

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-512469
(P2025-512469A)

(43)公表日 令和7年4月17日(2025.4.17)

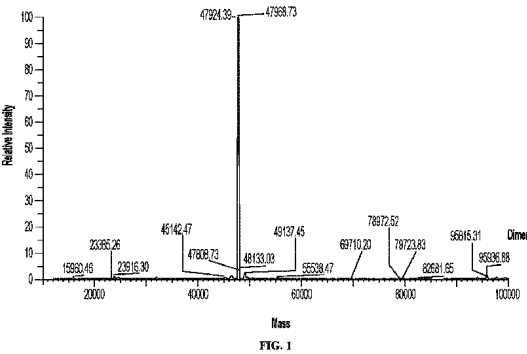
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 7 6
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	39/395	L	4 C 0 8 5
A 6 1 K	31/7115(2006.01)	A 6 1 K	31/7105		4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/712(2006.01)	A 6 1 K	31/7115		4 H 0 4 5
A 6 1 K	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/712		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全84頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-560676(P2024-560676)	(71)出願人	521048956
(86)(22)出願日	令和5年4月14日(2023.4.14)		ダイン セラピューティクス, インコーポレーテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年12月16日(2024.12.16)		DYNE THERAPEUTICS, INC.
(86)国際出願番号	PCT/US2023/065764		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02451、ウォルサム、トラペロ ロード 1560
(87)国際公開番号	WO2023/201324		1560 Trapelo Road, Waltham, MA 02451, United States of America
(87)国際公開日	令和5年10月19日(2023.10.19)		
(31)優先権主張番号	63/331,716	(74)代理人	110003971
(32)優先日	令和4年4月15日(2022.4.15)		弁理士法人葛和国际特許事務所
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	ウィーデン, ティモシー
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV		
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 筋緊張性ジストロフィーを処置するための筋標的化複合体およびその使用

(57)【要約】

本開示の側面は、1以上のオリゴヌクレオチド(例えば、DMPK標的化オリゴヌクレオチド)へ共有結合的に連結された抗体(例えば、抗TfR1抗体)を含む複数の複合体を含む組成物に関し、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域のうち少なくとも80%(例えば、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物であって、各オリゴヌクレオチドが、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体が、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、

ここでオリゴヌクレオチドが、DMPK RNAに対する相補性領域を含み、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域のうち少なくとも80%が独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている、前記組成物。

10

【請求項 2】

1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物であって、各オリゴヌクレオチドが、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体が、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、

ここでオリゴヌクレオチドが、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZが、1以上の修飾ヌクレオシドを含むフランキング領域であり、ならびにYが、1以上の2'-デオキシリボヌクレオシドを含むギャップ領域であり、ならびに

20

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域のうち少なくとも80%が独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている、前記組成物。

【請求項 3】

組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%が独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている、請求項1または2に記載の組成物。

【請求項 4】

30

抗体が、配列番号1、7または12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体である、請求項1~3のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

オリゴヌクレオチドが、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZが各々、4個の連結ヌクレオシドを含み、ならびにYが、8個の連結ヌクレオシドを含み、

40

任意にオリゴヌクレオチドが、LLEE-D₈-EELLの5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここで「L」が、LNAヌクレオシドを表し、「E」が、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、および「D」が、2'-デオキシリボヌクレオシドを表す、請求項1~4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

オリゴヌクレオチドが、CAGCGCCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含み、

任意にオリゴヌクレオチドが、構造+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dA*oG*oU*+C*+A(配列番号21)を含み、ここで+Nが、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌ

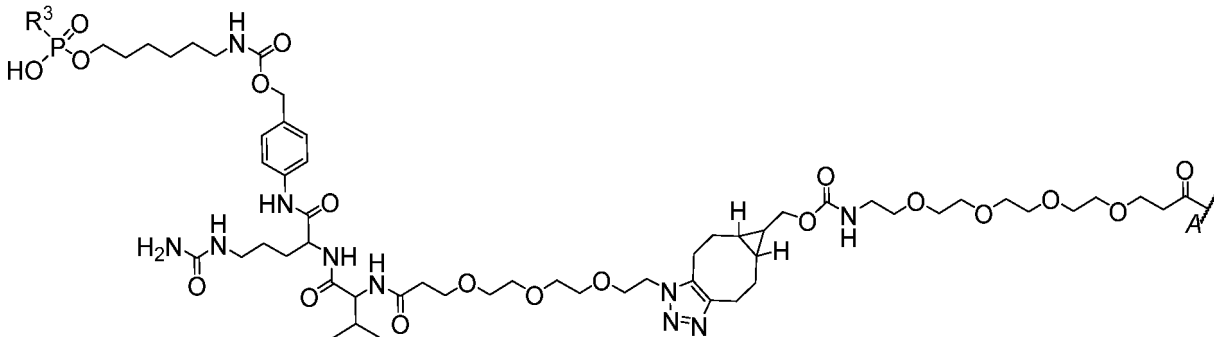
50

クレオシドを表し、dNが、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNが、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、oCが、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cが、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUが、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、および*が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す、請求項1～5のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項7】

式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物であって、式中各 R^1 は、独立して、式(Ia):

【化1】



(Ia)で表される基を含み、

式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体が、配列番号1、7または12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;

式中 R^3 は、+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A(配列番号21)で表される構造を含み、ここで+Nが、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNが、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNが、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、oCが、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cが、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUが、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、および*が、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す;

式中各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のうち少なくとも80%が独立して、 R^1 へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;ならびに

ここで複数の複合体の各複合体において、 $n1$ は独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である、前記組成物。

【請求項8】

式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物であって、式中各 R^1 は、独立して、式(Ib):

10

20

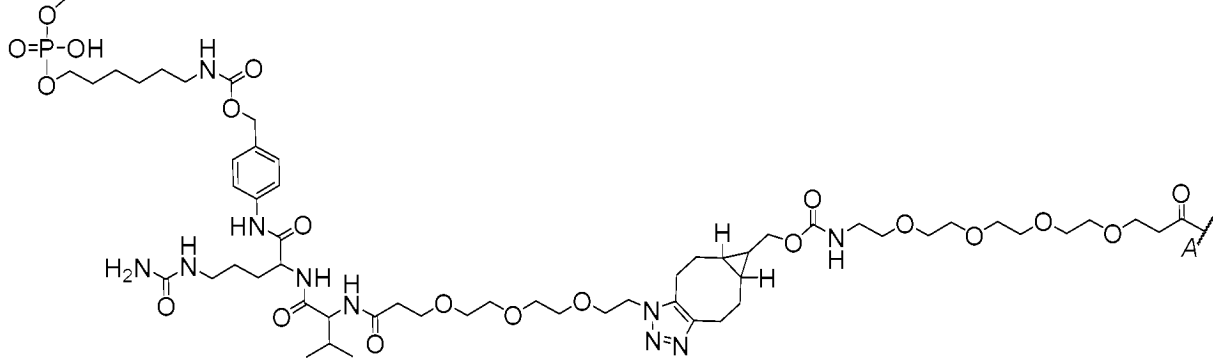
30

40

50

【化 2】

+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A-3'(配列番号21)



