



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119343373 A

(43) 申请公布日 2025. 01. 21

(21) 申请号 202380040662.9

(22) 申请日 2023.04.14

(30) 优先权数据

63/331,733 2022.04.15 US

63/368,691 2022.07.18 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/065774 2023.04.14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/201332 EN 2023.10.19

(71) 申请人 达因疗法公司

地址 美国

(72) 发明人 斯特凡诺·扎诺蒂

泰勒·皮卡里洛

奥克萨娜·别斯科夫纳亚

约翰·戴维斯 特雷西·麦格雷戈

克拉伦斯·埃德温·加尔内

柯蒂斯·约翰斯通 蒂莫西·威登

约翰·纳吉姆

罗梅什·R·苏布拉马尼亚

穆罕默德·T·卡塔纳尼

科迪·A·德雅尔丹 基姆·唐

布伦丹·奎因

斯科特·希尔德布兰德

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

11227

专利代理师 张福誉 何欣

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 47/68 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

C12N 15/113 (2006.01)

C12P 21/00 (2006.01)

权利要求书4页 说明书90页

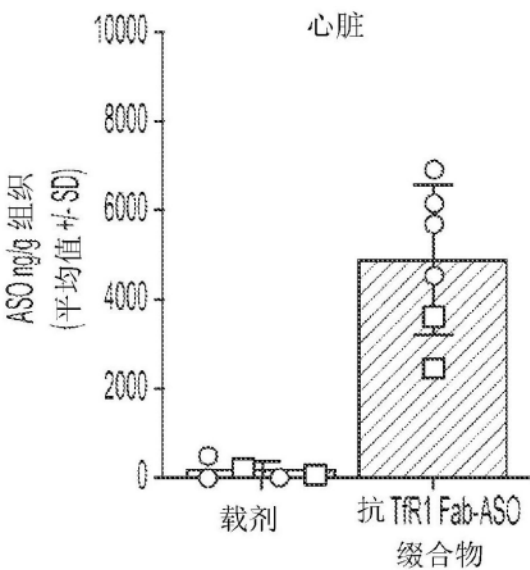
序列表(电子公布) 附图21页

(54) 发明名称

用于治疗强直性肌营养不良的肌肉靶向复合物的给药

(57) 摘要

本公开内容的一些方面涉及在对象中降低DMPK的表达或活性(例如,降低突变体或野生型DMPK RNA的水平,或DMPK基因产物的活性)的方法和/或治疗强直性肌营养不良(例如,DM1)的方法。在一些实施方案中,所述方法包括向所述对象施用包含复合物(例如,肌肉靶向复合物)的组合物,所述复合物包含与抗体(例如,抗TfR1抗体)共价连接的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)。

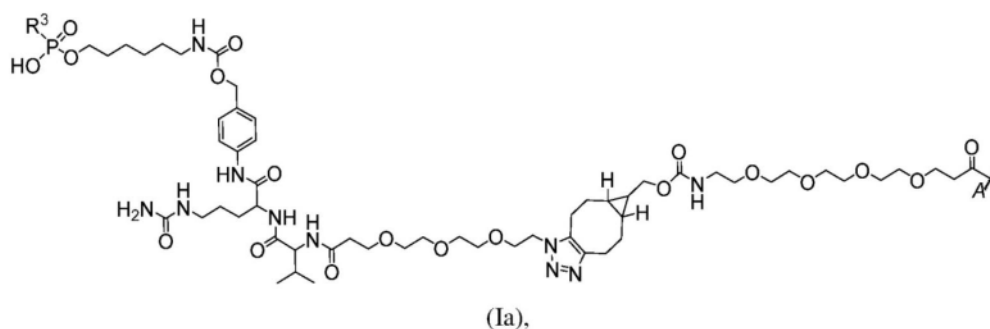


1. 在对象中降低DMPK表达和/或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括向所述对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或更多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1 (TfR1) 抗体,其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,其中所述抗体包含:含有SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1),含有SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2),含有SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3),含有SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1),含有SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3),其中所述复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列。

2. 权利要求1所述的方法,其中所述复合物中的寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3' 构型,其中X和Z是包含一个或更多个经修饰核苷的侧翼区,并且Y是包含一个或更多个2'-脱氧核糖核苷的间隔区。

3. 权利要求1或权利要求2所述的方法,其中每个复合物包含式 (I): $[R^1]_{n1} - R^2$ 的结构,其中:

每个 R^1 包含式 (Ia) 基团:



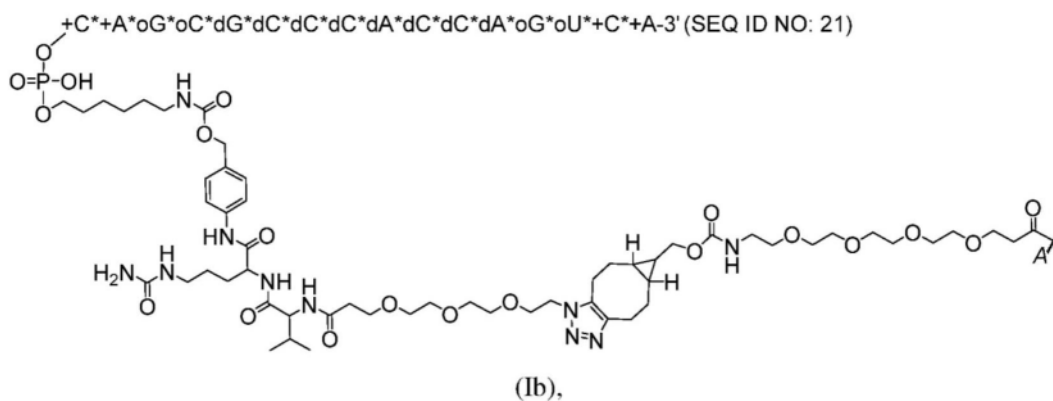
其中 R^3 包含寡核苷酸,所述寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列并且包含+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A (SEQ ID NO:21) 的结构,其中+N表示LNA (2'-4' 亚甲基桥) 核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷 (2'-4' 亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

R^2 包含抗TfR1抗体;并且

在每个复合物中, $n1$ 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,其中 R^1 的每个实例通过连接点A与所述抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为0.5至5。

4. 权利要求1或权利要求2所述的方法,其中每个复合物包含式 (I): $[R^1]_{n1} - R^2$ 的结构,其中:

每个 R^1 包含式 (Ib) 基团:



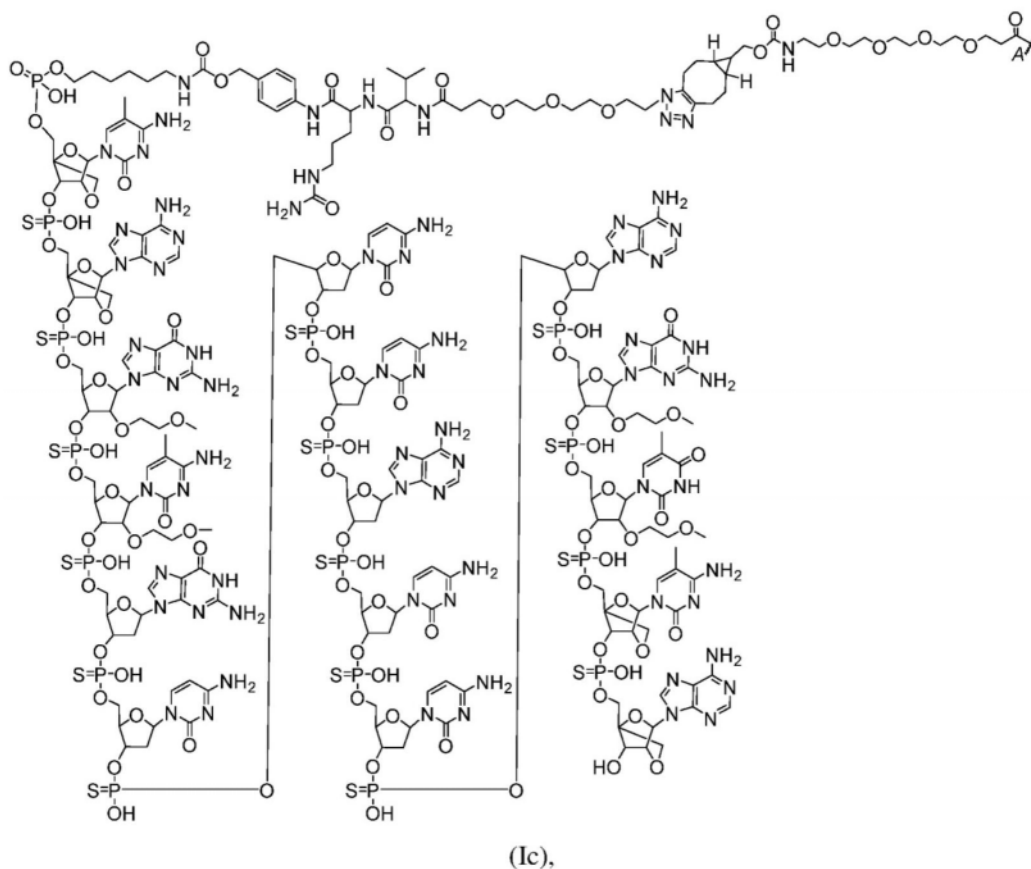
其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且R¹中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO: 21) 的核碱基序列;

R²包含抗TfR1抗体; 并且

在每个复合物中, n₁独立地为1或更大的整数, 其表示R¹的实例数, 其中R¹的每个实例通过连接点A与所述抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接, 任选地其中所述组合物中的复合物的n₁的平均值为0.5至5。

5. 权利要求1或权利要求2所述的方法, 其中每个复合物包含式 (I) : [R¹]_{n₁}-R²的结构, 其中:

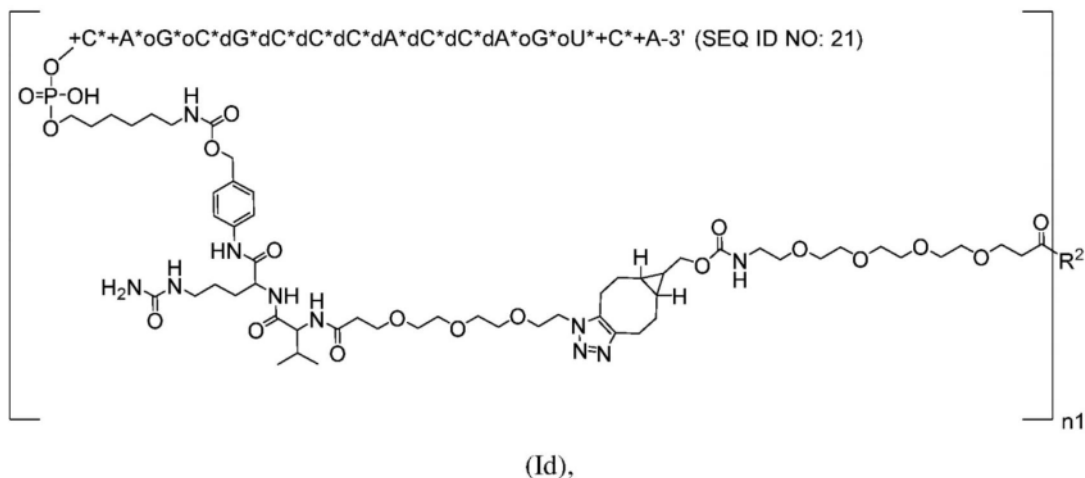
每个R¹包含式 (Ic) 基团:



其中R²包含抗TfR1抗体; 并且

在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数, 其表示 R^1 的实例数, 其中 R^1 的每个实例通过连接点A与所述抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接, 任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5。

6. 权利要求1或权利要求2所述的方法, 其中每个复合物包含式 (Id) 的结构:



其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且 R^1 中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO: 21) 的核碱基序列;

R^2 包含抗TfR1抗体; 并且

在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数, 其表示 R^1 的实例数, 其中 R^1 的每个实例通过连接点A与所述抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接, 任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5。

7. 权利要求1至6中任一项所述的方法, 其中所述抗TfR1抗体为Fab片段。

8. 权利要求1至7中任一项所述的方法, 其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 17的氨基酸序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO: 18的氨基酸序列的轻链可变区 (VL),

任选地其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO: 20的氨基酸序列的轻链。

9. 权利要求1至8中任一项所述的方法, 其中所述施用发生一次或更多次。

10. 权利要求9所述的方法, 其中每次施用的有效量向所述对象提供:

- (a) 所述复合物中的10mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象;
- (b) 所述复合物中的5mg至90mg抗TfR1抗体/kg对象;
- (c) 所述复合物中的10mg至20mg抗TfR1抗体/kg对象, 任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的13mg抗TfR1抗体/kg对象;
- (d) 所述复合物中的18mg至36mg抗TfR1抗体/kg对象, 任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的25mg抗TfR1抗体/kg对象;
- (e) 所述复合物中的36mg至72mg抗TfR1抗体/kg对象, 任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的50mg抗TfR1抗体/kg对象;
- (f) 所述复合物中的55mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象, 任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的75mg抗TfR1抗体/kg对象;

(g) 所述复合物中的6mg至12mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的8mg抗TfR1抗体/kg对象;

(h) 所述复合物中的11mg至22mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的15mg抗TfR1抗体/kg对象;

(i) 所述复合物中的22mg至44mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的30mg抗TfR1抗体/kg对象;或者

(j) 所述复合物中的44mg至88mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的60mg抗TfR1抗体/kg对象。

11. 权利要求9所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供:

(a) 所述复合物中的20mg至43mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的29mg抗TfR1抗体/kg对象;或者

(j) 所述复合物中的26mg至53mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的37mg抗TfR1抗体/kg对象。

12. 权利要求1至11中任一项所述的方法,其中在施用期期间,所述组合物每4周一次、每8周一次或每12周一次施用。

13. 权利要求12所述的方法,其中所述施用期为少于10年。

14. 权利要求12所述的方法,其中所述施用期为所述对象的余生。

15. 权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述组合物在第一施用期期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期期间每8周一次施用。

16. 权利要求15所述的方法,其中所述第一施用期为8至16周,和/或其中所述第二施用期为16周至所述对象的余生。

17. 权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述组合物为水溶液的形式,并且还包含三(羟甲基)氨基甲烷和蔗糖。

18. 权利要求17所述的方法,其中所述三(羟甲基)氨基甲烷以25mM的浓度存在于所述水溶液中,所述蔗糖以10w/v%的浓度存在于所述水溶液中,并且所述水溶液的pH为7.5。

19. 权利要求17或权利要求18所述的方法,其中所述复合物以10mg/mL至50mg/mL的浓度存在于所述组合物中。

20. 权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述施用降低所述对象的肌细胞中的DMPK表达,任选地其中降低DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPKRNA的量,任选地其中所述肌细胞的核中的DMPK RNA量降低。

21. 权利要求20所述的方法,其中降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK蛋白的量。

22. 权利要求1至21中任一项所述的方法,其中所述对象是人。

23. 权利要求1至22中任一项所述的方法,其中所述复合物全身性施用,任选地其中所述复合物静脉内施用,还任选地其中所述复合物通过输注施用。

24. 权利要求1至23中任一项所述的方法,其中所述组合物还包含一种或更多种未与寡核苷酸共价连接的抗TfR1抗体。

用于治疗强直性肌营养不良的肌肉靶向复合物的给药

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据35 U.S.C. §119(e) 要求于2022年7月18日提交的标题为“DOSING OF MUSCLE TARGETING COMPLEXES FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY,”的美国临时申请序列号63/368,691和于2022年4月15日提交的标题为“DOSING OF MUSCLE TARGETING COMPLEXES FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY,”的美国临时申请序列号63/331,733的权益,其中各自的全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本申请涉及用于向细胞递送有效量的寡核苷酸分子载荷(molecular payload)的靶向复合物及其用途,特别是涉及疾病治疗的用途。

[0004] 电子序列表的引用

[0005] 电子序列表(D082470077W000-SEQ-C0B.xml;大小:56,306字节;和创建日期:2023年4月7日)的内容通过引用整体并入本文。

背景技术

[0006] 强直性肌营养不良(myotonic dystrophy,DM)是显性遗传的遗传疾病,其特征在于肌强直、肌肉损失或变性、肌肉功能减弱、胰岛素抵抗、心律不齐、平滑肌功能障碍和神经系统异常。DM是成人发病的肌营养不良的最常见形式,全世界发病率为全世界8000人中约1人。已经描述了该疾病的两种类型,即1型强直性肌营养不良(myotonic dystrophy type 1,DM1)和2型强直性肌营养不良(myotonic dystrophy type 2,DM2)。DM1是该疾病的更常见形式,其是由19号染色体上DMPK的3'非编码区中CTG三核苷酸重复的重复扩增引起的;DM2是由3号染色体上ZNF9的第一内含子中CCTG四核苷酸重复的重复扩增引起的。在DM1患者中,可包含大于约50至约3,000或更多的总重复的CTG三核苷酸重复的重复扩增导致产生有毒的RNA重复,所述有毒的RNA重复能够形成以高亲和力结合必需的胞内蛋白(例如肌盲样蛋白(muscleblind-like protein))的发夹结构,从而导致蛋白质隔离(protein sequestration)和疾病特征性的功能丧失表型。除了支持性护理和用于解决疾病症状的治疗之外,目前尚无可用于DM1的有效治疗剂。

发明内容

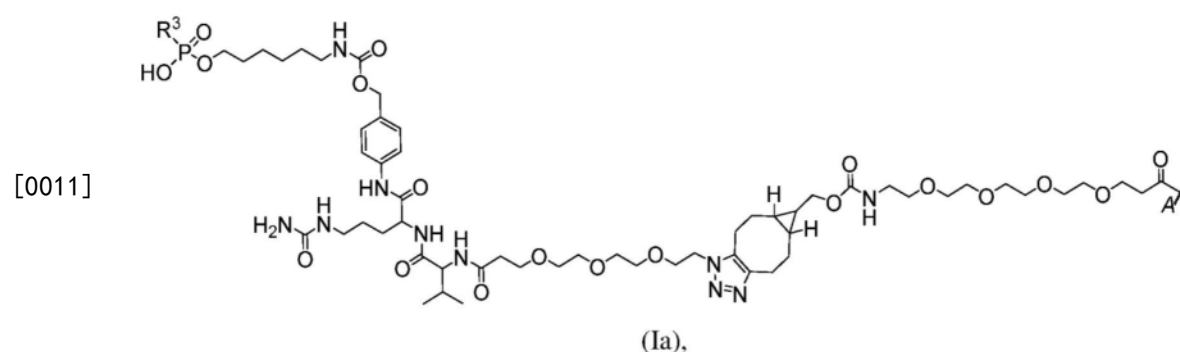
[0007] 根据一些方面,本公开内容提供了这样的方法(例如,向对象递送寡核苷酸的方法、向对象施用复合物的方法、在对象中降低DMPK的表达或活性的方法、和/或在对象中治疗强直性肌营养不良(例如,DM1)的方法),所述方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体I(anti-transferrin receptor 1,TfR1)抗体。

[0008] 根据一些方面,本文中提供的在对象中降低DMPK表达的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋

白受体1 (TfR1) 抗体, 其中所述有效量向对象提供复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象, 其中所述抗体包含: 含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1), 含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2), 含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3), 含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1), 含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3), 其中复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列。

[0009] 在一些实施方案中, 复合物中的寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z是包含一个或更多个经修饰核苷的侧翼区, 并且Y是包含一个或更多个2'-脱氧核糖核苷的间隔区。

[0010] 在一些实施方案中, 每个复合物包含式 (I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构, 其中: 每个 R^1 包含式 (Ia) 基团:



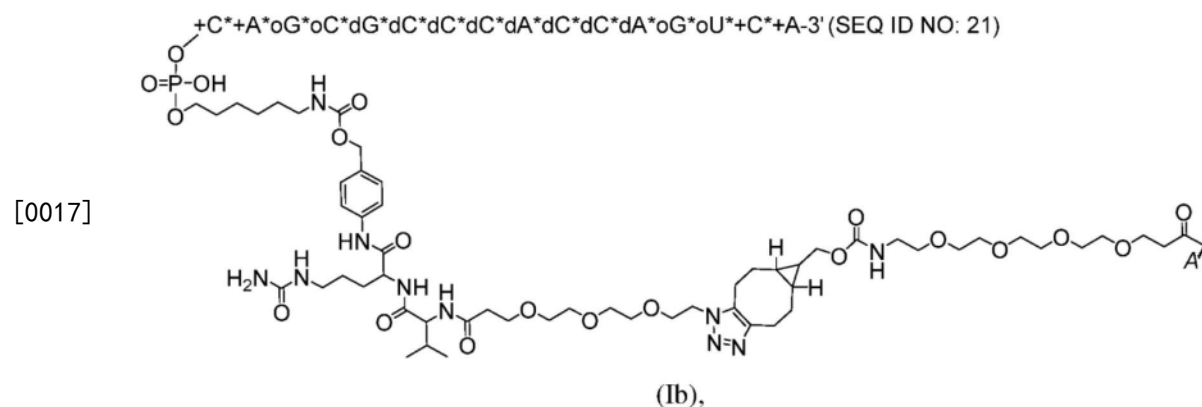
[0012] 其中 R^3 包含寡核苷酸, 所述寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列并且包含 $+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dA^*dC^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A$ (SEQ ID NO:21) 的结构, 其中+N表示LNA (2'-4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2'-脱氧核糖核苷, oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷 (2'-4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

[0013] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体; 并且

[0014] 其中在每个复合物中, $n1$ 独立地为1或更大的整数, 其表示 R^1 的实例数, 其中 R^1 的每个实例经由连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接。在一些实施方案中, 组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为0.5至5。

[0015] 在一些实施方案中, 每个复合物包含式 (I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构, 其中:

[0016] 每个 R^1 包含式 (Ib) 基团:



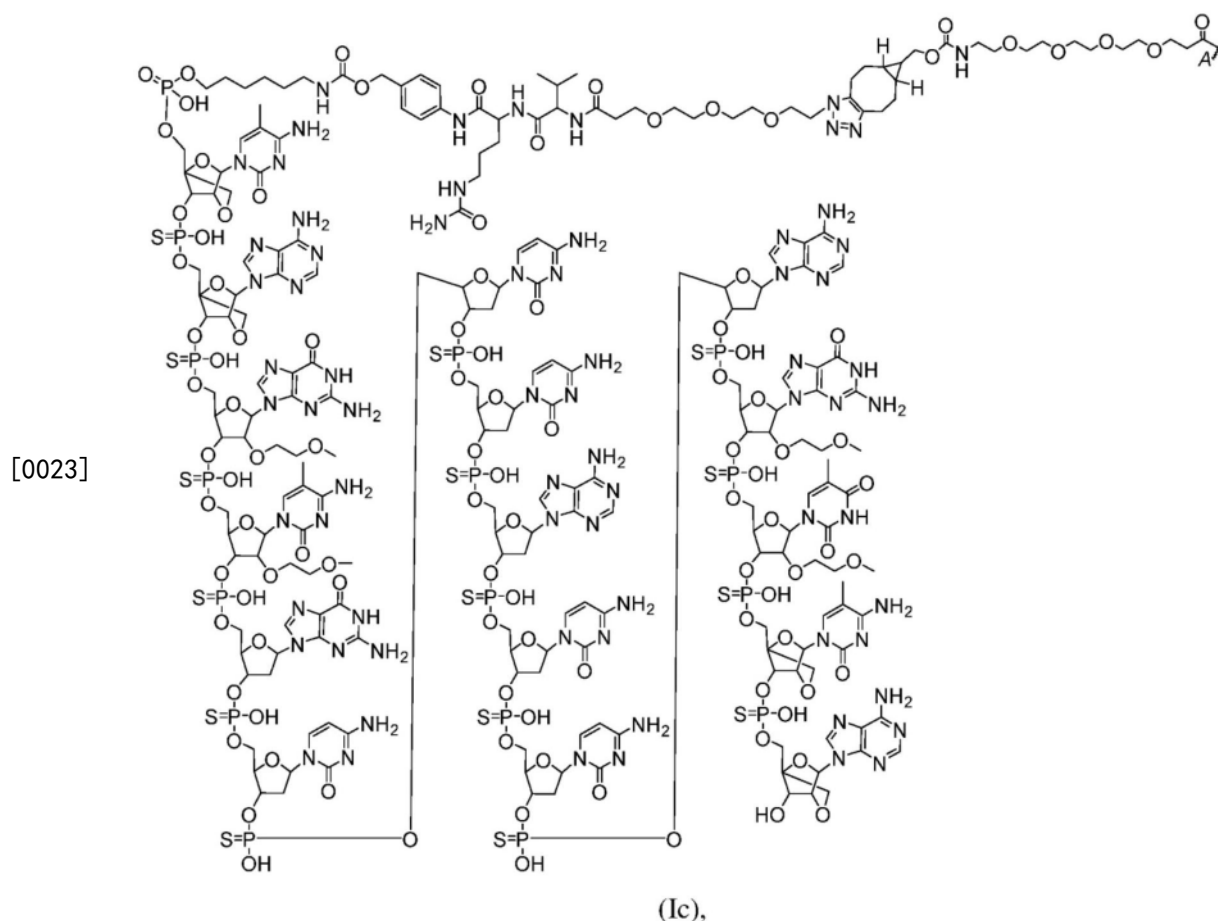
[0018] 其中+N表示LNA (2'-4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2'-脱氧核糖核苷, oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷 (2'-4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且 R^1 中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列;

[0019] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体; 并且

[0020] 其中在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数, 其表示 R^1 的实例数, 其中 R^1 的每个实例经由连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接。在一些实施方案中, 组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5。

[0021] 在一些实施方案中, 每个复合物包含式 (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构, 其中:

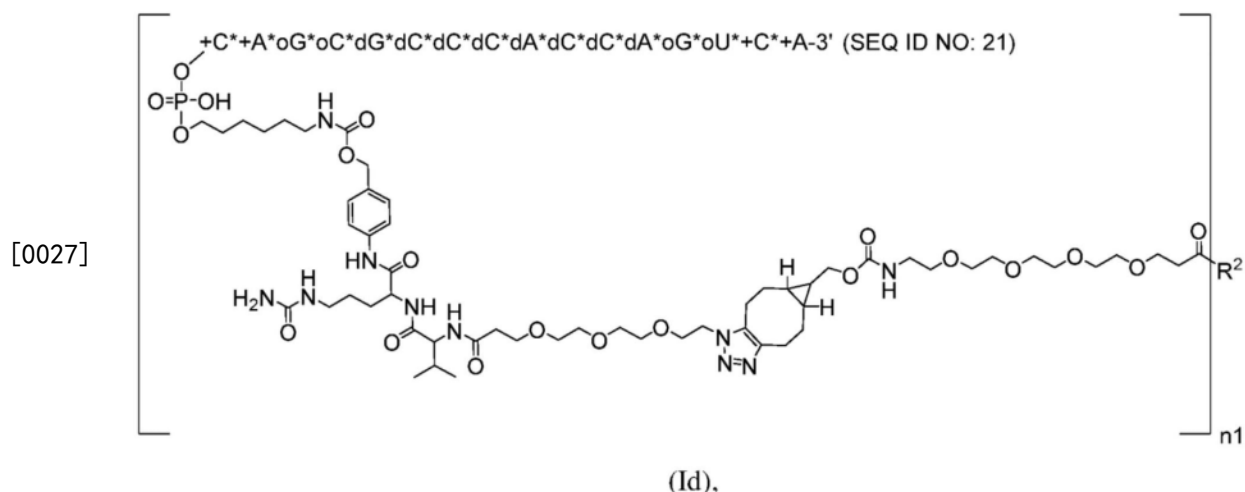
[0022] 每个 R^1 包含式 (Ic) 基团:



[0024] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体; 并且

[0025] 其中在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数, 其表示 R^1 的实例数, 其中 R^1 的每个实例经由连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接。在一些实施方案中, 组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5。

[0026] 在一些实施方案中, 每个复合物包含式 (Id) 结构:



[0028] 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且R¹中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO: 21) 的核碱基序列;

[0029] 其中R²包含抗TfR1抗体; 并且

[0030] 其中在每个复合物中, n₁独立地为1或更大的整数, 其表示R¹的实例数, 其中R¹的每个实例经由连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接。在一些实施方案中, 组合物中的复合物的n₁的平均值为0.5至5。

[0031] 在一些实施方案中, 抗TfR1抗体为Fab片段。

[0032] 在一些实施方案中, 抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 17的氨基酸序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO: 18的氨基酸序列的轻链可变区 (VL)。在一些实施方案中, 抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO: 20的氨基酸序列的轻链。

[0033] 在一些实施方案中, 施用发生一次或更多次。

[0034] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的10至110mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0035] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的5至90mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0036] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的10至20mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0037] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的13mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0038] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的18mg至36mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0039] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的25mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0040] 在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的36mg至72mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0041] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的50mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0042] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的55mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0043] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的75mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0044] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的6mg至12mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0045] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的8mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0046] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的11mg至22mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0047] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的15mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0048] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的22mg至44mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0049] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的30mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0050] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的44mg至88mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0051] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的60mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0052] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的20mg至43mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的29mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0053] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的26mg至53mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0054] 在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的37mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0055] 在一些实施方案中,在施用期间,组合物每4周一次、每8周一次或每12周一次施用。在一些实施方案中,施用期为少于10年。在一些实施方案中,施用期为对象的余生。

[0056] 在一些实施方案中,组合物在第一施用期期间每4周一次施用,并随后在第二施用期期间每8周一次施用。在一些实施方案中,第一施用期为8至16周,和/或第二施用期为16周至对象的余生。

[0057] 在一些实施方案中,所述组合物为水溶液的形式,并且还包含三(羟甲基)氨基甲烷和蔗糖。在一些实施方案中,三(羟甲基)氨基甲烷以25mM的浓度存在于水溶液中,蔗糖以10w/v%的浓度存在于水溶液中,并且水溶液的pH为7.5。在一些实施方案中,复合物以10mg/mL至50mg/mL的浓度存在于组合物中。

[0058] 在一些实施方案中,施用降低对象的肌细胞中的DMPK表达。在一些实施方案中,降

低DMPK表达包括降低肌细胞中DMPK RNA的量。在一些实施方案中,肌细胞的核中的DMPK RNA量降低。

[0059] 在一些实施方案中,降低肌细胞中的DMPK表达包括降低肌细胞中DMPK蛋白的量。

[0060] 在一些实施方案中,对象是人。

[0061] 在一些实施方案中,复合物全身性施用。在一些实施方案中,复合物静脉内施用。在一些实施方案中,复合物通过输注施用。

[0062] 在一些实施方案中,组合物还包含一种或更多种未与寡核苷酸共价连接的抗TfR1抗体。

附图说明

[0063] 图1A至1D示出了在施用含有与ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后,分别在心脏(图1A)、膈肌(图1B)、腓肠肌(图1C)或胫骨前肌(图1D)中的DMPK靶向寡核苷酸(ASO)的量。

[0064] 图2A至2D示出了含有与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)缀合的抗TfR1Fab的缀合物在小鼠的心脏(图2A)、膈肌(图2B)、胫骨前肌(图2C)和腓肠肌(图2D)中敲低人DMPK RNA的能力,所述小鼠表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者。

[0065] 图3A至3B示出了在表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者以及用与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)缀合的抗TfR1Fab进行处理的小鼠中的心肌纤维的核中减少的DMPK病灶。图3A示出了在以下之后的样品的代表性图像:针对DMPK病灶的原位杂交染色和肌纤维的荧光染色(插图图像)。在图3A中示出的显微术图像中,浅色圆形显示细胞核,并且核内的明亮斑点显示DMPK病灶。图3B示出了对DMPK病灶的量化。

[0066] 图4示出了包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物在小鼠(hTfR1/DMSXL小鼠)心脏中的剪接校正活性,所述小鼠表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者。示出了针对用载剂对照处理的对照小鼠(“hTfR1-PBS”)、用载剂对照处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-PBS”)和用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-缀合物”)的基于Ldb3外显子11、Mbn12外显子6和Nfix外显子7的剪接的复合剪接指数。

[0067] 图5示出了包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物在小鼠(hTfR1/DMSXL小鼠)膈肌中的剪接校正活性,所述小鼠表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者。示出了针对用载剂对照处理的对照小鼠(“hTfR1-PBS”)、用载剂对照处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-PBS”)和用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-缀合物”)的基于Bin1外显子11、Insr外显子11、Ldb3外显子11和Nfix外显子7的剪接的复合剪接指数。

[0068] 图6示出了包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物在小鼠(hTfR1/DMSXL小鼠)胫骨前肌中的剪接校正活性,所述小鼠表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者。示出了针对用载剂对照处理的对照小鼠(“hTfR1-PBS”)、用载剂对照处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-PBS”)和用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-缀合物”)的基于Bin1外显子11、Ldb3外显子11、Mbn12外显子6和Nfix外显子7的剪接的复合剪接指数。

[0069] 图7示出了包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物在小鼠(hTfR1/DMSXL小鼠)腓肠肌中的剪接校正活性,所述小鼠表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者。示出了针对用载剂对照处理的对照小鼠(“hTfR1-PBS”)、用载剂对照处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-PBS”)和用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理的hTfR1/DMSXL小鼠(“hTfR1/DMSXL-缀合物”)的基于Mbn12外显子6、Nfix外显子7和Ttn外显子313的剪接的复合剪接指数。

[0070] 图8示出了在DM1患者肌管和野生型非人灵长类(non-human primate, NHP)肌管中的DMPK敲低,其由与包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物一起孵育产生。示出的结果针对仅用载剂处理的DM1患者肌管或NHP肌管中的表达进行了归一化。数据示出了每个条件下n=4次重复的平均值+标准偏差。通过单因素ANOVA计算数据(*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$)。

[0071] 图9A至9D分别示出了在施用包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后12周内小鼠的心脏(图9A)、膈肌(图9B)、胫骨前肌(图9C)或腓肠肌(图9D)中的DMPK表达。DMPK表达相对于经载剂处理的动物中的表达。数据显示为每个组织n=5至12次重复的平均值±标准偏差。统计数据通过ANOVA计算,随后进行未校正的Fisher最小显著性差异检验(*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$)。

[0072] 图10A至10D分别示出了在施用包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后,小鼠的心脏(图10A)、膈肌(图10B)、胫骨前肌(图10C)或腓肠肌(图10D)中的组织DMPK表达。缀合物以一个10mg/kg ASO等效剂量(“10”)、两个5mg/kg ASO等效剂量,间隔一周(“2×5每周”)或两个5mg/kg ASO等效剂量,间隔两周(“2×5, 每2周”)施用。在施用最后一剂之后四周测量组织DMPK水平,并相对于经载剂处理的对照(“载剂”)示出。数据显示为每个组织n=3至6次重复的平均值+标准偏差。统计数据通过单因素ANOVA计算(*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$)。

[0073] 图11A至11D分别示出了在施用不同剂量的包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后,小鼠的心脏(图11A)、膈肌(图11B)、胫骨前肌(图11C)或腓肠肌(图11D)中的DMPK表达。缀合物以一个5mg/kg ASO等效剂量(“5”)、一个10mg/kg ASO等效剂量(“10”)或一个20mg/kg ASO等效剂量(“20”)施用,在四周之后测量组织DMPK水平。数据显示为平均值+标准偏差,并且相对于经载剂处理的对照(“载剂”)示出。统计数据通过单因素ANOVA和Dunnett的事后分析计算(*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$)。

[0074] 图12A至12D分别示出了在施用不同剂量的包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后,小鼠的心脏(图12A)、膈肌(图12B)、胫骨前肌(图12C)或腓肠肌(图12D)中的DMPK表达。将缀合物以两个5mg/kg ASO等效剂量,间隔一周施用(“2×5”)或两个10mg/kg ASO等效剂量,间隔一周施用(“2×10”)进行施用。在施用第一剂之后四周测量组织DMPK水平,并相对于经载剂处理的对照(“载剂”)示出。数据显示为每个组织n=5至6次重复的平均值+标准偏差。统计数据通过Brown-Forsythe和Welch ANOVA检验和Dunnett T3多重比较检验计算(*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ****, $P < 0.0001$)。

[0075] 图13A至13D分别示出了在施用不同剂量的包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后,小鼠的心脏(图13A)、膈肌(图13B)、胫骨前肌(图13C)或腓肠肌(图13D)中的DMPK表达。将缀合物以四个5mg/kg ASO等效剂量(“4×5”)或四个10mg/kg ASO等

效剂量 (“ 4×10 ”) 施用, 每个剂量间隔四周施用 (分别在第0、28、56和84天)。在施用最后一剂之后4周 (在施用第一剂后16周), 测量组织DMPK水平并相对于经载剂处理的对照 (“载剂”) 示出。数据显示为平均值+标准偏差 ($n=6$ 只小鼠/组)。统计数据通过单因素ANOVA计算, 随后进行未校正Fisher最小显著性差异 (Least Significant Difference, LSD) 检验 (*, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; ****, $P<0.0001$)。

[0076] 图14A至14B分别示出了在施用10mg/kg ASO当量的包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后, 非人灵长类的腓肠肌 (图14A) 和胫骨前肌 (图14B) 中的DMPK表达。在施用缀合物之后4、8和12周测量组织DMPK水平, 并相对于经载剂处理的对照示出。数据表示为平均值±标准偏差。统计数据通过非配对t检验计算 (*, $P<0.05$)。

[0077] 图15A至15D分别示出了在施用5mg/kg (“5”) 或10mg/kg (“10”) ASO当量的包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后, 非人灵长类的心脏 (图15A)、膈肌 (图15B)、胫骨前肌 (图15C) 或腓肠肌 (图15D) 中的DMPK表达。在向非人灵长类模型施用单次5mg/kg ASO等效剂量或单次10mg/kg ASO等效剂量之后, 在四周之后测量组织DMPK水平, 并相对于经载剂处理的对照 (“载剂”) 示出。数据显示为平均值+标准偏差。统计数据通过单因素ANOVA计算 (*, $P<0.05$; **, $P<0.01$)。

[0078] 图16A至16G分别示出了在施用两个5mg/kg ASO等效剂量 (“ 2×5 ”) 或两个10mg/kg ASO等效剂量 (“ 2×10 ”) 的包含与DMPK靶向ASO共价连接的抗TfR1Fab的缀合物之后, 非人灵长类的心脏 (图16A)、膈肌 (图16B)、胫骨前肌 (图16C)、腓肠肌 (图16D)、咬肌 (图16E)、食管 (图16F) 或十二指肠 (图16G) 中的DMPK表达。在向非人灵长类模型施用两个5mg/kg ASO等效剂量或两个10mg/kg ASO等效剂量之后, 每隔四周, 在最后一剂之后四周测量组织DMPK水平, 并相对于经载剂处理的对照 (“载剂”) 示出。数据显示为平均值+标准偏差。统计数据通过单因素ANOVA计算, 随后进行未校正的Fisher最小显著性差异 (LSD) 检验 (*, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$)。

具体实施方式

[0079] 根据一些方面, 本公开内容提供了在对象中降低DMPK的表达或活性 (例如, 降低突变体或野生型DMPK RNA的水平) 的方法和/或治疗强直性肌营养不良 (例如, DM1) 的方法。在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的肌肉靶向复合物的组合物, 每个复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体I (TfR1) 抗体, 其中该有效量向对象提供复合物中的0.5mg至20mg (例如, 约1mg至约12mg、约1.8mg、约3.4mg、约6.8mg或约10.2mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 该有效量向对象提供复合物中的约4mg或约5mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 该有效量向对象提供复合物中的2mg至220mg (例如, 约5mg至约110mg、约13mg、约25mg、约50mg或约75mg) 抗TfR1抗体 (例如, Fab)/kg对象。在一些实施方案中, 该有效量向对象提供复合物中的约29mg或约37mg抗TfR1抗体 (例如, Fab)/kg对象。在一些实施方案中, 施用为每两周一次至每12周一次 (例如, 每两周一次、每四周一次、每8周一次或每12周一次)。在一些实施方案中, 对象具有与DM1相关的DMPK等位基因 (例如, 其中所述DMPK等位基因包含DM1疾病相关性重复扩增)。

