방법으로서 제공되는 것으로 의도되고, 각각의 개별 값은 본원에 개별적으로 열거된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본원에 기재된 모든 방법은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예 또는 예시적인 어휘 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 보다 잘 예시하는 것으로 의도되며, 달리 청구되지 않는 한 본 발명의 범주에 대한 제한을 부과하지 않는다. 본 명세서의 어떠한 어휘도 임의의 청구되지 않은 요소가 본 발명의 실시예에 필수적인 것임을 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0737] 본 발명의 실시양태가 본원에 기재된다. 이들 실시양태의 변경은 상기 설명을 읽으면 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명해질 수 있다.
- [0738] 본 발명자들은 통상의 기술자가 이러한 변경을 적절하게 사용할 것으로 예상하고, 본 발명자들은 본 발명이 본원에 구체적으로 기재된 것과 달리 실시되는 것을 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법에 의해 허용되는 바와 같은 본원에 첨부된 청구범위에 언급된 대상의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 더욱이, 모든 가능한 변경에서 상기 기재된 요소들의 임의의 조합은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한 본 발명에 의해 포괄된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 단지 상용에 지나지 않는 실험을 사용하여, 본원에 기재된 본 발명의 구체적 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

도면1



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.