10

(1b)で表される基を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリシンを表し、および*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、R¹のオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACACAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;

20

式中R²は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体が、配列番号1、7または12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;ならびに

30

式中各R¹は、付着点AにてR²へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のうち少なくとも80%が独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;ならびに

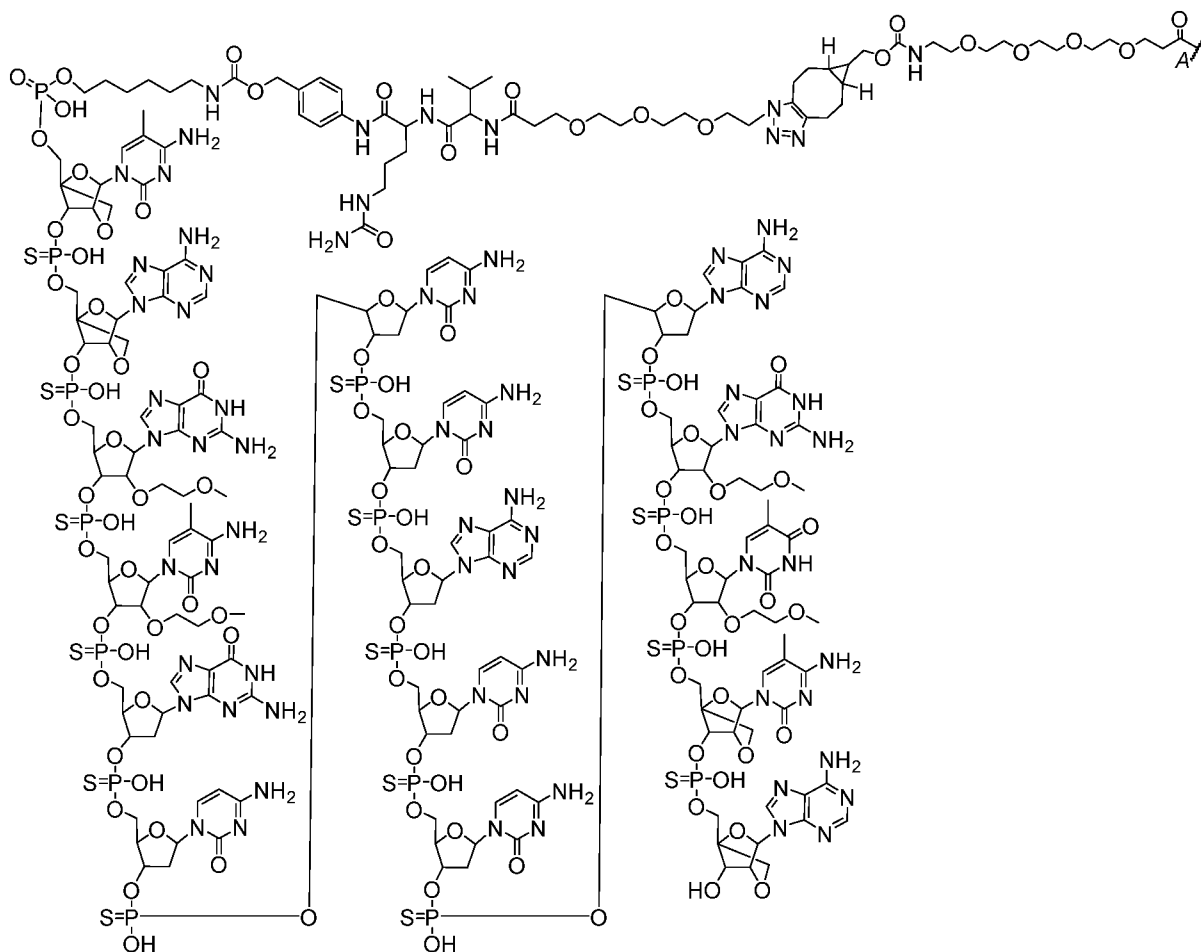
ここで複数の複合体の各複合体において、n1は独立して、R¹の実例の数を表す1以上の整数である、前記組成物。

【請求項9】

式(1):[R¹]_{n1}-R²で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物であって、式中各R¹は、式(1c):

40

【化 3】



10

20

(1c)で表される基を含み、

式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体が、配列番号1、7または12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;ならびに

30

式中各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のうち少なくとも80%が独立して、 R^1 へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;ならびに

40

ここで複数の複合体の各複合体において、 $n1$ は独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である、前記組成物。

【請求項 10】

(a)組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のうち85%~98%が独立して、 R^1 へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;あるいは

50

(b)組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のうち95%~97%が独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている、請求項7~9のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項11】

(a)組成物中の複合体の抗TfR1抗体の重鎖定常領域のうち1%~15%が独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;または

(b)組成物中の複合体の抗TfR1抗体の重鎖定常領域のうち4%~8%が独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている、請求項7~10のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項12】

抗体が、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、またはF(ab')₂断片である、請求項1~11のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項13】

抗体が、Fab断片である、請求項1~12のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項14】

VHが、配列番号17と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む;および/または

VLが、配列番号18と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含み、

20

任意に抗体が、配列番号17のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と配列番号18のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)とを含む、請求項1~13のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項15】

重鎖が、配列番号19のアミノ酸配列を含み、および軽鎖が配列番号20のアミノ酸配列を含む、請求項1~14のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項16】

オリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されていない1以上の抗体をさらに含む、請求項1~15のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項17】

30

組成物中の複合体のn1の平均値が、0.5~5の範囲にある、請求項16に記載の組成物。

【請求項18】

対象におけるDMPK発現を低下させるか、および/または筋緊張性ジストロフィーを処置する方法であって、方法が、有効量の請求項1~17のいずれか一項に記載の組成物を対象へ投与することを含む、前記方法。

【請求項19】

対象が、筋緊張性ジストロフィーに関連するDMPK対立遺伝子の疾患関連リピートの伸長を有し、任意にここで疾患関連リピートが、CTGトリヌクレオチド配列のリピート単位を含む、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

40

複合体が、対象におけるDMPK発現を低下させ、任意にここでDMPK発現を低下させることが、筋細胞におけるDMPK mRNAのレベルを低下させることを含み、さらに任意にここでDMPK mRNAが、突然変異体DMPK mRNAである、請求項18または19に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2022年4月15日に出願された「MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY」と題する米国仮