[0080] 下面提供了本公开内容的另一些方面, 包括对定义术语的描述。

[0081] 定义

[0082] 施用:本文中使用的术语“施用”或其变化形式意指以生理和/或(例如,和)药理学上可用的方式向对象提供复合物(例如,以在对象中治疗病症)。

[0083] 大约:本文中使用的术语“大约”或“约”当应用于一个或更多个目的值时,是指与陈述的参考值类似的值。在某些实施方案中,术语“大约”或“约”是指落入陈述的参考值的任一方向上(大于或小于)15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或更小以内的值的范围,除非另有说明或在其他情况下从上下文中明显看出(除非这样的数字超过可能值的100%)。

[0084] 抗体:本文中使用的术语“抗体”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域或至少一个抗原决定簇(例如,与抗原特异性结合的互补位(paratope))的多肽。在一些实施方案中,抗体是全长抗体。在一些实施方案中,抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。然而,在一些实施方案中,抗体是Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂片段、Fv片段或scFv片段。在一些实施方案中,抗体是来源于骆驼科抗体的纳米抗体或来源于鲨鱼抗体的纳米抗体。在一些实施方案中,抗体是双抗体。在一些实施方案中,抗体包含具有人种序列的框架。在另一个实施方案中,抗体包含选自IgG、IgG1、IgG2、IgG2A、IgG2B、IgG2C、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgM和IgE恒定结构域的重链恒定结构域。在一些实施方案中,抗体包含重(H)链可变区(在本文中简称为VH)和/或(例如,和)轻(L)链可变区(在本文中简称为VL)。在一些实施方案中,抗体包含恒定结构域,例如Fc区。免疫球蛋白恒定结构域是指重链或轻链恒定结构域。人IgG重链和轻链恒定结构域氨基酸序列及其功能变异是已知的。关于重链,在一些实施方案中,本文中所述的抗体的重链可以是alpha(α)、delta(Δ)、epsilon(ε)、gamma(γ)或mu(μ)重链。在一些实施方案中,本文中所述的抗体的重链可包含人alpha(α)、delta(Δ)、epsilon(ε)、gamma(γ)或mu(μ)重链。在一个具体实施方案中,本文中所述的抗体包含人γ1CH1、CH2和/或(例如,和)CH3结构域。在一些实施方案中,VH结构域的氨基酸序列包含人gamma(γ)重链恒定区的氨基酸序列,例如本领域已知的任何。人恒定区序列的一些非限制性实例已在本领域中有所描述,例如,参见美国专利No.5,693,780和Kabat E Aet al., (1991)同上。在一些实施方案中,VH结构域包含与本文中提供的任何可变链恒定区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,对抗体进行修饰,例如,通过糖基化、磷酸化、SUMO化(sumoylation)和/或(例如,和)甲基化进行修饰。在一些实施方案中,抗体是与一个或更多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化(GPI锚定附着)和/或(例如,和)磷酸糖基化(phosphoglycosylation)与抗体缀合。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子是支链的寡糖或支链的聚糖。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中,抗体是包含多肽的构建体,所述多肽包含与接头多肽或免疫球蛋白恒定结构域连接的一个或更多个本公开内容的抗原结合片段。接头多肽包含通过肽键连接的两个或更多个氨基酸残基,并且用于连接一个或更多个抗原结合部分。接头多肽的一些实例已有报道(参见例如,Holliger, P., et al. (1993) Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:6444-6448;Poljak, R.J., et al. (1994) Structure2:1121-

1123)。另外,抗体可以是更大的免疫黏附分子的一部分,免疫黏附分子通过抗体或抗体部分与一个或更多个其他蛋白质或肽的共价或非共价缔合而形成。这样的免疫黏附分子的一些实例包括使用链霉亲和素核芯区域来制备四聚体scFv分子(Kipriyanov,S.M.,et al. (1995)Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101),以及使用半胱氨酸残基、标记肽和C端多组氨酸标签来制备二价和生物素化的scFv分子(Kipriyanov,S.M.,et al. (1994)Mol.Immunol.31:1047-1058)。

[0085] CDR:本文中使用的术语“CDR”是指抗体可变序列内的互补决定区。典型的抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其通常参与抗原结合。VH区和VL区可进一步细分成高变区,也称为“互补决定区”(“complementarity determining region,CDR”),其中散布有更保守的称为“框架区”(“framework region,FR”)的区域。每个VH和VL通常由三个CDR和四个FR构成,从氨基端至羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。可使用本领域已知的方法,例如通过Kabat定义、IMGT定义、Chothia定义、AbM定义和/或(例如,和)contact定义(所有这些是本领域公知的)来精确鉴定框架区和CDR的范围。参见例如,

[0086] Kabat,E.A.,et al.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;IMGT®,the international ImMunoGeneTics information system®<http://www.imgt.org>,Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,27:209-212 (1999);Ruiz,M.et al.,Nucleic Acids Res.,28:219-221 (2000);Lefranc,M.-P.Nucleic Acids Res.,29:207-209 (2001);Lefranc,M.-P.Nucleic Acids Res.,31:307-310 (2003);Lefranc,M.-P.et al.,In Silico Biol.,5,0006 (2004) [Epub],5:45-60 (2005);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,33:D593-597 (2005);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,37:D1006-1012 (2009);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,43:D413-422 (2015);Chothia et al.,(1989)Nature342:877;Chothia,C.et al.(1987)J.Mol.Biol.196:901-917,AI-lazikani et al (1997)J.Molec.Biol.273:927-948;和Almagro,J.Mol.Recognit.17:132-143 (2004)。

[0087] 还参见hgmp.mrc.ac.uk和bioinf.org.uk/abs。本文中使用的CDR可以是指由本领域已知的任何方法定义的CDR。具有相同CDR的两种抗体意指这两种抗体的该CDR的氨基酸序列相同,如通过相同的方法(例如IMGT定义)所确定的。

[0088] 重链和轻链的每个可变区中有三个CDR,对于每个可变区称为CDR1、CDR2和CDR3。本文中使用的术语“CDR组”是指出现在单个可变区内的能够结合抗原的三个CDR的组。这些CDR的确切边界已根据不同的系统进行了不同的定义。通过Kabat描述的系统(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987)和(1991))不仅提供了适用于抗体的任何可变区的明确的残基编号系统,而且还提供了定义三个CDR的精确残基边界。这些CDR可以被称为Kabat CDR。CDR的子部分可以被命名为L1、L2和L3或H1、H2和H3,其中“L”和“H”分别命名轻链和重链区域。这些区域可以称为Chothia CDR,其具有与Kabat CDR重叠的边界。Padlan (FASEB J.9: 133-139 (1995))和MacCallum(J Mol Biol 262 (5):732-45 (1996))已经描述了定义与Kabat CDR重叠的CDR的其他边界。另一些CDR边界定义可并不严格遵循上述系统之一,但仍

将与Kabat CDR重叠,尽管可以根据预测或者根据特定残基或残基的组或甚至整个CDR不会显著影响抗原结合的实验发现来缩短或延长它们。本文中使用的可利用根据这些系统中的任何一个定义的CDR。表1中提供了CDR定义系统的一些实例。

[0089] 表1.CDR定义

[0090]		IMGT ¹	Kabat ²	Chothia ³
	CDR-H1	27-38	31-35	26-32
	CDR-H2	56-65	50-65	53-55
	CDR-H3	105-116/117	95-102	96-101
	CDR-L1	27-38	24-34	26-32
	CDR-L2	56-65	50-56	50-52
	CDR-L3	105-116/117	89-97	91-96

[0091] ¹IMGT[®], the international ImMunoGeneTics information system[®], imgt.orh, Leffanc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)

[0092] ²Kabat 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] ³Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))

[0094] 互补:本文中使用的术语“互补”是指在两个核苷酸或两组核苷酸之间精确配对的能力。特别地,互补是表征氢键配对引起两个核苷酸或两组核苷酸之间结合的程度术语。例如,如果寡核苷酸的一个位置处的碱基能够与靶核酸(例如,mRNA)的相应位置处的碱基进行氢键合,则认为在该位置处碱基彼此互补。碱基配对可包括规范的沃森-克里克碱基配对和非沃森-克里克碱基配对(例如,Wobble碱基配对和Hoogsteen碱基配对)二者。例如,在一些实施方案中,对于互补碱基配对,腺苷型碱基(A)与胸苷型碱基(T)或尿嘧啶型碱基(U)互补,胞嘧啶型碱基(C)与鸟苷型碱基(G)互补,并且通用碱基例如3-硝基吡咯或5-硝基吡咯可与任何A、C、U或T杂交并被认为是互补的。肌苷(I)在本领域中也被认为是通用碱基,并且被认为与任何A、C、U或T互补。

[0095] 共价连接:本文中使用的术语“共价连接”是指两个或更多个分子通过至少一个共价键连接在一起的特征。在一些实施方案中,两个分子可以通过充当分子之间的接头的单键例如二硫键或二硫桥共价连接在一起。然而,在一些实施方案中,两个或更多个分子可以通过充当接头的分子共价连接在一起,该接头通过多个共价键将两个或更多个分子连接在一起。在一些实施方案中,接头可以是可切割接头。然而,在一些实施方案中,接头可以是不可切割接头。

[0096] 疾病相关性重复:本文中使用的术语“疾病相关性重复”是指在一定基因组位置处的重复核苷酸序列,其中重复核苷酸序列的单元数目与遗传疾病相关和/或者(例如,和)直接或间接促成或造成遗传疾病。疾病相关性重复的每个重复单元的长度可以是2、3、4、5或更多个核苷酸。例如,在一些实施方案中,疾病相关性重复是二核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关性重复是三核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关性重复是四核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关性重复是五核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关性重复包含CAG重复、CTG重复、CUG重复、CGG重复、CCTG重复、或其任何的互补核苷酸。在一些

实施方案中,疾病相关性重复在基因的非编码部分中。然而,在一些实施方案中,疾病相关性重复在基因的编码区中。在一些实施方案中,疾病相关性重复从正常状态扩增到直接或间接促成或造成遗传疾病的长度。在一些实施方案中,疾病相关性重复在RNA(例如,RNA转录物)中。在一些实施方案中,疾病相关性重复在DNA(例如,染色体、质粒)中。在一些实施方案中,疾病相关性重复在生殖细胞的染色体中扩增。在一些实施方案中,疾病相关性重复在体细胞的染色体中扩增。在一些实施方案中,疾病相关性重复扩增到与疾病的先天性发作相关的重复单元数目。在一些实施方案中,疾病相关性重复扩增到与儿童期疾病发作相关的重复单元数目。在一些实施方案中,疾病相关性重复扩增到与成人疾病发作相关的重复单元数目。在DM1中,DMPK基因包含CTG单元的疾病相关性重复。

[0097] DMPK:本文中使用的术语“DMPK”是指编码作为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的肌强直蛋白激酶(也称为强直性肌营养不良蛋白激酶或营养不良肌强直蛋白激酶)的基因。这种酶的底物可包括肌细胞生成蛋白(myogenin)、L型钙通道的 β 亚基和phospholemman。在一些实施方案中,DMPK可以是人基因(Gene ID:1760)、非人灵长类基因(例如,Gene ID:456139、Gene ID:715328、Gene ID:102125829)或啮齿动物基因(例如,Gene ID:13400)。在人中,DMPK的3'非编码、非翻译区中的CTG重复扩增与I型强直性肌营养不良(DM1)相关。另外,已经表征了编码不同的蛋白质同种型(protein isoform)的多个人转录物变体(例如,如以下GenBank RefSeq登录号进行注释的:NM_001081563.2、NM_004409.4、NM_001081560.2、NM_001081562.2、NM_001288764.1、NM_001288765.1和NM_001288766.1)。

[0098] DMPK等位基因:本文中使用的术语“DMPK等位基因”是指DMPK基因的替代形式(例如,野生型或突变体形式)中的任一种。在一些实施方案中,DMPK等位基因可编码保留其正常和典型功能的野生型肌强直蛋白激酶。在一些实施方案中,DMPK等位基因可包含一个或更多个疾病相关性重复扩增。在一些实施方案中,正常对象具有两个包含5至37个重复单元的DMPK等位基因。在一些实施方案中,患有DM1的对象中CTG重复单元的数目为约50至约3,000或更多,重复数目越高导致疾病的严重程度越高。在一些实施方案中,轻度受影响的DM1对象具有至少一个具有50至150个重复单元的DMPK等位基因。在一些实施方案中,患有典型DM1的对象具有至少一个具有100至1,000个或更多个重复单元的DMPK等位基因。在一些实施方案中,患有先天性发作的DM1的对象可具有至少一个包含多于2,000个重复单元的DMPK等位基因。

[0099] 框架:本文中使用的术语“框架”或“框架序列”是指可变区减去CDR的剩余序列。由于CDR序列的确切定义可通过不同的系统来确定,因此框架序列的含义相应地具有不同解释。六个CDR(轻链的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3以及重链的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)也将轻链和重链上的框架区分为每条链上的四个子区域(FR1、FR2、FR3和FR4),其中CDR1位于FR1和FR2之间,CDR2位于FR2和FR3之间,并且CDR3位于FR3和FR4之间。在未将特定子区域指定为FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,其他人提到的框架区代表单个天然存在的免疫球蛋白链的可变区内的组合的FR。本文中使用的FR代表四个子区域之一,并且多个FR代表构成框架区的四个子区域中的两个或更多个。人重链和轻链接受体序列是本领域已知的。在一个实施方案中,本领域已知的接受体序列可用于本文中所公开的抗体中。

[0100] 人抗体:本文中使用的术语“人抗体”旨在包括具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本公开内容的人抗体可包含不是由人种系免疫球蛋白序列编码

的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或者通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中,并且特别是在CDR3中。然而,本文中使用的术语“人抗体”不旨在包括其中来源于另一哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已接枝到人框架序列上的抗体。

[0101] 人源化抗体:术语“人源化抗体”是指包含来自非人物种(例如,小鼠)的重链和轻链可变区序列但是其中VH和/或(例如,和)VL序列的至少一部分已被改变为更加“人样”(即,更类似于人种系可变序列)的抗体。一种类型的人源化抗体是CDR接枝抗体,其中人CDR序列被引入到非人VH和VL序列中以替代相应的非人CDR序列。在一个实施方案中,提供了人源化抗转铁蛋白受体抗体和抗原结合部分。这样的抗体可以通过使用传统的杂交瘤技术获得鼠抗转铁蛋白受体单克隆抗体随后使用体外遗传工程化进行人源化来产生,例如在Kasaian et al的PCT公开No.WO2005/123126A2中所公开的那些。

[0102] Kabat编号:术语“Kabat编号”、“Kabat定义和“Kabat标记”在本文中可互换使用。在本领域中公认的这些术语是指对抗体或其抗原结合部分的重链和轻链可变区中的比其他氨基酸残基更加可变(即高变)的氨基酸残基进行编号的系统(Kabat et al. (1971) Ann.NY Acad.Sci.190:382-391以及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)。对于重链可变区,CDR1的高变区为第31至35位氨基酸,CDR2的高变区为第50至65位氨基酸,并且CDR3的高变区为第95至102位氨基酸。对于轻链可变区,CDR1的高变区为第24至34位氨基酸,CDR2的高变区为第50至56位氨基酸,并且CDR3的高变区为第89至97位氨基酸。

[0103] 强直性肌营养不良(DM):本文中使用的术语“强直性肌营养不良(DM)”是指由DMPK基因或CNBP(ZNF9)基因中的突变引起的遗传疾病,其特征不在于肌肉损失、肌肉变弱和肌肉功能。已经描述了该疾病的两种类型,即1型强直性肌营养不良(DM1)和2型强直性肌营养不良(DM2)。DM1与DMPK的3'非编码区中CTG三核苷酸重复的扩增相关。DM2与ZNF9的第一内含子中CCTG四核苷酸重复的扩增相关。在DM1和DM2二者中,核苷酸扩增导致有毒的RNA重复,所述有毒的RNA重复能够形成以高亲和力结合关键的胞内蛋白(例如肌盲样蛋白)的发夹结构。强直性肌营养不良、该疾病的遗传基础和相关症状在本领域中有所描述(参见例如Thornton,C.A.,“Myotonic Dystrophy”Neurol Clin. (2014),32(3):705-719.;和Konieczny et al.“Myotonic dystrophy:candidate small molecule therapeutics”Drug Discovery Today(2017),22:11)。在一些实施方案中,对象出生时患有称为先天性强直性肌营养不良的DM1变异。先天性强直性肌营养不良的症状从出生开始就存在,并且包括所有肌肉的无力、呼吸问题、畸形足、发育迟缓和智力障碍。DM1与在线人类孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man,OMIM)Entry#160900相关。DM2与OMIM Entry#602668相关。

[0104] 寡核苷酸:本文中使用的术语“寡核苷酸”是指长度长至200个核苷酸的寡聚核酸化合物。寡核苷酸的一些实例包括但不限于RNAi寡核苷酸(例如,siRNA、shRNA)、微RNA、间隔聚体、混合聚体、磷酸二酰胺吗啉代、肽核酸、适配体、指导核酸(例如,Cas9指导RNA)等。寡核苷酸可以是单链或双链。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个经修饰核苷(例如,2'-O-甲基糖修饰、嘌呤或嘧啶修饰)。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个硫代磷酸酯

键联,其可以是Rp或Sp立体化学构象。

[0105] 互补区:本文中使用的术语“互补区”是指与例如靶核酸的同源核苷酸序列充分互补的例如寡核苷酸的核苷酸序列,使得两个核苷酸序列能够在生理条件下(例如,在细胞中)彼此退火。在一些实施方案中,互补区与靶核酸的同源核苷酸序列完全互补。然而,在一些实施方案中,互补区与靶核酸的同源核苷酸序列部分互补(例如,至少80%、90%、95%或99%互补)。在一些实施方案中,与靶核酸的同源核苷酸序列相比,互补区包含1、2、3或4个错配。

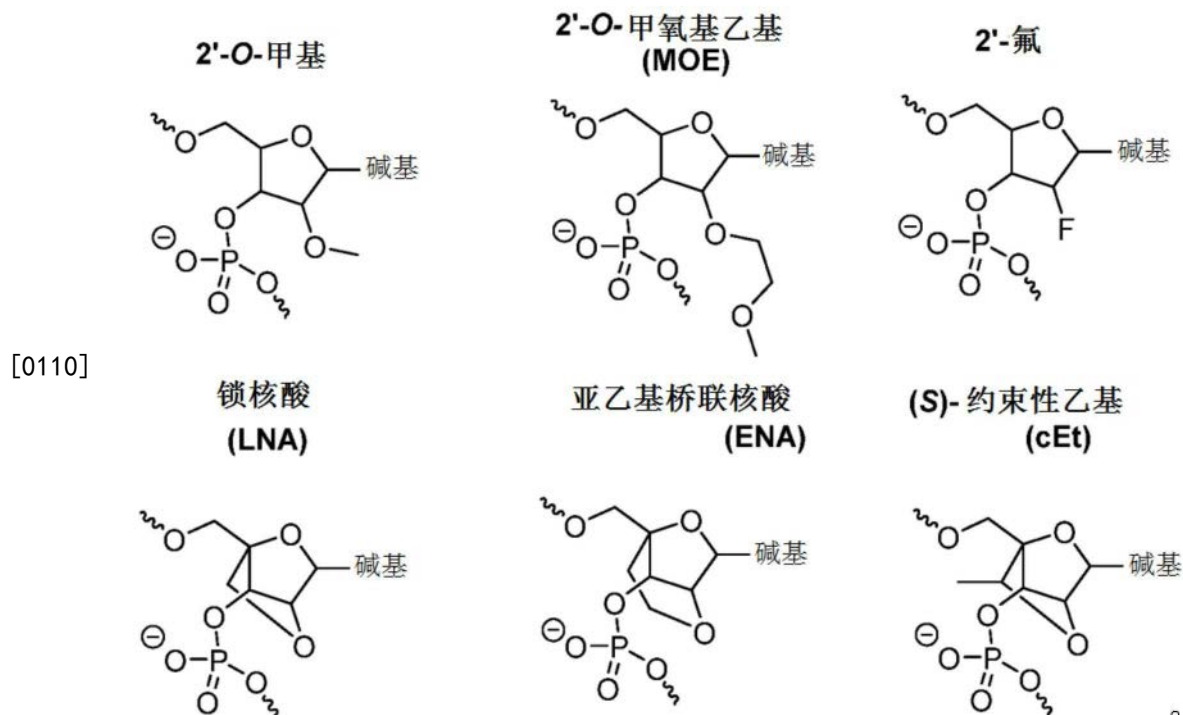
[0106] 特异性结合:本文中使用的术语“特异性结合”是指分子以一定程度的亲和力或亲合力与结合配偶体(binding partner)结合的能力,该亲和力或亲合力使得分子能够用于在结合测定或其他结合环境中将结合配偶体与合适的对照区分开。关于抗体,术语“特异性结合”是指与合适的一种或更多种参考抗原相比,抗体以一定程度的亲和力或亲合力与特异性抗原结合的能力,该亲和力或亲合力使得抗体能够用于将特异性抗原与其他抗原区分开,例如至允许通过与如本文中所述的抗原结合而优先靶向某些细胞(例如,肌细胞)的程度。在一些实施方案中,如果抗体与靶标结合的 K_D 为至少约 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M或更小,则抗体与靶标特异性结合。在一些实施方案中,抗体与转铁蛋白受体(例如,转铁蛋白受体的顶端结构域(apical domain)的表位)特异性结合。

[0107] 对象:本文中使用的术语“对象”是指哺乳动物。在一些实施方案中,对象是非人灵长类或啮齿动物。在一些实施方案中,对象是人。在一些实施方案中,对象是患者,例如患有或怀疑患有疾病的人患者。在一些实施方案中,对象是患有或怀疑患有由疾病相关性重复扩增(例如,在DMPK等位基因中的疾病相关性重复扩增)导致的疾病的人患者。

[0108] 转铁蛋白受体:本文中使用的术语“转铁蛋白受体”(也称为TFRC、CD71、p90、TFR或TFR1)是指结合转铁蛋白以促进通过内吞作用摄取铁的内化细胞表面受体。在一些实施方案中,转铁蛋白受体可以是人来源的(NCBI Gene ID 7037)、非人灵长类来源的(例如,NCBI Gene ID 711568或NCBI Gene ID 102136007)或啮齿动物来源的(例如,NCBI Gene ID 22042)。另外,已经表征了编码受体的不同同种型的多种人转录物变体(例如,如以下GenBank RefSeq登录号注释的:NP_001121620.1、NP_003225.2、NP_001300894.1和NP_001300895.1)。

[0109] 2'-经修饰核苷:本文中使用的术语“2'-经修饰核苷”和“2'-经修饰核糖核苷”可互换使用,并且是指在2'位置处具有经修饰糖部分的核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷,其中糖的2'和4'位置是桥联的(例如,通过亚甲基、亚乙基或(S)-约束性乙基桥而桥联)。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是非双环的2'-经修饰核苷,例如,其中糖部分的2'位置被取代。2'-经修饰核苷的一些非限制性实例包括:2'-脱氧、2'-氟(2'-F)、2'-0-甲基(2'-O-Me)、2'-0-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-0-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-0-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-0-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-0-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-0-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA)、锁核酸(LNA,亚甲基桥联核酸)、亚乙基桥联核酸(ENA)和(S)-约束性乙基桥联核酸(cEt)。在一些实施方案中,本文中所述的2'-经修饰核苷是高亲和力的经修饰核苷酸和寡核苷酸,其包含相对于未经修饰的寡核苷酸而对靶序列具有提高的亲和力的2'-经修饰核苷。以下提供了2'-经修饰核苷之结

构的一些实例:



[0111] 这些实例显示带有磷酸基团,但是任何核苷间键联都被考虑在2'-经修饰核苷之间。

[0112] 范围:本公开内容中提供的所有范围都包括端点。

[0113] 复合物

[0114] 本文中提供了包含与寡核苷酸共价连接的靶向剂(例如抗体)的复合物。在一些实施方案中,复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的肌肉靶向抗体。在一些实施方案中,寡核苷酸是靶向DMPK RNA以降低DMPK的表达或活性的反义寡核苷酸(例如,降低突变体或野生型DMPK RNA的水平,或DMPK基因产物的活性)。

[0115] 本文中所述的复合物通常包含将本文中所述的抗体(例如,抗TfR1抗体)与寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸)共价连接的接头。接头包含至少一个共价键。

[0116] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中每个 R^1 独立地包含含有寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸)的化合物,并且 R^2 包含抗体(例如,抗TfR1抗体),并且其中在每个复合物中, $n1$ 独立地为整数(例如,1或更大),其表示每个复合物中 R^1 的实例数。在一些实施方案中,每个 R^1 独立地包含含有寡核苷酸的基团。在一些实施方案中,每个 R^1 独立地包含除寡核苷酸之外还含有另外的要素的基团。在一些实施方案中, R^2 包含抗体(例如,抗TfR1抗体),该抗体(例如,抗TfR1抗体)包含含有重链可变区(VH)和重链恒定区的重链以及含有轻链可变区(VL)和轻链恒定区的轻链。在一些实施方案中,复合物中的每个 R^1 独立地与 R^2 的不同氨基酸残基(例如,赖氨酸或半胱氨酸)共价连接。

[0117] 在一些实施方案中,在每个复合物中, $n1$ 独立地为整数(例如,1或更大)。在一些实施方案中,抗体包含如表2中所示的序列。例如,在一些实施方案中,抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补

决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中,抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH),和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH,和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链,和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体是Fab片段、全长IgG、Fab'片段、F(ab')₂片段、scFv或Fv。在一些实施方案中,抗体是Fab片段。

[0118] 在一些实施方案中,每个或任何复合物(例如,本文中公开的组合物或制剂中的任一者的任何复合物)的n1的值为多至抗体中期望或靶向缀合的氨基酸残基数目(例如,赖氨酸残基的数目)的整数。在一些实施方案中,在每个复合物中,n1的值独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26和27。在一些实施方案中,在每个复合物中,n1的值独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25和26。在一些实施方案中,在每个复合物中,n1的值独立地为1至27、1至26、1至10、1至5或1至3。在一些实施方案中,组合物中的复合物的n1的平均值为1至5(例如,1至5、1至4、1至3、3至5或1至2)。在一些实施方案中,本文中所述的组合物包含复合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中n1为0。在一些实施方案中,组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。在一些实施方案中,在每个复合物类型中,n1独立地为1或更大的整数,其表示复合物类型的每个复合物中R¹的实例数,并且其中组合物的不同复合物类型的特征在于具有不同的n1值(例如,n1值为1至27、1至26、1至25、1至20、1至15、1至10、1至5或1至3)。

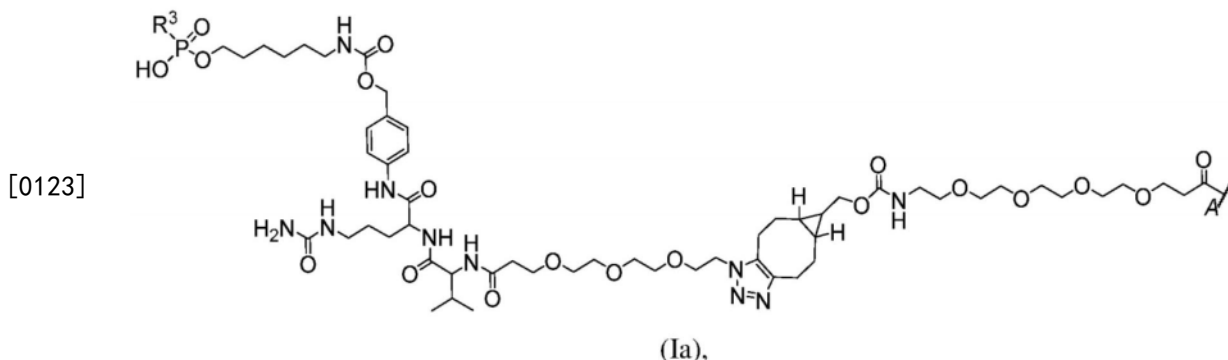
[0119] 在一些实施方案中,提供了包含多个不同复合物的组合物(例如,包含三(羟甲基)氨基甲烷和/或蔗糖的制剂,如本文中所述)。在一些实施方案中,多个不同复合物包含共同的靶向剂(例如抗体)和共同的寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸,例如DMPK靶向寡核苷酸)。在这样的实施方案中,不同复合物类型的特征在于具有不同数目的与抗体共价连接的寡核苷酸。例如,在一些实施方案中,提供了包含多个复合物的组合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中每个R¹独立地包含含有寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)的化合物,并且R²包含抗体(例如,抗TfR1抗体),并且其中n1是表示复合物中R¹的实例数的整数,并且其中组合物的不同复合物可以具有不同的n1值(例如,n1值为1至27、1至26、1至10、1至5或1至3)。在一些实施方案中,在组合物中的复合物中,n1独立地为整数。在一些实施方案中,组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1

至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。在一些实施方案中,本文中所述的组合物包含其中n1为0的复合物。

[0120] 在一些实施方案中,本文中所述的组合物包含未与寡核苷酸缀合的抗体(例如,以痕量)以及与一个或多个寡核苷酸缀合的抗体。在一些实施方案中,未与寡核苷酸缀合的抗体可被称为式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的化合物,其中n1为0。因此,在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中施用于对象的组合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的化合物(例如,复合物),其中每个 R^1 独立地包含含有寡核苷酸的基团, R^2 包含抗体,并且n1独立地为0或更大的整数,其反映了每个化合物(例如,复合物)中 R^1 的实例数。在一些实施方案中,与组合物中n1为1或更大的具有式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的所有化合物相比,组合物中n1为0的该结构的化合物的级分小于10%、小于5%、小于1%、小于0.5%、小于0.1%、小于0.05%或小于0.01%。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0121] 在一些实施方案中,复合物中 R^1 的每个实例与抗体的不同氨基酸残基共价连接。在一些实施方案中,与 R^1 共价连接的氨基酸包含 ϵ -氨基(例如,赖氨酸、精氨酸)。然而,在一些实施方案中,与 R^1 共价连接的氨基酸是半胱氨酸。在一些实施方案中, R^1 与抗体的氨基酸残基直接共价连接。然而,在一些实施方案中, R^1 与抗体的氨基酸残基间接共价连接,例如,与氨基酸上的糖基化位点共价连接。在一些实施方案中, R^1 未与存在于抗体的CDR区中的氨基酸残基共价连接。

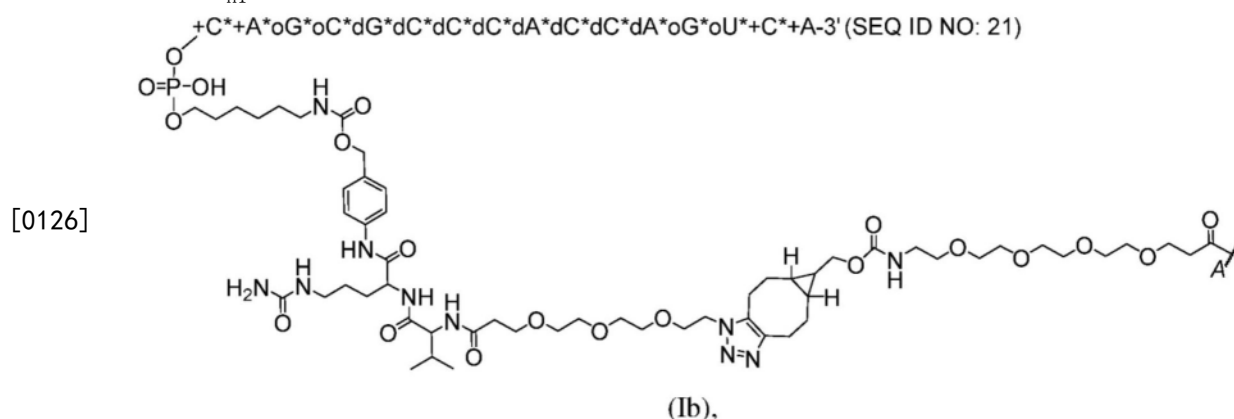
[0122] 在一些实施方案中,本文中提供的复合物(例如,在本文中所述的组合物或制剂中)包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中 R^1 的每个实例独立地包含式(Ia)基团:



[0124] 其中 R^3 包含寡核苷酸,例如含有5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸;并且 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含如表2中所示的序列。例如,在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列

的轻链互补决定区3 (CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区 (VH), 和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链可变区 (VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH, 和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、scFv或Fv。在一些实施方案中, R^3 包含寡核苷酸, 该寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列。在一些实施方案中, R^3 包含寡核苷酸, 该寡核苷酸包含+C*A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dA*oG*oU*+C*A* (SEQ ID NO:21) 的结构, 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MoE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联。

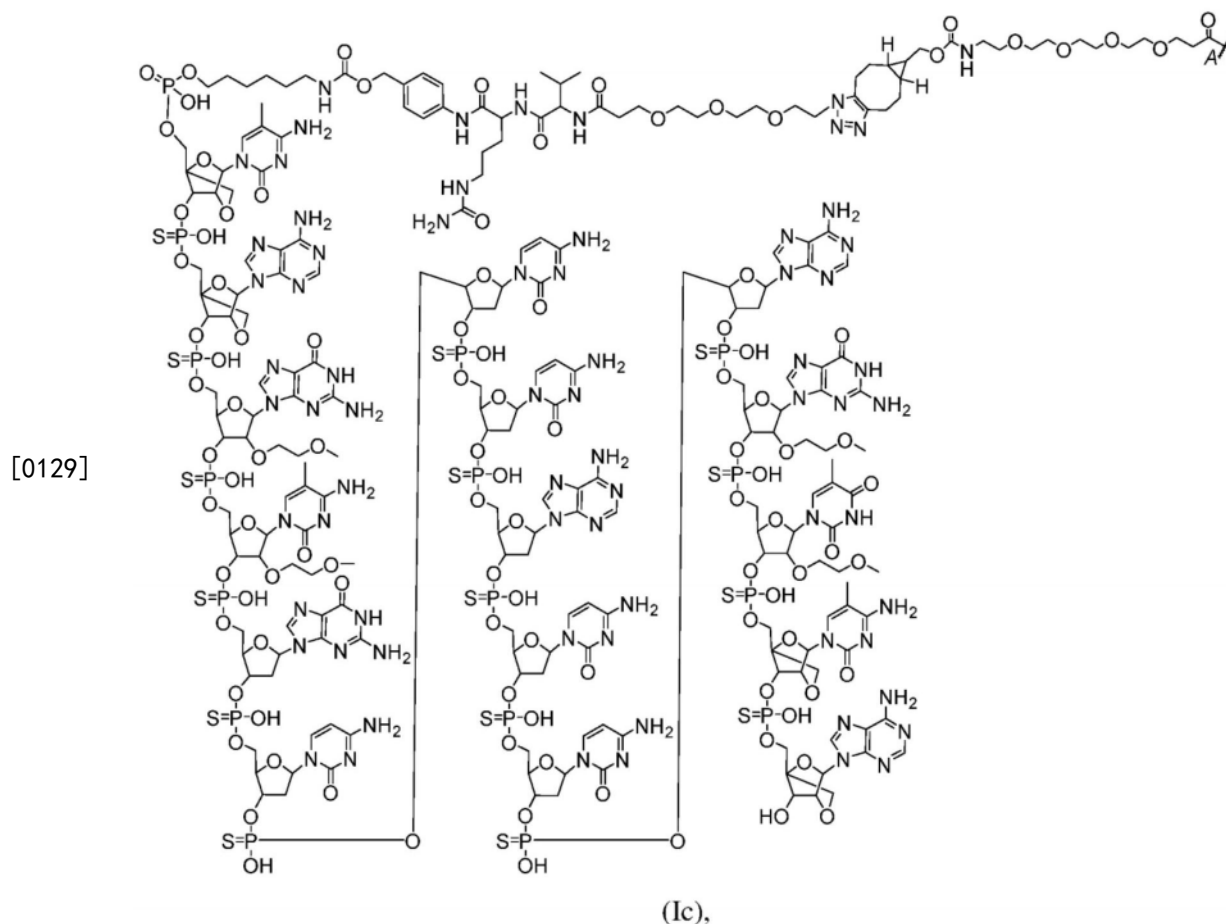
[0125] 在一些实施方案中, 本文中提供的复合物 (例如, 在本文所述的组合物或制剂中) 包含式 (I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构, 其中每个 R^1 包含式 (Ib) 基团:



[0127] 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -O-甲氧基乙基 (MoE) 修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, *表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且其中寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列, 其中n1是整数 (例如, 1或更大), 其表示每个复合物中 R^1 的实例数, 并且每个 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含如表2中所示的序列。例如, 在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1), 含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2), 含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3); 和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1), 含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区 (VH), 和/或包含含有与SEQ

ID NO:18具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH,和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链,和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab' 片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv或Fv。

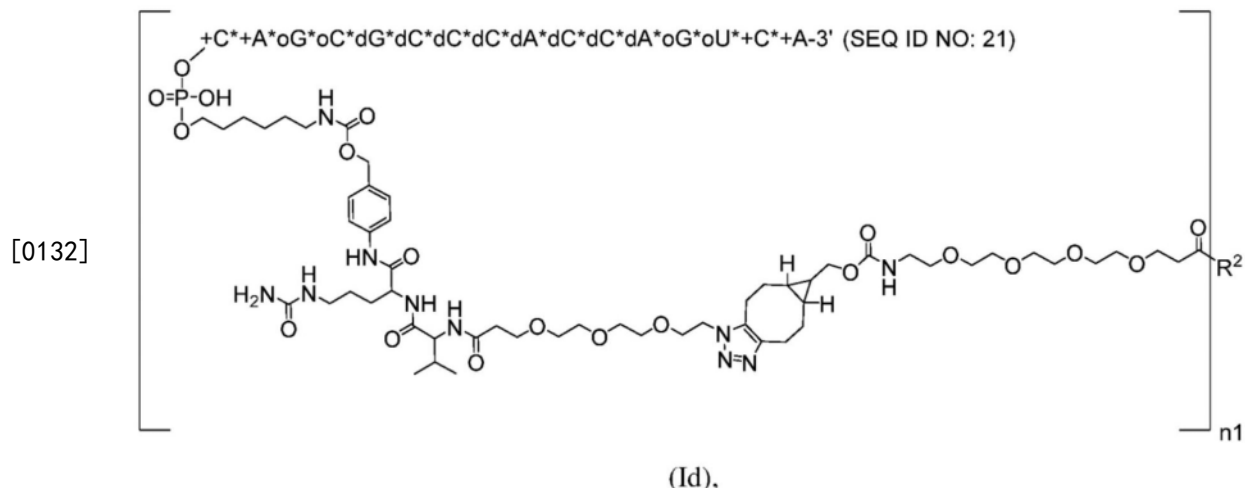
[0128] 在一些实施方案中,本文中提供的复合物(例如,在本文所述的组合物或制剂中)包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中每个 R^1 包含式(Ic) 基团:



[0130] 其中 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含如表2中所示的序列。例如,在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH),和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85% (例如,至少95%) 同一

性的氨基酸序列的轻链可变区 (VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有 SEQ ID NO:17 的氨基酸序列的 VH, 和/或包含含有 SEQ ID NO:18 的氨基酸序列的 VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与 SEQ ID NO:19 具有至少 85% (例如, 至少 95%) 同一性的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有与 SEQ ID NO:20 具有至少 85% (例如, 至少 95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有 SEQ ID NO:19 的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有 SEQ ID NO:20 的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体是 Fab 片段、全长 IgG、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、scFv 或 Fv。

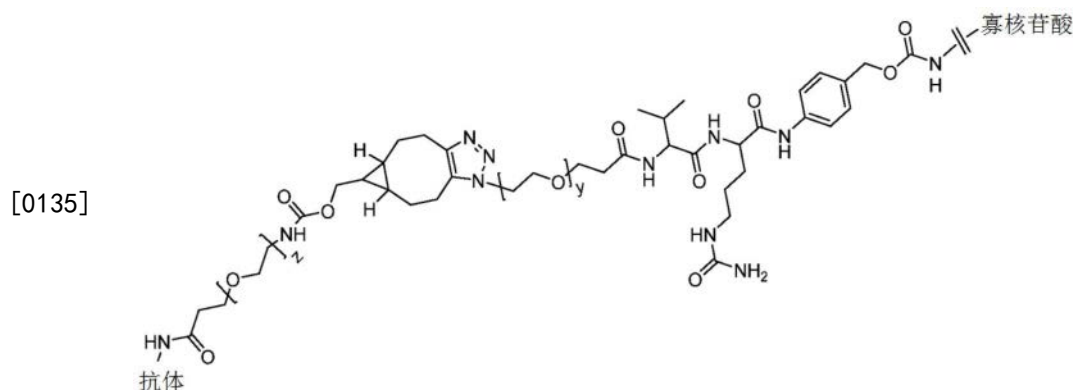
[0131] 在一些实施方案中, 本文中提供的复合物 (例如, 在本文所述的组合物或制剂中) 包含式 (Id) 结构:



[0133] 其中+N表示LNA (2'-4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2'-脱氧核糖核苷, oN表示2'-O-甲氧基乙基 (MoE) 修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷 (2'-4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷, *表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且其中寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列; 其中 R^2 包含含有如表2中所示序列的抗体; 其中n1是整数 (例如1或更大), 其表示由方括号括起的基团的实例数, 其中由方括号括起的基团的每个实例与抗体的不同氨基酸残基共价连接, 任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有如 SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1), 含有如 SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2), 含有如 SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3); 和/或包含含有如 SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1), 含有如 SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有如 SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与 SEQ ID NO:17 具有至少 85% (例如, 至少 95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区 (VH), 和/或包含含有与 SEQ ID NO:18 具有至少 85% (例如, 至少 95%) 同一性的氨基酸序列的轻链可变区 (VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有 SEQ ID NO:17 的氨基酸序列的 VH, 和/或包含含有 SEQ ID NO:18 的氨基酸序列的 VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与 SEQ ID NO:19 具有至少 85% (例如, 至少 95%) 同一性的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有与 SEQ ID NO:20 具有至少 85% (例如, 至少 95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有

SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab'片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv或Fv。

[0134] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含式(A)的结构:



[0136] (A), 其中y为0至15(例如,3)且z为0至15(例如,4)。在一些实施方案中,在结构(A)中示出的与抗体(例如,抗TfR1抗体)相邻的酰胺由与抗体的胺(例如赖氨酸 ϵ 胺)的反应产生。在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗体的赖氨酸与寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸)的5'端共价连接的抗TfR1抗体(例如,抗TfR1Fab)。在一些实施方案中,抗体包含如表2中所示的序列。例如,在一些实施方案中,抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中,抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH),和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH,和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链,和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体是Fab片段、全长IgG、Fab'片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv或Fv。

[0137] 抗体

[0138] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含结合人转铁蛋白受体1(TfR1)的抗体。对应于NCBI序列NP_003225.2(转铁蛋白受体蛋白1同种型1,智人(homo sapiens))的示例性人TfR1氨基酸序列如下:

[0139] MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLAVDEEENADNNTKANV
TKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDF
PAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLN ENSYVPREAGSQKDENLALYVENQF

REFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTG
 KLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKF
 PIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFNG
 MEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVG
 AQRDAWGPGAAGSGVGTALLLKLQMFSDMVLKDGFPQRSIIIFASWSAGDFGSVG
 [0140] ATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQ
 FLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIE
 RIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEM
 GLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSP
 KESPRHVFVWGSGSHTLPALLENLKLKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANAL
 SGD VWIDIDNEF (SEQ ID NO: 23).