50

出願第63/331,716号の35 U.S.C. § 119(e)の下での利益を主張し、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

本出願は、有効量のオリゴヌクレオチド分子ペイロードを細胞へ送達するための標的化複合体、およびその使用、特に疾患の処置に関する使用に関する。

【0003】

電子配列表の参照

電子配列表(D082470075WO00-SEQ-COB.xml;サイズ:58,804バイト;作成日2023年3月22日)の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0004】

背景

筋緊張性ジストロフィー(DM)は、筋緊張症、筋喪失または変性、筋機能低下、インスリン抵抗性、心不整脈、平滑筋機能不全および神経学的異常によって特徴付けられる優性遺伝性の遺伝性疾患である。DMは、成人発症型筋ジストロフィーの最も一般的な形態であり、発生率は世界中で8000人に約1人である。この疾患の2つのタイプ、筋緊張性ジストロフィー1型(DM1)および筋緊張性ジストロフィー2型(DM2)が記載されている。この疾患の一般的な方の形態であるDM1は、19番染色体上のDMPKの3'非コード領域内のCTGトリヌクレオチドリピートのリピート伸長から生じ;DM2は、3番染色体上のZNF9の第1のイントロンにおけるCCTGテトラヌクレオチドリピートのリピート伸長から生じる。DM1患者(patients)では、約50回超〜約3,000回以上の全リピートを含んでいてもよい、CTGトリヌクレオチドリピートのリピート伸長が、必須の細胞内タンパク質、例えば、マッスルブラインド様タンパク質に高い親和性で結合するヘアピン構造を形成することが可能な毒性RNAリピートの生成をもたらし、タンパク質の隔離と、この疾患に特徴的な機能喪失表現型とをもたらす。この疾患の症状に対処するための支持療法および処置の他には、DM1に対する有効な治療薬は現在利用可能ではない。

【発明の概要】

【0005】

概要

いくつかの側面によれば、本開示は、複数の複合体を含む組成物を提供する。いくつかの態様において、本明細書に提供される組成物の複合体は、1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体(例えば、抗トランスフェリン受容体1(TfR1)抗体)を含み、各オリゴヌクレオチドは、抗体へ、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%

、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のK残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のK残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

10

【0006】

いくつかの側面によれば、本開示は、1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物を提供するが、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、

20

ここでオリゴヌクレオチドは、DMPK RNAに対する相補性領域を含み、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0007】

いくつかの側面によれば、本開示は、1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物を提供するが、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、

30

ここでオリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZは、1以上の修飾ヌクレオシドを含むフランキング(flanking)領域であり、Yは、1以上の2'-デオキシリボヌクレオシドを含むギャップ領域であり、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、オリゴヌクレオチドへ、各抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0008】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

40

【0009】

いくつかの態様において、抗体は、配列番号1、7または12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む抗トランスフェリン

50

【 0 0 1 0 】

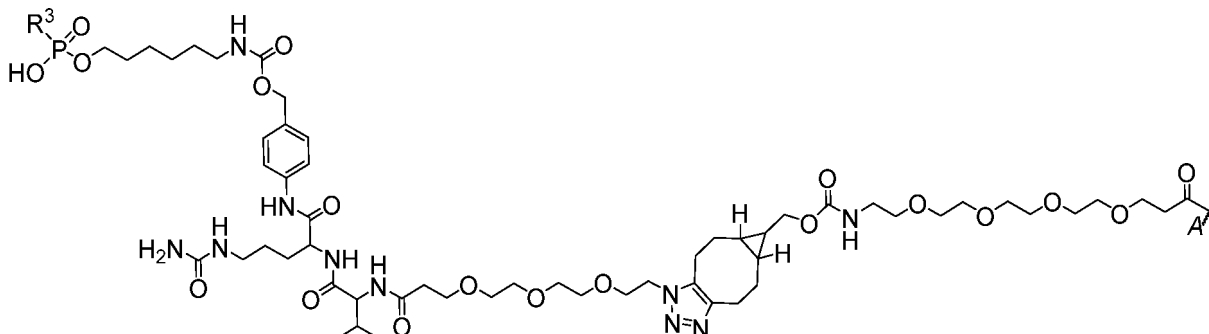
【 0 0 1 1 】

10

【 0 0 1 2 】

20

【化 1】



30

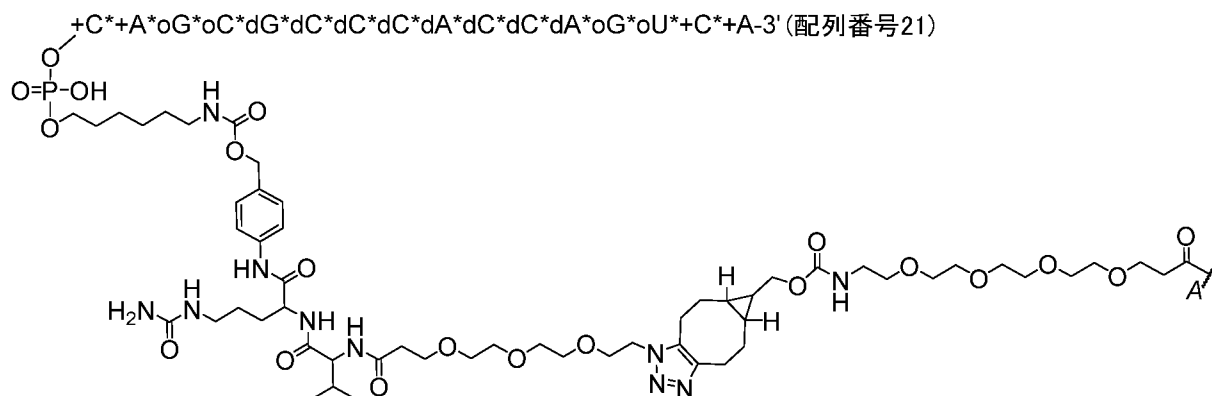
40

50

ここで複数の複合体の各複合体において、 n_1 は、独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

いくつかの側面によれば、本開示は、式(1): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物を提供し、式中

【化 2】



式中R²は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体は、配列番号1、7または12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;ならびに

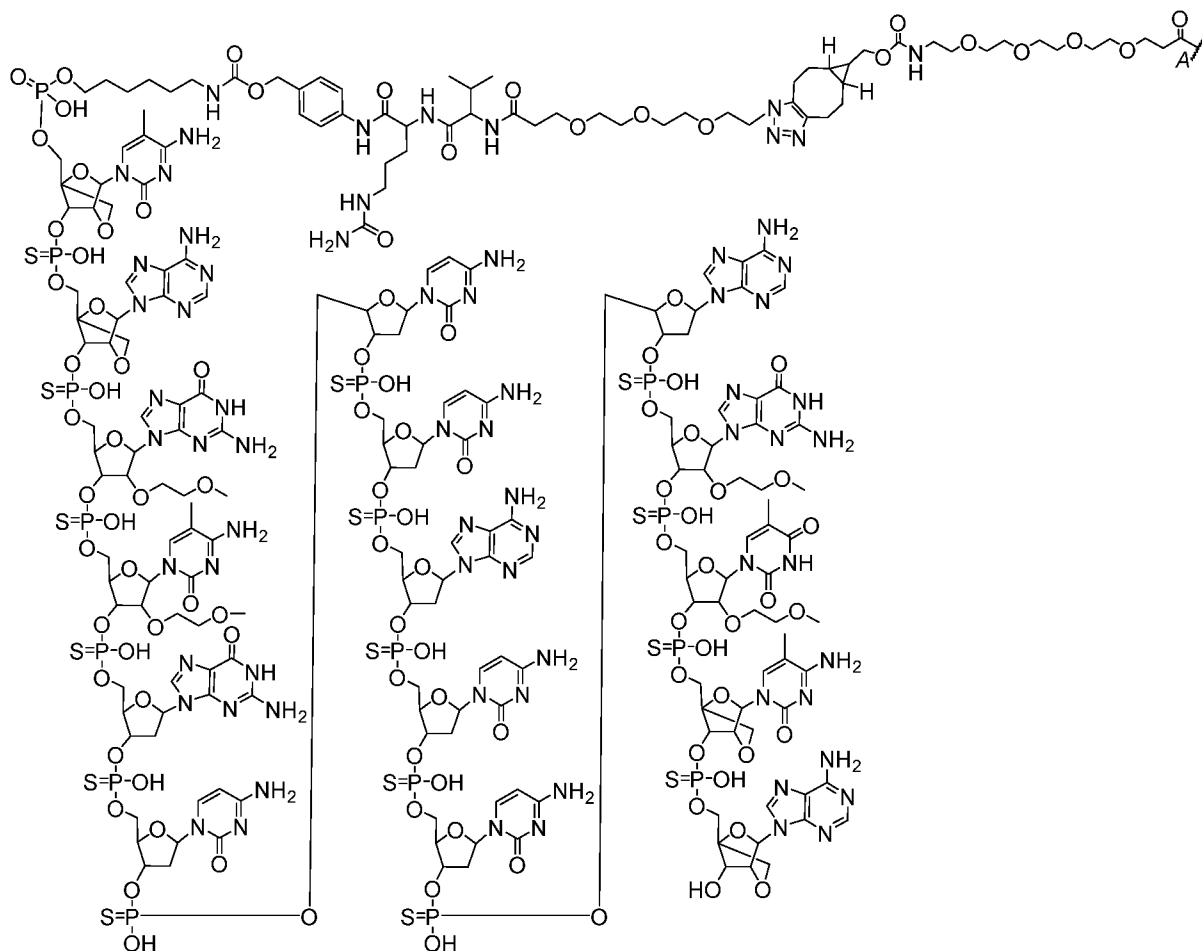
式中各R¹は、付着点AにてR²へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;ならびに

ここで複数の複合体の各複合体において、 n_1 は、独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

いくつかの側面によれば、本開示は、式(1): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物を提供するが、式中:

各 R¹ は、式 (1c) :

【化 3】



10

20

(1c)で表される基を含み、

式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体は、次:配列番号1、7または12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;ならびに

30

ここで各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、 R^1 へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている;ならびに

40

ここで複数の複合体の各複合体において、n1は、独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

【0015】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の85%~98%は独立して、 R^1 へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物

50

中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の95%~97%は独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0016】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗TfR1抗体の重鎖定常領域の1%~15%は独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗TfR1抗体の重鎖定常領域の4%~8%は独立して、R¹へ、抗TfR1抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

10

【0017】

いくつかの態様において、抗体は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、またはF(ab')₂断片である。いくつかの態様において、抗体はFab断片である。

【0018】

いくつかの態様において、VHは、配列番号17と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む;および/またはVLは、配列番号18と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と、配列番号18のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)とを含む。

20

【0019】

いくつかの態様において、重鎖は、配列番号19のアミノ酸配列を含み、軽鎖は、配列番号20のアミノ酸配列を含む。

【0020】

いくつかの態様において、組成物は、オリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されていない1以上の抗体をさらに含む。

【0021】

いくつかの態様において、組成物の複合体におけるn1の平均値は、0.5~5の範囲にある。

【0022】

いくつかの側面によれば、本開示は、対象におけるDMPK発現を低下させる方法および/または筋緊張性ジストロフィーを処置する方法を提供し、方法は、有効量の本明細書に提供される組成物を対象へ投与することを含む。

30

【0023】

いくつかの態様において、対象は、筋緊張性ジストロフィーに関連するDMPK対立遺伝子の疾患関連リピートの拡大を有する。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、CTGトリヌクレオチド配列のリピート単位を含む。

【0024】

いくつかの態様において、複合体は、対象におけるDMPK発現を低下させる。いくつかの態様において、DMPK発現を低下させることは、筋細胞のDMPK mRNAレベルを低下させることを含む。いくつかの態様において、DMPK mRNAは突然変異体DMPK mRNAである。

40

【図面の簡単な説明】

【0025】

図面の簡単な記載

【図1】図1は、表2に示される配列を有する非連結抗TfR1 Fabのインタクト質量(intact mass)を指し示す質量スペクトルを示す。

【0026】

【図2】図2は、パパイソ消化を介するオリゴヌクレオチドの切断後の、本明細書に提供される組成物の抗TfR1抗体-リンカー複合体の質量を指し示す質量スペクトルを示す。抗TfR1抗体は、表2に示す配列を有する。

50

【0027】

【図3】図3A～3Dは夫々、ASOへ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体の投与後の、心臓(図3A)、横隔膜(図3B)、腓腹筋(図3C)、または前脛骨筋(図3D)におけるDMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)の量を示す。

【0028】

【図4】図4A～4Dは、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ抱合された抗TfR1 Fabを含有する抱合体が、ヒトTfR1および伸長したCTGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2コピーの両方を発現するマウスの心臓(図4A)、横隔膜(図4B)、前脛骨筋(図4C)および腓腹筋(図4D)において、ヒトDMPK RNAをノックダウンする能力を示す。