[0141] 表2提供了可用于本文中提供的复合物之抗TfR1抗体的序列的一些实例。

[0142] 表2. 抗TfR1抗体序列的一些实例

[0143]

特征	IMGT	Kabat	Chothia
CDR-H1	GYSITSGYY (SEQ ID NO: 1)	SGYYWN (SEQ ID NO: 7)	GYSITSGY (SEQ ID NO: 12)
CDR-H2	ITFDGAN (SEQ ID NO: 2)	YITFDGANNYNPSL KN (SEQ ID NO: 8)	FDG (SEQ ID NO: 13)
CDR-H3	TRSSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 3)	SSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 9)	SYDYDVLD (SEQ ID NO: 14)
CDR-L1	QDISNF (SEQ ID NO: 4)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 10)	SQDISNF (SEQ ID NO: 15)
CDR-L2	YTS (SEQ ID NO: 5)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 11)	YTS (SEQ ID NO: 5)
CDR-L3	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 6)	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 6)	GHTLPY (SEQ ID NO: 16)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWI GYITFDGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVLDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17)		
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWWYQQKPGQPVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFG QGKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
Fab HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWI GYITFDGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 19)		

[0144]

Fab LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWWYQQKPGQPVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFG QGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 20)
---------------	--

[0145] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含SEQ ID NO:1的重链互补决定区1(CDR-H1) (根据IMGT定义系统)、SEQ ID NO:2的重链互补决定区2(CDR-H2) (根据IMGT定义系统)、SEQ ID NO:3的重链互补决定区3(CDR-H3) (根据IMGT定义系统)、SEQ ID NO:4的

轻链互补决定区1 (CDR-L1) (根据IMGT定义系统)、SEQ ID NO:5的轻链互补决定区2 (CDR-L2) (根据IMGT定义系统)和SEQ ID NO:6的轻链互补决定区3 (CDR-L3) (根据IMGT定义系统)。

[0146] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含SEQ ID NO:7的重链互补决定区1 (CDR-H1) (根据Kabat定义系统)、SEQ ID NO:8的重链互补决定区2 (CDR-H2) (根据Kabat定义系统)、SEQ ID NO:9的重链互补决定区3 (CDR-H3) (根据Kabat定义系统)、SEQ ID NO:10的轻链互补决定区1 (CDR-L1) (根据Kabat定义系统)、SEQ ID NO:11的轻链互补决定区2 (CDR-L2) (根据Kabat定义系统)和SEQ ID NO:6的轻链互补决定区3 (CDR-L3) (根据Kabat定义系统)。

[0147] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含SEQ ID NO:12的重链互补决定区1 (CDR-H1) (根据Chothia定义系统)、SEQ ID NO:13的重链互补决定区2 (CDR-H2) (根据Chothia定义系统)、SEQ ID NO:14的重链互补决定区3 (CDR-H3) (根据Chothia定义系统)、SEQ ID NO:15的轻链互补决定区1 (CDR-L1) (根据Chothia定义系统)、SEQ ID NO:5的轻链互补决定区2 (CDR-L2) (根据Chothia定义系统)和SEQ ID NO:16的轻链互补决定区3 (CDR-L3) (根据Chothia定义系统)。

[0148] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链可变区 (VH),所述重链可变区 (VH) 与包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH相比,在框架区中包含不超过25个氨基酸变异 (例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充 (例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链可变区 (VL),所述轻链可变区 (VL) 与包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL相比,在框架区中包含不超过25个氨基酸变异 (例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0149] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含VH,所述VH在框架区中包含与包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。作为替代或补充 (例如,补充),在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含VL,所述VL在框架区中包含与包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。

[0150] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH。作为替代或补充 (例如,补充),在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。

[0151] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。作为替代或补充 (例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体是包含重链的Fab,所述重链包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。作为替代或补充 (例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体是包含轻链的Fab,所述轻链包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。

[0152] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体是包含重链的Fab,所述重链包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体是包含轻链的Fab,所述轻链包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0153] 在一些实施方案中,本文中提供的抗TfR1抗体可具有一种或更多种翻译后修饰。在一些实施方案中,可在产生期间在抗体的N端谷氨酸(Glu)和/或谷氨酰胺(Gln)残基处发生N端环化,也称为焦谷氨酸(pyro-Glu)形成。因此,应理解,被指定为具有包含N端谷氨酸或谷氨酰胺残基的序列的抗体涵盖已经历由翻译后修饰引起的焦谷氨酸形成的抗体。在一些实施方案中,焦谷氨酸形成发生于重链序列中。在一些实施方案中,焦谷氨酸的形成发生于轻链序列中。

[0154] 寡核苷酸

[0155] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物中的寡核苷酸是单链寡核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸可用于靶向DMPK(例如,用于降低DMPK RNA的表达或活性,例如突变体或野生型DMPK RNA的水平)。在一些实施方案中,可用于靶向DMPK RNA(例如,用于降低DMPK RNA的表达或活性,例如突变体或野生型DMPK RNA的水平)的寡核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含DMPK RNA的互补区。在一些实施方案中,寡核苷酸可用于降低具有疾病相关性重复扩增的毒性DMPK的水平,例如在患有或怀疑患有强直性肌营养不良的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计成指导RNA酶H介导的位于细胞(例如肌细胞(例如肌管)或神经系统细胞(例如中枢神经系统(central nervous system,CNS)细胞)的核中的靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计成具有期望的生物利用度和/或血清稳定性特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计成具有期望的结合亲和力特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计成具有期望的毒性特征。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计成具有低补体激活和/或细胞因子诱导特性。

[0156] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸被设计成引起RNA酶H介导的DMPK mRNA的降解。应理解,在一些实施方案中,可通过将功能序列(例如,反义链序列)从一种形式并入另一种形式来使一种形式的寡核苷酸(例如,反义寡核苷酸)适当地适应于另一种形式(例如,siRNA寡核苷酸)。

[0157] 可用于靶向DMPK的寡核苷酸的一些实例在以下中提供:美国专利申请公开20100016215A1,其于2010年1月1日公开,标题为Compound And Method For Treating Myotonic Dystrophy;美国专利申请公开20130237585A1,其于2010年7月19日公开,Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (DMPK) Expression;美国专利申请公开20150064181A1,其于2015年3月5日公开,标题为“Antisense Conjugates For Decreasing Expression Of Dmpk”;美国专利申请公开20150238627A1,其于2015年8月27日公开,标题为“Peptide-Linked Morpholino Antisense Oligonucleotides For Treatment Of Myotonic Dystrophy”;和美国专利申请公开20160304877A1,其于2016年10月20日公开,标题为“Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (Dmpk) Expression”,其各自的内容以其整体并入本文。

[0158] 在一些实施方案中,寡核苷酸可包含如下所示序列的互补区,所述序列是示例性

人DMPK基因序列(基因ID 1760;NM_001081560.2):

[0159]

AGGGGGGCTGGACCAAGGGGTGGGGAGAAGGGGAGGAGGCCTCGGCCGGCCGCA
GAGAGAAGTGGCCAGAGAGGCCCAGGGGACAGCCAGGGACAGGCAGACATGCAG
CCAGGGCTCCAGGGCCTGGACAGGGGCTGCCAGGCCCTGTGACAGGAGGACCCCG
AGCCCCCGGCCCGGGAGGGGCCATGGTGCTGCCTGTCCAACATGTCAGCCGAGG
TGCGGCTGAGGCGGCTCCAGCAGCTGGTGTTGGACCCGGGCTTCCTGGGGCTGGA
GCCCCTGCTCGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGCGCCTCCGAACTGG
CCCAGGACAAGTACGTGGCCGACTTCTTGCAAGTGGGCGGAGCCCATCGTGGTGAG
GCTTAAGGAGGTCCGACTGCAGAGGGACGACTTCGAGATTCTGAAGGTGATCGGA
CGCGGGGCGTTCAGCGAGGTAGCGGTAGTGAAGATGAAGCAGACGGGCCAGGTG
TATGCCATGAAGATCATGAACAAGTGGGACATGCTGAAGAGGGGCGAGGTGTCGT
GCTTCCGTGAGGAGAGGGACGTGTTGGTGAATGGGGACCGGCGGTGGATCACGCA
GCTGCACTTCGCCTTCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAGTATTACG

[0160]

TGGGCGGGGACCTGCTGACACTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATTCCGGCCGA
GATGGCGCGCTTCTACCTGGCGGAGATTGTCATGGCCATAGACTCGGTGCACCGG
CTTGGCTACGTGCACAGGGACATCAAACCCGACAACATCCTGCTGGACCGCTGTG
GCCACATCCGCCTGGCCGACTTCGGCTCTTGCCTCAAGCTGCGGGCAGATGGAAC
GGTGCGGTGCTGGTGGCTGTGGGCACCCCAGACTACCTGTCCCCCGAGATCCTGC
AGGCTGTGGGCGGTGGGCCTGGGACAGGCAGCTACGGGCCCCGAGTGTGACTGGTG
GGCGCTGGGTGTATTTCGCCTATGAAATGTTCTATGGGCAGACGCCCTTCTACGCGG
ATTCCACGGCGGAGACCTATGGCAAGATCGTCCACTACAAGGAGCACCTCTCTCT
GCCGCTGGTGGACGAAGGGGTCCCTGAGGAGGCTCGAGACTTCATTCAGCGGTTG
CTGTGTCCCCCGGAGACACGGCTGGGCCGGGGTGGAGCAGGCGACTTCCGGACAC
ATCCCTTCTTCTTTGGCCTCGACTGGGATGGTCTCCGGGACAGCGTGCCCCCTTTA
CACCGGATTTCTGAAGGTGCCACCGACACATGCAACTTCGACTTGGTGGAGGACGG
GCTCACTGCCATGGAGACACTGTCGGACATTCGGGAAGGTGCGCCGCTAGGGGTC
CACCTGCCTTTTGTGGGCTACTCCTACTCCTGCATGGCCCTCAGGGACAGTGAGGT
CCCAGGCCCCACACCCATGGAAGTGGAGGCCGAGCAGCTGCTTGAGCCACACGTG
CAAGCGCCCAGCCTGGAGCCCTCGGTGTCCCCACAGGATGAAACAGCTGAAGTGG
CAGTTCAGCGGCTGTCCCTGCGGCAGAGGCTGAGGCCGAGGTGACGCTGCGGGA
GCTCCAGGAAGCCCTGGAGGAGGAGGTGCTCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGGGA
GATGGAGGCCATCCGCACGGACAACCAGAACTTCGCCAGTCAACTACGCGAGGCA
GAGGCTCGGAACCGGGACCTAGAGGCACACGTCCGGCAGTTGCAGGAGCGGATG
GAGTTGCTGCAGGCAGAGGGAGCCACAGCTGTACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGG
CCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATGGCCCCCGGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGC
CCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCACCGCCGCCACCTGCTGCTCCCTGCCAGGGT
CCCTAGGCCTGGCCTATCGGAGGCGCTTTCCTGCTCCTGTTTCGCCGTTGTTCTGTC
TCGTGCCGCCGCCCTGGGCTGCATTGGGTTGGTGGCCACGCCGGCCAACTACCG
CAGTCTGGCGCCGCCAGGAGCCGCCCGCGCTCCCTGAACCCTAGAACTGTCTTCG
ACTCCGGGGCCCCGTTGGAAGACTGAGTGCCCGGGGCACGGCACAGAAGCCGCGC
CCACCGCCTGCCAGTTCACAACCGCTCCGAGCGTGGGTCTCCGCCAGCTCCAGTC
CTGTGATCCGGGCCCCGCCCTAGCGGCCGGGGAGGGAGGGGCCGGGTCCGCGGC
CGGCGAACGGGGCTCGAAGGGTCCCTTGTAGCCGGGAATGCTGCTGCTGCTGCTG
TGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGGGGGGATCACAG
ACCATTTCTTTCTTTCGGCCAGGCTGAGGCCCTGACGTGGATGGGCAAACCTGCAGG
CCTGGGAAGGCAGCAAGCCGGGCCGTCCGTGTTCCATCCTCCACGCACCCCCACCT
ATCGTTGGTTCGCAAAGTGCAAAGCTTCTTGTGCATGACGCCCTGCTCTGGGGAG

[0161]

CGTCTGGCGCGATCTCTGCCTGCTTACTCGGGAAATTTGCTTTTGCCAAACCCGCTT
TTTCGGGGATCCCGCGCCCCCTCCTCACTTGCGCTGCTCTCGGAGCCCCAGCCGG
CTCCGCCCCGCTTCGGCGGTTTGGATATTTATTGACCTCGTCCTCCGACTCGCTGACA
GGCTACAGGACCCCCAACAAACCCCAATCCACGTTTGGATGCACTGAGACCCCGA
CATTCCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTAGGACCCCCACCCCGACCCTCGCG
AATAAAAGGCCCTCCATCTGCCCAAAGCTCTGGA(SEQ ID NO: 24).

[0162] 在一些实施方案中,寡核苷酸可包含如下所示序列的互补区,所述序列是示例性小鼠DMPK基因序列(基因ID 13400;NM_001190490.1)。

[0163]

GAACTGGCCAGAGAGACCCAAGGGATAGTCAGGGACGGGCAGACATGCAGCTAG
GGTTCTGGGGCCTGGACAGGGGCAGCCAGGCCCTGTGACGGGAAGACCCCGAGCT
CCGGCCCCGGGGAGGGGCCATGGTGTTCCTGCCAACATGTCAGCCGAAGTGCGG
CTGAGGCAGCTCCAGCAGCTGGTGTCTGGACCCAGGCTTCCTGGGACTGGAGCCCC
TGCTCGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGTGCCTCTCACCTAGCCCAG
GACAAGTATGTGGCCGACTTCTTGCAGTGGGTGGAGCCCATTGCAGCAAGGCTTA
AGGAGGTCCGACTGCAGAGGGATGATTTTGAGATTTTGAAGGTGATCGGGCGTGG
GGCGTTCAGCGAGGTAGCGGTGGTGAAGATGAAACAGACGGGCCAAGTGTATGCC
ATGAAGATTATGAATAAGTGGGACATGCTGAAGAGAGGCGAGGTGTCGTGCTTCC
GGGAAGAAAGGGATGTATTAGTGAAAGGGGACCGGCGCTGGATCACACAGCTGC
ACTTTGCCTTCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAATACTACGTGGGC
GGGGACCTGCTAACGCTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATCCCCGCCGAGATGG
CTCGCTTCTACCTGGCCGAGATTGTCATGGCCATAGACTCCGTGCACCGGCTGGGC
TACGTGCACAGGGACATCAAACCAGATAACATTCTGCTGGACCGATGTGGGCACA
TTCGCCTGGCAGACTTCGGCTCCTGCCTCAAACCTGCAGCCTGATGGAATGGTGAGG
TCGCTGGTGGCTGTGGGCACCCCGGACTACCTGTCTCCTGAGATTCTGCAGGCCGT
TGGTGGAGGGCCTGGGGCAGGCAGCTACGGGCCAGAGTGTGACTGGTGGGCACTG
GGCGTGTTTCGCTATGAGATGTTCTATGGGCAGACCCCTTCTACGCGGACTCCAC
AGCCGAGACATATGCCAAGATTGTGCACTACAGGGAACACTTGTGCTGCCGCTG
GCAGACACAGTTGTCCCCGAGGAAGCTCAGGACCTCATTCGTGGGCTGCTGTGTCC
TGCTGAGATAAGGCTAGGTTCGAGGTGGGGCAGACTTCGAGGGTGCCACGGACACA
TGCAATTTTCGATGTGGTGGAGGACCGGCTCACTGCCATGGTGAGCGGGGGCGGGG
AGACGCTGTCAGACATGCAGGAAGACATGCCCCCTGGGGTGCGCCTGCCCTTCGT
GGGCTACTCCTACTGCTGCATGGCCTTCAGAGACAATCAGGTCCCGGACCCACCC
CTATGGAAGTAGAGGCCCTGCAGTTGCCTGTGTCAGACTTGCAAGGGCTTGACTTG

[0164]

CAGCCCCCAGTGTCCCCACCGGATCAAGTGGCTGAAGAGGCTGACCTAGTGGCTG
TCCCTGCCCTGTGGCTGAGGCAGAGACCACGGTAACGCTGCAGCAGCTCCAGGA
AGCCCTGGAAGAAGAGGTTCTCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGCGAGCTGGAGGCC
ATCCGGACCGCCAACCAGAACTTCTCCAGCCAACCTACAGGAGGCCGAGGTCCGAA
ACCGAGACCTGGAGGCGCATGTTTCGGCAGCTACAGGAACGGATGGAGATGCTGCA
GGCCCCAGGAGCCGCAGCCATCACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCA
CCTTCCCATCTAGATGGCCCCCGGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGG
GCCAGGCCCCATGCACCGCCGTCACCTGCTGCTCCCTGCCAGGATCCCTAGGCCTG
GCCTATCCGAGGCGCGTTGCCTGCTCCTGTTTCGCCGCTGCTCTGGCTGCTGCCGCC
AACTGGGCTGCACTGGGTTGGTGGCCTATACCGGCGGTCTACCCCAGTCTGGTG
TTTCCCGGGAGCCACCTTCGCCCCCTGAACCCTAAGACTCCAAGCCATCTTTCATT
TAGGCCTCCTAGGAAGGTCGAGCGACCAGGGAGCGACCCAAAGCGTCTCTGTGCC
CATCGCGCCCCCCCCCCCCCCCCACCGCTCCGCTCCACACTTCTGTGAGCCTGGGT
CCCCACCCAGCTCCGCTCCTGTGATCCAGGCCTGCCACCTGGCGGCCGGGGAGGG
AGGAACAGGGGCTCGTGCCAGCACCCCTGGTTCTGCAGAGCTGGTAGCCACCGC
TGCTGCAGCAGCTGGGCATTTCGCCGACCTTGCTTTACTCAGCCCCGACGTGGATGG
GCAAACCTGCTCAGCTCATCCGATTTCACTTTTTCACTCTCCCAGCCATCAGTTACAA
GCCATAAGCATGAGCCCCCTATTTCCAGGGACATCCCATTTCCATAGTGATGGATC
AGCAAGACCTCTGCCAGCACACACGGAGTCTTTGGCTTCGGACAGCCTCACTCCTG
GGGGTTGCTGCAACTCCTTCCCCGTGTACACGTCTGCACTCTAACAAACGGAGCCAC
AGCTGCACTCCCCCTCCCCAAAGCAGTGTGGGTATTTATTGATCTTGTTATCTG
ACTCACTGACAGACTCCGGGACCCACGTTTTAGATGCATTGAGACTCGACATTCTC
CGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTACGACCTCCACTCCCGACCCTTGCGAATAAA
ATACTTCTGGTCTGCCCTAAA (SEQ ID NO: 25).

[0165] 在一些实施方案中,寡核苷酸可包含多个物种(例如,选自人、小鼠和非人物种(例如食蟹猴))的DMPK基因序列之互补区。

[0166] 在一些实施方案中,寡核苷酸可包含DMPK的突变体形式之互补区,所述突变体形式例如如在以下中报道的突变体形式:Botta A.et al.“The CTG repeat expansion size correlates with the splicing defects observed in muscles from myotonic dystrophy type 1 patients.”J Med Genet.2008Oct;45(10):639-46.;和Machuca-Tzili L.et al.“Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies:a review.”Muscle Nerve.2005Jul;32(1):1-18.;其各自的内容以其整体并入本文。

[0167] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸是靶向DMPK的反义寡核苷酸。在一些实施方案中,靶向DMPK的寡核苷酸是靶向DMPK的任一种反义寡核苷酸,如美国专利申请公开US20160304877A1中所述,其于2016年10月20日公开,标题为“Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophin Myotonic-Protein Kinase (DMPK) Expression,”其通过引用并入本文)。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸靶向如Genbank登录No.NM_001081560.2中所示的DMPK基因序列(SEQ ID NO:24)或如Genbank登录No.NG_009784.1中

所示的DMPK基因序列(SEQ ID NO:26)的区域。

[0168] 在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸包含含有靶区域之互补区的核苷酸序列,所述靶区域是SEQ ID NO:24的至少8个连续核苷酸(例如,至少8个、至少9个、至少10个、至少12个、至少14个、至少16个、至少18个、至少20个或更多个连续核苷酸)。

[0169] 在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸的长度为10至35(例如,10至35、10至30、10至25、10至20、10至15、15至35、15至30、15至25、15至20、20至35、20至30、13至18、14至17、15至18、20至30、15至17、27至30、25至35或30至35)个核苷酸。在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸的长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸,任选地长度为15至30或16个核苷酸。在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸的长度为16个核苷酸。

[0170] 在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸包含DMPK RNA的至少8个(例如,至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或更多个)连续核苷酸的互补区。

[0171] 在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:24或25中所示的DMPK序列的至少8个(例如,至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或更多个)连续核苷酸的互补区。

[0172] 在一些实施方案中,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:22(TGACTGGTGGGCGCTG)中所示的靶序列的至少8个(例如,至少8、9、10、11、12、13、14、15或16个)连续核苷酸的互补区。在一些实施方案中,可用于靶向DMPK的寡核苷酸包含SEQ ID NO:21(CAGCGCCCACCAGUCA)中所示序列的至少8个(例如,至少8、9、10、11、12、13、14、15或16个)连续核苷酸。在一些实施方案中,可用于靶向DMPK的寡核苷酸包含SEQ ID NO:21的核苷酸序列。

[0173] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型。包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸可指这样的嵌合反义化合物:其中具有多个支持RNA酶H切割的核苷的间隔区位于具有一个或更多个核苷的侧翼区之间,其中包含间隔区的核苷在化学上不同于包含侧翼区的一个或更多个核苷。在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z作为间隔区Y周围的侧翼区。在一些实施方案中,间隔区Y包含一个或更多个2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷均是2'-脱氧核糖核苷,并且侧翼区X或侧翼区Z均不包含任何2'-脱氧核糖核苷。

[0174] 在一些实施方案中,间隔区Y包含6个或更多个2'-脱氧核糖核苷的连续区段,其能够募集RNA酶,例如RNA酶H。在一些实施方案中,寡核苷酸与靶核酸结合,在该点募集RNA酶,并随后可切割该靶核酸。在一些实施方案中,侧翼区X和Z各自包含一个或更多个经修饰核苷。在一些实施方案中,侧翼区X和Z各自包含一个或更多个高亲和力经修饰核苷,例如一至六个高亲和力经修饰核苷。高亲和力经修饰核苷的一些实例包括但不限于2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE、2'-O-Me、2'-F)或2'-4'-双环核苷(例如,LNA、cEt、ENA)。在一些实施方案中,侧翼区X和Z的长度可以是1至20个核苷酸、1至8个核苷酸或1至5个核苷酸。侧翼区X和Z可具有相似的长度或不同的长度。在一些实施方案中,间隔区Y可包含长度为5至20个核苷酸、5至15个核苷酸、5至12个核苷酸或6至10个核苷酸的核苷酸序列。

[0175] 在一些实施方案中,间隔区Y包含一个或更多个未经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,一个或两个侧翼区X和Z在至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个核苷酸之间各自独立地包含硫代磷酸酯核苷间键联(例如,硫代磷酸酯核苷间键联或其他键联)。在一些实施方案中,间隔区Y和两个侧翼区X和Z在至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个核苷酸之间各自独立地包含经修饰的核苷间键联(例如,硫代磷酸酯核苷间键联或其他键联)。

[0176] 在一些实施方案中,间隔聚体中间隔区Y的长度为5至20个核苷。例如,间隔区Y的长度可以是5至20、5至15、5至10、10至20、10至15或15至20个核苷。在一些实施方案中,间隔区Y的长度为5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的所有核苷均是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的一个或更多个核苷是经修饰核苷(例如,2' 经修饰核苷,例如本文中所述的那些)。在一些实施方案中,间隔区Y中的一个或更多个胞嘧啶任选地是5-甲基-胞嘧啶。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个胞嘧啶是5-甲基-胞嘧啶。

[0177] 在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X(5'-X-Y-Z-3' 构型中的X)和寡核苷酸的侧翼区Z(5'-X-Y-Z-3' 构型中的Z)独立地为1至20个核苷长。例如,寡核苷酸的侧翼区X和寡核苷酸的侧翼区Z可独立地为1至20、1至15、1至10、1至7、1至5、1至3、1至2、2至5、2至7、3至5、3至7、5至20、5至15、5至10、10至20、10至15或15至20个核苷长。在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X和寡核苷酸的侧翼区Z独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷长。在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X和寡核苷酸的侧翼区Z具有相同的长度。在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X和寡核苷酸的侧翼区Z具有不同的长度。在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X比寡核苷酸的侧翼区Z长。在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X比寡核苷酸的侧翼区Z短。

[0178] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)包含以下的5'-X-Y-Z-3' 构型:

[0179] 5-10-5,4-12-4,3-14-3,2-16-2,1-18-1,3-10-3,2-10-2,1-10-1,2-8-2,4-6-4,3-6-3,2-6-2,4-7-4,3-7-3,2-7-2,4-8-4,3-8-3,2-8-2,1-8-1,2-9-2,1-9-1,2-10-2,1-10-1,1-12-1,1-16-1,2-15-1,1-15-2,1-14-3,3-14-1,2-14-2,1-13-4,4-13-1,2-13-3,3-13-2,1-12-5,5-12-1,2-12-4,4-12-2,3-12-3,1-11-6,6-11-1,2-11-5,5-11-2,3-11-4,4-11-3,1-17-1,2-16-1,1-16-2,1-15-3,3-15-1,2-15-2,1-14-4,4-14-1,2-14-3,3-14-2,1-13-5,5-13-1,2-13-4,4-13-2,3-13-3,1-12-6,6-12-1,2-12-5,5-12-2,3-12-4,4-12-3,1-11-7,7-11-1,2-11-6,6-11-2,3-11-5,5-11-3,4-11-4,1-18-1,1-17-2,2-17-1,1-16-3,1-16-3,2-16-2,1-15-4,4-15-1,2-15-3,3-15-2,1-14-5,5-14-1,2-14-4,4-14-2,3-14-3,1-13-6,6-13-1,2-13-5,5-13-2,3-13-4,4-13-3,1-12-7,7-12-1,2-12-6,6-12-2,3-12-5,5-12-3,1-11-8,8-11-1,2-11-7,7-11-2,3-11-6,6-11-3,4-11-5,5-11-4,1-18-1,1-17-2,2-17-1,1-16-3,3-16-1,2-16-2,1-15-4,4-15-1,2-15-3,3-15-2,1-14-5,2-14-4,4-14-2,3-14-3,1-13-6,6-13-1,2-13-5,5-13-2,3-13-4,4-13-3,1-12-7,7-12-1,2-12-6,6-12-2,3-12-5,5-12-3,1-11-8,8-11-1,2-11-7,7-11-2,3-11-6,6-11-3,4-11-5,5-11-4,1-19-1,1-18-2,2-18-1,1-17-3,3-17-1,2-17-2,1-16-4,4-16-1,2-16-3,3-16-2,1-15-5,2-15-4,4-

15-2,3-15-3,1-14-6,6-14-1,2-14-5,5-14-2,3-14-4,4-14-3,1-13-7,7-13-1,2-13-6,6-13-2,3-13-5,5-13-3,4-13-4,1-12-8,8-12-1,2-12-7,7-12-2,3-12-6,6-12-3,4-12-5,5-12-4,2-11-8,8-11-2,3-11-7,7-11-3,4-11-6,6-11-4,5-11-5,1-20-1,1-19-2,2-19-1,1-18-3,3-18-1,2-18-2,1-17-4,4-17-1,2-17-3,3-17-2,1-16-5,2-16-4,4-16-2,3-16-3,1-15-6,6-15-1,2-15-5,5-15-2,3-15-4,4-15-3,1-14-7,7-14-1,2-14-6,6-14-2,3-14-5,5-14-3,4-14-4,1-13-8,8-13-1,2-13-7,7-13-2,3-13-6,6-13-3,4-13-5,5-13-4,2-12-8,8-12-2,3-12-7,7-12-3,4-12-6,6-12-4,5-12-5,3-11-8,8-11-3,4-11-7,7-11-4,5-11-6,6-11-5,1-21-1,1-20-2,2-20-1,1-20-3,3-19-1,2-19-2,1-18-4,4-18-1,2-18-3,3-18-2,1-17-5,2-17-4,4-17-2,3-17-3,1-16-6,6-16-1,2-16-5,5-16-2,3-16-4,4-16-3,1-15-7,7-15-1,2-15-6,6-15-2,3-15-5,5-15-3,4-15-4,1-14-8,8-14-1,2-14-7,7-14-2,3-14-6,6-14-3,4-14-5,5-14-4,2-13-8,8-13-2,3-13-7,7-13-3,4-13-6,6-13-4,5-13-5,1-12-10,10-12-1,2-12-9,9-12-2,3-12-8,8-12-3,4-12-7,7-12-4,5-12-6,6-12-5,4-11-8,8-11-4,5-11-7,7-11-5,6-11-6,1-22-1,1-21-2,2-21-1,1-21-3,3-20-1,2-20-2,1-19-4,4-19-1,2-19-3,3-19-2,1-18-5,2-18-4,4-18-2,3-18-3,1-17-6,6-17-1,2-17-5,5-17-2,3-17-4,4-17-3,1-16-7,7-16-1,2-16-6,6-16-2,3-16-5,5-16-3,4-16-4,1-15-8,8-15-1,2-15-7,7-15-2,3-15-6,6-15-3,4-15-5,5-15-4,2-14-8,8-14-2,3-14-7,7-14-3,4-14-6,6-14-4,5-14-5,3-13-8,8-13-3,4-13-7,7-13-4,5-13-6,6-13-5,4-12-8,8-12-4,5-12-7,7-12-5,6-12-6,5-11-8,8-11-5,6-11-7或7-11-6

[0180] 数字分别表示包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸中X、Y和Z区中的核苷的数目。

[0181] 在一些实施方案中,寡核苷酸的侧翼区X(5'-X-Y-Z-3'构型中的X)或寡核苷酸的侧翼区Z(5'-X-Y-Z-3'构型中的Z)中的一个或多个核苷是经修饰核苷(例如,高亲和力经修饰核苷)。在一些实施方案中,经修饰核苷(例如,高亲和力经修饰核苷)是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷或非双环2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,高亲和力经修饰核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA))。

[0182] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中的第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中Z中的第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。

在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中的第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)和Z中的第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。

[0183] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)的长度为10至20个核苷(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷),包含SEQ ID NO:22 (TGACTGGTGGGCGCTG)的至少8个连续核苷(例如,至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个或16个连续核苷)之互补区,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至10个(例如6、7、8、9或10个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且Z包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0184] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含SEQ ID NO:21 (CAGCGCCCACCAGUCA)的核苷酸序列的至少8个连续核苷(例如,至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个或16个连续核苷连续核苷),并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至10个(例如6、7、8、9或10个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且Z包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的核苷酸序列的每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地被尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地被T替代。

[0185] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含SEQ ID NO:21的核苷酸序列,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至5个(例如,3、4或5个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至10个(例如6、7、8、9或10个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且Z包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的核苷酸序列的每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地被尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地被T替代。

[0186] 在一些实施方案中,X包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷),和/或(例如,和)Z包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0187] 在一些实施方案中,2'-4' 双环核苷选自LNA、cEt和ENA核苷。在一些实施方案中,非双环2'-经修饰核苷是2'-MOE修饰的核苷或2'-OMe修饰的核苷。

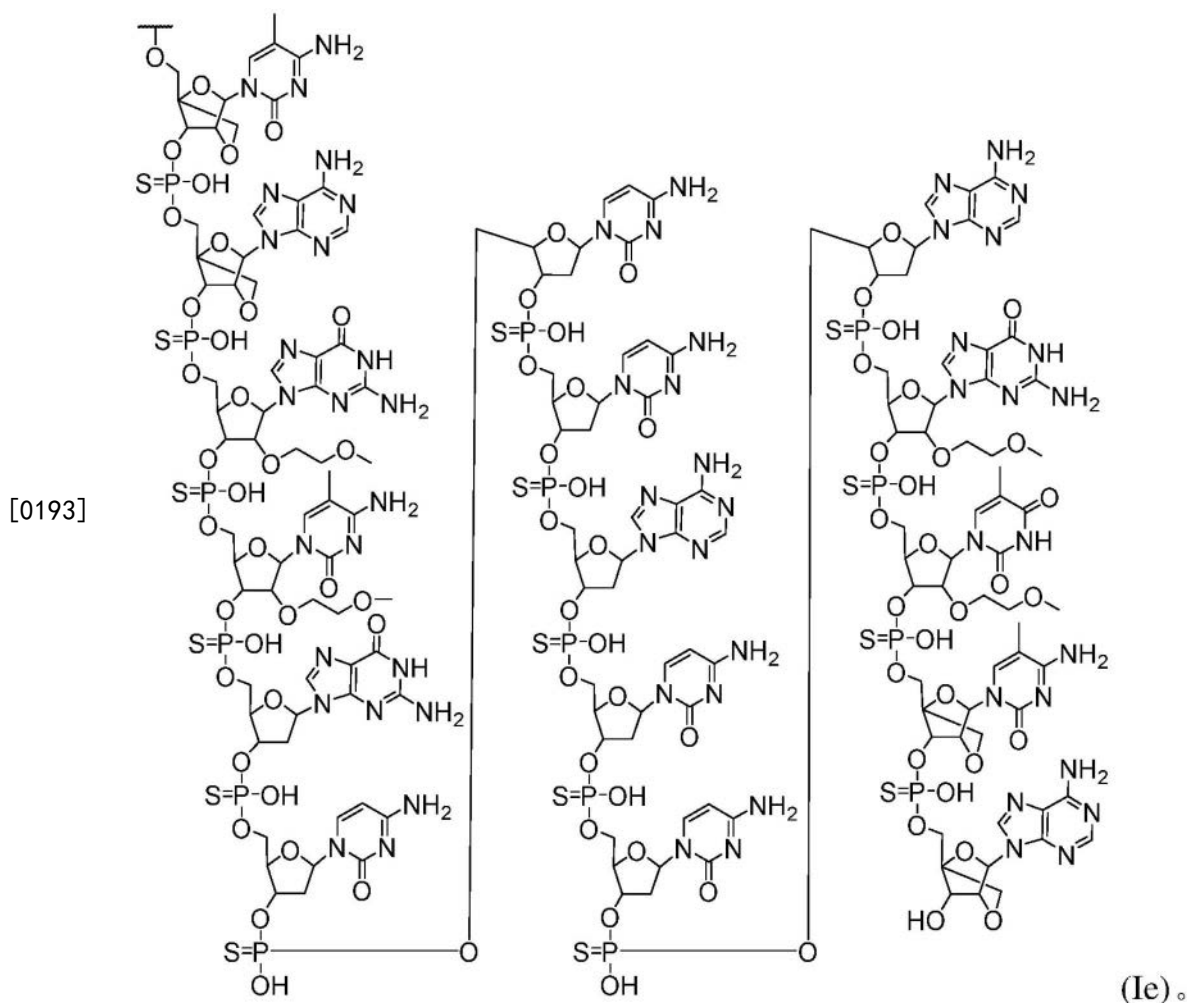
[0188] 在一些实施方案中,寡核苷酸的核苷通过硫代磷酸酯核苷间键联、磷酸二酯核苷间键联或其组合连接在一起。在一些实施方案中,寡核苷酸仅包含连接每个核苷的硫代磷酸酯核苷间键联(即寡核苷酸包含完全硫代磷酸酯骨架)。在一些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷间键联和磷酸二酯核苷间键联的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸仅包含连接每对2'-脱氧核糖核苷的硫代磷酸酯核苷间键联,以及连接剩余核苷的硫代磷酸酯核苷间键联和磷酸二酯核苷间键联的混合物。