10

【0029】

【図5】図5A～5Bは、ヒトTfR1および伸長されたCTGリピートを有する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の両方を発現し、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ抱合された抗TfR1 Fabで処置されたマウスにおいて、心筋線維の核におけるDMPK病巣の減少を示す。図5Aは、DMPK病巣についてのin situハイブリダイゼーション染色および筋線維(挿入パネル)の蛍光染色後の試料の代表的な画像を示す。図5Aに示す顕微鏡画像において、明るい丸い形状は細胞核を示し、核内の明るい点はDMPK病巣を示す。図5Bは、DMPK病巣の定量化を示す。

【0030】

【図6】図6は、ヒトTfR1および伸長したCTGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2コピーの両方を発現するマウス(hTfR1/DMSXLマウス)の心臓における、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体のスプライシング補正活性を示す。ビヒクル対照(「hTfR1-PBS」)で処置された対照マウス、ビヒクル対照(「hTfR1/DMSXL-PBS」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウス、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウスについて、Ldb3エクソン11、Mbnl2エクソン6、およびNfixエクソン7のスプライシングに基づく複合スプライシングインデックスを示す。

20

【0031】

【図7】図7は、ヒトTfR1および伸長したCTGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2コピーの両方を発現するマウス(hTfR1/DMSXLマウス)の横隔膜における、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体のスプライシング補正活性を示す。ビヒクル対照(「hTfR1-PBS」)で処置された対照マウス、ビヒクル対照(「hTfR1/DMSXL-PBS」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウス、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウスについて、Bin1エクソン11、Insrエクソン11、Ldb3エクソン11およびNfixエクソン7のスプライシングに基づく複合スプライシングインデックスを示す。

30

【0032】

【図8】図8は、ヒトTfR1および伸長したCTGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2コピーの両方を発現するマウス(hTfR1/DMSXLマウス)の前脛骨筋における、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体のスプライシング補正活性を示す。ビヒクル対照(「hTfR1-PBS」)で処置された対照マウス、ビヒクル対照(「hTfR1/DMSXL-PBS」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウス、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウスについて、Bin1エクソン11、Ldb3エクソン11、Mbnl2エクソン6、およびNfixエクソン7のスプライシングに基づく複合スプライシングインデックスを示す。

40

【0033】

【図9】図9は、ヒトTfR1および伸長したCTGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2コピーの両方を発現するマウス(hTfR1/DMSXLマウス)の腓腹筋にお

50

る、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体のスプライシング補正活性を示す。ビヒクル対照(「hTfR1-PBS」)で処置された対照マウス、ビヒクル対照(「hTfR1/DMSXL-PBS」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウス、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)で処置されたhTfR1/DMSXLマウスについて、Mbnl2エクソン6、Nfixエクソン7、およびTtnエクソン313のスプライシングに基づく複合スプライシングインデックスを示す。

【0034】

【図10】図10は、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体とのインキュベーションから生じるDM1ペイシエント筋管および野生型非ヒト霊長類(NHP)筋管におけるDMPKノックダウンを示す。ビヒクルのみで処置されたDM1ペイシエント筋管またはNHP筋管における発現に対して正規化された結果を示される。データは、条件ごとにn=4回反復した場合の平均+標準偏差として示される。統計を一元配置ANOVAによって算出した(*、 $P<0.05$ 、**、 $P<0.01$)。

10

【発明を実施するための形態】

【0035】

詳細な記載

いくつかの側面によれば、本開示は、複数の複合体を含む組成物を提供する。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物の複合体は、1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体(例えば、抗トランスフェリン受容体1(TfR1))を含み、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む。

20

【0036】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例として、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域および重鎖定常領域は両方とも、独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域中のリシン残基(例えば、K188および/またはK190)および重鎖定常領域中のリシン残基(例えば、K213)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

30

40

【0037】

50

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例えば、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKおよび6位のKによって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例として、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖のモチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖および重鎖は両方とも、独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖のリシン残基(例えば、モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中の4位または6位のK)によって表される連結部位および抗体の重鎖のリシン残基(例えば、モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のK)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

10

20

30

40

50

【0038】

いくつかの側面において、本開示は、対象におけるDMPKの発現もしくは活性を低下させる(例えば、突然変異型もしくは野生型DMPK RNAのレベルを低下させる)方法および/または筋緊張性ジストロフィー(例として、DM1)を処置する方法を提供する。いくつかの態様において、方法は、本明細書に記載の複合体を含む有効量の組成物を対象へ投与することを含む。

【0039】

いくつかの側面において、本開示は、組成物中の複合体の薬物抗体比(DAR)範囲を決定する方法、または組成物中の複合体を分析する方法をさらに提供する。

【0040】

定義される用語の記載を包含する本開示のさらなる側面は、下に提供される。

【0041】

定義

投与すること:本明細書に使用される場合、用語「投与すること」または「投与」は、生理学的におよび/または(例えば、および)薬理的に有用な様式で、対象へ複合体を提供すること(例えば、対象の疾病を処置すること)を意味する。

【0042】

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

【0043】

抗体:本明細書に使用される場合、用語「抗体」は、少なくとも1つの免疫グロブリン

可変ドメインまたは少なくとも1つの抗原決定基、例えば、抗原に特異的に結合するパラトープを包含するポリペプチドを指す。いくつかの態様において、抗体は完全長抗体である。いくつかの態様において、抗体はキメラ抗体である。いくつかの態様において、抗体はヒト化抗体である。ただし、いくつかの態様において、抗体は、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、Fv断片またはscFv断片である。いくつかの態様において、抗体は、ラクダ科の動物の抗体に由来するナノボディ、またはサメ抗体に由来するナノボディである。いくつかの態様において、抗体はダイアボディである。いくつかの態様において、抗体は、ヒト生殖細胞系配列を有するフレームワークを含む。別の態様において、抗体は、IgG、IgG1、IgG2、IgG2A、IgG2B、IgG2C、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgMおよびIgE定常ドメインからなる群から選択される重鎖定常ドメインを含む。いくつかの態様において、抗体は、重(H)鎖可変領域(本明細書においてVHと略される)、および/または(例えば、および)軽(L)鎖可変領域(本明細書においてVLと略される)を含む。いくつかの態様において、抗体は、定常ドメイン、例えば、Fc領域を含む。免疫グロブリン定常ドメインとは、重鎖または軽鎖定常ドメインを指す。ヒトIgG重鎖および軽鎖定常ドメインアミノ酸配列およびそれらの機能的バリエーションは知られている。重鎖に関して、いくつかの態様において、本明細書に記載の抗体の重鎖は、アルファ(α)、デルタ(Δ)、イプシロン(ε)、ガンマ(γ)またはミュー(μ)重鎖であることができる。いくつかの態様において、本明細書に記載の抗体の重鎖は、ヒトのアルファ(α)、デルタ(Δ)、イプシロン(ε)、ガンマ(γ)またはミュー(μ)重鎖を含むことができる。具体的な態様において、本明細書に記載の抗体は、ヒトのガンマ1 CH1、CH2および/または(例えば、および)CH3ドメインを含む。いくつかの態様において、VHドメインのアミノ酸配列は、ヒトガンマ(γ)重鎖定常領域のアミノ酸配列、例えば、当技術分野で公知のいずれかなどを含む。ヒト定常領域配列の非限定例は当技術分野において記載されており、例えば、米国特許第5,693,780号および上記のKabat E A et al.,(1991)を参照されたい。いくつかの態様において、VHドメインは、本明細書に提供される可変鎖定常領域のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体は修飾されており、例えば、グリコシル化、リン酸化、SUMO化、および/または(例えば、および)メチル化を介して修飾されている。いくつかの態様において、抗体は、1以上の糖または炭水化物分子へ抱合されたグリコシル化抗体である。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、N-グリコシル化、O-グリコシル化、C-グリコシル化、グリπιエーション(GPIアンカー付着)および/または(例えば、および)ホスホグリコシル化を介して、抗体へ抱合されている。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、単糖、二糖、オリゴ糖またはグリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、分岐オリゴ糖または分岐グリカンである。いくつかの態様において、1以上の糖または炭水化物分子は、マンノース単位、グルコース単位、N-アセチルグルコサミン単位、N-アセチルガラクトサミン単位、ガラクトース単位、フコース単位またはホスホ脂質単位を包含する。いくつかの態様において、抗体は、リンカーポリペプチドまたは免疫グロブリン定常ドメインに連結された、本開示の1以上の抗原結合性断片を含むポリペプチドを含む構築物である。リンカーポリペプチドは、ペプチド結合によって結び合わされた2個以上のアミノ酸残基を含み、1以上の抗原結合部分と連結させるために使用される。リンカーポリペプチドの例は報告されている(例えば、Holliger,P.,et al.(1993) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak,R.J.,et al.(1994)Structure 2:1121-1123を参照のこと)。またさらに、抗体は、抗体または抗体部分と1以上の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合的または非共有結合的な結び付き(association)によって形成されるさらに大きな免疫接着分子の一部であってもよい。かかる免疫接着分子の例は、四量体scFv分子を作製するためのストレプトアビジンコア領域の使用(Kipriyanov,S.M.,et al.(1995)Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101)、ならびに二価のビオチン化されたscFv分子を作製するためのシステイン残基、マーカールペプチド、およびC末端ポリヒスチジンタグの使用(Kipriyanov,S.M.,et al.(1994)

10

20

30

40

50

Mol.Immunol.31:1047-1058)を包含する。

【0044】

CDR:本明細書に使用される場合、用語「CDR」は、抗体可変配列内の相補性決定領域を指す。典型的な抗体分子は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含み、これらは通常、抗原結合に関与する。VH領域およびVL領域は、「フレームワーク領域」(「FR」)としてもまた知られるさらに保存された領域が散在する、「相補性決定領域」(「CDR」)としても知られる超可変領域にさらに細分されることができる。各VHおよびVLは、典型的には、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置された3つのCDRおよび4つのFRから構成される。フレームワーク領域およびCDRの範囲は、当技術分野で公知の方法論を使用して、例としては、いずれも当技術分野で周知のKabat定義、IMGT定義、Chothia定義、AbM定義、および/または(例えば、および)接触定義によって正確に同定されることができる。例えば、Kabat,E.A.,et al.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;IMGT(登録商標),the international ImMuNoGeNeTic s information system(登録商標)<http://www.imgt.org>,Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,27:209-212(1999);Ruiz,M.et al.,Nucleic Acids Res.,28:219-221(2000);Lefranc,M.-P.,Nucleic Acids Res.,29:207-209(2001);Lefranc,M.-P.,Nucleic Acids Res.,31:307-310(2003);Lefranc,M.-P.et al.,In Silico Biol.,5,0006(2004)[Epub],5:45-60(2005);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,33:D593-597(2005);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,37:D1006-1012(2009);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,43:D413-422(2015);Chothia et al.,(1989)Nature 342:877;Chothia,C.et al.(1987)J.Mol. Biol.196:901-917,Al-lazikani et al(1997)J.Molec.Biol.273:927-948;およびAlmagro,J.Mol.Recognit.17:132-143(2004)を参照されたい。hgmp.mrc.ac.ukおよびbioinf.org.uk/absもまた参照されたい。本明細書に使用される場合、CDRとは、当技術分野で公知のいずれかの方法によって定義されるCDRを指すこともある。同じCDRを有する2つの抗体は、同じ方法、例としては、IMGT定義によって決定される場合、2つの抗体がそのCDRの同じアミノ酸配列を有することを意味する。

【0045】

重鎖および軽鎖の可変領域の各々には3個のCDRがあり、これらは可変領域の各々に対してCDR1、CDR2およびCDR3と指定される。本明細書に使用される用語「CDRセット」は、抗原に結合することが可能な単一の可変領域に生じる3個のCDRの一群を指す。これらのCDRの厳密な境界は、様々な系に従って異なって定義されている。Kabat(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987)and(1991))によって記載される系は、抗体のいずれかの可変領域に適用可能な一義的な残基ナンバリング系を提供するだけでなく、3個のCDRを定義する正確な残基境界もまた提供する。これらのCDRは、Kabat CDRと呼ばれることもある。CDRの下位部(sub-portion)は、L1、L2およびL3、またはH1、H2およびH3と指定されてもよく、「L」および「H」は夫々、軽鎖領域および重鎖領域を指定する。これらの領域は、Kabat CDRと重複する境界を有するChothia CDRと呼ばれることもある。Kabat CDRと重複するCDRを定義する他の境界は、Padlan(FASEB J.9:133-139(1995))およびMacCallum(J Mol Biol 262(5):732-45(1996))によって記載されている。さらに他のCDR境界定義は、上の系のうちの1つに厳重に従わなくてもよいが、それでもなおKabat CDRと重複することがあり、具体的な残基もしくは残基の群またはCDR全体でさえも抗原結合に有意に影響を及ぼすものではないという予測または実験的知見を踏まえ、それらは短縮または伸長されてもよい。本明細書に使用される方法は、これらの系のいずれかに従って定義されたCDRを利用してもよい。CDR定義系の例は表1に提供される。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1. CDR の定義