[0189] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含LLEE-(D)₈-EELL的5'-X-Y-Z-3' 构型,其中“E”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“L”是LNA;“D”是2'-脱氧核糖核苷;并且“10”或“8”是Y中2'-脱氧核糖核苷的数目,并且其中寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷间键联、磷酸二酯核苷间键联或其组合。

[0190] 在一些实施方案中,寡核苷酸的X和/或Z中的每个胞苷(例如,2'-经修饰胞苷)任选且独立地是5-甲基-胞苷,和/或者X和/或Z中的每个尿苷(例如,2'-经修饰尿苷)任选且独立地是5-甲基-尿苷。

[0191] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含5'-X-Y-Z-3' 构型,并且包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列。在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A(SEQ ID NO:21)的结构,其中+N表示LNA(2'-4' 亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-O-甲氧基乙基(MOE)修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4' 亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,*表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0192] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)包含式(Ie)的结构:



[0194] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸(例如,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸)可以是盐形式,例如,钠盐、钾盐或镁盐。

[0195] 在一些实施方案中,寡核苷酸的5' 或3' 核苷(例如末端核苷)任选地通过间隔基与胺基缀合。在一些实施方案中,间隔基包含脂族部分。在一些实施方案中,间隔基包含聚乙二醇部分。在一些实施方案中,间隔基与寡核苷酸的5' 或3' 核苷之间存在磷酸二酯键联。在一些实施方案中,本文中所述寡核苷酸的5' 或3' 核苷(例如,末端核苷)与间隔基共价连接,所述间隔基是经取代或未经取代的脂族、经取代或未经取代的杂脂族、经取代或未经取代的亚碳环基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、-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-, 或其组合;每个R^A独立地是氢或者经取代或未经取代的烷基。在某些实施方案中,间隔基是经取代或未经取代的亚烷基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚杂芳基、-O-, -N(R^A)-或-C(=O)N(R^A)₂, 或其组合。

[0196] 在一些实施方案中,寡核苷酸的5' 或3' 核苷与式-NH₂-(CH₂)_n-化合物缀合,其中n为1至12的整数。在一些实施方案中,n是6、7、8、9、10、11或12。在一些实施方案中,在式-NH₂-(CH₂)_n-化合物与寡核苷酸的5' 或3' 核苷之间存在磷酸二酯键联。在一些实施方案中,式-NH₂-(CH₂)₆-化合物通过6-氨基-1-己醇(NH₂-(CH₂)₆-OH)与寡核苷酸的5' 磷酸之间的反应与寡核苷酸缀合。

[0197] 在一些实施方案中,寡核苷酸例如通过靶向剂的赖氨酸的胺基与靶向剂,例如肌肉靶向剂(例如抗TfR1抗体)缀合。

[0198] 在一些实施方案中,应该理解在C5位处核碱基尿嘧啶的甲基化形成胸腺嘧啶。因此,在一些实施方案中,具有C5甲基化尿嘧啶(或5-甲基-尿嘧啶)的核苷酸或核苷可以等同地鉴定为胸腺嘧啶核苷酸或核苷。

[0199] 在一些实施方案中,本文中提供的任一种寡核苷酸中的任一个或更多个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地为尿嘧啶碱基(U),和/或本文中提供的寡核苷酸(例如,SEQ ID NO:21中所示的寡核苷酸)中的任一个或更多个U可独立且任选地为T。

[0200] 组合物

[0201] 在一些实施方案中,包含复合物(即,多个复合物)的组合物以适合于本文中所述方法的方式制备。在一些实施方案中,将包含肌肉靶向复合物的组合物以这样的方式递送至对象:使降解最小化、促进递送和/或(例如,和)摄取或者为组合物中的复合物提供另外的有益特性。因此,在一些实施方案中,包含复合物(例如,多个包含与Fab共价连接的寡核苷酸的复合物)的组合物包含三(羟甲基)氨基甲烷和/或蔗糖。在一些实施方案中,在水溶液中,包含肌肉靶向复合物(例如包含与Fab共价连接的寡核苷酸的复合物)的组合物包含三(羟甲基)氨基甲烷和/或蔗糖。在一些实施方案中,可以将包含多个复合物、三(羟甲基)氨基甲烷和蔗糖的组合物冻干(例如,用于储存)。在一些实施方案中,冻干组合物可以重构(例如,用水)以施用于对象。在一些实施方案中,可以将包含多个复合物、三(羟甲基)氨基甲烷和蔗糖的组合物冷冻(例如,用于储存)。在一些实施方案中,冷冻的组合物可以在施用于对象之前解冻,例如,以产生水溶液。可适当地制备组合物(例如,在水溶液中、在冷冻组合物中或在冻干组合物中),使得当将其施用于对象时,无论是施用到靶细胞的直接环境中还是全身性施用,都有足够量的复合物进入靶肌细胞。

[0202] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含复合物(即,多个复合物),每个复合物包含与抗体共价连接的寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸)。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含复合物,其中每个复合物包含与抗TfR1抗体共价连接的寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸),任选地其中这样的复合物的抗体包含如表2中所示的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且此外,在一些实施方案中,其中所述组合物还包含三(羟甲基)氨基甲烷和蔗糖。在一些实施方案中,所述抗体是抗TfR1Fab。

[0203] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含复合物(即,多个复合物),所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中每个 R^1 独立地包含含有寡核苷酸(例如,包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸)的化合物并与 R^2 共价连接,其中 R^2 包含抗体(例如,抗TfR1抗体),并且其中在每个复合物中, $n1$ 独立地为1或更大的整数,其表示每个复合物中 R^1 的实例数。

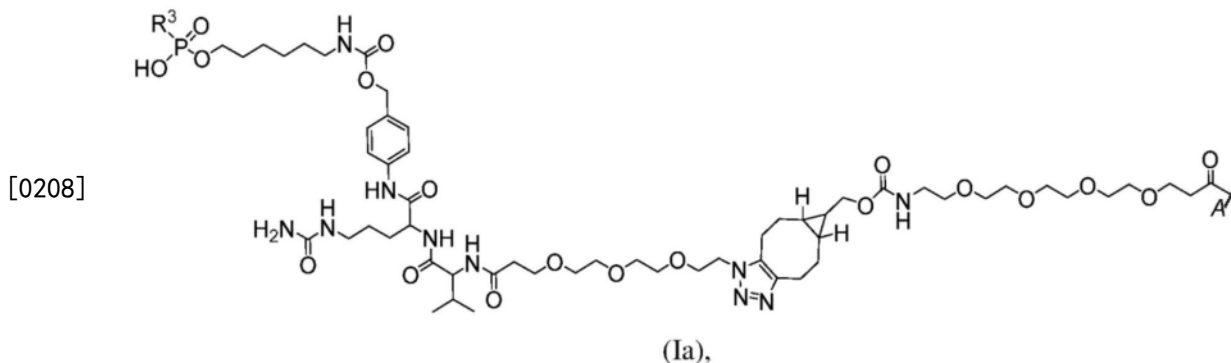
[0204] 在一些实施方案中,组合物中的每个复合物的 $n1$ 的值独立且任选地为从1至高至抗体(R^2)中期望或靶向缀合的氨基酸残基的数目(例如,赖氨酸残基的数目)的整数。在一些实施方案中,组合物中的每个复合物的 $n1$ 的值独立且任选地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26和27。在一些实施方案中,组合

物中的每个复合物的 n_1 的值独立且任选地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25和26。在一些实施方案中,组合物中的每个复合物的 n_1 的值独立且任选地选自1至27、1至26、1至10、1至5或1至3的整数。在一些实施方案中,组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1至2、1至3、1至5、1至10、1至26或1至27。

[0205] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物包含未缀合的抗体(例如,以痕量计)和与一个或更多个寡核苷酸缀合的抗体。在一些实施方案中,未缀合的抗体可以被称为包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 结构的化合物,其中 n_1 为0。因此,在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物包含含有式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 结构的化合物(例如,复合物),其中每个 R^1 独立地包含含有寡核苷酸的基团, R^2 包含抗体并且 n_1 独立地为0或更大的整数,其反映每个化合物(例如,复合物)中 R^1 的实例数。在一些实施方案中,与组合物中 n_1 为1或更大的所有具有式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 结构的化合物相比,组合物中 n_1 为0的包含该结构的化合物的级分少于10%、少于5%、少于1%、少于0.5%、少于0.1%、少于0.05%或少于0.01%。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0206] 在一些实施方案中,本文中复合物(例如,本文中提供的组合物中的复合物)中 R^1 的每个实例与抗体的不同氨基酸残基缀合。在一些实施方案中,每个不同氨基酸包含 ϵ -氨基(例如赖氨酸、精氨酸)。然而,在一些实施方案中,与 R^1 共价连接的每个不同氨基酸是半胱氨酸。在一些实施方案中, R^1 与抗体的氨基酸残基直接共价连接。然而,在一些实施方案中, R^1 与抗体的氨基酸间接共价连接,例如,与氨基酸上的糖基化位点共价连接。在一些实施方案中,提供了组合物,其中其 R^1 与存在于抗体CDR区中的氨基酸残基共价连接的复合物仅以痕量存在、或以不可检出的量存在、或根本不存在。在一些实施方案中,提供了组合物,其中使用标准检测技术在组合物中检测不到 R^1 与存在于抗体CDR区中的氨基酸残基共价连接的复合物。

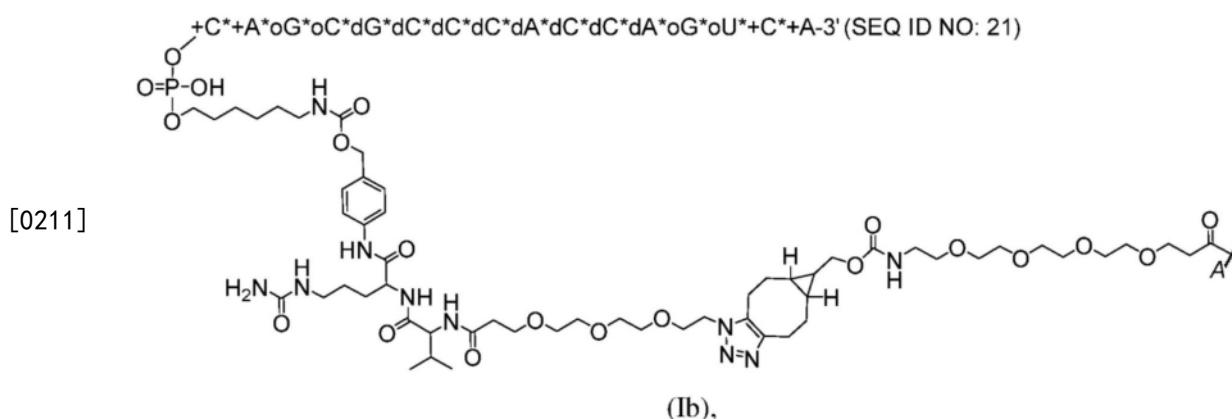
[0207] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含复合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中在本文中提供的组合物中的复合物中 R^1 的每个实例独立地包括式(Ia)基团:



[0209] 其中 R^3 包含寡核苷酸,例如含有5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸;并且 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接。在一些实施方案中, R^2 包含含有如表2所示序列的抗体。例如,在一些实施方

案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1), 含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2), 含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3); 和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1), 含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区 (VH), 和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链可变区 (VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH, 和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体, 该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab' 片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv或Fv。在一些实施方案中, R^3 包含寡核苷酸, 该寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列。在一些实施方案中, R^3 包含寡核苷酸, 该寡核苷酸包含 $+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dA^*dC^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A$ (SEQ ID NO:21) 的结构, 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中, 在每个复合物中, n_1 独立地为整数 (例如, 1至27、1至26、1至10、1至5、或1至3的整数)。在一些实施方案中, 用于在本文所述的方法中向对象施用的组合物 (例如, 在水溶液中) 还包含其中 n_1 为0的复合物。

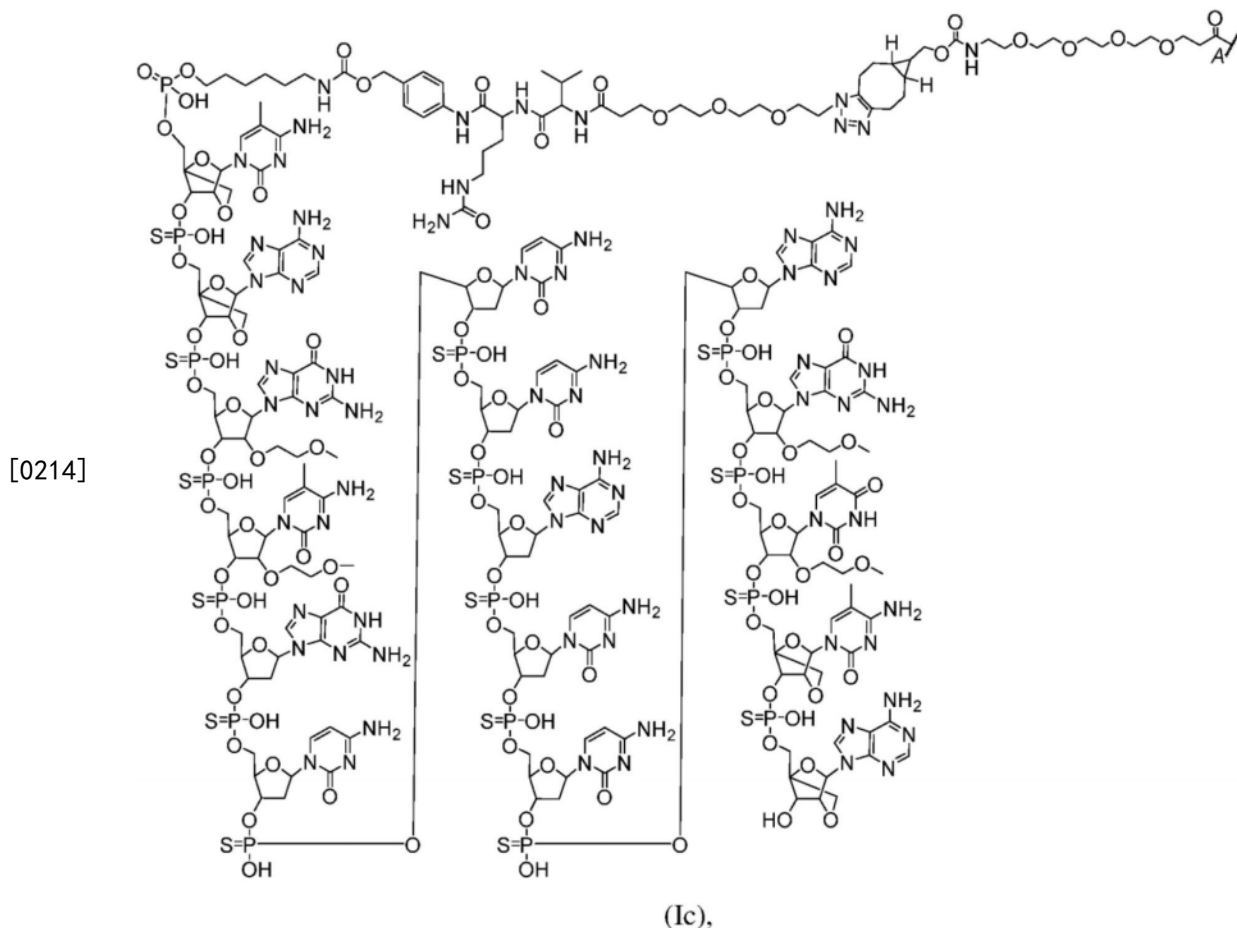
[0210] 在一些实施方案中, 用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物 (例如, 在水溶液中) 包含复合物, 所述复合物包含式 (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构, 其中本文中提供的组合物中的复合物中 R^1 的每个实例包含式 (Ib) 基团:



[0212] 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -O-甲氧基乙基 (MoE) 修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, *表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且其中寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列, 其中 n_1 是整数

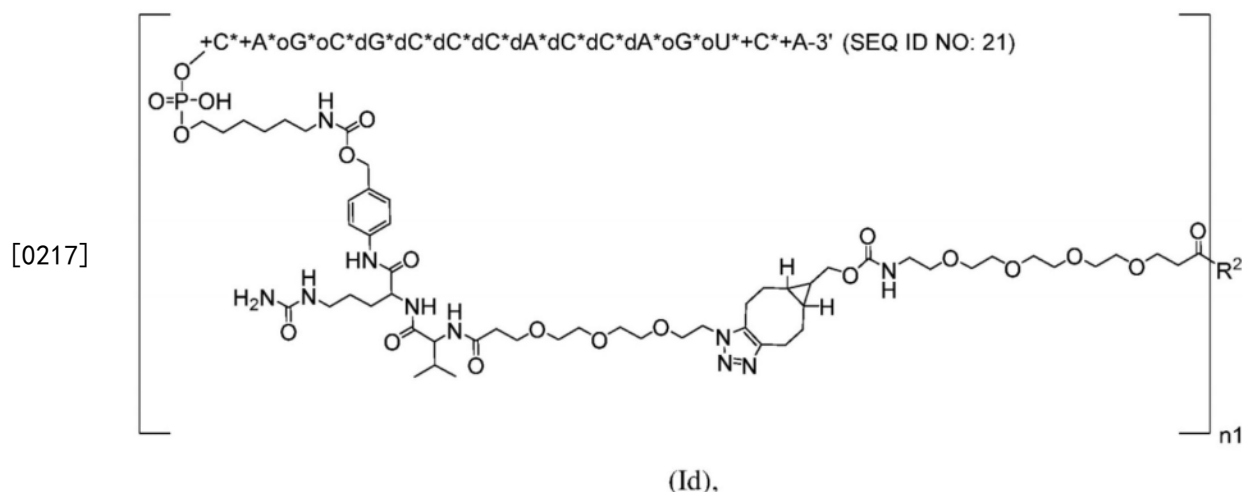
(例如1或更大),其表示每个复合物中 R^1 的实例数,并且每个 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接。在一些实施方案中, R^2 包含含有如表2所示序列的抗体。例如,在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH),和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH,和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链,和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab'片段、F(ab')₂片段、scFv或Fv。在一些实施方案中, R^2 包含作为Fab片段的抗体。在一些实施方案中,在每个复合体中, n_1 独立地为整数(例如,1至27、1至26、1至10、1至5或1至3的整数)。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)还包含其中 n_1 为0的复合物。

[0213] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含复合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中本文中提供的组合物中的复合物中 R^1 的每个实例包含式(Ic)基团:



[0215] 其中 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接。在一些实施方案中, R^2 包含含有如表2所示序列的抗体。例如,在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH),和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH,和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链,和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85% (例如,至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, R^2 包含抗体,该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab' 片段、F(ab')₂片段、scFv或Fv。在一些实施方案中, R^2 包含作为Fab片段的抗体。在一些实施方案中,在每个复合体中, n_1 独立地为整数(例如,1至27、1至26、1至10、1至5、或1至3的整数)。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)还包含其中 n_1 为0的复合物。

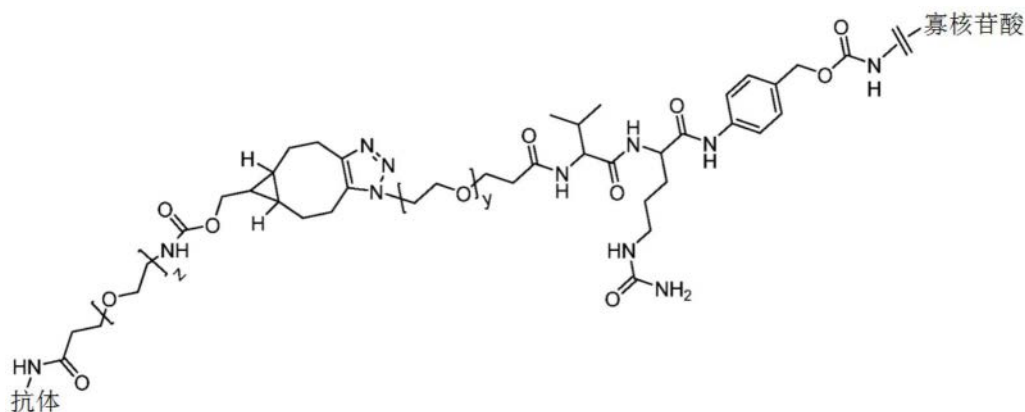
[0216] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含复合物,所述复合物包含式(Id)的结构:



[0218] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-O-甲氧基乙基(MoE)修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,*表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列;其中R²包含含有如表2所示序列的抗体;其中n₁是整数(例如1或更大),其表示由方括号括起的基团的实例数,其中由方括号括起的基团的每个实例与抗体的不同氨基酸残基共价连接,任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸。在一些实施方案中,R²包含抗体,该抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3);和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中,R²包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH),和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中,R²包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH,和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,R²包含抗体,该抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的重链,和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85%(例如,至少95%)同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,R²包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链,和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,R²包含抗体,该抗体是Fab片段、全长IgG、Fab'片段、F(ab')₂片段、scFv或Fv。在一些实施方案中,R²包含作为Fab片段的抗体。在一些实施方案中,在每个复合物中,n₁独立地为整数(例如,1至27、1至26、1至10、1至5、或1至3的整数)。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)还包含其中n₁为0的复合物。

[0219] 在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)包含式(A)的结构:

[0220]



[0221] (A), 其中 y 为0至15 (例如3), 并且 z 为0至15 (例如4)。在一些实施方案中, 在结构(A)中示出的与抗体(例如, 抗TfR1抗体)相邻的酰胺是由与抗体的胺(例如赖氨酸 ϵ 胺)的反应产生的。在一些实施方案中, 本文中所述的复合物包含通过抗体的赖氨酸与寡核苷酸(例如, 包含5'-X-Y-Z-3'构型的寡核苷酸)共价连接的抗TfR1抗体(例如, 抗TfR1Fab)。在一些实施方案中, 抗体包含如表2中所示的序列。例如, 在一些实施方案中, 抗体包含含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1), 含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2), 含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3); 和/或包含含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1), 含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3)。在一些实施方案中, 抗体包含含有与SEQ ID NO:17具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH), 和/或包含含有与SEQ ID NO:18具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施方案中, 抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH, 和/或包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中, 抗体包含含有与SEQ ID NO:19具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有与SEQ ID NO:20具有至少85% (例如, 至少95%) 同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, 抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链, 和/或包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中, 抗体是Fab片段、全长IgG、Fab' 片段、F(ab')₂片段、scFv或Fv。在一些实施方案中, 抗体是Fab片段。

[0222] 在一些实施方案中, 组合物被配制成为与其预期施用途径相容。施用途径的一些实例包括肠胃外施用, 例如静脉内、皮内、皮下施用。通常, 施用途径是静脉内或皮下。

[0223] 使用/治疗/给药的方法

[0224] 如本文中所述的, 包含与分子载荷(例如, DMPK靶向寡核苷酸)共价连接的抗TfR1抗体(例如, Fab)的复合物在治疗患有强直性肌营养不良(例如, DM1)的对象中是有效的。在一些实施方案中, 复合物包含分子载荷, 所述分子载荷是寡核苷酸, 例如促进对象(例如, 患有DM1的对象)中DMPK的表达或活性降低(例如, 突变体或野生型DMPK RNA水平降低)的寡核苷酸。

[0225] 在一些实施方案中, 对象可以是人对象、非人灵长类对象(例如食蟹猴)、啮齿动物对象、或任何合适的哺乳动物对象。在一些实施方案中, 所述对象是人。在一些实施方案中, 所述对象是新生儿或年轻儿科人对象(例如, 小于4岁、小于3岁、小于2岁、小于1岁、约11个

月大、约10个月大、约9个月大、约8个月大、约7个月大、约6个月大、约5个月大、约4个月大、约3个月大、约2个月大或约1个月大的人对象)。在一些实施方案中,所述对象是2至60岁(例如,2至60岁、2至50岁、2至40岁、2至30岁、2至20岁、2至10岁)的人对象。在一些实施方案中,所述对象是5至30岁(例如,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或30岁)的人对象。在一些实施方案中,所述对象是18至50岁(例如,18至50、18至45、18至40、18至35、18至30、18至25、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或50岁)的人对象。在一些实施方案中,所述对象是60岁或更大(例如,约60岁、约65岁、约70岁、约75岁或约80岁)的人对象。在一些实施方案中,所述对象是5至12岁(例如,5、6、7、8、9、10、11或12岁)的人对象。在一些实施方案中,所述对象是4至16岁(例如,4至16、5至16、6至16、7至16、8至16、9至16、10至16、11至16、12至16、13至16、14至16、15至16、4至15、5至15、6至15、7至15、8至15、9至15、10至15、11至15、12至15、13至15、14至15、4至14、5至14、6至14、7至14、8至14、9至14、10至14、11至14、12至14、13至14、4至13、5至13、6至13、7至13、8至13、9至13、10至13、11至13、12至13、4至12、5至12、6至12、7至12、8至12、9至12、10至12、11至12、4至11、5至11、6至11、7至11、8至11、9至16、10至11、4至10、5至10、6至10、7至10、8至10、9至10、4至9、5至9、6至9、7至9、8至9、4至9、5至9、6至9、7至9、8至9、4至8、5至8、6至8、7至8、4至7、5至7、6至7、4至6、5至6或4至5岁)的人对象。在一些实施方案中,所述对象是约4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16岁的人对象。

[0226] 在一些实施方案中,对象可患有强直性肌营养不良,例如DM1。在一些实施方案中,对象具有DMPK等位基因,其可任选地包含疾病相关性重复,例如CTG三核苷酸重复扩增。在一些实施方案中,对象可具有DMPK等位基因,所述DMPK等位基因具有扩增的疾病相关性重复,所述扩增的疾病相关性重复包含约2至10个重复单元、约2至50个重复单元、约2至100个重复单元、约50至1,000个重复单元、约50至500个重复单元、约50至250个重复单元、约50至100个重复单元、约500至10,000个重复单元、约500至5,000个重复单元、约500至2,500个重复单元、约500至1,000个重复单元或约1,000至10,000个重复单元。在一些实施方案中,对象患有DM1的症状,例如肌肉萎缩、肌肉损失、日间过度嗜睡或认知延迟。在一些实施方案中,对象未患有DM1的症状。在一些实施方案中,对象患有先天性强直性肌营养不良。在一些实施方案中,对象是可走动的。在一些实施方案中,对象是不可走动的。

[0227] 本公开内容的一个方面包括涉及向对象施用有效量的包含如本文中所述复合物的组合物(例如,水溶液)的方法。在一些实施方案中,可将有效量的包含复合物的组合物(例如水溶液)施用于需要治疗的对象,所述复合物包含与本文中所述的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)共价连接的本文中所述的抗TfR1抗体(例如,Fab)。在一些实施方案中,组合物(例如水溶液)被全身性施用。在一些实施方案中,可通过合适的途径施用包含如本文中所述的复合物的药物组合物,所述合适的途径可包括静脉内施用,例如作为推注(bolus)或通过在规定时间内连续输注。在一些实施方案中,施用可以通过静脉内、肌肉内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内或鞘内途径进行。在一些实施方案中,包含如本文中所述的复合物的组合物(例如水溶液)通过输注(例如,静脉内输注)来施用。

[0228] 在一些实施方案中,包含多个本文中所述复合物的组合物可以是固体形式、水性形式或液体形式。在一些实施方案中,水性或液体形式可以被雾化或冻干。在一些实施方案

中,冻干形式可以用水溶液或液体溶液(例如,在施用之前,例如通过静脉内输注)重构。

[0229] 在一些实施方案中,提供了用于治疗具有与强直性肌营养不良(例如,DM1)相关的DMPK等位基因的对象的方法和/或用途,其包括向对象施用包含具有有效量复合物的本文中所述一种复合物或多种复合物的组合物。在一些实施方案中,提供了用于在对象中降低DMPK的表达或活性(例如,降低突变体或野生型DMPK RNA的水平,或DMPK基因产物的活性)的方法和/或用途,所述方法包括使细胞与包含具有有效量复合物的多种本文中所述复合物的组合物接触。在一些实施方案中,所述方法包括施用包含多种本文中所述复合物的组合物的冻干形式(例如冻干粉),其包括在水溶液中重构该组合物的冻干形式,并将该水溶液施用于有此需要的对象。例如,在一些实施方案中,包含一种或多种复合物的组合物的冻干形式以冻干形式运输和/或储存,在施用场所(例如,健康护理提供者场所)在水溶液中重构,并通过注射或静脉内(例如,通过输注)以重构形式(例如,作为水溶液)施用。在一些实施方案中,对象具有DMPK等位基因,其可任选地包含疾病相关性重复,例如CTG三核苷酸重复扩增。

[0230] 在一些实施方案中,组合物通过位点特异性或局部递送技术来施用。这些技术的一些实例包括复合物的可植入储库源、局部递送导管、位点特异性载体、直接注射或直接施加。

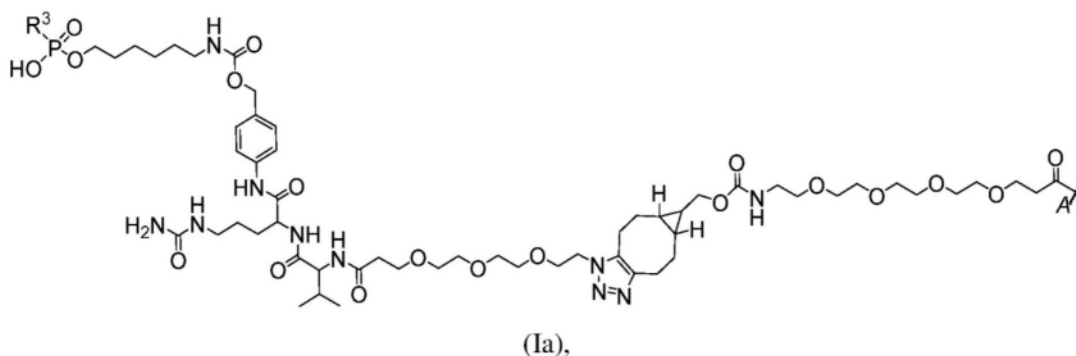
[0231] 在一些方面中,本文中提供了在对象中降低DMPK的表达或活性(例如,降低突变体或野生型DMPK RNA的水平,或DMPK基因产物的活性)的方法。在一些方面中,本文中提供了在对象中治疗强直性肌营养不良(例如,DM1)的方法。在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,每个复合物包含与一个或更多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体(例如Fab),其中所述抗体包含:含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),其中寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列,

[0232] 任选地其中所述寡核苷酸包含+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A(SEQ ID NO:21)的结构,其中+N表示LNA(2'-4' 亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4' 亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

[0233] 还任选地其中所述抗体(例如,Fab)包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL,还任选地其中所述抗体(例如,Fab)包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。

[0234] 在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,其中每个复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中本文中提供的组合物中的复合物中 R^1 的每个实例包含式(Ia)基团:

[0235]



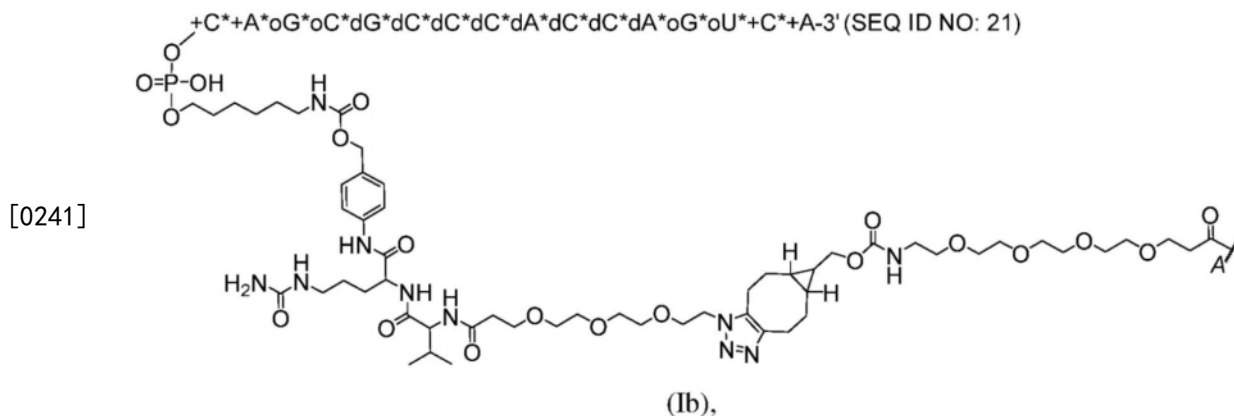
[0236] 其中 R^3 包含含有CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列的寡核苷酸,任选地其中 R^3 包含含有+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A (SEQ ID NO:21) 的结构的寡核苷酸,其中+N表示LNA (2'-4' 亚甲基桥) 核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷 (2'-4' 亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

[0237] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体(例如,Fab),其包含:含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL,还任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;

[0238] 其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接,任选地其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 的抗体(例如Fab)的不同氨基酸残基共价连接,任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸;以及

[0239] 其中在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,任选地其中组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1至5。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)还包含复合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中 n_1 为0。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0240] 在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,其中每个复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中本文中提供的组合物中的复合物中 R^1 的每个实例包含式(Ib)基团:



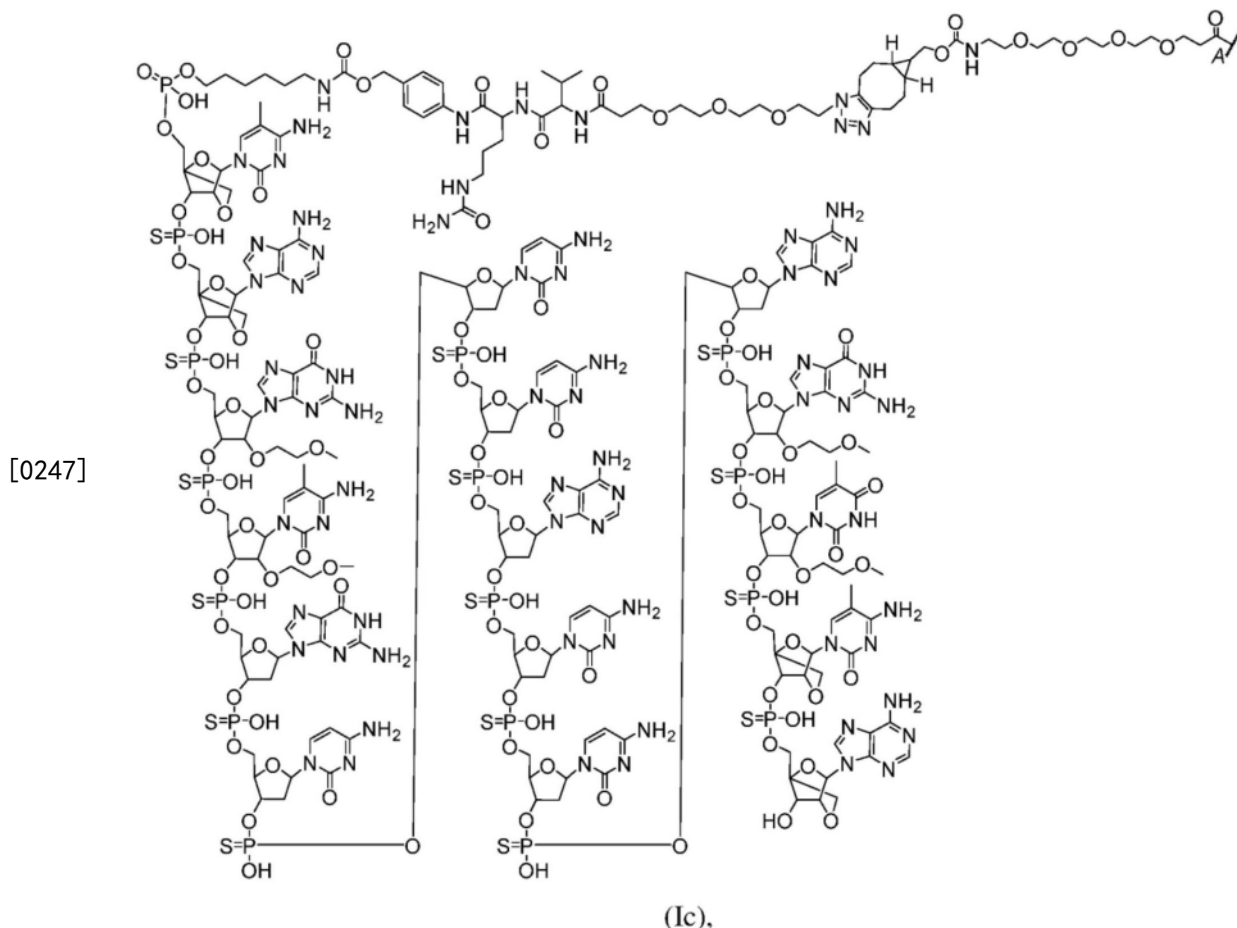
[0242] 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -0-甲氧基乙基 (MoE) 修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, *表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且其中所述寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO: 21) 的核碱基序列;

[0243] 其中R²包含抗TfR1抗体 (例如, Fab), 其包含: 含有如SEQ ID NO: 1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1), 含有如SEQ ID NO: 2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2), 含有如SEQ ID NO: 3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3), 含有如SEQ ID NO: 4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1), 含有如SEQ ID NO: 5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有如SEQ ID NO: 6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3), 任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO: 17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO: 18的氨基酸序列的VL, 还任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO: 19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO: 20的氨基酸序列的轻链;

[0244] 其中每个R¹在连接点A处与R²共价连接, 任选地其中每个R¹在连接点A处与R²的抗体 (例如Fab) 的不同氨基酸残基共价连接, 任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸; 以及

[0245] 其中在每个复合物中, n₁独立地为1或更大的整数, 其表示R¹的实例数, 任选地其中组合物中的复合物的n₁的平均值为1至5。在一些实施方案中, 用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物 (例如, 在水溶液中) 还包含复合物, 所述复合物包含式 (I): [R¹]_{n₁}-R²的结构, 其中n₁为0。因此, 在一些实施方案中, 本文中公开的组合物中的复合物的n₁的平均值为0.5至5 (例如, 0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0246] 在一些实施方案中, 本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物, 其中每个复合物包含式 (I): [R¹]_{n₁}-R²的结构, 其中复合物中的每个R¹包含式 (Ic) 基团:



[0248] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体(例如,Fab),其包含:含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),任选地其中该抗体(例如,Fab)包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL,还任选地其中该抗体(例如,Fab)包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;

[0249] 其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接,任选地其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 的抗体(例如Fab)的不同氨基酸残基共价连接,任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸;以及

[0250] 其中在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,任选地其中组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1至5。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的组合物(例如,在水溶液中)还包含复合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中 n_1 为0。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

10w/v%或约10w/v%的浓度存在于水溶液中,并且所述组合物的pH为7.5或约7.5。在一些实施方案中,复合物以10mg/mL至50mg/mL(例如,10mg/mL、15mg/mL、20mg/mL、25mg/mL、30mg/mL、35mg/mL、40mg/mL、45mg/mL、50mg/mL)的浓度存在于组合物中。

[0257] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团)。在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,复合物的有效量向对象提供了复合物中的一定量的抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象,并且可以使用下面的等式(等式A)推导出向对象提供的复合物中的寡核苷酸的量/kg对象:

$$[0258] \quad \text{寡核苷酸的量 (mg)} = \left(\frac{\text{抗TfR1抗体的量 (mg)}}{\text{抗TfR1抗体的MW (}\frac{\text{g}}{\text{mol}}\text{)}} \right) * \text{n1的平均值} * \text{寡核苷酸的MW (}\frac{\text{g}}{\text{mol}}\text{)},$$

[0259] 其中“MW”表示分子量(g/mol),并且“n1的平均值”表示组合物中的复合物的n1的平均值。

[0260] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团)。在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,有效量的复合物向对象提供复合物中的一定量的寡核苷酸/kg对象,并且可以使用下面的等式(等式B)推导出向对象提供的复合物中的寡核苷酸的量/kg对象:

$$[0261] \quad \text{抗TfR1抗体的量 (mg)} = \left(\frac{\left(\frac{\text{寡核苷酸的量 (mg)}}{\text{寡核苷酸的MW (}\frac{\text{g}}{\text{mol}}\text{)}} \right)}{\text{n1的平均值}} \right) * \text{抗TfR1抗体的MW (}\frac{\text{g}}{\text{mol}}\text{)},$$

[0262] 其中“MW”表示分子量(g/mol),并且“n1的平均值”表示组合物中的复合物的n1的平均值。

[0263] 应当理解,n1的平均值不必是整数,并且可以是小数。在一些实施方案中,本公开内容预期n1的平均值的变化至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。在一些实施方案中,组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、0.5至4.5、0.5至4、0.5至3.5、0.5至3、0.5至2.5、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、1至5、1至4.5、1至4、1至3.5、1至3、1至2.5、1至2、1至1.5、1.5至5、1.5至4.5、1.5至4、1.5至3.5、1.5至3、1.5至2.5、1.5至2、2至5、2至4.5、2至4、2至3.5、2至3、2至2.5、2.5至5、2.5至4.5、2.5至4、2.5至3.5、2.5至3、3至5、3至4.5、3至4、3至3.5、3.5至5、3.5至4.5、3.5至4、4至5、4至4.5、4.5至5、0.8至1.5、0.9至1.4、或1至1.3),其具有至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)的变化。在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团),其中所述组合物中的复合物的n1的平均

值为0.5至5(例如,0.5至5、0.5至4.5、0.5至4、0.5至3.5、0.5至3、0.5至2.5、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、1至5、1至4.5、1至4、1至3.5、1至3、1至2.5、1至2、1至1.5、1.5至5、1.5至4.5、1.5至4、1.5至3.5、1.5至3、1.5至2.5、1.5至2、2至5、2至4.5、2至4、2至3.5、2至3、2至2.5、2.5至5、2.5至4.5、2.5至4、2.5至3.5、2.5至3、3至5、3至4.5、3至4、3至3.5、3.5至5、3.5至4.5、3.5至4、4至5、4至4.5、4.5至5、0.8至1.5、0.9至1.4、或1至1.3),其具有至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)的变化。在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团),其中组合物中的复合物的n1平均值为约0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45或1.5,其具有至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)的变化。在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团),其中所述组合物中的复合物的n1的平均值为约1.1或1.15,其具有至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)的变化。

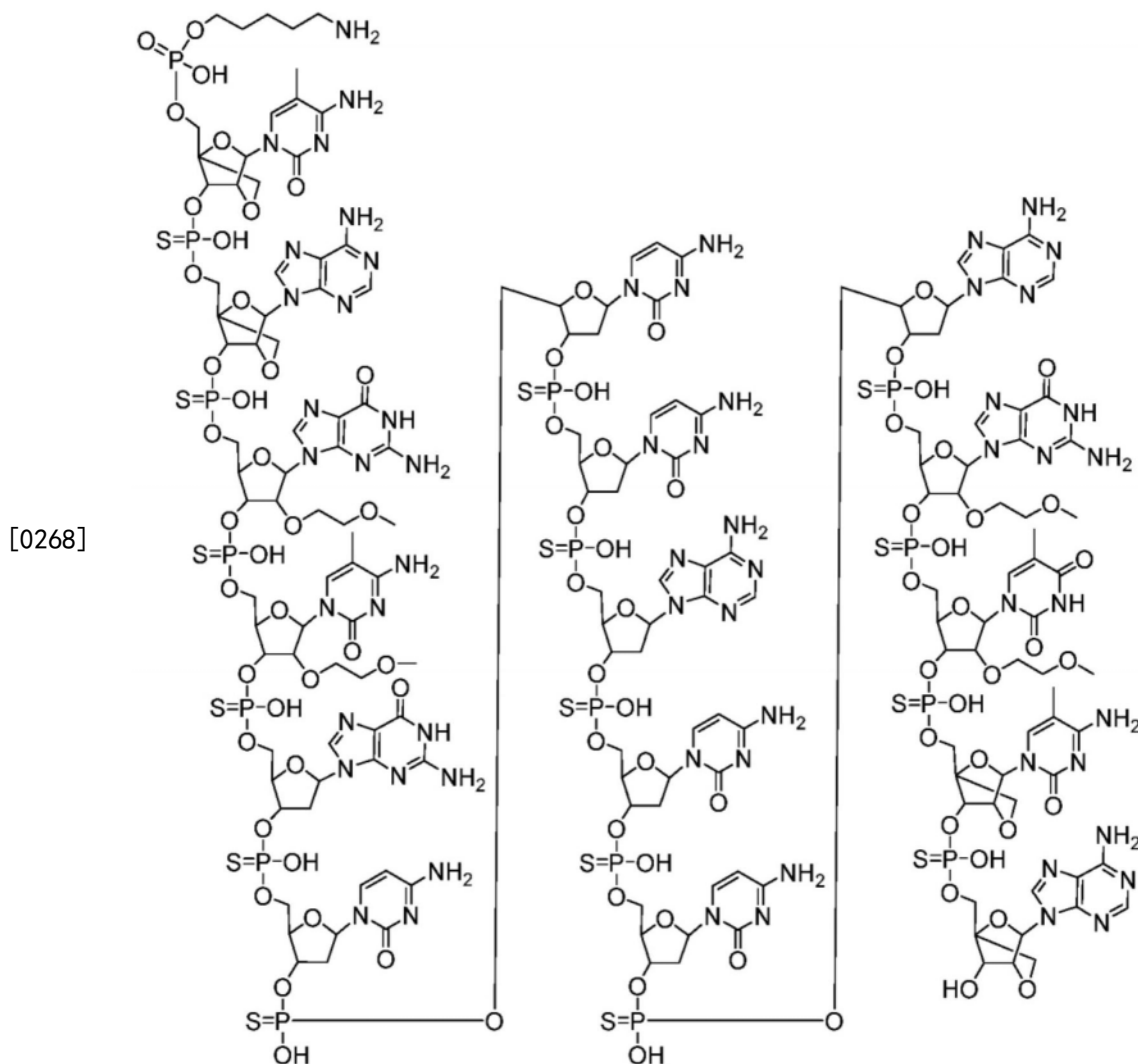
[0264] 应当理解,本文中提供的抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何量可以表示为根据等式A的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)的量。因此,应当理解,本文中涉及提供任何量的抗TfR1抗体(例如,Fab)的描述替代地可以理解为提供根据等式A的相应量的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)。相反地,本文中提供的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)的任何量可以表示为根据等式B的抗TfR1抗体(例如,Fab)的量。因此,应当理解,本文中关于提供任何量的寡核苷酸(例如,DMPK靶向寡核苷酸)的描述替代地可以理解为提供根据等式B的相应量的抗TfR1抗体(例如,Fab)。

[0265] 在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团),其中有效量的复合物向对象提供复合物中的一定量的抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象,并且其中向对象提供的寡核苷酸的量/kg对象是使用本文中提供的等式A基于组合物中的复合物的n1的平均值和向对象提供的复合物中的抗TfR1抗体(例如,Fab)的量/kg对象推导出的。在一些实施方案中,寡核苷酸的量与从等式A推导出的量相差至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。

[0266] 在一些实施方案中,本文中提供的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中组合物包含复合物中的一定量的寡核苷酸/kg对象,并且其中向对象提供的抗TfR1抗体(例如,Fab)的量/kg对象是使用本文中提供的等式B基于组合物中的复合物的n1的平均值和向对象提供的复合物中的寡核苷酸的量/kg对象推导出的。在一些实施方案中,抗TfR1抗体(例如,Fab)的量与从等式B推导出的量相差至多45%(例如,±至多45%、±至多40%、±至多35%、±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。

[0267] 在一些实施方案中,出于确定寡核苷酸的分子量的目的,寡核苷酸由以下结构表

示:



[0269] 其对应于5,667g/mol的分子量。

[0270] 在一些实施方案中,本文中所述方法中使用的复合物中的抗TfR1Fab(例如,包含表2中提供的重链和轻链的抗TfR1Fab)的分子量为47,986g/mol。

[0271] 因此,在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团),其中有效量的复合物向对象提供复合物中的一定量的抗TfR1Fab/kg对象和一定量的寡核苷酸/kg对象,其中寡核苷酸的量为:

[0272] 寡核苷酸的量 (mg) = $\left(\frac{\text{抗TfR1抗体的量 (mg)}}{47986 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)} \right) * 1.15 * 5667 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right),$

[0273] 前提是组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为1.15。在一些实施方案中,寡核苷酸的量与从等式A推导出的量相差至多30%(例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。

[0274] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构(例如,包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团),其中有效量的复合物向对象提供复合物中的一定量的抗TfR1Fab/kg对

象和一定量的寡核苷酸/kg对象,其中寡核苷酸的量为:

$$[0275] \quad \text{寡核苷酸的量 (mg)} = \left(\frac{\text{抗TfR1抗体的量 (mg)}}{47968 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)} \right) * 1.15 * 5667 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right),$$

[0276] 前提是组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1.15。在一些实施方案中,寡核苷酸的量与从等式A推导出的量相差至多30% (例如,±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。

[0277] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中有效量的复合物向对象提供复合物中的一定量的寡核苷酸/kg对象和一定量的抗TfR1Fab/kg对象,其中抗TfR1Fab的量为:

$$[0278] \quad \text{抗TfR1 Fab的量 (mg)} = \left(\frac{\left(\frac{\text{寡核苷酸的量 (mg)}}{5667 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)} \right)}{1.15} \right) * 47986 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right),$$

[0279] 前提是组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1.15。在一些实施方案中,抗TfR1抗体 (例如,Fab) 的量与从等式B推导出的量相差至多45% (例如,±至多45%、±至多40%、±至多35%、±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。

[0280] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含如本文中所述的式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中有效量的复合物向对象提供复合物中的一定量的寡核苷酸/kg对象的和一定量的抗TfR1Fab/kg对象,其中抗TfR1Fab的量为:

$$[0281] \quad \text{抗TfR1 Fab的量 (mg)} = \left(\frac{\left(\frac{\text{寡核苷酸的量 (mg)}}{5667 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)} \right)}{1.15} \right) * 47968 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right),$$

[0282] 前提是组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1.15。在一些实施方案中,抗TfR1抗体 (例如,Fab) 的量与从等式B推导出的量相差至多45% (例如,±至多45%、±至多40%、±至多35%、±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。在一些实施方案中,施用发生一次或更多次。在一些实施方案中,向对象施用单剂量的包含有效量的本文中所述复合物 (例如,包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物) 的任一组合。在一些实施方案中,向对象施用多剂量的包含有效量的本文中所述复合物 (例如,包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物) 的任一组合。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括每周一次至每16周一次向对象施用包含有效量的本文中所述复合物 (例如,包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物) 的组合物。例如,在一些实施方案中,本文中所述的方法包括每周一次、每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次、每6周一次、每7周一次、每8周一次、每9周一次、每10周一次、每11周一次、每12周一次、每13周一次、每14周一次、每15周一次或每16周一次向对

象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物。

[0283] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中在施用期期间向对象施用组合物。在一些实施方案中,施用期为1至24(例如,1至24、2至24、3至24、4至24、5至24、6至24、7至24、8至24、9至24、10至24、11至24、12至24、13至24、14至24、15至24、16至24、17至24、18至24、1至18、1至12、1至8、1至6、1至5、1至4、1至3、1至2、2至18、2至12、2至8、2至6、2至4、4至18、4至12、4至8、4至6、6至18、6至12、6至8、8至18、8至12、或12至18)个月。在一些实施方案中,施用期为少于1个月、少于2个月、少于3个月、少于4个月、少于5个月、少于6个月、少于7个月、少于8个月、少于9个月、少于10个月、少于11个月、少于12个月、少于13个月、少于14个月、少于15个月、少于16个月、少于17个月、或少于18个月。在一些实施方案中,施用期为1至20(例如,1至20、2至20、3至20、4至20、5至20、6至20、7至20、8至20、9至20、10至20、11至20、12至20、13至20、14至20、15至20、16至20、17至20、18至20、19至20、2至18、2至12、2至10、2至5、4至18、4至12、4至8、6至18、6至12、或6至8)年。在一些实施方案中,施用期为少于1年、少于2年、少于3年、少于4年、少于5年、少于6年、少于7年、少于8年、少于9年、少于10年、少于11年、少于12年、少于13年、少于14年、少于15年、少于16年、少于17年、少于18年、少于19年、或少于20年。在一些实施方案中,施用期为至少1年、至少2年、至少3年、至少4年、至少5年、至少6年、至少7年、至少8年、至少9年、至少10年、至少11年、至少12年、至少13年、至少14年、至少15年、至少16年、至少17年、至少18年、至少19年、或至少20年。在一些实施方案中,施用期为1至50年(例如,1至50年、2至50年、3至50年、4至50年、5至50年、6至50年、7至50年、8至50年、9至50年、10至50年、20至50年、30至50年、40至50年、10至20年、10至30年、10至40年、20至30年、20至40年、或30至40年)。在一些实施方案中,施用期为对象的余生。

[0284] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括每周一次、每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次、每6周一次、每7周一次、每8周一次、每9周一次、每10周一次、每11周一次、每12周一次、每13周一次、每14周一次、每15周一次或每16周一次持续对象的余生向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括每4周一次持续对象的余生向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括每8周一次持续对象的余生向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括每12周一次持续对象的余生向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物。

[0285] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括在第一施用期期间,每周一次至每四周一次(例如,每周一次、每2周一次、每3周一次或每4周一次)向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,随后在第二施用期期间,每4周一次至每16周一次(例如,每4周一次、每5周一次、每6周一次、每7周一次、每8周一次、每9周一次、每10周一次、每11周一次、每12周一次、每13周一次、每14周一次、每15周一次或每16周一次)向对象施用包含有效

量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物。在一些实施方案中,第一施用期为2至24周(例如,2至24、2至20、2至26、2至12、2至8、2至4、4至24、4至20、4至16、4至12、4至8、8至24、8至20、8至16、8至12、12至24、12至20、12至16、16至24、16至20、或20至24周)。在一些实施方案中,第一施用期为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24周。在一些实施方案中,第二施用期为为4周至对象的余生(例如,4、8、12、16、18、20、22、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80、84、88、92、96周或更长至对象的余生)。在一些实施方案中,第一施用期为8周,并且第二施用期为16周。在一些实施方案中,第一施用期为8周,并且第二施用期为对象的余生。

[0286] 在一些实施方案中,在第一施用期期间的每次施用向对象提供与在第二施用期期间的每次施用相同量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)。在一些实施方案中,在第一施用期期间的每次施用向对象提供与在第二施用期期间的每次施用不同量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)。

[0287] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括在8周、12周或16周的第一施用期期间,每4周一次向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,随后在16周、24周、32周、40周、48周、56周、64周、72周、80周、88周、96周、104周、112周、120周、128周、136周、144周、152周、160周或更长、或者对象的余生的第二施用期期间,每8周一次向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中在第一施用期期间的每次施用向对象提供与在第二施用期期间的每次施用相同量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)。

[0288] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括在8周、12周或16周的第一施用期期间,每4周一次向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,随后在16周、24周、32周、40周、48周、56周、64周、72周、80周、88周、96周、104周、112周、120周、128周、136周、144周、152周、160周或更长、或者对象的余生的第二施用期期间,向对象施用包含有效量的本文中所述复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中在第一施用期期间的每次施用向对象提供与在第二施用期期间的每次施用不同量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)。

[0289] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,可以在任何施用期期间向对象给予另外的施用。

[0290] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,有效量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)向对象提供复合物中的2mg至220mg(例如,2mg至220mg、5mg至220mg、5mg至210mg、5mg至200mg、5mg至190mg、5mg至180mg、5mg至170mg、5mg至160mg、5mg至150mg、5mg至140mg、5mg至130mg、5mg至120mg、5mg至110mg、5mg至100mg、5mg至90mg、5mg至80mg、5mg至75mg、5mg至70mg、5mg至

60mg、5mg至50mg、5mg至40mg、5mg至30mg、5mg至20mg、5mg至10mg、8mg至220mg、8mg至210mg、8mg至200mg、8mg至190mg、8mg至180mg、8mg至170mg、8mg至160mg、8mg至150mg、8mg至140mg、8mg至130mg、8mg至120mg、8mg至110mg、8mg至100mg、8mg至90mg、8mg至80mg、8mg至75mg、8mg至70mg、8mg至60mg、8mg至50mg、8mg至40mg、8mg至35mg、8mg至30mg、8mg至25mg、8mg至20mg、8mg至15mg、8mg至13mg、10mg至150mg、10mg至140mg、10mg至130mg、10mg至120mg、10mg至110mg、10mg至100mg、10mg至90mg、10mg至80mg、10mg至70mg、10mg至60mg、10mg至50mg、10mg至40mg、10mg至30mg、10mg至20mg、13mg至150mg、13mg至140mg、13mg至130mg、13mg至120mg、13mg至110mg、13mg至100mg、13mg至90mg、13mg至80mg、13mg至75mg、13mg至70mg、13mg至60mg、13mg至50mg、13mg至40mg、13mg至35mg、13mg至30mg、13mg至25mg、13mg至20mg、13mg至15mg、15mg至150mg、15mg至140mg、15mg至130mg、15mg至120mg、15mg至110mg、15mg至100mg、15mg至90mg、15mg至80mg、15mg至75mg、15mg至70mg、15mg至60mg、15mg至50mg、15mg至40mg、15mg至35mg、15mg至30mg、15mg至25mg、15mg至20mg、20mg至100mg、20mg至90mg、20mg至80mg、20mg至75mg、20mg至70mg、20mg至60mg、20mg至50mg、20mg至40mg、20mg至30mg、20mg至25mg、25mg至90mg、25mg至80mg、25mg至75mg、25mg至70mg、25mg至60mg、25mg至50mg、25mg至40mg、25mg至35mg、25mg至30mg、30mg至100mg、30mg至90mg、30mg至80mg、30mg至75mg、30mg至70mg、30mg至60mg、30mg至50mg、30mg至40mg、40mg至100mg、40mg至90mg、40mg至80mg、40mg至75mg、40mg至70mg、40mg至60mg、40mg至50mg、50mg至100mg、50mg至90mg、50mg至80mg、50mg至75mg、50mg至70mg、50mg至60mg、60mg至100mg、60mg至90mg、60mg至80mg、60mg至75mg、或60mg至70mg) 抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,有效量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)向对象提供复合物中的约5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg、21mg、22mg、23mg、24mg、25mg、26mg、27mg、28mg、29mg、30mg、31mg、32mg、33mg、34mg、35mg、36mg、37mg、38mg、39mg、40mg、41mg、42mg、43mg、44mg、45mg、46mg、47mg、48mg、49mg、50mg、51mg、52mg、53mg、54mg、55mg、56mg、57mg、58mg、59mg、60mg、61mg、62mg、63mg、64mg、65mg、66mg、67mg、68mg、69mg、70mg、71mg、72mg、73mg、74mg、75mg、76mg、77mg、78mg、79mg、80mg、81mg、82mg、83mg、84mg、85mg、86mg、87mg、88mg、89mg、90mg、91mg、92mg、93mg、94mg、95mg、96mg、97mg、98mg、99mg、100mg、101mg、102mg、103mg、104mg、105mg、106mg、107mg、108mg、109mg、110mg、111mg、112mg、113mg、114mg、115mg、116mg、117mg、118mg、119mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg或220mg抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。

[0291] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,有效量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)向对象提供复合物中的0.5mg至20mg(例如,0.5mg至20mg、1mg至20mg、1mg至15mg、1mg至12mg、1mg至10mg、1mg至9mg、1mg至8mg、1mg至7mg、1mg至6mg、1mg至5mg、1mg至4mg、1mg至3mg、1mg至2mg、2mg至20mg、2mg至15mg、2mg至12mg、2mg至10mg、2mg至9mg、2mg至8mg、2mg至7mg、2mg至6mg、

2mg至5mg、2mg至4mg、2mg至3mg、3mg至20mg、3mg至15mg、3mg至12mg、3mg至10mg、3mg至9mg、3mg至8mg、3mg至7mg、3mg至6mg、3mg至5mg、3mg至4mg、3.5mg至20mg、3.5mg至15mg、3.5mg至12mg、3.5mg至10mg、3.5mg至9mg、3.5mg至8mg、3.5mg至7mg、3.5mg至6mg、3.5mg至5mg、3.5mg至4mg、4mg至20mg、4mg至15mg、4mg至12mg、4mg至10mg、4mg至9mg、4mg至8mg、4mg至7mg、4mg至6mg、4mg至5mg、5mg至20mg、5mg至15mg、5mg至12mg、5mg至10mg、5mg至9mg、5mg至8mg、5mg至7mg、5mg至6mg、6mg至20mg、6mg至15mg、6mg至12mg、6mg至10mg、6mg至9mg、6mg至8mg、6mg至7mg、7mg至20mg、7mg至15mg、7mg至12mg、7mg至10mg、7mg至9mg、7mg至8mg、8mg至20mg、8mg至15mg、8mg至12mg、8mg至10mg、8mg至9mg、9mg至20mg、9mg至15mg、9mg至12mg、9mg至10mg、10mg至20mg、10mg至15mg、10mg至12mg、12mg至20mg、12mg至15mg、或15mg至20mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,在本文中所述的任一方法中,有效量的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)向对象提供复合物中的约0.5mg、1mg、1.1mg、1.5mg、1.8mg、2mg、2.5mg、3mg、3.4mg、3.5mg、4mg、4.1mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、6.8mg、7mg、7.5mg、8mg、8.2mg、8.5mg、9mg、9.5mg、10mg、10.2mg、10.5mg、11mg、11.5mg、12mg、12.5mg、13mg、13.5mg、14mg、14.5mg、15mg、15.5mg、16mg、16.5mg、17mg、17.5mg、18mg、18.5mg、19mg、19.5mg、或20mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。

[0292] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的10mg至110mg(例如,10mg至110mg、10mg至100mg、10mg至90mg、10mg至80mg、10mg至70mg、10mg至60mg、10mg至50mg、10mg至40mg、10mg至30mg、10mg至20mg、20mg至110mg、20mg至100mg、20mg至90mg、20mg至80mg、20mg至70mg、20mg至60mg、20mg至50mg、20mg至40mg、20mg至30mg、30mg至110mg、30mg至100mg、30mg至90mg、30mg至80mg、30mg至70mg、30mg至60mg、30mg至50mg、30mg至40mg、40mg至110mg、40mg至100mg、40mg至90mg、40mg至80mg、40mg至70mg、40mg至60mg、40mg至50mg、50mg至110mg、50mg至100mg、50mg至90mg、50mg至80mg、50mg至70mg、50mg至60mg、60mg至110mg、60mg至100mg、60mg至90mg、60mg至80mg、60mg至70mg、70mg至110mg、70mg至100mg、70mg至90mg、70mg至80mg、80mg至110mg、80mg至100mg、80mg至90mg、90mg至110mg、90mg至100mg、100mg至110mg) 抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约13mg、约25mg、约50mg或约75mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约29mg或约37mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些

实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0293] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的10mg至20mg(例如,10mg至20mg、10.5mg至18mg、11mg至16mg、11.5mg至15mg、12mg至14mg、或12.5mg至13mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约13mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0294] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的18mg至36mg(例如,18mg至36mg、19mg至33mg、20mg至30mg、22mg至27mg、或23mg至26mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约25mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0295] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的20mg至43mg(例如,20mg至43mg、22mg至40mg、24mg至34mg、26mg至32mg、或28mg至30mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)

基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约29mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0296] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的26mg至53mg(例如,26mg至53mg、29mg至50mg、31mg至45mg、33mg至41mg、或35mg至40mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约37mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0297] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的36mg至72mg(例如,36mg至72mg、37mg至69mg、38mg至66mg、39mg至63mg、40mg至60mg、41mg至57mg、42mg至54mg、或45mg至51mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约50mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次

施用。

[0298] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的55mg至110mg(例如,55mg至110mg、58mg至100mg、61mg至95mg、64mg至90mg、67mg至85mg、或70mg至80mg、或73mg至76mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约75mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0299] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的5mg至90mg(例如,5mg至90mg、5mg至80mg、5mg至70mg、5mg至60mg、5mg至50mg、5mg至40mg、5mg至30mg、5mg至20mg、5mg至10mg、10mg至90mg、10mg至80mg、10mg至70mg、10mg至60mg、10mg至50mg、10mg至40mg、10mg至30mg、10mg至20mg、20mg至90mg、20mg至80mg、20mg至70mg、20mg至60mg、20mg至50mg、20mg至40mg、20mg至30mg、30mg至90mg、30mg至80mg、30mg至70mg、30mg至60mg、30mg至50mg、30mg至40mg、40mg至90mg、40mg至80mg、40mg至70mg、40mg至60mg、40mg至50mg、50mg至90mg、50mg至80mg、50mg至70mg、50mg至60mg、60mg至90mg、60mg至80mg、60mg至70mg、70mg至90mg、70mg至80mg、或80mg至90mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约8mg、约15mg、约30mg、或约60mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0300] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基

团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的6mg至12mg(例如,6mg至12mg、6.5mg至11mg、7mg至10mg、7.5mg至9mg、或8mg至8.5mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约8mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0301] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的11mg至22mg(例如,11mg至22mg、11.5mg至20mg、12mg至19mg、12.5mg至18mg、13mg至17mg、14mg至16mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约15mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0302] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的22mg至44mg(例如,22mg至44mg、23mg至42mg、24mg至40mg、25mg至38mg、26mg至36mg、27mg至34mg、28mg至32mg、或29mg至31mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约30mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,

持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0303] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的44mg至88mg(例如,44mg至88mg、46mg至84mg、48mg至80mg、50mg至76mg、52mg至72mg、54mg至68mg、56mg至64mg、或58mg至62mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约60mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体(例如,Fab)的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 45\%$ (例如, $\pm$ 至多45%、 $\pm$ 至多40%、 $\pm$ 至多35%、 $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0304] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的36.8mg至58.9mg(例如,36.8mg至58.9mg、36.8mg至51.5mg、36.8mg至44.2mg、44.2mg至58.9mg、44.2mg至51.5mg、或51.5mg至58.9mg)抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约36.8mg抗TfR1抗体/kg对象。在一些实施方案中,关于抗TfR1抗体的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0305] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的1mg

至14mg (例如, 1mg至14mg、1mg至13mg、1mg至12mg、1mg至11mg、1mg至10mg、1mg至9mg、1mg至8mg、1mg至7mg、1mg至6mg、1mg至5mg、1mg至4mg、1mg至3mg、1mg至2mg、2mg至14mg、2mg至13mg、2mg至12mg、2mg至11mg、2mg至10mg、2mg至9mg、2mg至8mg、2mg至7mg、2mg至6mg、2mg至5mg、2mg至4mg、2mg至3mg、3mg至14mg、3mg至13mg、3mg至12mg、3mg至11mg、3mg至10mg、3mg至9mg、3mg至8mg、3mg至7mg、3mg至6mg、3mg至5mg、3mg至4mg、4mg至14mg、4mg至13mg、4mg至12mg、4mg至11mg、4mg至10mg、4mg至9mg、4mg至8mg、4mg至7mg、4mg至6mg、4mg至5mg、5mg至14mg、5mg至13mg、5mg至12mg、5mg至11mg、5mg至10mg、5mg至9mg、5mg至8mg、5mg至7mg、5mg至6mg、6mg至14mg、6mg至13mg、6mg至12mg、6mg至11mg、6mg至10mg、6mg至9mg、6mg至8mg、6mg至7mg、7mg至14mg、7mg至13mg、7mg至12mg、7mg至11mg、7mg至10mg、7mg至9mg、7mg至8mg、8mg至14mg、8mg至13mg、8mg至12mg、8mg至11mg、8mg至10mg、8mg至9mg、9mg至14mg、9mg至13mg、9mg至12mg、9mg至11mg、9mg至10mg、10mg至14mg、10mg至13mg、10mg至12mg、10mg至11mg、11mg至14mg、11mg至13mg、11mg至12mg、12mg至14mg、12mg至13mg、或13mg至14mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约1.8mg、约3.4mg、约6.8mg或约10.2mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约4mg或约5mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期(例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期(例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

[0306] 在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的1.2mg至2.4mg (例如, 1.2mg至2.4mg、1.1mg至2.3mg、1.2mg至2.2mg、1.3mg至2.1mg、1.4mg至2mg、1.5mg至1.9mg、或1.6mg至1.85mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约1.8mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期(例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期(例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

[0307] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的2.2mg至4.5mg(例如,2.2mg至4.5mg、2.4mg至4.4mg、2.5mg至4.3mg、2.6mg至4.2mg、2.7mg至4.1mg、2.8mg至4mg、2.9mg至3.9mg、3mg至3.8mg、3.1mg至3.7mg、3.2mg至3.6mg、或3.3mg至3.5mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约3.4mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0308] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的2.7mg至5.3mg(例如,2.7mg至5.3mg、2.8mg至5.8mg、3mg至5.5mg、3.2mg至5mg、或3.8mg至4.2mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约4mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0309] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的3mg至7mg(例如,3mg至7mg、3.5mg至6.6mg、4mg至6mg、4.2mg至5.8mg、或4.8mg至5.2mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约5mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多

±30% (例如, ±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期 (例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期 (例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

[0310] 在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物 (例如, 包含式 (I) : $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量 (例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的 4.5mg 至 9mg (例如, 4.5mg 至 9mg、4.7mg 至 8.8mg、4.9mg 至 8.6mg、5.1mg 至 8.4mg、5.3mg 至 8.2mg、5.5mg 至 8mg、5.7mg 至 7.8mg、5.9mg 至 7.6mg、6.1mg 至 7.4mg、6.3mg 至 7.2mg、6.5mg 至 7mg、或 6.6mg 至 6.8mg) 寡核苷酸/kg 对象。在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物 (例如, 包含式 (I) : $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量 (例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约 6.8mg 寡核苷酸/kg 对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 ±30% (例如, ±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期 (例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期 (例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

[0311] 在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物 (例如, 包含式 (I) : $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量 (例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的 7mg 至 14mg (例如, 7mg 至 14mg、7.5mg 至 13.5mg、8mg 至 13mg、8.5mg 至 12.5mg、9mg 至 12mg、9.5mg 至 11.5mg、或 10mg 至 11mg) 寡核苷酸/kg 对象。在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物 (例如, 包含式 (I) : $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量 (例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约 10.2mg 寡核苷酸/kg 对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 ±30% (例如, ±至多30%、±至多25%、±至多20%、±至多15%、±至多10%、±至多5%、±至多3%、或±至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次 (例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期 (例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期 (例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

[0312] 在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物 (例如, 包含式 (I) : $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基

团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的0.5mg至12mg(例如,0.5mg至12mg、0.5mg至12mg、0.5mg至11mg、0.5mg至10mg、0.5mg至9mg、0.5mg至8mg、0.5mg至7mg、0.5mg至6mg、0.5mg至5mg、0.5mg至4mg、0.5mg至3mg、0.5mg至2mg、0.5mg至1mg、1mg至12mg、1mg至11mg、1mg至10mg、1mg至9mg、1mg至8mg、1mg至7mg、1mg至6mg、1mg至5mg、1mg至4mg、1mg至3mg、1mg至2mg、2mg至12mg、2mg至11mg、2mg至10mg、2mg至9mg、2mg至8mg、2mg至7mg、2mg至6mg、2mg至5mg、2mg至4mg、2mg至3mg、3mg至12mg、3mg至11mg、3mg至10mg、3mg至9mg、3mg至8mg、3mg至7mg、3mg至6mg、3mg至5mg、3mg至4mg、4mg至12mg、4mg至11mg、4mg至10mg、4mg至9mg、4mg至8mg、4mg至7mg、4mg至6mg、4mg至5mg、5mg至12mg、5mg至11mg、5mg至10mg、5mg至9mg、5mg至8mg、5mg至7mg、5mg至6mg、6mg至12mg、6mg至11mg、6mg至10mg、6mg至9mg、6mg至8mg、6mg至7mg、7mg至12mg、7mg至11mg、7mg至10mg、7mg至9mg、7mg至8mg、8mg至12mg、8mg至11mg、8mg至10mg、8mg至9mg、9mg至12mg、9mg至11mg、9mg至10mg、10mg至12mg、10mg至11mg、或11mg至12mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约1.1mg、约2mg、约4.1mg或约8.2mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0313] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的0.7mg至1.5mg(例如,0.7mg至1.5mg、0.8mg至1.4mg、0.9mg至1.3mg、或1mg至1.2mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约1.1mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0314] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的

1.4mg至2.7mg (例如, 1.4mg至2.7mg、1.5mg至2.6mg、1.6mg至2.5mg、1.7mg至2.4mg、1.8mg至2.3mg、1.9mg至2.2mg、或1.95mg至2.1mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 本文所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约2mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期(例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期(例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

[0315] 在一些实施方案中, 本文所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的2.7mg至5.4mg (例如, 2.7mg至5.4mg、2.9mg至5.2mg、3.1mg至5mg、3.3mg至4.8mg、3.5mg至4.6mg、3.7mg至4.3mg、3.9mg至4.2mg、或4mg至4.15mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 本文所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约4.1mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物在第一施用期(例如, 8周、12周或16周) 期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期(例如, 16周至对象的余生) 期间每8周一次施用。

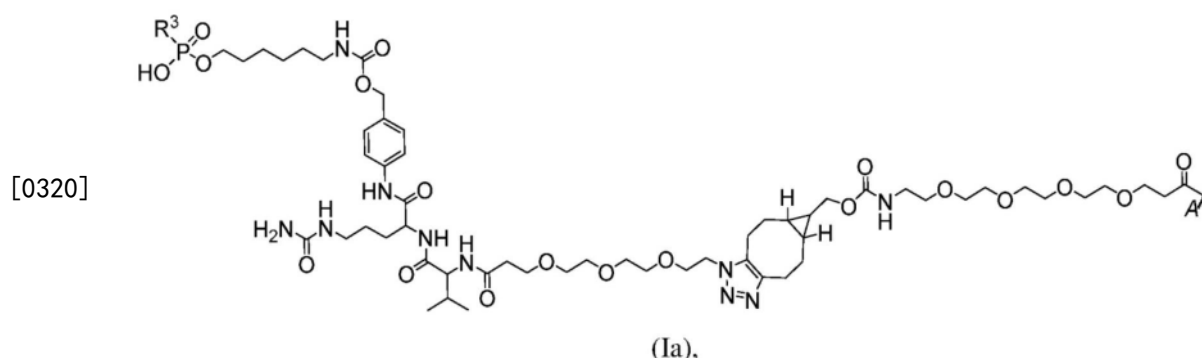
[0316] 在一些实施方案中, 本文所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的5mg至11mg (例如, 5mg至11mg、5.5mg至10.5mg、6mg至10mg、6.5mg至9.5mg、7mg至9mg、7.5mg至8.5mg、或8mg至8.3mg) 寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 本文所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如, 包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物, 例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic) 或 (Id) 基团的复合物) 的组合物, 其中有效量(例如, 每次施用的有效量) 向对象提供复合物中的约8.2mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中, 关于寡核苷酸的任何前述量, 所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中, 组合物每4周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每8周一次(例如, 持续一段时间, 例如对象的余生) 施用。在一些实施方案中, 组合物每12周一次

(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0317] 应当理解,每4周一次与每月一次基本上相似,每8周一次与每两个月一次基本上相似,每12周一次与每三个月一次基本上相似,并且每16周一次与每四个月一次基本上相似。因此,在一些实施方案中,每4周一次可意指每月一次;每8周一次可意指每两个月一次;每12周一次可意指每三个月一次;并且每16周一次可意指每四个月一次。类似地,在一些实施方案中,每4周一次可意指每年12次;每8周一次可意指每年6次;并且每12周一次可意指每年4次。

[0318] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的5mg至8mg(例如,5mg至8mg、5mg至7mg、5mg至6mg、6mg至8mg、6mg至7mg、或7mg至8mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,本文中所述的方法包括向对象施用包含有效量的本文中所述的复合物(例如,包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 结构的复合物,例如包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团的复合物)的组合物,其中有效量(例如,每次施用的有效量)向对象提供复合物中的约5mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,关于寡核苷酸的任何前述量,所述值可变化至多 $\pm 30\%$ (例如, $\pm$ 至多30%、 $\pm$ 至多25%、 $\pm$ 至多20%、 $\pm$ 至多15%、 $\pm$ 至多10%、 $\pm$ 至多5%、 $\pm$ 至多3%、或 $\pm$ 至多1%)。在一些实施方案中,组合物每4周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每8周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物每12周一次(例如,持续一段时间,例如对象的余生)施用。在一些实施方案中,组合物在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次施用,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次施用。

[0319] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括静脉内施用(例如,通过静脉内输注)有效量的包含复合物的组合物(例如,在水溶液中),其中每个复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中每个 R^1 包含式(Ia)基团:



[0321] 其中 R^3 包含含有CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列的寡核苷酸,任选地其中 R^3 包含含有+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A(SEQ ID NO:21)的结构的寡核苷酸,其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

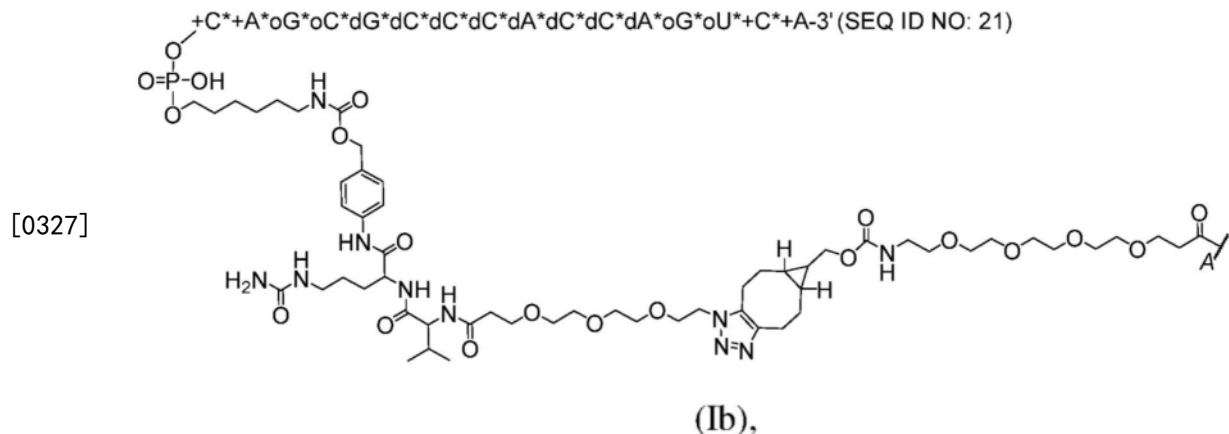
[0322] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体(例如,Fab),其包含:含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL,还任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;

[0323] 其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接,任选地其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 的抗体(例如Fab)的不同氨基酸残基共价连接,任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸;并且

[0324] 其中在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,任选地其中组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1至5;并且