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

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

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

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

10

【0046】

20

相補的:本明細書に使用される場合、用語「相補的」は、2個のヌクレオチド間または2組のヌクレオチド間の正確な対形成のための能力を指す。特に、相補的とは、2個のヌクレオチド間または2組のヌクレオチド間に結合をもたらす水素結合対形成の程度を特徴付ける用語である。例としては、ある位置のオリゴヌクレオチドの塩基が、対応する位置の標的核酸(例えば、mRNA)の塩基と水素結合することが可能である場合、塩基は、その位置で互いに相補的であると見なされる。塩基対合は、カノニカルなWatson-Crick塩基対合および非Watson-Crick塩基対合(例えば、Wobble塩基対合およびHoogsteen塩基対合)の両方を包含してもよい。例としては、いくつかの態様において、相補的な塩基対合について、アデノシン型塩基(A)は、チミジン型塩基(T)またはウラシル型塩基(U)に相補的であり、シトシン型塩基(C)は、グアノシン型塩基(G)に相補的であり、3-ニトロピロールまたは5-ニトロインドールなどのユニバーサル塩基は、いずれかのA、C、UまたはTにハイブリダイズすることができ、いずれかのA、C、UまたはTと相補的であると見なされる。イノシン(I)は、当技術分野ではまたユニバーサル塩基であるとも見なされており、いずれかのA、C、UまたはTに相補的であると見なされる。

30

【0047】

共有結合的に連結された(Covalently linked):本明細書に使用される場合、用語「共有結合的に連結された」は、少なくとも1個の共有結合(covalent bond)を介して一緒に連結されている2個以上の分子の特徴を指す。いくつかの態様において、2個の分子は、分子間のリンカーとして働く単結合、例えば、ジスルフィド結合(bond)またはジスルフィド架橋によって一緒に共有結合的に連結され得る。ただし、いくつかの態様において、複数の共有結合を通して2個以上の分子を一緒に結び合わせる(joins)リンカーとして働く分子を介して、2個以上の分子は、一緒に共有結合的に連結され得る。いくつかの態様において、リンカーは、切断可能なリンカーであってもよい。ただし、いくつかの態様において、リンカーは、切断不能なリンカーであってもよい。

40

【0048】

疾患関連リピート:本明細書に使用される場合、用語「疾患関連リピート」は、リピートヌクレオチド配列の数ユニットが、遺伝的疾患と相関する、および/または(例えば、および)、これに直接的にもしくは間接的に寄与する、またはこれを引き起こす、ゲノムの場所でのリピートヌクレオチド配列を指す。疾患関連リピートの各リピート単位は、2、3、4、5またはそれより多くのヌクレオチド長であってもよい。例としては、いくつ

50

かの態様において、疾患関連リピートはジヌクレオチドリピートである。いくつかの態様において、疾患関連リピートはトリヌクレオチドリピートである。いくつかの態様において、疾患関連リピートはテトラヌクレオチドリピートである。いくつかの態様において、疾患関連リピートはペンタヌクレオチドリピートである。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、CAGリピート、CTGリピート、CUGリピート、CGGリピート、CCTGリピート、またはそれらのいずれかのヌクレオチド相補体を含む。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、遺伝子の非コード部分にある。ただし、いくつかの態様において、疾患関連リピートは、遺伝子のコード領域にある。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、正常な状態から、遺伝性疾患に直接的にもしくは間接的に寄与する、またはこれを引き起こす長さに伸長される。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、RNA(例えば、RNA転写物)にある。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、DNA(例えば、染色体、プラスミド)にある。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、生殖細胞系細胞の染色体内で伸長される。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、体細胞の染色体内で伸長される。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、疾患の先天性発症に関連するいくつかのリピート単位に伸長される。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、疾患の小児期発症に関連するいくつかのリピート単位に伸長される。いくつかの態様において、疾患関連リピートは、疾患の成人発症に関連するいくつかのリピート単位に伸長される。DM1では、DMPK遺伝子は、CTG単位 of 疾患関連リピートを含む。

10

20

30

40

50

【0049】

DMPK:本明細書に使用される場合、用語「DMPK」は、セリン/トレオニンプロテインキナーゼであるミオトニンプロテインキナーゼ(筋緊張性ジストロフィープロテインキナーゼまたは筋強直性ジストロフィープロテインキナーゼとしてもまた知られる)をコードする遺伝子を指す。この酵素の基質は、ミオゲニン、L型カルシウムチャネルのベータサブユニット、およびホスホレマンを包含してもよい。いくつかの態様において、DMPKは、ヒト(遺伝子ID:1760)、非ヒト霊長類(例えば、遺伝子ID:456139、遺伝子ID:715328、遺伝子ID:102125829)、または齧歯類遺伝子(例えば、遺伝子ID:13400)であってもよい。ヒトでは、DMPKの3'非コード非翻訳領域内のCTGリピート伸長は、筋緊張性ジストロフィーI型(DM1)に関連する。加えて、異なるタンパク質アイソフォームをコードする複数のヒト転写物バリエーション(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NM_001081563.2、NM_004409.4、NM_001081560.2、NM_001081562.2、NM_001288764.1、NM_001288765.1およびNM_001288766.1の下にアノテーションされているように)が特徴付けられている。

【0050】

DMPK対立遺伝子:本明細書に使用される場合、用語「DMPK対立遺伝子」は、DMPK遺伝子の代替形態(例えば、野生型または突然変異体の形態)のいずれか1つを指す。いくつかの態様において、DMPK対立遺伝子は、その正常および典型的な機能を保持する野生型ミオトニンプロテインキナーゼをコードしてもよい。いくつかの態様において、DMPK対立遺伝子は、1以上の疾患関連リピート伸長を含んでもよい。いくつかの態様において、正常な対象は、5~37個の範囲内でリピート単位を含む2つのDMPK対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、DM1を有する対象におけるCTGリピート単位の数、約50~約3,000個またはそれ多い範囲内であり、リピート数が多いほど疾患の重症度が高くなる。いくつかの態様において、軽度罹患したDM1対象は、50~150個の範囲内でリピート単位を有する少なくとも1つのDMPK対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、古典的なDM1を有する対象は、100~1,000個またはそれより多い範囲内でリピート単位を有する少なくとも1つのDMPK対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、先天性発症のDM1を有する対象は、2,000個を超えるリピート単位を含む少なくとも1つのDMPK対立遺伝子を有していてもよい。

【0051】

フレームワーク:本明細書に使用される場合、用語「フレームワーク」または「フレ

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

10

【0052】

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

20

【0053】

ヒト化抗体:用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種(例えば、マウス)からの重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列を含むが、VHおよび/または(例えば、および)V_L配列の少なくとも一部がさらに「ヒト様」に、すなわち、ヒト生殖細胞系可変配列にさらに類似するように変化させられている抗体を指す。ヒト化抗体のあるタイプは、ヒトCDR配列が非ヒトVHおよびV_L配列上へ導入されて対応する非ヒトCDR配列と置き換えられたCDR接合抗体である。一態様において、ヒト化抗トランスフェリン受容体抗体および抗原結合部分が提供される。かかる抗体は、従来のハイブリドーマ技術と、それに続く、Kasaianらの国際公開第2005/123126号に開示されたものなどの*in vitro*遺伝子工学を使用するヒト化を用いてマウス抗トランスフェリン受容体モノクローナル抗体を得ることによって生成されてもよい。