[0325] 其中每次施用的有效量向对象提供复合物中的5mg至110mg(例如,8mg至60mg或13mg至75mg)抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约13mg、约25mg、约50mg或约75mg抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约5mg、约15mg、约30mg或约60mg抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每四周一次或每八周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次向对象施用组合物,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的包含复合物的组合物还包含这样的复合物,该复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中 n_1 为0。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0326] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括静脉内施用(例如,通过静脉内输注)有效量的包含复合物的组合物(例如,在水溶液中),其中每个复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中每个 R^1 包含式(Ib)基团:



[0328] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-

O-甲氧基乙基 (MoE) 修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基2'-MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷, *表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且其中所述寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列;

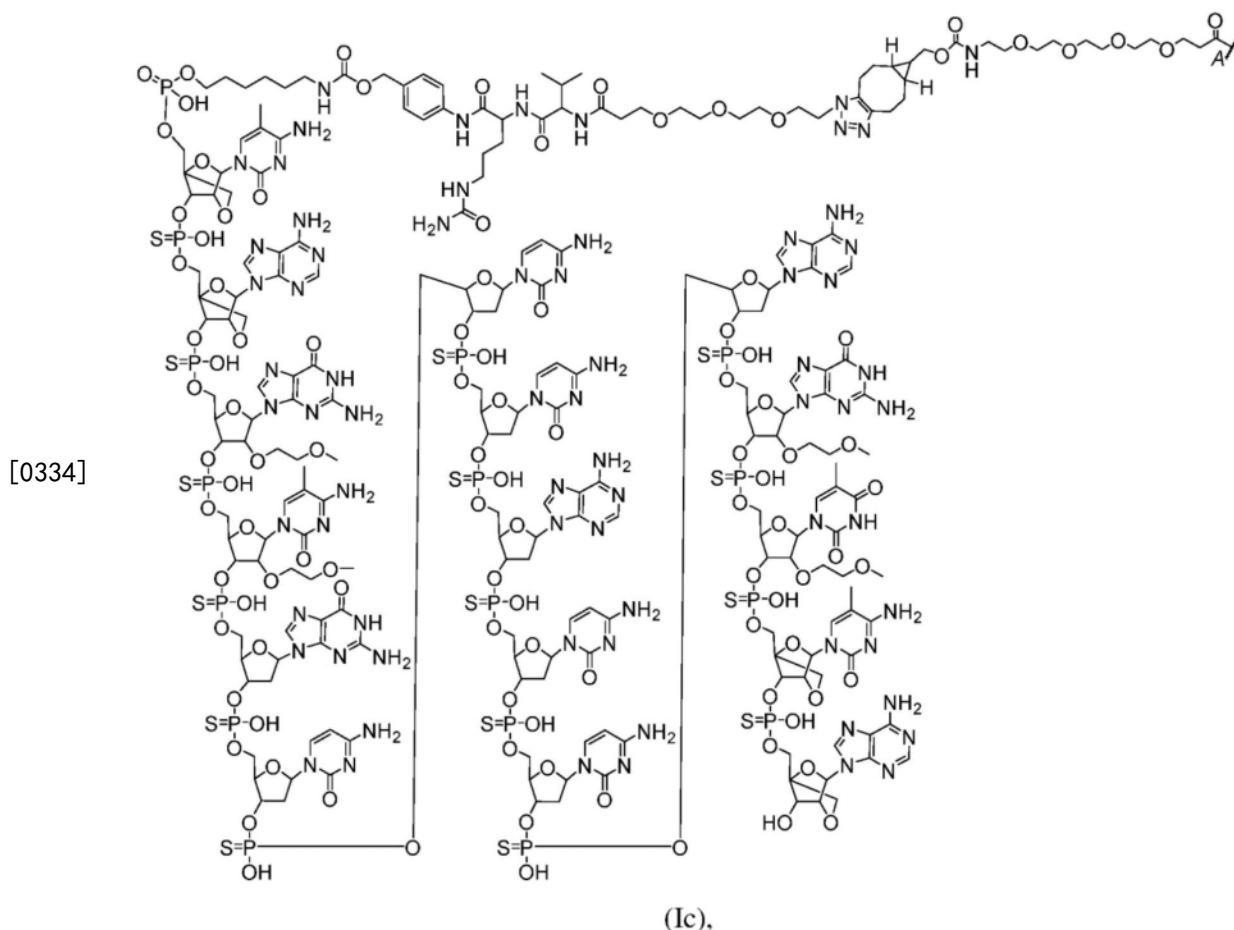
[0329] 其中R²包含抗TfR1抗体(例如, Fab), 其包含: 含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1), 含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2), 含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3), 含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1), 含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2) 和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3), 任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL, 还任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;

[0330] 其中每个R¹在连接点A处与R²共价连接, 任选地其中每个R¹在连接点A处与R²的抗体(例如Fab)的不同氨基酸残基共价连接, 任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸; 并且

[0331] 其中在每个复合物中, n₁独立地为1或更大的整数, 其表示R¹的实例数, 任选地其中组合物中的复合物的n₁的平均值为1至5;

[0332] 其中每次施用的有效量向对象提供复合物中的5mg至110mg(例如, 8mg至60mg或13mg至75mg)抗TfR1抗体(例如, Fab)/kg对象。在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的约13mg、约25mg、约50mg或约75mg抗TfR1抗体(例如, Fab)/kg对象。在一些实施方案中, 每次施用的有效量向对象提供复合物中的约5mg、约15mg、约30mg或约60mg抗TfR1抗体(例如, Fab)/kg对象。在一些实施方案中, 每四周一次或每八周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中, 在第一施用期(例如, 8周、12周或16周)期间每4周一次向对象施用组合物, 并且随后在第二施用期(例如, 16周至对象的余生)期间每8周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中, 用于在本文中所述的方法中向对象施用的包含复合物的组合物还包含这样的复合物, 该复合物包含式(I): [R¹]_{n₁}-R²的结构, 其中n₁为0。因此, 在一些实施方案中, 本文中公开的组合物中的复合物的n₁的平均值为0.5至5(例如, 0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0333] 在一些实施方案中, 本文中所述的方法包括静脉内施用(例如, 通过静脉内输注)有效量的包含复合物的组合物(例如, 在水溶液中), 其中每个复合物包含式(I): [R¹]_{n₁}-R²的结构, 其中复合物中的每个R¹包含式(Ic)基团:



[0335] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体(例如,Fab),其包含:含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL,还任选地其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;

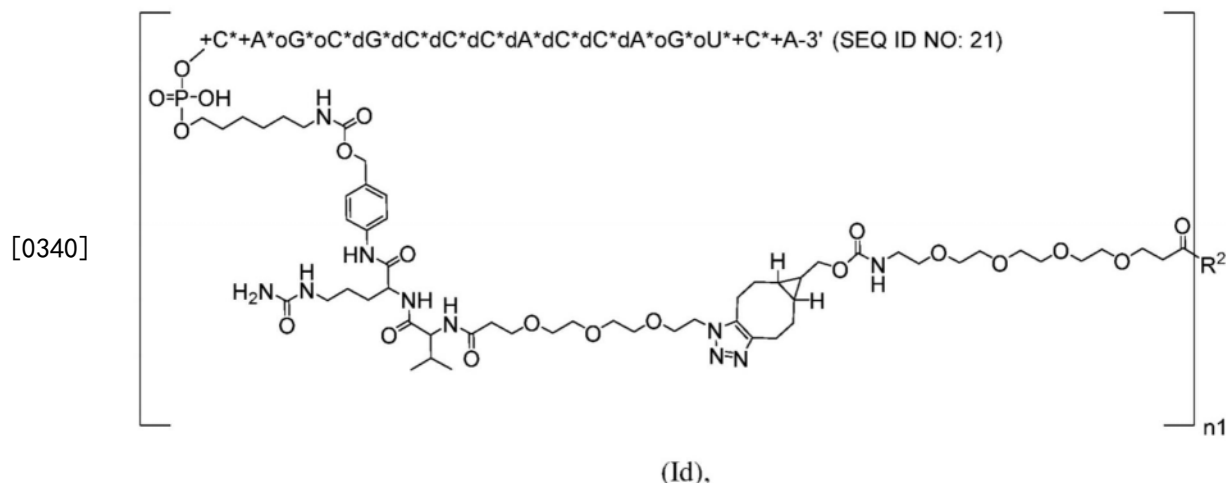
[0336] 其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 共价连接,任选地其中每个 R^1 在连接点A处与 R^2 的抗体(例如Fab)的不同氨基酸残基共价连接,任选地其中每个不同的氨基酸残基是赖氨酸;并且

[0337] 其中在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,任选地其中组合物中的复合物的 n_1 的平均值为1至5;

[0338] 其中每次施用的有效量向对象提供复合物中的5mg至110mg(例如,8mg至60mg或13mg至75mg)抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约13mg、约25mg、约50mg或约75mg抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约5mg、约15mg、约30mg或约60mg抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每四周一次或每八周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次向对象

施用组合物,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的包含复合物的组合物还包含这样的复合物,该复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中 $n1$ 为0。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0339] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括静脉内施用(例如,通过静脉内输注)有效量的包含复合物的组合物(例如,在水溶液中),其中每个复合物包含式(Id)基团:



[0341] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-O-甲氧基乙基(MoE)修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,*表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中所述寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列;

[0342] 其中 R^2 包含抗TfR1抗体(例如,Fab),其包含:含有如SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有如SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有如SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有如SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有如SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有如SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),任选地其中所述抗体(例如Fab)包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL,还任选地其中所述抗体(例如Fab)包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0343] 其中在每个复合物中, $n1$ 独立地为1或更大的整数,任选地其中组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为1至5;

[0344] 其中每次施用的有效量向对象提供复合物中的5mg至110mg(例如,8mg至60mg或13mg至75mg)抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约13mg、约25mg、约50mg或约75mg抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约5mg、约15mg、约30mg或约60mg

抗TfR1抗体(例如,Fab)/kg对象。在一些实施方案中,每四周一次或每八周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,在第一施用期(例如,8周、12周或16周)期间每4周一次向对象施用组合物,并且随后在第二施用期(例如,16周至对象的余生)期间每8周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的包含复合物的组合物还包含这样的复合物,该复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中 $n1$ 为0。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

[0345] 在一些实施方案中,本文中所述的方法包括静脉内施用(例如,通过静脉内输注)有效量的包含复合物的组合物(例如,在水溶液中),其中每个复合物包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)基团,其中每次施用的有效量向对象提供复合物中的0.5mg至20mg(例如,1mg至14mg或0.5mg至12mg)寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约1.8mg、约3.4mg、约6.8mg或约10.2mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,每次施用的有效量向对象提供复合物中的约1.1mg、约2mg、约4.1mg或约8.2mg寡核苷酸/kg对象。在一些实施方案中,每四周一次或每八周一次向对象施用组合物。在一些实施方案中,用于在本文中所述的方法中向对象施用的包含复合物的组合物(例如,在水溶液中)还包含其中 $n1$ 为0的复合物。因此,在一些实施方案中,本文中公开的组合物中的复合物的 $n1$ 的平均值为0.5至5(例如,0.5至5、1至5、1至4、1至3、3至5、0.5至4、0.5至3、0.5至2、0.5至1.5、0.5至1、0.7至1.5、1至1.6、1至1.5、1至1.4、1至1.3、1至1.2、1.1至1.5、0.8至2、0.8至1.5、0.8至1.3、0.8至1.2、0.8至1.1、0.9至3、0.9至2、0.9至1.8、0.9至1.6、0.9至1.5、0.9至1.4、0.9至1.3、或0.9至1.2)。

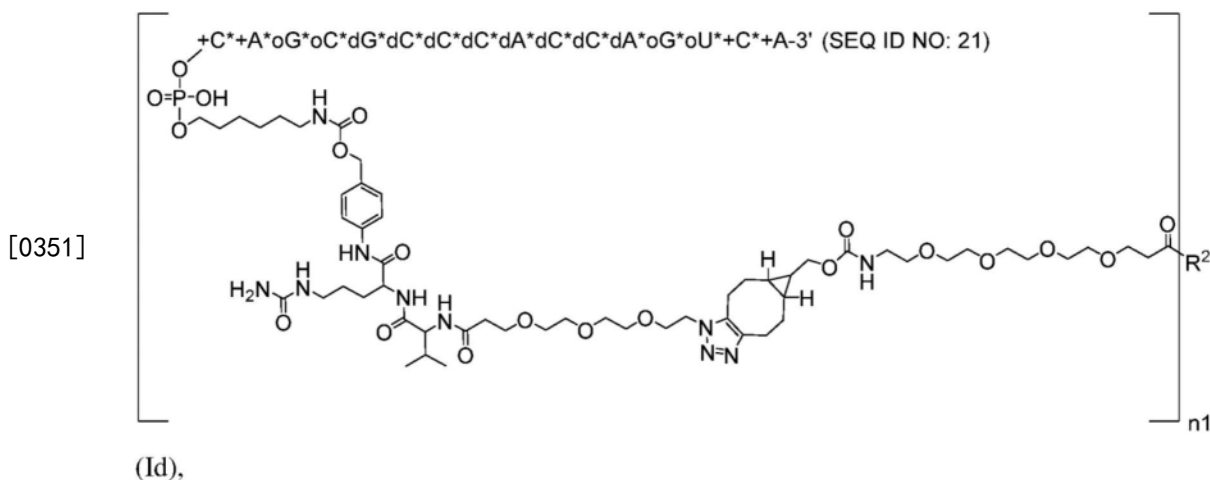
[0346] 在一些实施方案中,根据本文中所述的任一方法施用包含有效量的复合物的组合物在对象(例如,患有DM1的对象)中降低DMPK的表达或活性(例如,降低了突变体或野生型DMPK RNA的水平,或降低了DMPK基因产物的活性)。在一些实施方案中,根据本文中所述的任一方法施用包含有效量的复合物的组合物导致对象中DMPK的表达或活性(例如,突变体或野生型DMPK RNA的水平,或DMPK基因产物的活性)相对于对照降低至少1%(例如,至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少11%、至少12%、至少13%、至少14%、至少15%、至少16%、至少17%、至少18%、至少19%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%)。在一些实施方案中,对照是健康对象(例如,未患有强直性肌营养不良的对象)中的DMPK表达或活性水平。在一些实施方案中,对照是不具有有突变的DMPK RNA的对象中的DMPK表达或活性水平。在一些实施方案中,对照是在向对象施用包含有效量的复合物的组合物之前该对象中的DMPK表达或活性水平。

[0347] 在一些实施方案中,本文中所述的任一方法还可包括向对象施用包含本文中所述的复合物的组合物的另外步骤。

[0348] 实施例

[0349] 实施例1.在DM1小鼠模型中含有与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1Fab的缀合物的体内组织分布

[0350] 在表达人TfR1和含有扩增的CUG重复的人DMPK突变体二者的小鼠模型中测试包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)缀合的抗TfR1Fab的缀合物。使用的抗TfR1Fab具有表2中提供的VH/VL序列。Fab经由包含缬氨酸-瓜氨酸序列的接头与包含SEQ ID NO:21的核碱基序列的DMPK靶向寡核苷酸共价连接(通过赖氨酸缀合)。所述缀合物包含式(Id)的结构:



[0352] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-O-甲氧基乙基(MoE)修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,*表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列,并且其中R²包含表2中提供的抗TfR1抗体,并且其中在每个缀合物中,n₁独立地为1至3的整数。

[0353] 在第0天和第7天,将缀合物静脉内施用于小鼠,每次剂量相当于9.7mg/kg ASO。ASO的组织暴露通过杂交ELISA(Burki et al.,Nucleic Acid Ther.2015Oct;25(5):275-84;其通过引用并入本文)测试,并对组织中的ASO水平作图。图1A、1B、1C和1D分别示出了在第一次注射之后两周心脏、膈肌、腓肠肌或胫骨前肌中的ASO的量。这些结果表明包含抗TfR1抗体(例如,具有表2中提供的VH和VL序列的抗TfR1Fab)的缀合物能够在静脉内施用之后将寡核苷酸(例如,DMPK靶向ASO)递送至多种肌肉组织。

[0354] 实施例2.在重复给药抗TfR1Fab-ASO缀合物之后4周时hTfR1/DMSXL纯合小鼠中毒性人DMPK的持续敲低

[0355] 在小鼠模型(hTfR1/DMSXL小鼠)中测试了如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物(在该实施例中标记为“抗TfR1Fab-ASO缀合物”),所述小鼠模型(hTfR1/DMSXL小鼠)表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CUG重复的突变体人DMPK转基因二者。在第0天和第7天,将载体对照(PBS)或10mg/kg ASO等效剂量的抗TfR1Fab-ASO缀合物施用于小鼠。在第28天(施用第一剂抗TfR1Fab-ASO缀合物之后4周)处死小鼠,并收集组织。提取RNA并将所选的组织样品进行固定、石蜡包埋和切片,然后进行原位杂交。进行RNA样品的逆转录-定量聚合酶链式反应(Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction,RT-qPCR)以测量人DMPK和小鼠Ppib(肽基脯氨酸异构酶)作为内部对照。DMPK表达在图2A至2D中以几何平均值+/-标准偏差显示(n=6至9)。通过Student t检验评估显著性(****P<0.0001)。

[0356] 图2A示出了相对于经PBS处理的小鼠,抗TfR1Fab-ASO缀合物将心脏中的DMPK表达敲低了49%。图2B示出了相对于经PBS处理的小鼠,抗TfR1Fab-ASO缀合物将膈肌中的DMPK

表达敲低了40%。图2C示出了相对于经PBS处理的小鼠,抗TfR1Fab-ASO缀合物将胫骨前肌中的DMPK表达敲低了49%。图2D示出了相对于经PBS处理的小鼠,抗TfR1Fab-ASO缀合物将腓肠肌中的DMPK表达敲低了44%。

[0357] 图3A和3B示出了抗TfR1Fab-ASO缀合物减少了肌纤维核内的DMPK病灶。图3A通过原位杂交示出了减少的DMPK病灶,以及图3B示出了荧光显微术图像中DMPK病灶的量化,这表明缀合物将病灶面积降低了49%。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差($n=7$)。通过t检验评估显著性(* $P<0.05$)。

[0358] 这些结果表明,抗TfR1Fab-ASO缀合物的施用导致心肌和骨骼肌中人毒性DMPK的稳健、持续的敲低。

[0359] 实施例3. 抗TfR1Fab-ASO缀合物对hTfR1/DMSXL纯合小鼠中剪接缺陷的校正

[0360] 在小鼠模型(“hTfR1/DMSXL”)中测试了如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物(在该实施例中标记为“抗TfR1Fab-ASO缀合物”),所述小鼠模型(“hTfR1/DMSXL”)表达人TfR1和两个拷贝的含有扩增的CUG重复的突变体人DMPK转基因二者。已知这些小鼠表现出与在患有DM1的患者中观察到的那些一致的剪接缺陷(Huguet, et al. (2012) PLOS Genetics 8(11):e1003043)。在第0天和第7天,向小鼠施用载剂对照(“hTfR1/DMSXL-PBS”)或10mg/kg ASO等效剂量的抗TfR1Fab-ASO缀合物(“hTfR1/DMSXL-缀合物”)。将仅表达人TfR1但不表达突变体人DMPK转基因的小鼠(hTfR1小鼠)和用PBS处理的小鼠(“hTfR1-PBS”)用作另一对照,以确定hTfR1/DMSXL小鼠中剪接表型的程度并评估缀合物对剪接的影响程度。在第28天(在施用第一剂抗TfR1Fab-ASO缀合物之后四周)处死小鼠,收集组织并提取RNA。进行逆转录-定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)来测量已知在人和小鼠的DM1进展期间被错误剪接的一组RNA中的外显子包涵(exon inclusion)(Nakamori, et al. (2013) Ann. Neurol. 74(6):862-872; Huguet, et al. (2012) PLOS Genetics 8(11):e1003043)。将外显子包涵以每个剪接RNA标志物的归一化的剪接百分比(percent spliced in, PSI)计算,并使用来自心脏(图4)、膈肌(图5)、胫骨前肌(图6)和腓肠肌(图7)中的剪接标志物的经归一化PSI值来计算复合剪接指数。如前所述计算复合剪接指数(Tanner MK, et al. (2021) Nucleic Acids Res. 49:2240-2254),并以平均值 $\pm$ 标准偏差显示。

[0361] 图4示出了抗TfR1Fab-ASO缀合物校正了hTfR1/DMSXL小鼠心脏组织中的剪接,如复合剪接指数数据所示。用于产生复合剪接指数数据的经归一化PSI值显示出通过用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理对hTfR1/DMSXL小鼠心脏组织中的Mbnl2外显子6(E6)和Nfix E7剪接的校正,但未显示出对Ldb3E11剪接的校正。图4中示出的复合剪接指数数据基于Ldb3E11、Mbnl2E6和Nfix E7剪接数据;BinlE11、Dtna E12、Insr E11和Mbnl2E5没有包括在内,因为在测试的实验条件下,相对于hTfR1小鼠,它们在心脏组织中的经归一化PSI值在hTfR1/DMSXL小鼠中没有改变。

[0362] 图5示出了抗TfR1Fab-ASO缀合物校正了hTfR1/DMSXL小鼠膈肌组织中的剪接,如复合剪接指数数据所示。用于产生复合剪接指数数据的经归一化PSI值显示出通过用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理对hTfR1/DMSXL小鼠膈肌组织中的BinlE11、Insr E11、Ldb3E11和Nfix E7剪接的校正。图5中示出的复合剪接指数数据基于BinlE11、Insr E11、Ldb3E11和Nfix E7剪接数据;Dtna E12、Mbnl2E5、Mbnl2E6和Ttn E313不包括在内,因为在测试的实验

条件下,相对于hTfR1小鼠,它们在膈肌组织中的经归一化PSI值在hTfR1/DMSXL小鼠中没有改变。

[0363] 图6示出了抗TfR1Fab-ASO缀合物校正了hTfR1/DMSXL小鼠胫骨前肌组织中的剪接,如复合剪接指数数据所示。用于产生复合剪接指数数据的经归一化PSI值显示出通过用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理对hTfR1/DMSXL小鼠胫骨前肌组织中的Bin1E11、Ldb3E11和Nfix E7剪接的校正,但未显示出对Mbn12E6剪接的校正。图6中示出的复合剪接指数数据基于Bin1E11、Ldb3E11、Mbn12E6和Nfix E7剪接数据;Dtna E12、Insr E11、Mbn12E5和Ttn E313不包括在内,因为在测试的实验条件下,相对于hTfR1小鼠,它们在胫骨前肌组织中的经归一化PSI值在hTfR1/DMSXL小鼠中没有改变。

[0364] 图7示出了抗TfR1Fab-ASO缀合物校正了hTfR1/DMSXL小鼠的腓肠肌组织中的剪接,如复合剪接指数数据所示。用于产生复合剪接指数数据的经归一化PSI值显示出通过用抗TfR1Fab-ASO缀合物处理对hTfR1/DMSXL小鼠腓肠肌组织中的Mbn12E6、Nfix E7和Ttn E313剪接的校正。图7中示出的复合剪接指数数据基于Mbn12E6、Nfix E7和Ttn E313剪接数据;Bin1E11、Dtna E12、Insr E11、Ldb3E11和Mbn12E5不包括在内,因为在测试的实验条件下,相对于hTfR1小鼠,它们在腓肠肌组织中的经归一化PSI值在hTfR1/DMSXL小鼠中没有改变。

[0365] 这些结果表明抗TfR1Fab-ASO缀合物的施用有助于心肌和骨骼肌中DM1剪接缺陷的校正。

[0366] 实施例4. 非人灵长类和DM1患者肌管中的DMPK敲低

[0367] 在人DM1患者肌管(32F细胞)和非人灵长类(NHP)肌管中测试了如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物(在该实施例中标记为“抗TfR1Fab-ASO缀合物”)。使用的DM1患者肌管表达野生型DMPK mRNA和含有380个CUG重复的突变体DMPK mRNA二者。使用的NHP肌管仅表达野生型DMPK。

[0368] 将DM1患者细胞或NHP细胞以50,000个细胞/孔的密度接种到生长培养基中的96孔板中并使其过夜恢复。第二天,将生长培养基更换成低血清分化培养基,并用浓度相当于125nM、250nM或500nM ASO的缀合物处理细胞。将细胞孵育10天,然后使用Cells-to-Ct试剂盒合成cDNA,其中将粗细胞裂解物作为总RNA的来源。

[0369] 将cDNA用于使用Taqman PCR评估总DMPK敲低。将数据归一化为PPIB表达,并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法来确定与经PBS处理的对照(“载剂”)相比的DMPK敲低。图8中显示的数据表示为相对于物种匹配的载剂对照的平均DMPK表达+标准偏差(每种条件n=4个重复)。

[0370] 结果显示,当以生理相关浓度处理时,抗TfR1Fab-ASO缀合物在正常NHP肌管和DM1患者肌管二者中均实现了DMPK表达的敲低,其中与NHP细胞(仅表达野生型DMPK mRNA)相比,在DM1患者细胞(表达野生型DMPK mRNA和含有380个CUG重复的DMPK mRNA二者)中DMPK表达的敲低程度更高(图8)。在125nM的ASO等效浓度下,相对于仅载剂的对照,缀合物在NHP肌管中实现了约40%DMPK敲低,并且在DM1患者肌管中实现了约65%DMPK敲低。在250nM的ASO等效浓度下,相对于仅载剂的对照,缀合物在NHP肌管中实现了约45%DMPK敲低,并且在DM1患者肌管中实现了约80%DMPK敲低。在500nM的ASO等效浓度下,相对于仅载剂的对照,缀合物在NHP肌管中实现了约60%DMPK敲低,并且在DM1患者肌管中实现了约90%DMPK敲低。

[0371] 这些结果表明,相对于表达野生型DMPK的食蟹猴肌管,包含与DMPK靶向寡核苷酸共价连接的抗TfR1Fab的缀合物可在表达野生型DMPK mRNA和突变体DMPK mRNA(具有扩增的CUG重复)的人肌管中实现更大程度的DMPK敲低。

[0372] 实施例5.在施用抗TfR1Fab-ASO缀合物之后12周时hTfR1/DMSXL半合子小鼠(hemizygous mice)中的DMPK敲低

[0373] 在hTfR1/DMSXL半合子小鼠模型中测试如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物。在通过尾静脉向小鼠静脉内施用之后,在多种组织中监测突变体人DMPK表达持续12周。以20mg/kg ASO等效剂量向小鼠施用缀合物。收集心脏、膈肌、腓肠肌和胫骨前肌组织。通过针对DMPK mRNA表达的定量PCR(qPCR)测量突变体人DMPK敲低。在施用抗TfR1Fab-ASO缀合物之后1周(7天)、2周(14天)、4周(28天)、8周(56天)和12周(84天)测定经处理小鼠中的DMPK敲低。

[0374] 图9A、图9B、图9C和图9D分别示出了相对于对照(经PBS处理)小鼠,经处理小鼠的心脏、膈肌、胫骨前肌和腓肠肌组织中的突变体人DMPK表达。DMPK的最大敲低通常在处理之后2至4周达到,之后DMPK敲低减少。在施用缀合物之后,心脏中突变体人DMPK的表达保持抑制多至3个月。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差(每种组织n=5至12个重复)。

[0375] 这些数据表明在治疗之后,所施用的抗TfR1Fab-ASO缀合物的效力持续至少两周。

[0376] 实施例6.在施用抗TfR1Fab-ASO缀合物之后hTfR1/DMSXL半合子小鼠中的DMPK敲低

[0377] 在hTfR1/DMSXL半合子小鼠模型中进一步测试如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物。在用相同剂量的抗TfR1Fab-ASO缀合物(以单剂量或两个单独的剂量施用)处理之后4周,评估不同组织中的DMPK表达。小鼠接受相当于10mg/kg ASO的单剂量缀合物,或接受两个剂量的缀合物(每个剂量相当于5mg/kg ASO)。接受两个5mg/kg剂量的小鼠间隔一周或间隔两周接受该剂量。在施用最后一剂(10mg/kg剂量或两个5mg/kg剂量中的第二剂)之后4周(28天),评估多种肌肉组织中的DMPK敲低和ASO水平。

[0378] 图10A、10B、10C和10D分别示出了相对于对照(经载体处理)小鼠,经处理小鼠的心脏、膈肌、胫骨前肌和腓肠肌组织中的DMPK表达。用所有给药方案处理的小鼠持续敲低毒性人DMPK多至4周。将10mg/kg剂量分成两个单独的5mg/kg剂量改善了一些受试肌肉组织中的DMPK敲低。单个10mg/kg剂量导致心脏中39%的敲低、膈肌中50%的敲低、胫骨前肌中38%的敲低和腓肠肌中31%的敲低;间隔一周施用的两个5mg/kg剂量导致心脏中51%的敲低、膈肌中45%的敲低、胫骨前肌中46%的敲低和腓肠肌中50%的敲低;并且间隔两周施用的两个5mg/kg剂量导致心脏中55%的敲低、膈肌中35%的敲低、胫骨前肌中47%的敲低和腓肠肌中40%的敲低,如在施用最后剂量的复合物之后28天所测量的。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差(每种组织n=6个重复)。通过单因素ANOVA检验确定显著性。

[0379] 这些结果表明,抗TfR1Fab-ASO缀合物可以以时间上间隔的剂量施用于对象,以在不提高施用于对象的ASO的总剂量的情况下增强DMPK敲低的效力。

[0380] 实施例7.在施用抗TfR1Fab-ASO缀合物之后hTfR1/DMSXL半合子小鼠中的DMPK敲低

[0381] 在以单剂量或间隔一周的两个剂量施用的hTfR1/DMSXL半合子小鼠模型中进一步

测试了如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1Fab的缀合物。相对于对照(经载体处理)小鼠组织中的表达,评估了在用该缀合物处理之后小鼠多种组织中的DMPK表达。

[0382] 图11A、11B、11C和11D分别示出了用一个5mg/kg ASO等效剂量、一个10mg/kg ASO等效剂量或一个20mg/kg ASO等效剂量的缀合物处理的小鼠的心脏、膈肌、胫骨前肌和腓肠肌组织中的突变体人DMPK表达。在施用缀合物之后28天评估DMPK敲低。观察到了毒性人DMPK敲低的剂量依赖性趋势,其中在第28天时间点测试的10mg/kg和20mg/kg剂量下的效果大致相同。5mg/kg剂量导致心脏中30%的敲低、膈肌中26%的敲低、胫骨前肌中39%的敲低和腓肠肌中19%的敲低;10mg/kg剂量导致心脏中46%的敲低、膈肌中51%的敲低、胫骨前肌中46%的敲低和腓肠肌中42%的敲低;并且20mg/kg剂量导致心脏中41%的敲低、膈肌中47%的敲低、胫骨前肌中53%的敲低和腓肠肌中40%的敲低,如在施用复合物之后28天所测量的。数据表示为平均值+标准偏差。通过单因素ANOVA检验确定显著性。

[0383] 图12A、12B、12C和12D分别示出了用两个5mg/kg ASO等效剂量(总共10mg/kg)或两个10mg/kg ASO等效剂量(总共20mg/kg)的缀合物处理的小鼠的心脏、膈肌、胫骨前肌和腓肠肌组织中的人突变体DMPK表达。两个5mg/kg ASO等效剂量和两个10mg/kg ASO等效剂量间隔一周施用。在向小鼠施用第一剂量之后28天(即,施用第二剂之后21天)评估DMPK敲低。在所有测定组织中均观察到对DMPK敲低的剂量依赖性作用。两个5mg/kg剂量的复合物导致心脏中36%的敲低,膈肌中34%的敲低,腓肠肌中36%的敲低和胫骨前肌中38%的敲低;两个10mg/kg剂量的复合物导致心脏中51%的敲低、膈肌中78%的敲低、腓肠肌中64%的敲低和胫骨前肌中57%的敲低,如在施用第一剂复合物之后28天所测量的。数据表示为平均值+标准偏差(每种组织n=5至6个重复)。通过Brown-Forsythe和Welch ANOVA检验与Dunnett T3多重比较检验确定显著性。

[0384] 在向小鼠施用四个月剂量的缀合物之后,还在hTfR1/DMSXL半合子小鼠中测试了抗TfR1Fab-ASO缀合物。如下施用缀合物:四个5mg/kg ASO-等效剂量或四个10mg/kg ASO-等效剂量缀合物,每次施用间隔4周(分别在第0、28、56和84天)。在向小鼠施用第一剂之后112天(16周)评估多种组织中的DMPK敲低。图13A、13B、13C和13D分别示出了用缀合物处理的小鼠的心脏、膈肌、胫骨前肌和腓肠肌组织中的人突变体DMPK表达。在所有受试组织中都观察到DMPK敲低,并且相对于接受四个5mg/kg剂量的小鼠,施用四个10mg/kg ASO等效剂量的小鼠的胫骨前肌和腓肠肌二者的敲低均显示出统计学显著提高。四个5mg/kg月剂量的复合物导致心脏中50%的敲低,膈肌中43%的敲低,腓肠肌中45%的敲低,胫骨前肌中47%的敲低;并且四个10mg/kg月剂量的复合物导致心脏中48%的敲低、膈肌中51%的敲低、腓肠肌中64%的敲低和胫骨前肌中59%的敲低,如在施用第一剂复合物之后112天所测量的。数据表示为平均值+标准偏差(每种组织n=5至6个重复)。通过ANOVA检验,随后通过未校正的Fisher最小显著性差异检验来确定显著性。

[0385] 这些结果示出了不同剂量的抗TfR1Fab-ASO缀合物对毒性人DMPK表达的影响,并表明可通过将缀合物的剂量分开来增强缀合物的效力。

[0386] 实施例8. 在施用抗TfR1Fab-ASO缀合物之后非人灵长类中的DMPK敲低

[0387] 在非人灵长类(NHP)模型(食蟹猴;食蟹猕猴(*Macaca fascicularis*))中以实施例5至7中所述的鼠研究所告知的剂量测试如实施例1中所述的包含与DMPK靶向寡核苷酸

(ASO) 共价连接的抗TfR1Fab的缀合物。在用该缀合物处理之后评估多种组织中的DMPK表达,如使用针对DMPK mRNA表达的定量PCR测定(qPCR)所测量的。

[0388] 图14A和14B分别示出了在静脉内输注缀合物之后4、8和12周测量的用约10mg/kg ASO等效剂量的缀合物处理的NHP的腓肠肌和胫骨前肌组织中的DMPK表达。相对于仅载剂的对照动物显示表达。在每个测试的时间点,施用缀合物的动物中的表达相对于对照降低(给药后4、8和12周时腓肠肌中的相对表达分别为0.54、0.47和0.61;给药后4、8和12周时胫骨前肌中的相对表达分别为0.75、0.48和0.72)。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。通过非配对t检验确定显著性。

[0389] 图15A、15B、15C和15D分别示出了相对于对照(经载剂处理)动物,用5mg/kg或10mg/kg ASO等效剂量的缀合物处理的NHP的心脏、膈肌、胫骨前肌和腓肠肌组织中的DMPK表达。在施用缀合物之后四周评估DMPK敲低。观察到缀合物对心肌和骨骼肌中DMPK敲低的剂量依赖性作用。在测定时间,5mg/kg剂量导致心脏中21%的敲低、膈肌中43%的敲低、胫骨前肌中22%的敲低和腓肠肌中25%的敲低;并且10mg/kg剂量导致心脏中38%的敲低、膈肌中60%的敲低、胫骨前肌中30%的敲低和腓肠肌中35%的敲低。这些结果与先前在hTfR1/DMSXL小鼠模型中观察到的剂量作用一致。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。使用Dunnett事后分析,通过单因素ANOVA检验确定显著性。

[0390] 图16A、16B、16C、16D、16E、16F和16G分别示出用两个5mg/kg或两个10mg/kg ASO等效剂量的缀合物处理的NHP的心脏、膈肌、胫骨前肌、腓肠肌、咬肌、食管和十二指肠组织中的DMPK表达,其中两个剂量间隔四周(28天)施用。在施用第一剂量的缀合物之后8周评估DMPK敲低。每月施用抗TfR1 Fab-ASO缀合物导致在所有测定的组织中持续的DMPK敲低。每月施用10mg/kg ASO等效剂量导致与DM1病理学相关的组织中WT DMPK的最大和最显著敲低。两个5mg/kg ASO等效剂量的复合物导致心脏中24%的敲低、膈肌中41%的敲低、腓肠肌中56%的敲低以及胫骨前肌中45%的敲低、咬肌中39%的敲低、食管中21%的敲低和十二指肠中28%的敲低;两个10mg/kg ASO等效剂量的复合物导致心脏中34%的敲低、膈肌中64%的敲低、腓肠肌中70%的敲低以及胫骨前肌中65%的敲低、咬肌中60%的敲低、食管中49%的敲低和十二指肠中67%的敲低,如在施用第一剂之后8周所测量的。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。通过单因素ANOVA,随后进行未校正的Fisher最小显著性差异(LSD)检验来确定显著性。

[0391] 这些结果表明抗TfR1 Fab-ASO缀合物在NHP模型中有效。这些结果还表明,当每月施用缀合物的效力延长,并且与先前在重现了DM1的病理发展的小鼠模型中获得的结果一致。

[0392] 另外的实施方案

[0393] 1.在对象中降低DMPK表达的方法,其包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体,其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,其中所述抗体包含:含有SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有

SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),其中所述复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列。

[0394] 2.在对象中治疗强直性肌营养不良的方法,其包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体,其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,其中所述抗体包含:含有SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),其中所述复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列。

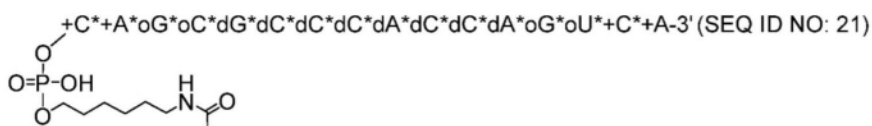
[0395] 3.在对象中降低DMPK表达的方法,其包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体,其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1mg至12mg寡核苷酸/kg对象,其中所述抗体包含:含有SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),其中所述复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列。

[0396] 4.在对象中治疗强直性肌营养不良的方法,其包括向对象施用包含有效量的复合物的组合物,所述复合物包含与一个或多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体,其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1mg至12mg寡核苷酸/kg对象,其中所述抗体包含:含有SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1(CDR-H1),含有SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2(CDR-H2),含有SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3(CDR-H3),含有SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1(CDR-L1),含有SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2(CDR-L2)和含有SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3(CDR-L3),其中所述复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列。

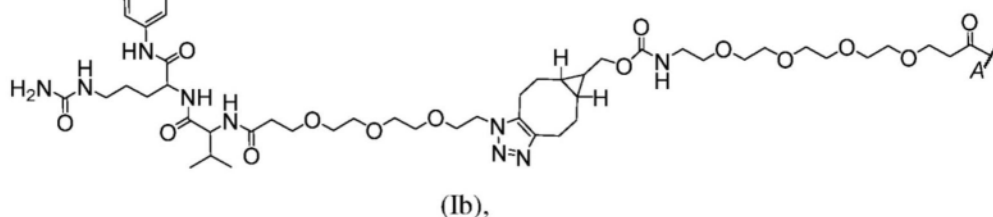
[0397] 5.实施方案1至4中任一项所述的方法,其中所述复合物中的寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z是包含一个或多个经修饰核苷的侧翼区,并且Y是包含一个或多个2'-脱氧核糖核苷的间隔区。

[0398] 6.实施方案1至5中任一项所述的方法,其中每个复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中:

[0399] 每个 R^1 包含式(Ib)基团:



[0400]



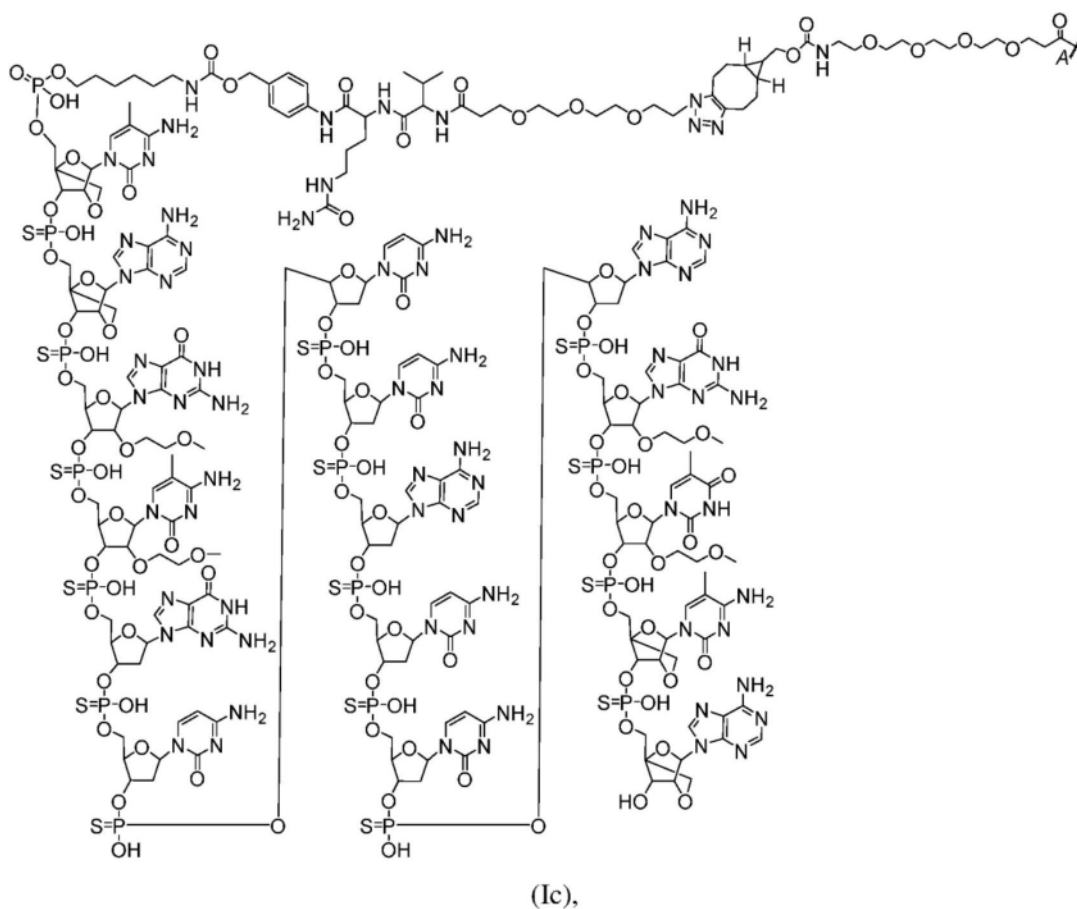
[0401] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'—双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;并且R¹中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列;

[0402] R²包含抗TfR1抗体;并且

[0403] 在每个复合物中,n1独立地为1或更大的整数,其表示R¹的实例数,其中R¹的每个实例通过连接点A与所述抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5。

[0404] 7. 实施方案1至5中任一项所述的方法,其中每个复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ 的结构,其中:

[0405] 每个R¹包含式(Ic)基团:



[0406]

[0407] 其中R²包含抗TfR1抗体;并且

[0408] 在每个复合物中,n1独立地为1或更大的整数,其表示R¹的实例数,其中R¹的每个实例通过连接点A与所述抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5。

[0409] 8.实施方案1至7中任一项所述的方法,其中所述抗TfR1抗体为Fab片段。

[0410] 9.实施方案1至8中任一项所述的方法,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。

[0411] 10.实施方案1至9中任一项所述的方法,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链。

[0412] 11.实施方案1至10中任一项所述的方法,其中所述施用发生一次或更多次。

[0413] 12.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的10mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0414] 13.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至90mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0415] 14.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的10mg至20mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的13mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0416] 15.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的18mg至36mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的25mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0417] 16.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的36mg至72mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的50mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0418] 17.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的55mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的75mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0419] 18.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的6mg至12mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的8mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0420] 19.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的11mg至22mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的15mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0421] 20.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的22mg至44mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的30mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0422] 21.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的44mg至88mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的60mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0423] 22.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物

中的1mg至14mg寡核苷酸/kg对象。

[0424] 23.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的0.5mg至12mg寡核苷酸/kg对象。

[0425] 24.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的1.2mg至2.4mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的1.8mg寡核苷酸/kg对象。

[0426] 25.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的2.2mg至4.5mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的3.4mg寡核苷酸/kg对象。

[0427] 26.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的4.5mg至9mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的6.8mg寡核苷酸/kg对象。

[0428] 27.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的7mg至14mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的10.2mg寡核苷酸/kg对象。

[0429] 28.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的0.7mg至1.5mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的1.1mg寡核苷酸/kg对象。

[0430] 29.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的1.4mg至2.7mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的2mg寡核苷酸/kg对象。

[0431] 30.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的2.7mg至5.4mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的4.1mg寡核苷酸/kg对象。

[0432] 31.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至11mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的8.2mg寡核苷酸/kg对象。

[0433] 32.实施方案11所述的方法,其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至8mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中每次施用的有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg寡核苷酸/kg对象。

[0434] 33.实施方案1至32中任一项所述的方法,其中在施用期期间,所述组合物每4周一次施用。

[0435] 34.实施方案1至32中任一项所述的方法,其中在施用期期间,所述组合物每8周一次施用。

[0436] 35.实施方案1至32中任一项所述的方法,其中在施用期期间,所述组合物每12周一次施用。

[0437] 36.实施方案33至35中任一项所述的方法,其中所述施用期为少于10年。

[0438] 37.实施方案33至35中任一项所述的方法,其中所述施用期为所述对象的余生。

[0439] 38.实施方案1至32中任一项所述的方法,其中所述组合物在第一施用期期间每4

周一次施用,并且随后在第二施用期期间每8周一次施用。

[0440] 39. 实施方案38所述的方法,其中所述第一施用期为8至16周,和/或其中所述第二施用期为16周至所述对象的余生。

[0441] 40. 实施方案1至39中任一项所述的方法,其中所述组合物为水溶液的形式,并且还包含三(羟甲基)氨基甲烷和蔗糖。

[0442] 41. 实施方案40所述的方法,其中三(羟甲基)氨基甲烷以25mM的浓度存在于所述水溶液中,蔗糖以10w/v%的浓度存在于所述水溶液中,并且所述水溶液的pH为7.5。

[0443] 42. 实施方案40或实施方案41所述的方法,其中所述复合物以10mg/mL至50mg/mL的浓度存在于所述组合物中。

[0444] 43. 实施方案1至42中任一项所述的方法,其中所述施用降低所述对象的肌细胞中的DMPK表达,任选地其中降低DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK RNA的量,任选地其中所述肌细胞的核中的DMPK RNA量降低。

[0445] 44. 实施方案43所述的方法,其中降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK蛋白的量。

[0446] 45. 实施方案1至44中任一项所述的方法,其中所述对象具有包含疾病相关性CTG重复的突变体DMPK等位基因。

[0447] 46. 实施方案45所述的方法,其中所述施用导致所述对象的肌细胞中的DMPK mRNA降低至少30%,任选地其中所述施用导致所述对象的肌细胞的核中的DMPK mRNA降低。

[0448] 47. 实施方案1至46中任一项所述的方法,其中所述对象是人。

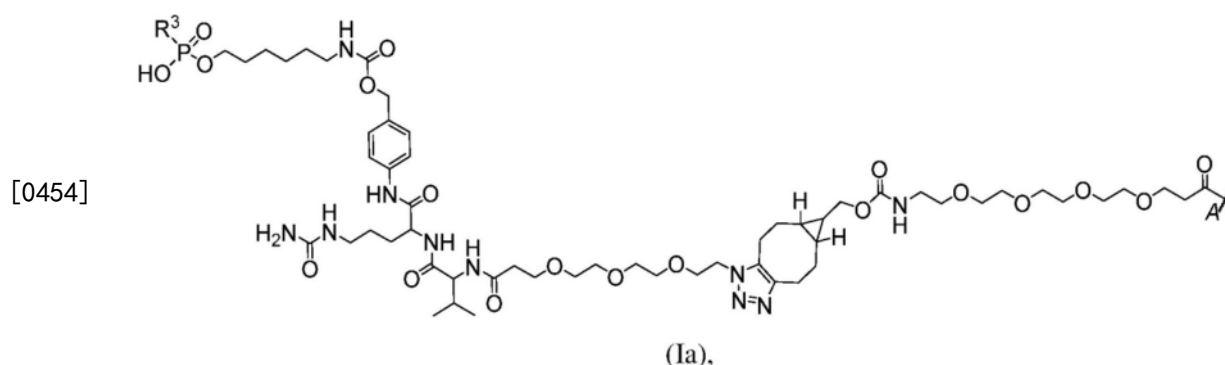
[0449] 48. 实施方案1至46中任一项所述的方法,其中所述对象是啮齿动物。

[0450] 49. 实施方案1至46中任一项所述的方法,其中所述对象是非人灵长类。

[0451] 50. 实施方案1至49中任一项所述的方法,其中所述复合物全身性施用,任选地其中所述复合物静脉内施用,还任选地其中所述复合物通过输注施用。

[0452] 51. 在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n1}$ -R²的结构,其中:

[0453] 每个R¹包含式(Ia)基团:



[0455] 其中R³包含寡核苷酸,所述寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列且包含+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dv*dC*dA*oG*oU*+C*+A (SEQ ID NO:21) 的结构,其中+N表示LNA (2'-4' 亚甲基桥) 核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷 (2'-4' 亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,并且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

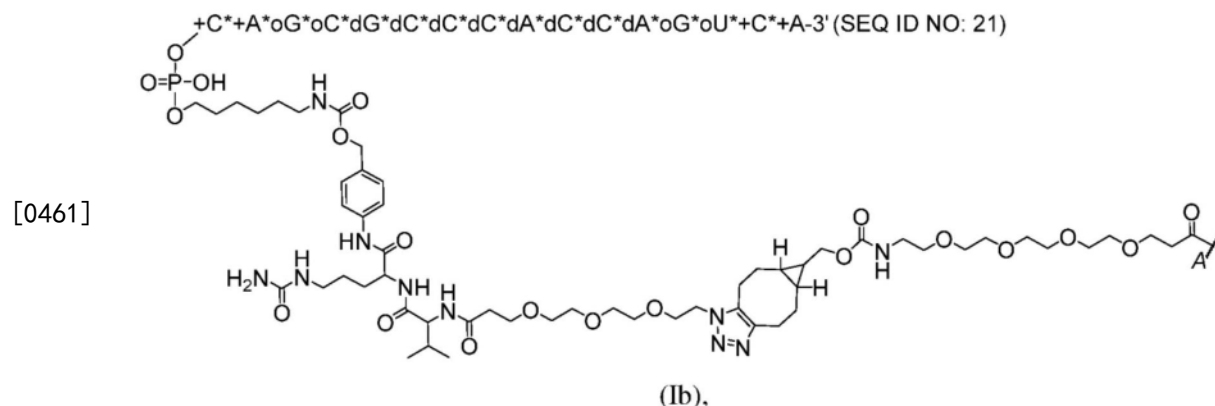
[0456] R^2 包含抗TfR1 Fab,其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0457] 在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,其中 R^1 的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5;

[0458] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的8mg至60mg或13mg至75mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0459] 52.在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中:

[0460] 每个 R^1 包含式(Ib)基团:



[0462] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'一双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且 R^1 中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列;

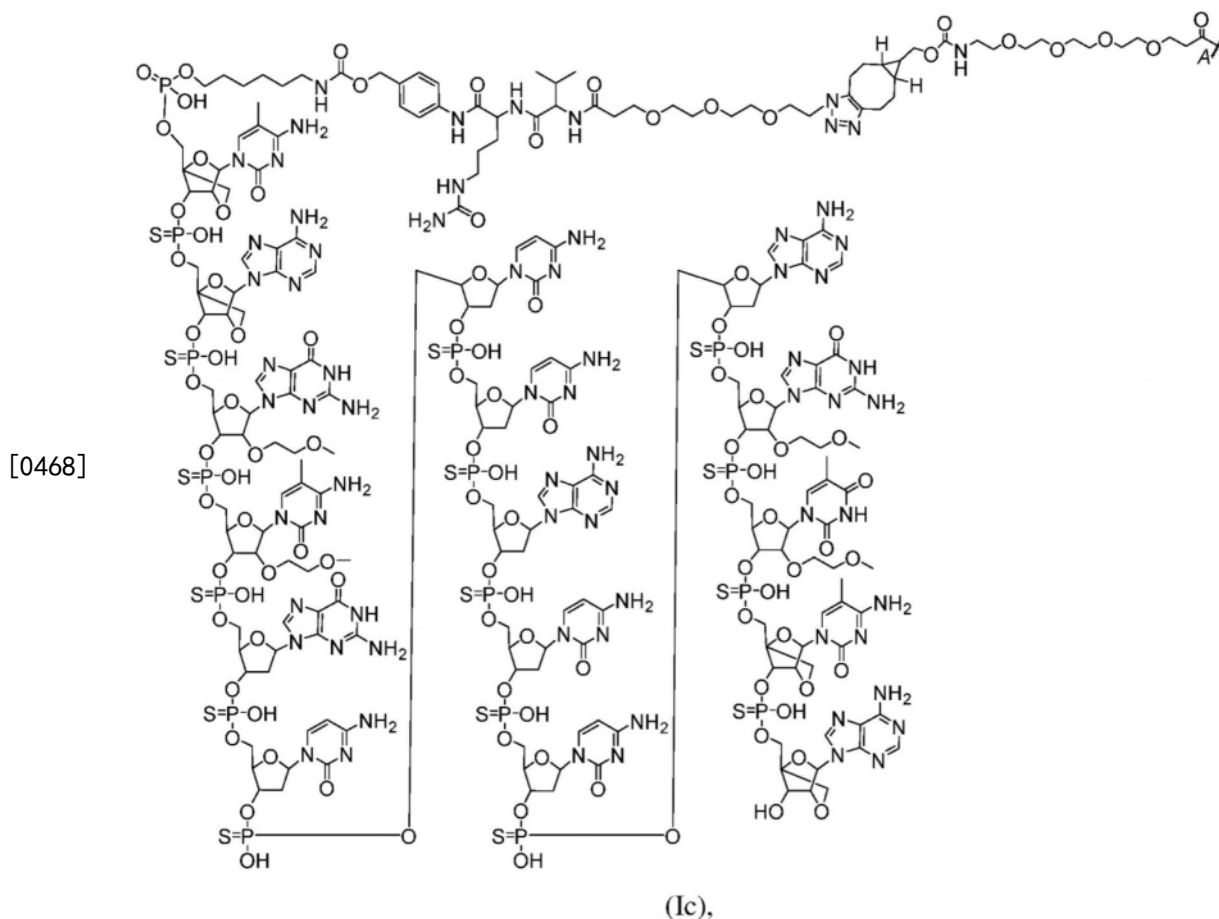
[0463] R^2 包含抗TfR1 Fab,其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0464] 在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,其中 R^1 的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5;

[0465] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的8mg至60mg或13mg至75mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0466] 53.在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中:

[0467] 每个 R^1 包含式(Ic)基团:



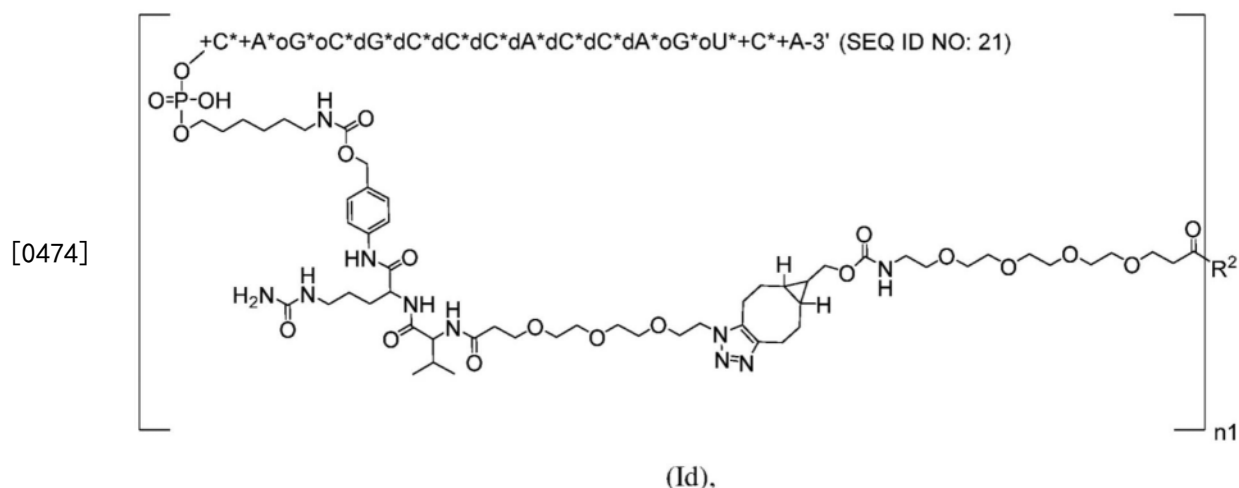
[0469] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,日*表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且R1中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列;

[0470] R²包含抗TfR1 Fab,其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0471] 在每个复合物中,n1独立地为1或更大的整数,其表示R¹的实例数,其中R¹的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5;

[0472] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象,任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的8mg至60mg或13mg至75mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0473] 54.在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(Ic)基团:



[0475] 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 日*表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且R¹中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列;

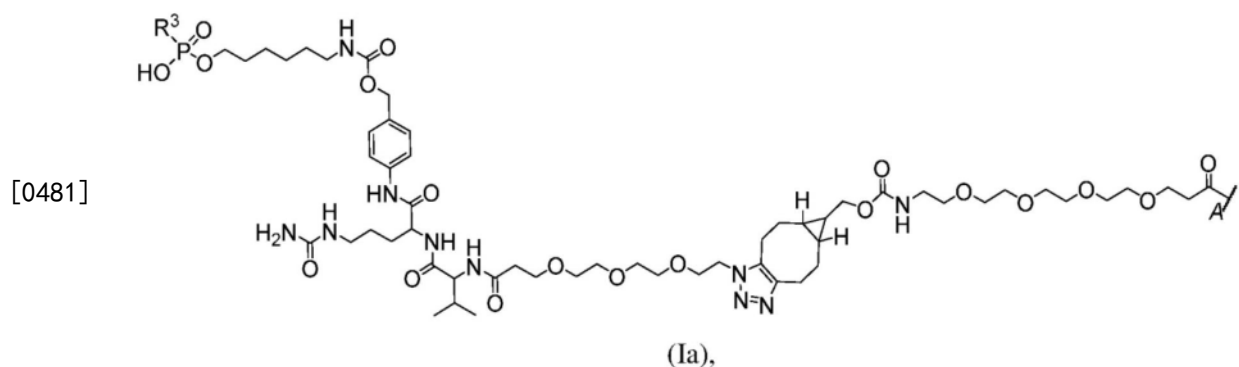
[0476] R²包含抗TfR1 Fab, 其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链; 并且

[0477] 在每个复合物中, n₁独立地为1或更大的整数, 其表示R¹的实例数, 其中R¹的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接, 任选地其中所述组合物中的复合物的n₁的平均值为0.5至5;

[0478] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的5mg至110mg抗TfR1抗体/kg对象, 任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的8mg至60mg或13mg至75mg抗TfR1抗体/kg对象。

[0479] 55. 在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法, 其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物, 所述复合物包含式(I): [R¹]_{n1}-R²的结构, 其中:

[0480] 每个R¹包含式(Ia)基团:



[0482] 其中R₃包含寡核苷酸, 所述寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列并且包含+C*A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*A (SEQ ID NO:21) 的结构, 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 并且*表示硫代磷酸酯核苷间键联;

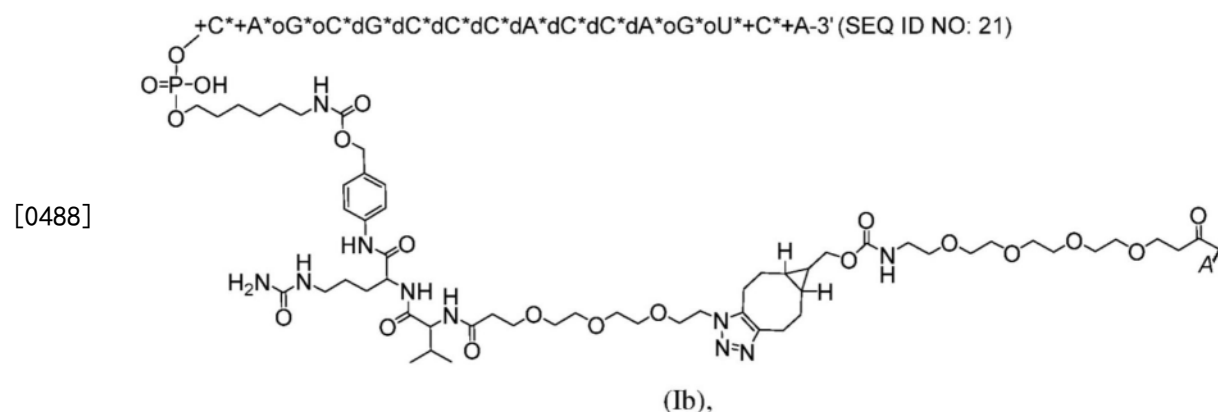
[0483] R^2 包含抗TfR1 Fab,其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0484] 在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,其中 R^1 的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5;

[0485] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1mg至12mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1.8mg至10.2mg或1.1mg至8.2mg寡核苷酸/kg对象。

[0486] 56.在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中:

[0487] 每个 R^1 包含式(Ib)基团:



[0489] 其中+N表示LNA(2'-4'亚甲基桥)核糖核苷,dN表示2'-脱氧核糖核苷,oN表示2'-MOE修饰的核糖核苷,oC表示5-甲基-2'-MOE-胞苷,+C表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥),oU表示5-甲基-2'-MOE-尿苷,且*表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且 R^1 中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA(SEQ ID NO:21)的核碱基序列;

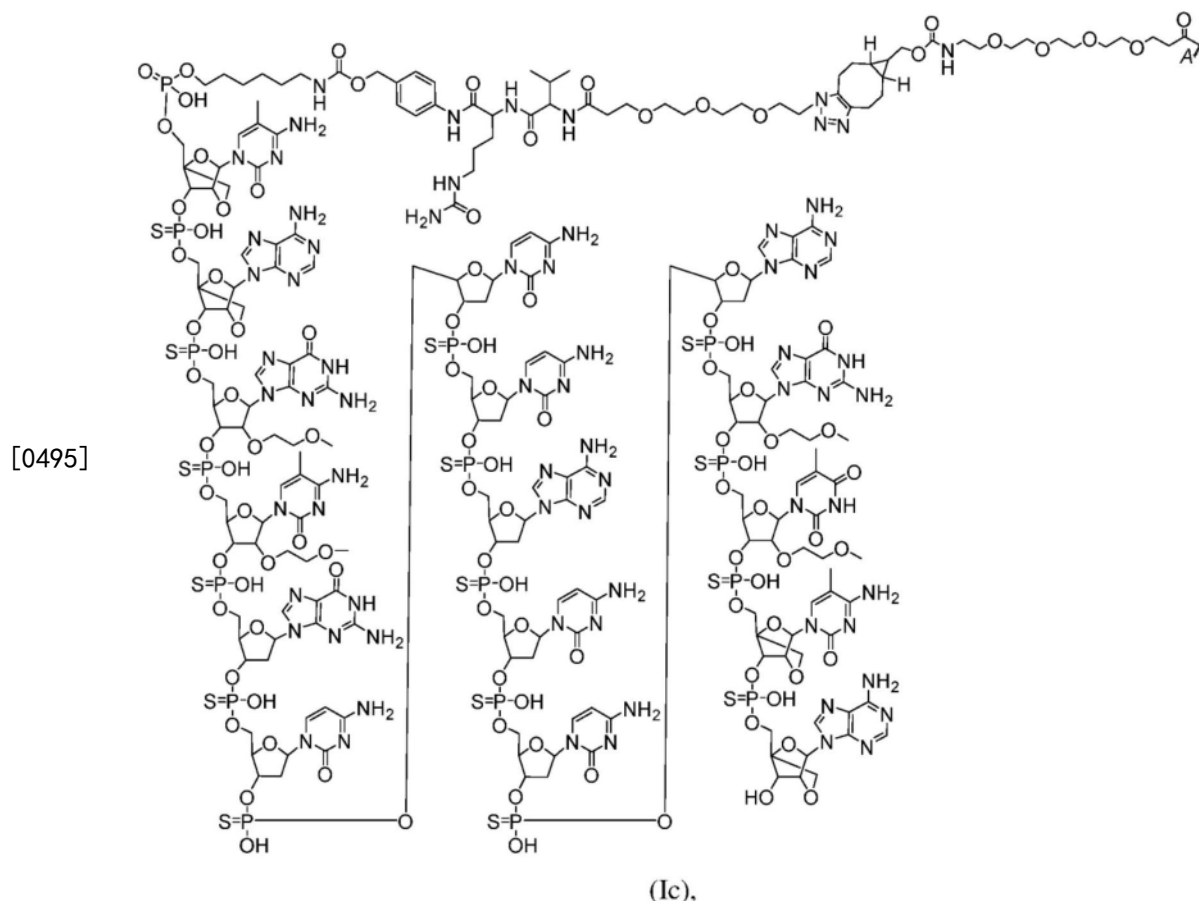
[0490] R^2 包含抗TfR1 Fab,其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0491] 在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,其中 R^1 的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5;

[0492] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1mg至12mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1.8mg至10.2mg或1.1mg至8.2mg寡核苷酸/kg对象。

[0493] 57.在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ 的结构,其中:

[0494] 每个 R^1 包含式(Ic)基团:



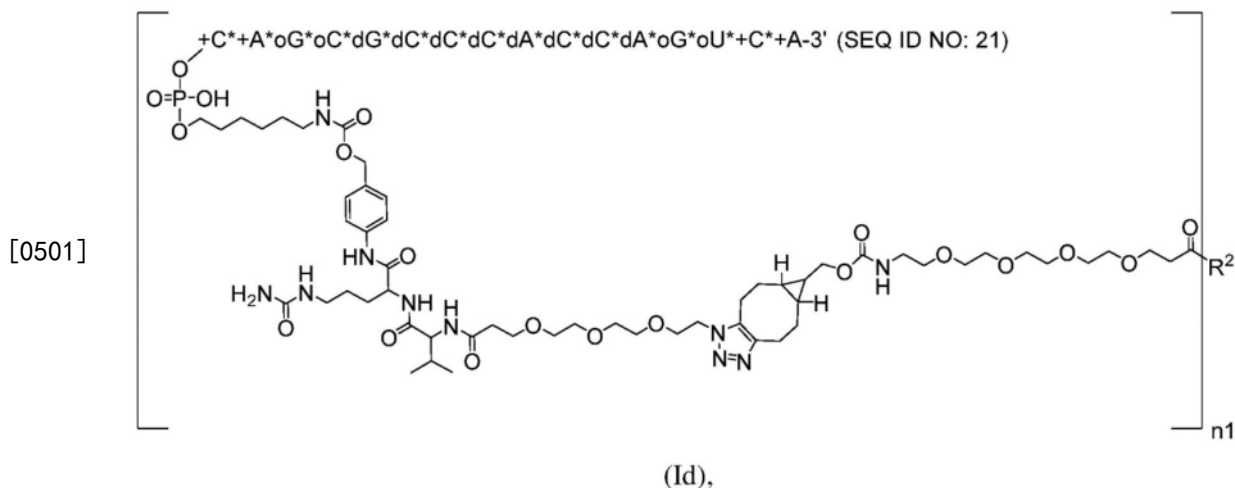
[0496] 其中 R^1 中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21)的核碱基序列;

[0497] R^2 包含抗TfR1 Fab,其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链;并且

[0498] 在每个复合物中, n_1 独立地为1或更大的整数,其表示 R^1 的实例数,其中 R^1 的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接,任选地其中所述组合物中的复合物的 n_1 的平均值为0.5至5;

[0499] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1mg至12mg寡核苷酸/kg对象,任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1.8mg至10.2mg或1.1mg至8.2mg寡核苷酸/kg对象。

[0500] 58. 在对象中降低DMPK表达或治疗强直性肌营养不良的方法,其包括静脉内施用有效量的包含复合物的组合物,所述复合物包含式(I_d)的结构:



[0502] 其中+N表示LNA (2' -4' 亚甲基桥) 核糖核苷, dN表示2' -脱氧核糖核苷, oN表示2' -MOE修饰的核糖核苷, oC表示5-甲基-2' -MOE-胞苷, +C表示5-甲基-2' -4' -双环-胞苷 (2' -4' 亚甲基桥), oU表示5-甲基-2' -MOE-尿苷, 且*表示硫代磷酸酯核苷间键联, 并且R¹中的寡核苷酸包含CAGCGCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列;

[0503] R²包含抗TfR1 Fab, 其包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链; 并且

[0504] 在每个复合物中, n1独立地为1或更大的整数, 其表示R¹的实例数, 其中R¹的每个实例通过连接点A与抗TfR1抗体的不同赖氨酸共价连接, 任选地其中所述组合物中的复合物的n1的平均值为0.5至5;

[0505] 其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1mg至12mg寡核苷酸/kg对象, 任选地其中该有效量向所述对象提供所述复合物中的1.8mg至10.2mg或1.1mg至8.2mg寡核苷酸/kg对象。

[0506] 59. 实施方案51至58中任一项所述的方法, 其中所述组合物为水溶液的形式, 并且其中所述水溶液的pH为7.5, 并且包含浓度为25mM的三(羟甲基)氨基甲烷、浓度为10w/v%的蔗糖和浓度为10mg/mL至50mg/mL的复合物。

[0507] 60. 实施方案51至59中任一项所述的方法, 其中所述组合物每4周一次、每8周一次或每12周一次施用持续一段时间。

[0508] 61. 实施方案51至59中任一项所述的方法, 其中所述组合物在第一施用期期间每4周一次施用, 并且随后在第二施用期期间每8周一次施用。

[0509] 62. 实施方案49至58.1中任一项所述的方法, 其中所述对象是人。

[0510] 63. 包括向对象施用包含复合物的组合物的方法, 所述复合物包含与一个或更多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1 (TfR1) 抗体, 其中组合物以5mg至110mg抗体/kg对象的量向所述对象提供所述复合物中的抗TfR1抗体, 其中所述抗体包含: 含有SEQ ID NO: 1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1), 含有SEQ ID NO: 2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2), 含有SEQ ID NO: 3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3), 含有SEQ ID NO: 4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1), 含有SEQ ID NO: 5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有SEQ ID NO: 6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3), 并且其中所述复合物中的寡核苷酸包含

CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列。

[0511] 64. 包括向对象施用包含复合物的组合物的方法,所述复合物包含与一个或更多个寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1 (TfR1) 抗体,其中所述组合物以1mg至12mg寡核苷酸/kg对象的量向所述对象提供所述复合物中的寡核苷酸,其中所述抗体包含:含有SEQ ID NO:1、7或12中所示的序列的重链互补决定区1 (CDR-H1),含有SEQ ID NO:2、8或13中所示的序列的重链互补决定区2 (CDR-H2),含有SEQ ID NO:3、9或14中所示的序列的重链互补决定区3 (CDR-H3),含有SEQ ID NO:4、10或15中所示的序列的轻链互补决定区1 (CDR-L1),含有SEQ ID NO:5或11中所示的序列的轻链互补决定区2 (CDR-L2) 和含有SEQ ID NO:6或16中所示的序列的轻链互补决定区3 (CDR-L3),并且其中所述复合物中的寡核苷酸包含CAGCGCCCACCAGUCA (SEQ ID NO:21) 的核碱基序列。

[0512] 65. 实施方案1至64中任一项所述的方法,其中所述组合物还包含一种或更多种未与寡核苷酸共价连接的抗TfR1抗体。

[0513] 等同方案和术语

[0514] 本文中举例说明性地描述的公开内容可在不存在本文中未具体公开的任何一个或更多个要素、一个或更多个限制的情况下适当地实践。因此,例如,在本文中的每种情况下,术语“包含/包括”、“基本上由.....组成”和“由.....组成”中的任一个可用其他两个术语中的任一个替换。已采用的术语和表述作为描述而非限制的术语使用,并且使用这样的术语和表述不旨在排除所示出和所描述的特征的任何等同形式或其一部分,而是应认识到,在所公开内容的范围内可进行多种修改。因此,应理解,尽管已通过一些优选的实施方案、任选的特征具体公开了本公开内容,但是本领域技术人员可采取本文中所公开概念的修改和变化,并且这样的修改和变化被认为是在本公开内容的范围内。

[0515] 另外,在根据马库什组 (Markush group) 或其他替代组描述本公开内容的特征或方面的情况下,本领域技术人员将认识到,本公开内容也因此以马库什组或其他组的任何个体成员或成员亚组的方式描述。

[0516] 应理解,在一些实施方案中,在描述寡核苷酸或其他核酸的结构时可参考序列表中所示的序列。在这样的一些实施方案中,实际的寡核苷酸或其他核酸与指定序列相比可具有一个或更多个替代核苷酸 (例如,DNA核苷酸的RNA对应物或RNA核苷酸的DNA对应物) 和/或者 (例如,和) 一个或更多个经修饰核苷酸和/或者 (例如,和) 一个或更多个经修饰核苷间键联和/或者 (例如,和) 一个或更多个其他修饰,同时保留与指定序列基本相同或相似的互补特性。

[0517] 除非在本文中另外指明或与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中 (尤其是在所附权利要求书的上下文中) 使用没有数量词修饰的名词将被解释为一个/种或更多个/种。除非另有说明,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”将被解释为开放式术语 (即,意指“包括但不限于”)。除非本文中另外指明,否则本文中值范围的记载仅旨在用作分别指代落入该范围内的每个单独值的速记方法,并且每个单独值均被并入说明书中,如同其在本文中被单独记载一样。除非另外指明,否则本文中的值的范围包括它们的端点 (例如,X至Y的范围包括值X和Y)。应理解,本文中对从X至Y的值的记载表明该特定值落入X至Y的范围内。除非在本文中另外指明或在其他情况下与上下文明显矛盾,否则本文中所述的所有方法均可以以任何合适的顺序进行。除非另有说明,否则本文中提供的任何和所有实

例或示例性语言(如“例如”)的使用仅旨在更好地说明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。说明书中的语言均不应被解释为表示对本发明的实践必要的任何未要求保护的要素。

[0518] 本文中描述了本发明的一些实施方案。在阅读前述说明之后,那些实施方案的变化对于本领域普通技术人员可变得明显。

[0519] 本发明人预期技术人员在适当时采用这样的变化,并且本发明人希望以除本文中具体描述的之外的方式实践本发明。因此,如适用法律所允许的,本发明包括在此所附权利要求书中记载的主题的所有修改和等同方案。此外,除非在本文中另外指明或在其他情况下与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖其所有可能变化中的上述要素的任何组合。本领域技术人员将认识到或者仅使用常规实验就能够确定本文中描述的发明的具体实施方案的许多等同方案。这样的等同方案旨在由所附权利要求书涵盖。

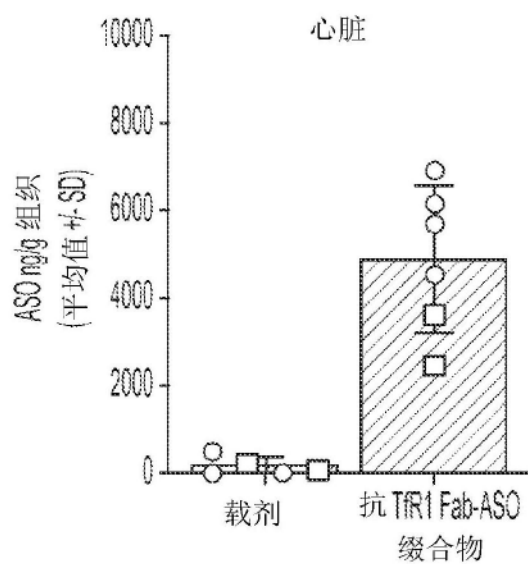


图1A

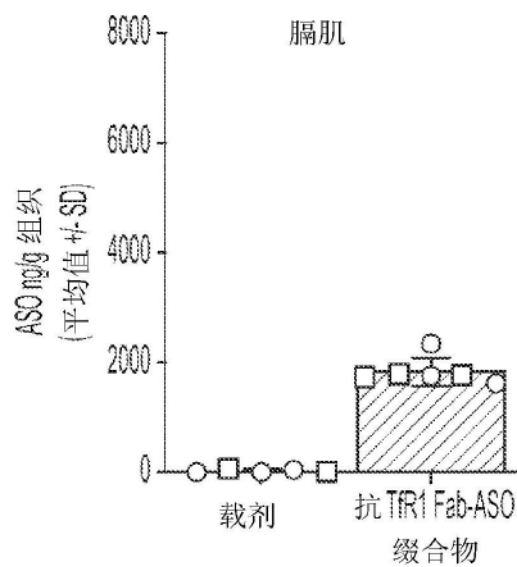


图1B

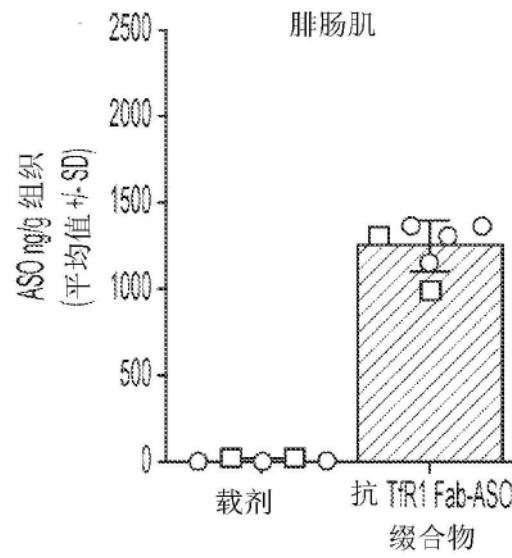


图1C

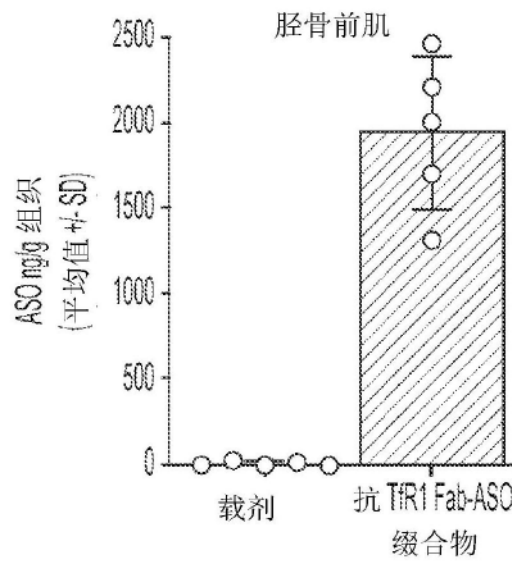


图1D

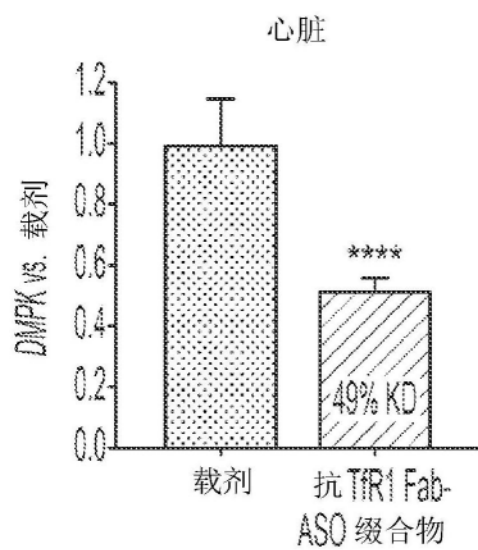


图2A

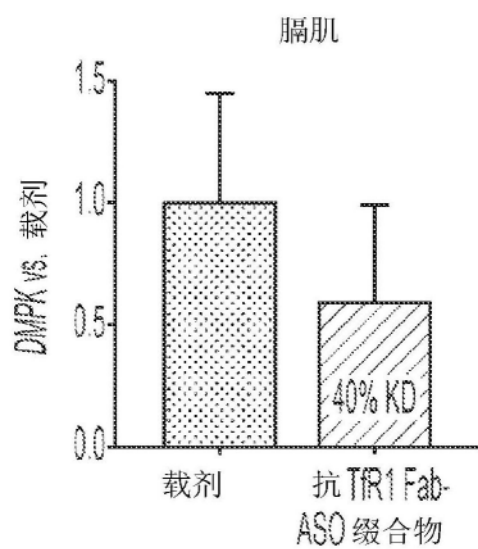


图2B

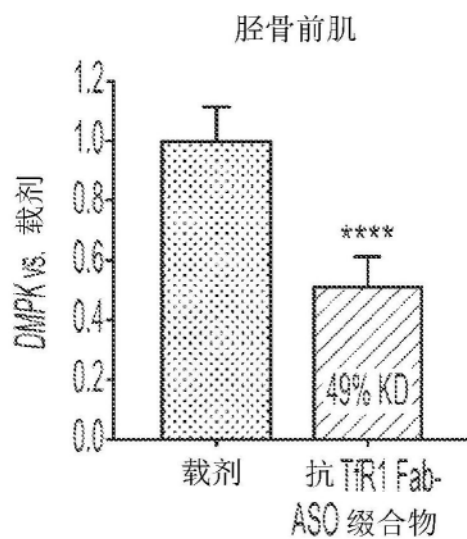


图2C

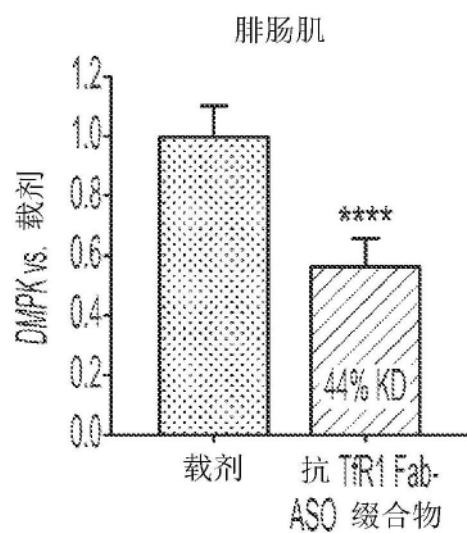


图2D

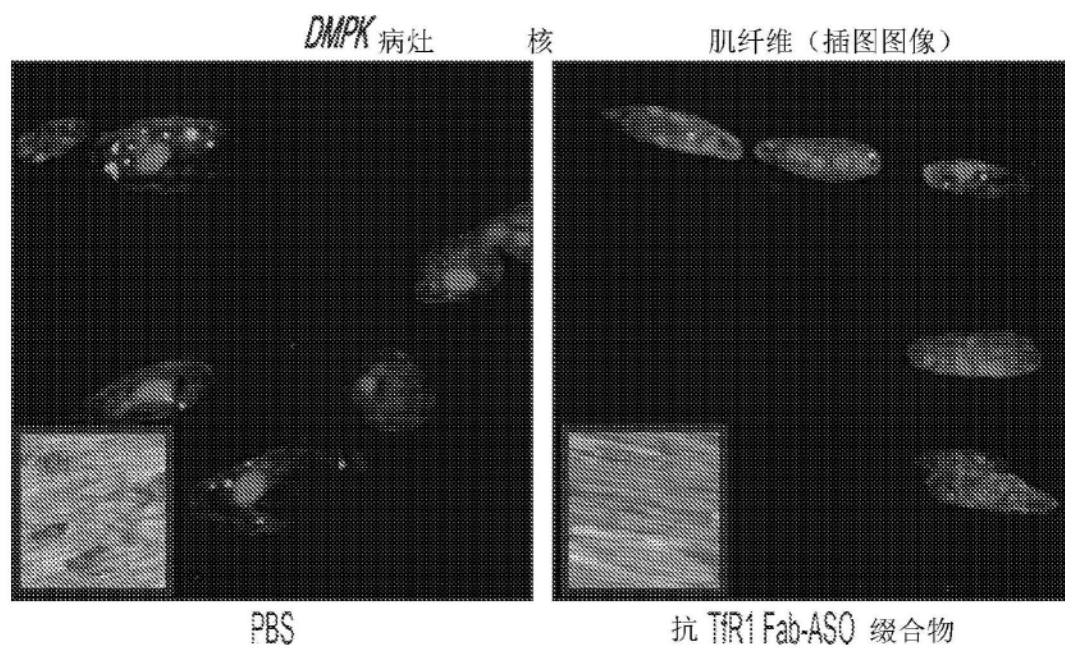


图3A

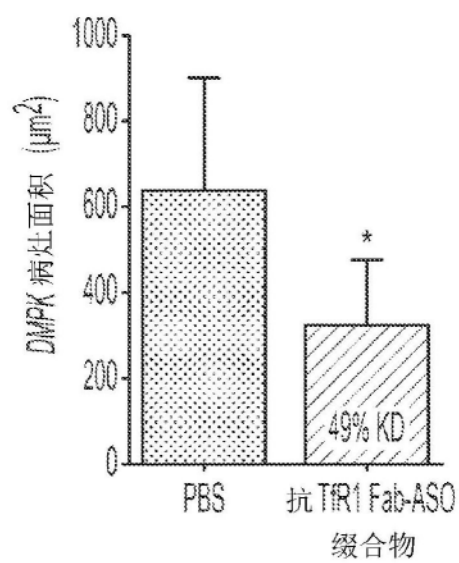


图3B

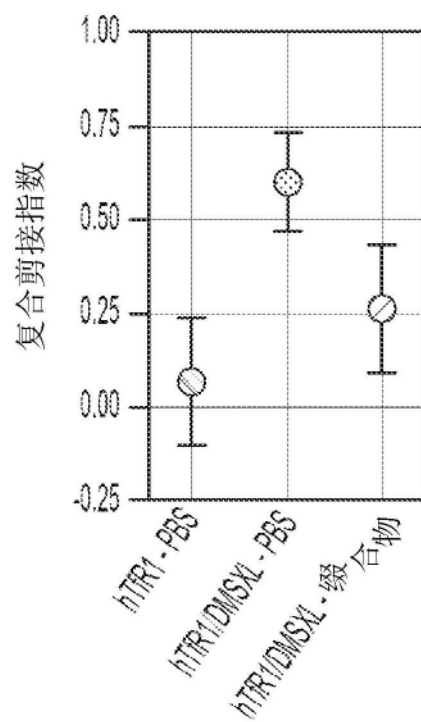


图4

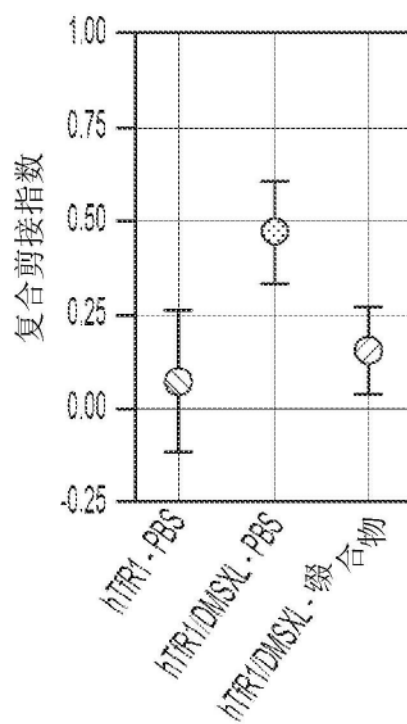


图5

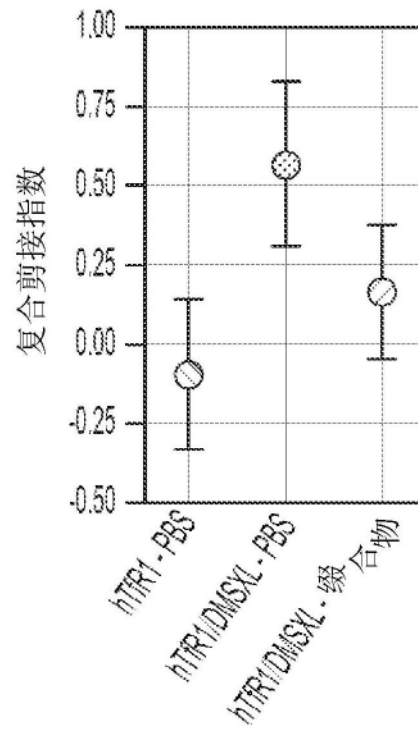


图6

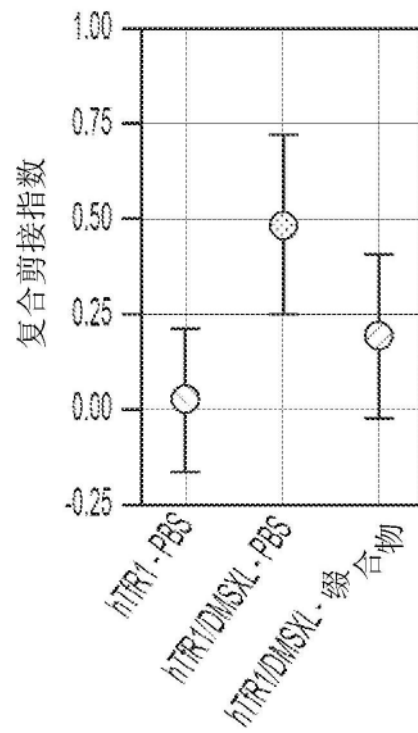


图7

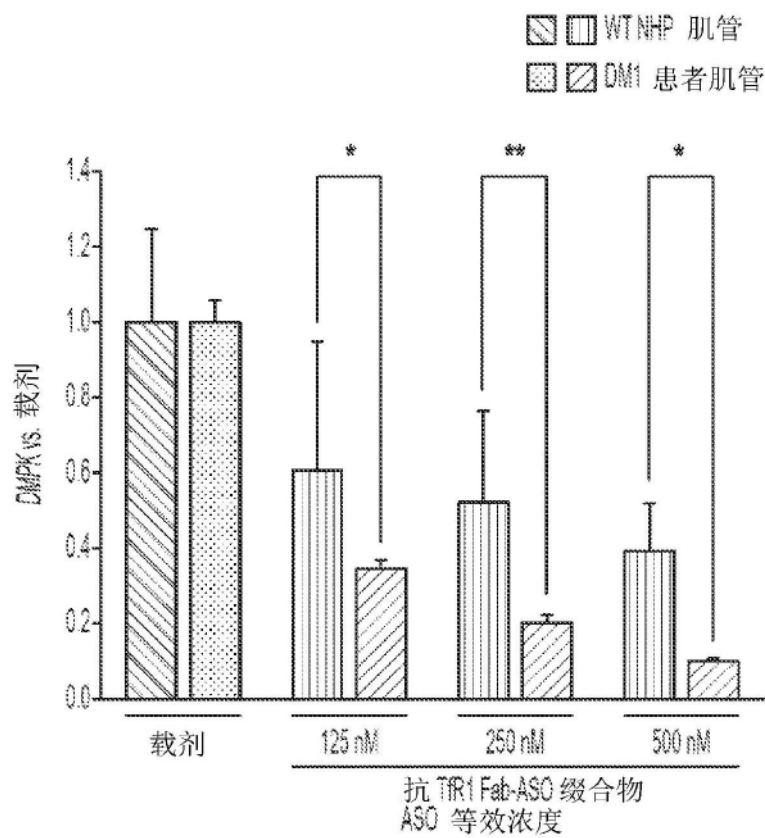


图8

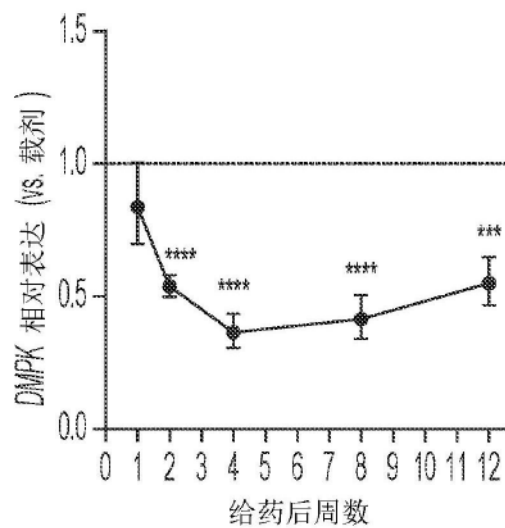


图9A

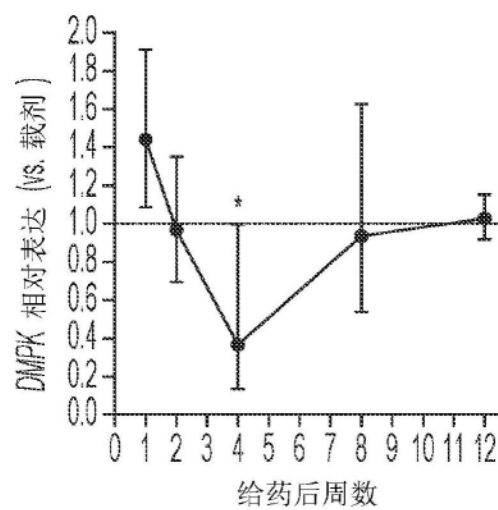


图9B

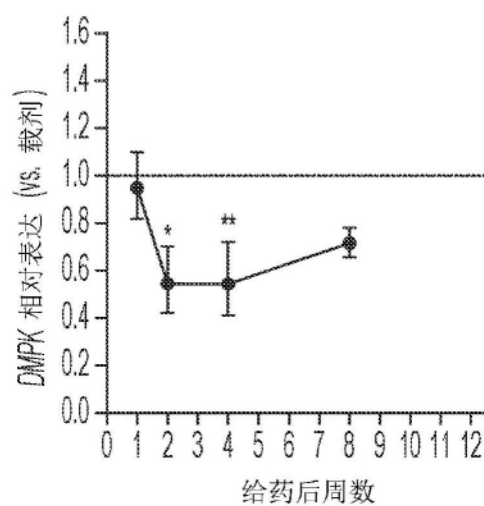


图9C

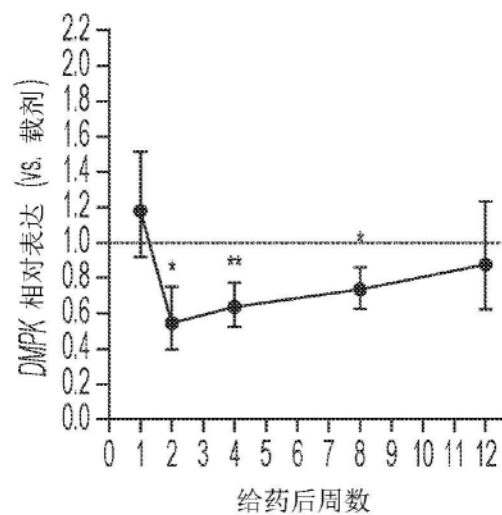


图9D

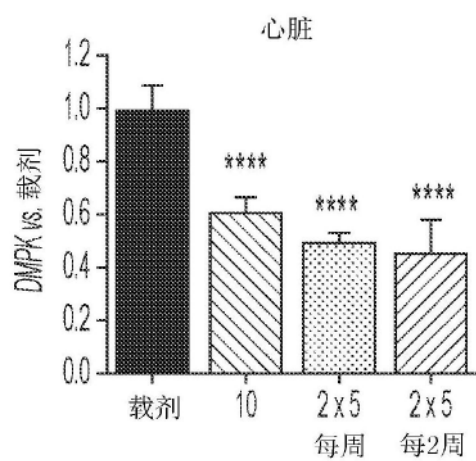


图10A

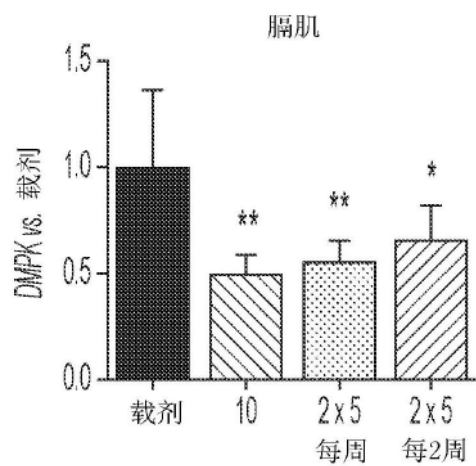


图10B

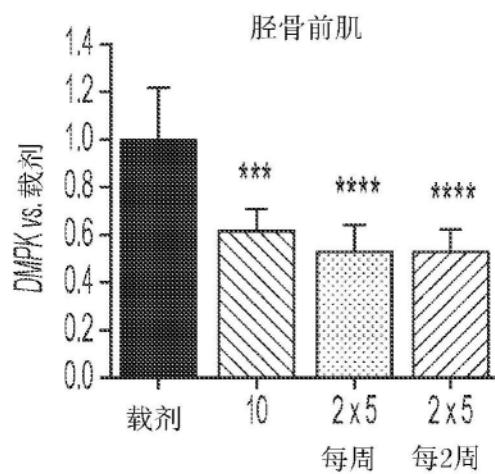


图10C

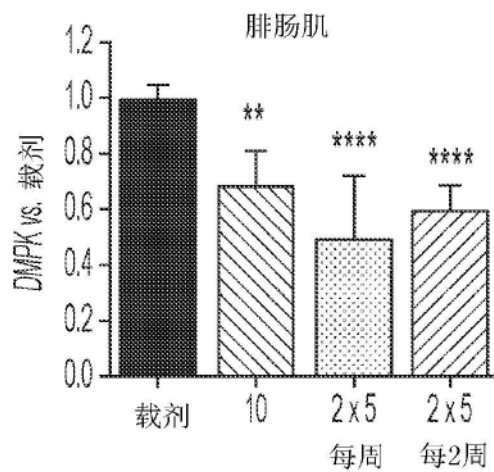


图10D

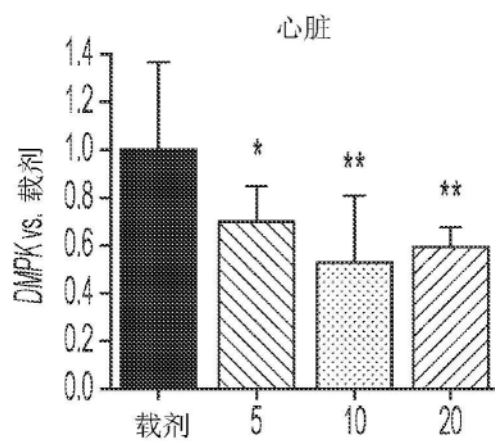


图11A

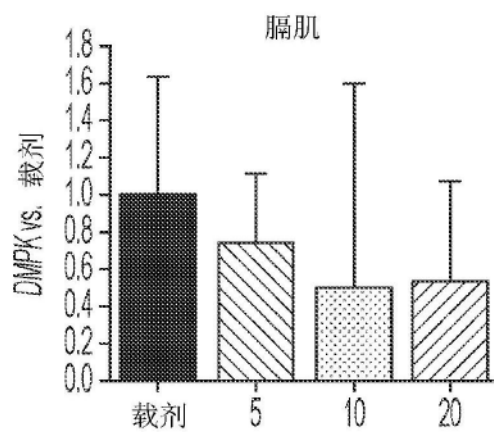


图11B

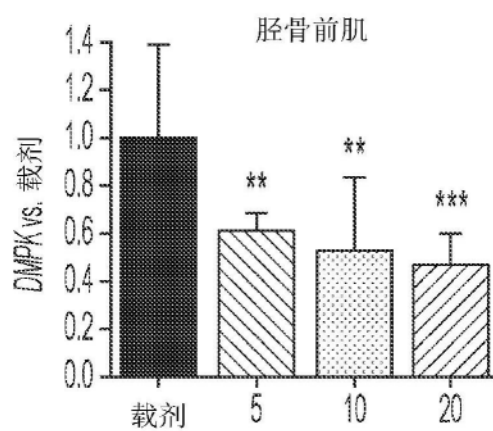


图11C

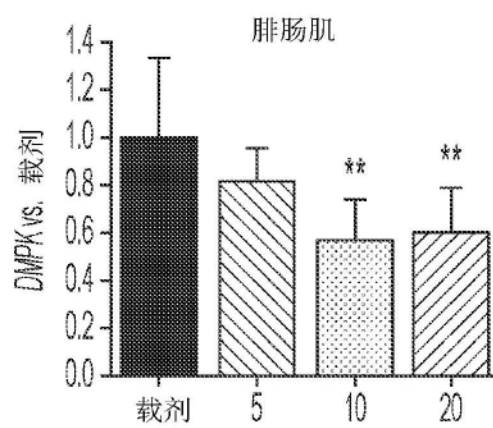


图11D

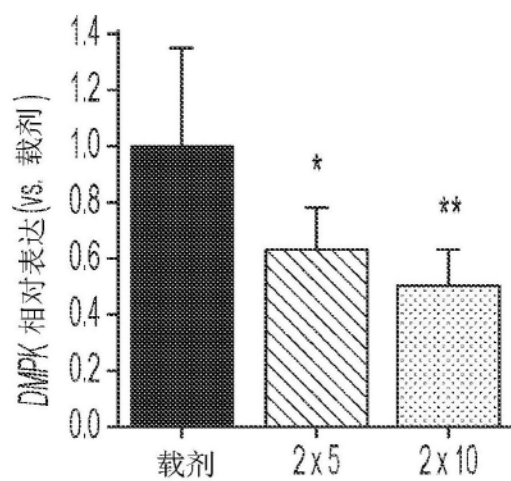


图12A

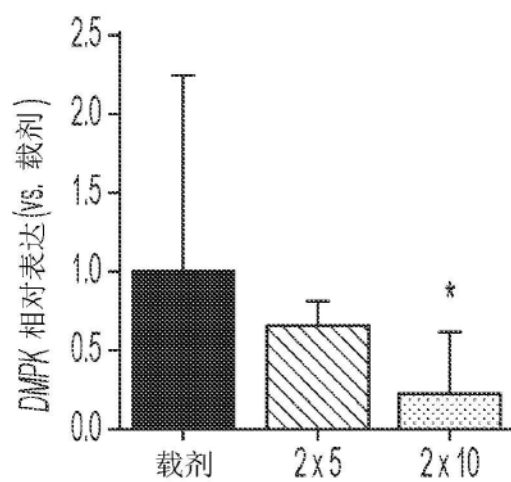


图12B

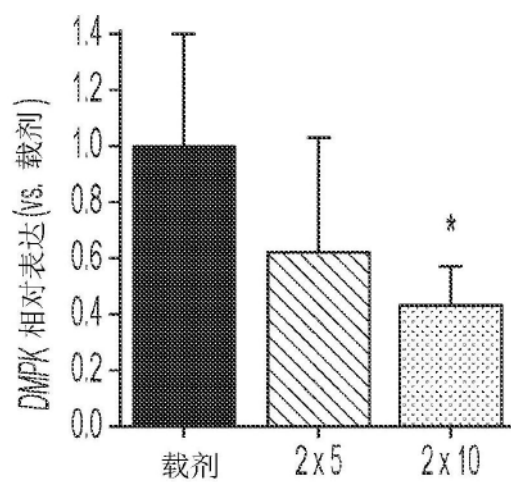


图12C

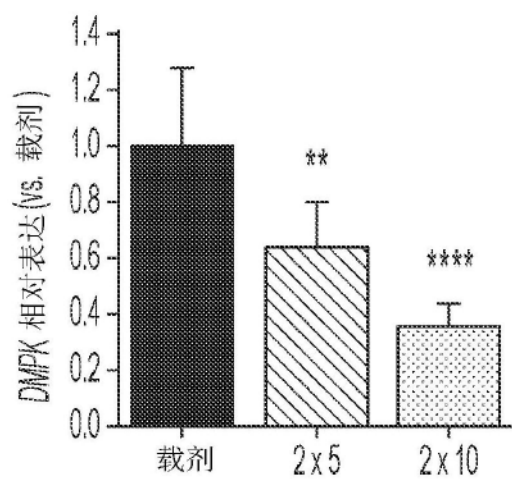


图12D

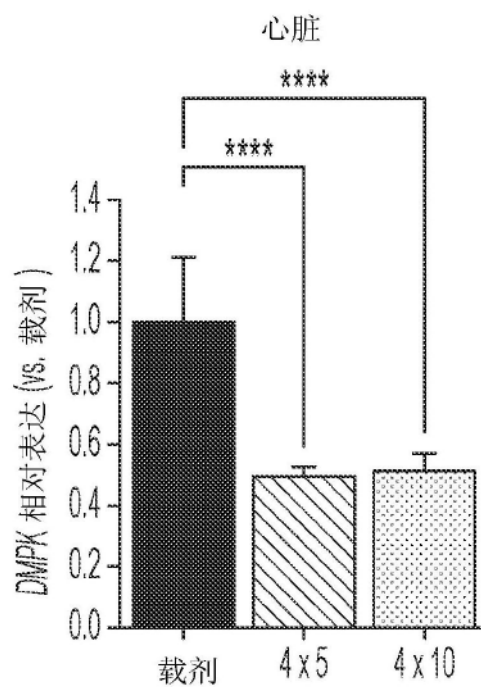


图13A

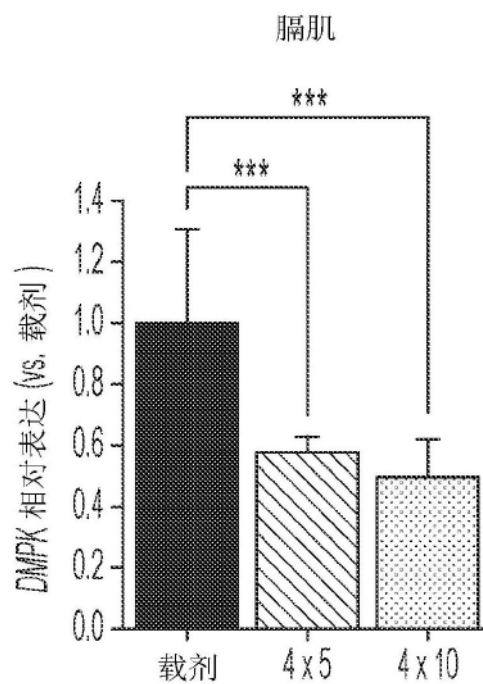


图13B

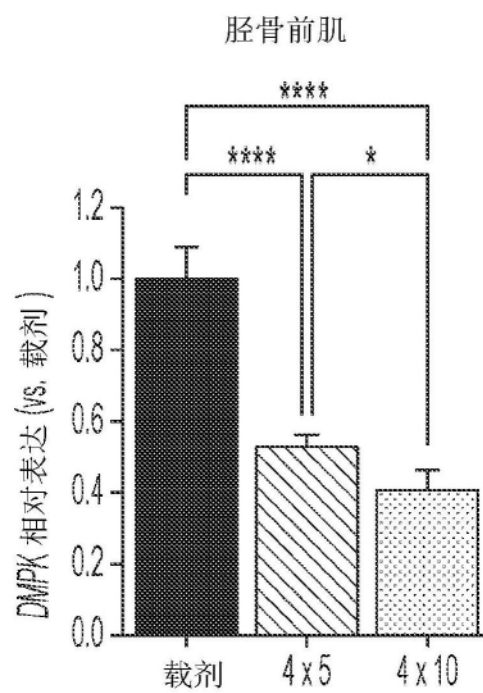


图13C

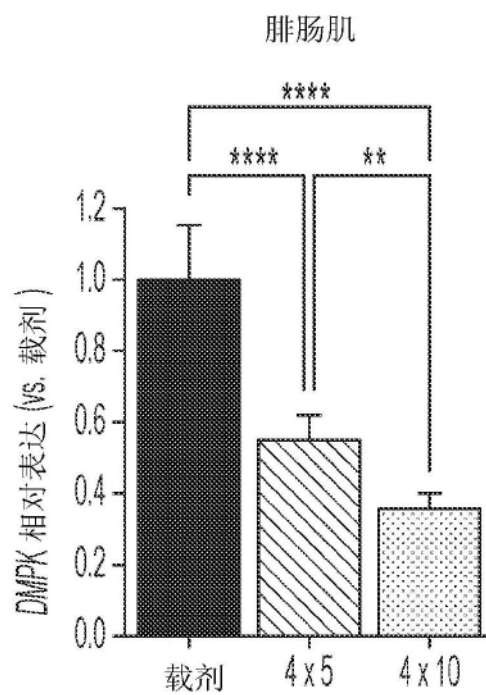


图13D

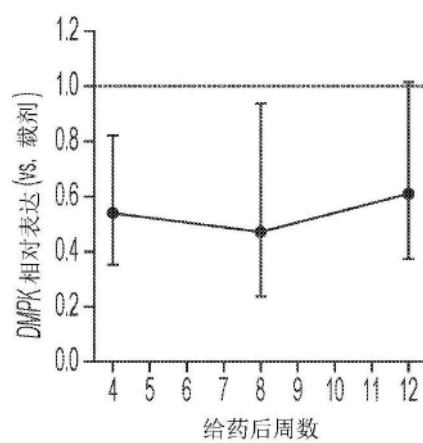


图14A

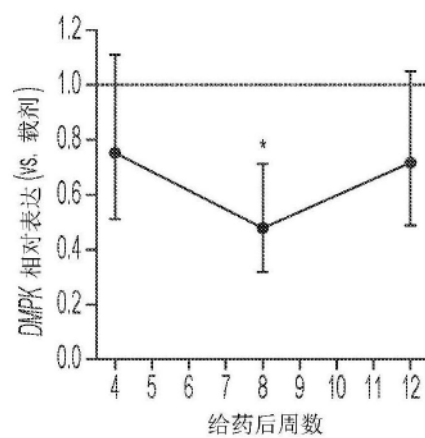


图14B

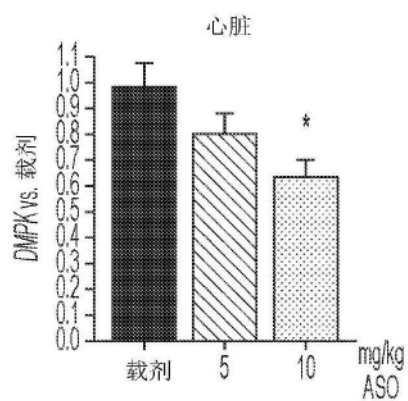


图15A

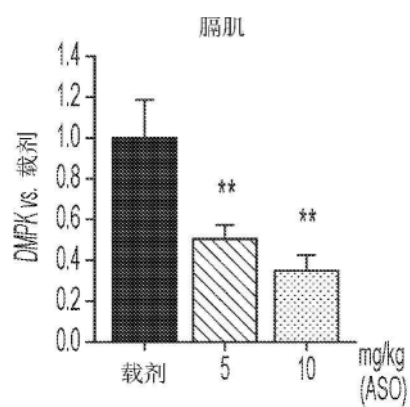


图15B

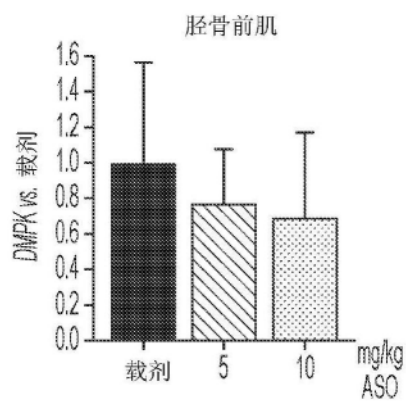


图15C

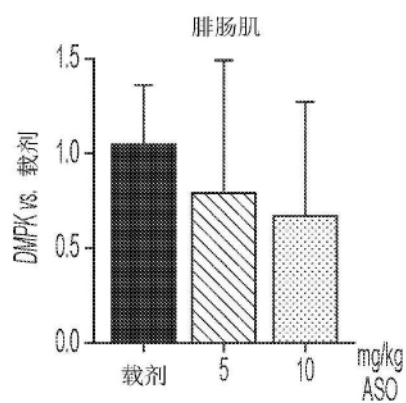


图15D

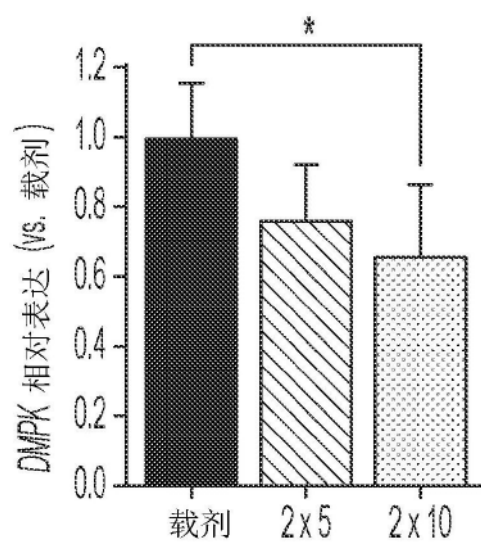


图16A

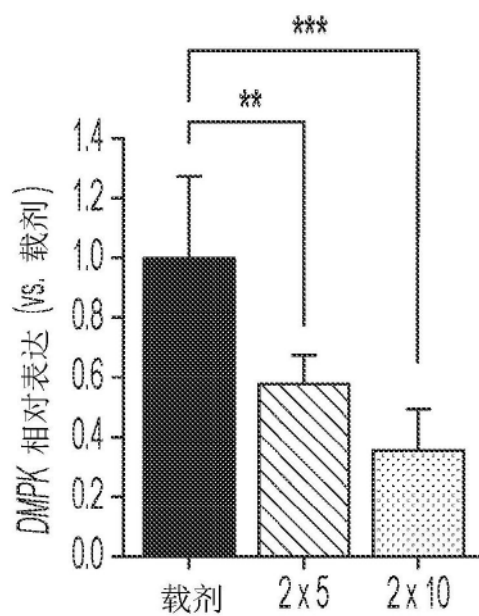


图16B

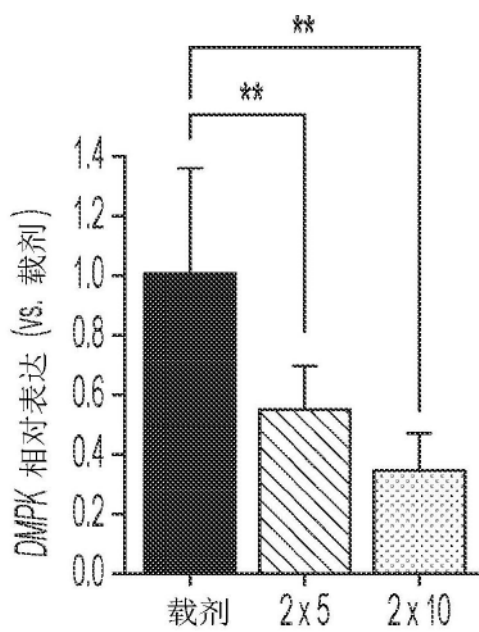


图16C

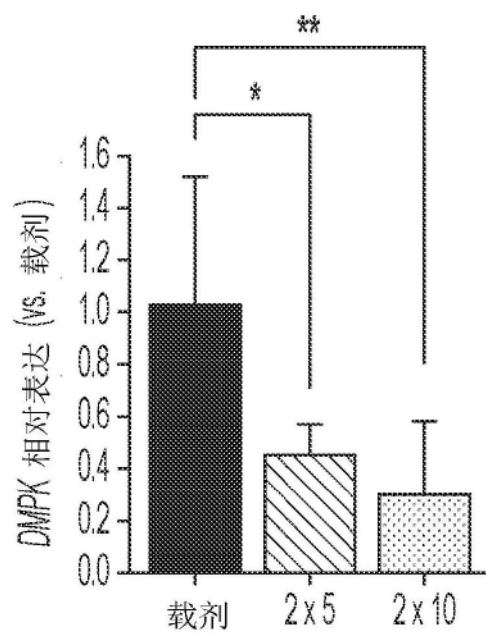


图16D

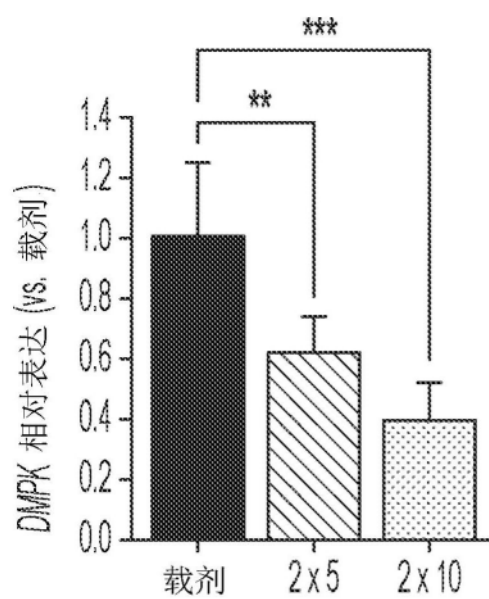


图16E

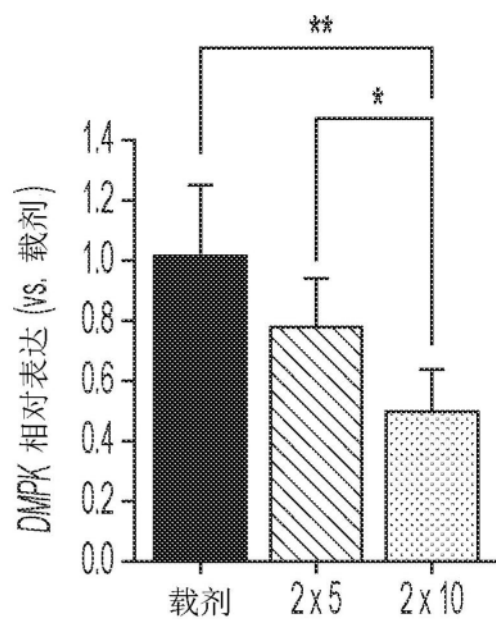


图16F

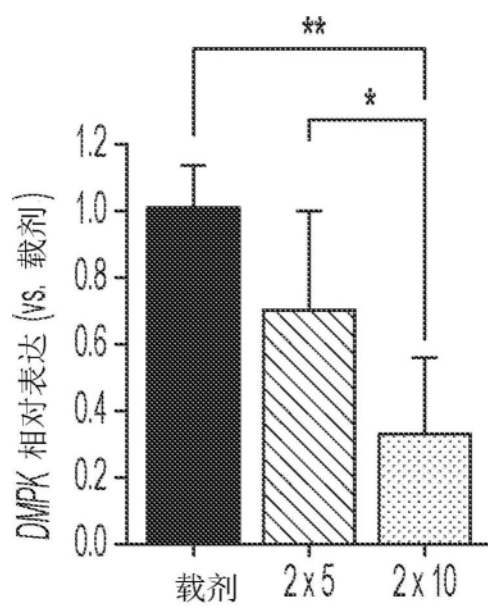


图16G