30

【0054】

Kabatナンバリング:用語「Kabatナンバリング」、「Kabat定義」および「Kabat標識化」は、本明細書において区別なく使用される。当技術分野で認識されているこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖可変領域および軽鎖可変領域内の他のアミノ酸残基よりも可変(すなわち、超可変)であるアミノ酸残基をナンバリングする系を指す(Kabat et al.(1971)Ann.NY Acad.Sci.190:382-391および、Kabat,E.A.,et al.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S .Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)。重鎖可変領域の場合、超可変領域は、CDR1についてはアミノ酸31~35位、CDR2についてはアミノ酸50~65位、およびCDR3についてはアミノ酸95~102位に及ぶ。軽鎖可変領域において、超可変領域は、CDR1につきアミノ酸24~34位、CDR2につきアミノ酸50~56位、およびCDR3につきアミノ酸89~97位に及ぶ。

40

【0055】

筋緊張性ジストロフィー(DM):本明細書に使用される場合、用語「筋緊張性ジストロフィー(DM)」は、筋喪失、筋肉弱体化および筋機能によって特徴付けられる、DMPK遺伝子またはCNBP(ZNF9)遺伝子の変異によって引き起こされる遺伝性疾患を指す。この疾患の2つのタイプ、筋緊張性ジストロフィー1型(DM1)および筋緊張性ジストロフィー2

50

型(DM2)が記載されている。DM1は、DMPKの3'非コード領域内のCTGトリヌクレオチドリピートの伸長に関連する。DM2は、ZNF9の第1のイントロン内のCCTGテトラヌクレオチドリピートの伸長に関連する。DM1およびDM2ではともに、ヌクレオチド伸長は、重要な細胞内タンパク質、例えば、マッスルブラインド様タンパク質に高い親和性で結合するヘアピン構造を形成することが可能な毒性RNAリピートをもたらす。筋緊張性ジストロフィー、この疾患の遺伝的基礎、および関連する症状は、当技術分野で記載されている(例えば、Thornton, C.A., "Myotonic Dystrophy" *Neurol Clin.* (2014), 32(3):705-719.; および Konieczny et al. "Myotonic dystrophy: candidate small molecule therapeutics" *Drug Discovery Today* (2017), 22:11を参照のこと)。いくつかの態様において、対象は、先天性筋緊張性ジストロフィーと呼ばれる、DM1の変異を有して生まれる。先天性筋緊張性ジストロフィーの症状は、出生時から存在し、あらゆる筋肉の脱力、呼吸障害、内反足、発達遅延および知的障害を包含する。DM1は、Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM) Entry # 160900に関連付けられている。DM2は、OMIM Entry # 602668に関連付けられている。

10

20

30

40

50

【0056】

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

【0057】

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

【0058】

特異的に結合する(Specifically binds):本明細書に使用される場合、用語「特異的に結合する」は、結合アッセイまたは他の結合に関する文脈(binding context)において、分子が、適切な対照から結合パートナーを区別するために使用され得る親和性または結合活性の程度での、分子の、結合パートナーへの結合能を指す。抗体に関して、用語「特異的に結合する」は、本明細書に記載されるように、抗体が、単数または複数の適切な参照抗原と比較して、特定の抗原を他のものと区別するために抗体が使用されることを可能にする程度の親和性または結合活性で、例えば、抗原への結合を通して特定の細胞、例えば、筋細胞への優先的標的化を可能にする程度まで、特定の抗原に結合する能力を指す。いくつかの態様において、抗体が標的へ結合するために、少なくとも約 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} Mまたはそれ以下の K_D を有する場合、抗体は標的へ特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体が、トランスフェリン受容体、例えば、トランスフェリン受容体の先端ドメインのエピトープへ特異的に結合する。

【0059】

対象:本明細書に使用される場合、用語「対象」は、哺乳動物を指す。いくつかの態様において、対象は、非ヒト霊長類または齧歯類である。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、疾患を有するかまたは有すると疑われる患者、例えば、ヒト患者である。いくつかの態様において、対象は、例えば、DMPK対立遺伝子における疾患関連リピート伸長から生じる疾患を有するかまたは有すると疑われるヒト患者である。

【0060】

トランスフェリン受容体:本明細書に使用される場合、用語「トランスフェリン受容体」(またTFRC、CD71、p90、TFR、またはTFR1としても知られている)は、エンドサイトーシスによる鉄取り込みを容易にするためのトランスフェリンに結合する、内在化する細胞表面受容体を指す。いくつかの態様において、トランスフェリン受容体は、ヒト(NCBI遺伝子ID 7037)、非ヒト霊長類(例えば、NCBI遺伝子ID 711568またはNCBI遺伝子ID 102136007)または齧歯類(例えば、NCBI遺伝子ID 22042)起源のものであってもよい。加えて、受容体の種々のアイソフォームをコードした複数のヒト転写産物バリエーション(例えば、GenBank RefSeqアクセッション番号:NP_001121620.1、NP_003225.2、NP_001300894.1、およびNP_001300895.1の注釈付きのものであるように)特徴付けられている。

【0061】

2'-修飾ヌクレオシド:本明細書に使用される場合、用語「2'-修飾ヌクレオシド」および「2'-修飾リボヌクレオシド」は互換的に使用され、2'位にて修飾された糖部分を有するヌクレオシドを指す。いくつかの態様において、2'-修飾ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシドであり、ここで糖の2'および4'位は架橋されている(例えば、メチレン、エチレン、または(S)-拘束エチル架橋による)。いくつかの態様において、2'-修飾ヌクレオシドは非二環式2'-修飾ヌクレオシドであり、例えば、ここで糖部分の2'位は置換されている。2'-修飾ヌクレオシドの非限定例は、以下:2'-デオキシ、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)、ロックド核酸(LNA、メチレン架橋核酸)、エチレン架橋核酸(ENA)、および(S)-拘束エチル架橋核酸(cEt)を包含する。いくつかの態様において、本明細書に記載の2'-修飾ヌクレオシドは高親和性修飾ヌクレオチドであり、2'-修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、未修飾のオリゴヌクレオチドと比べて標的配列に対する増大した親和性を有する。2'-修飾ヌクレオシドの構造の例は、下に提供される:

10

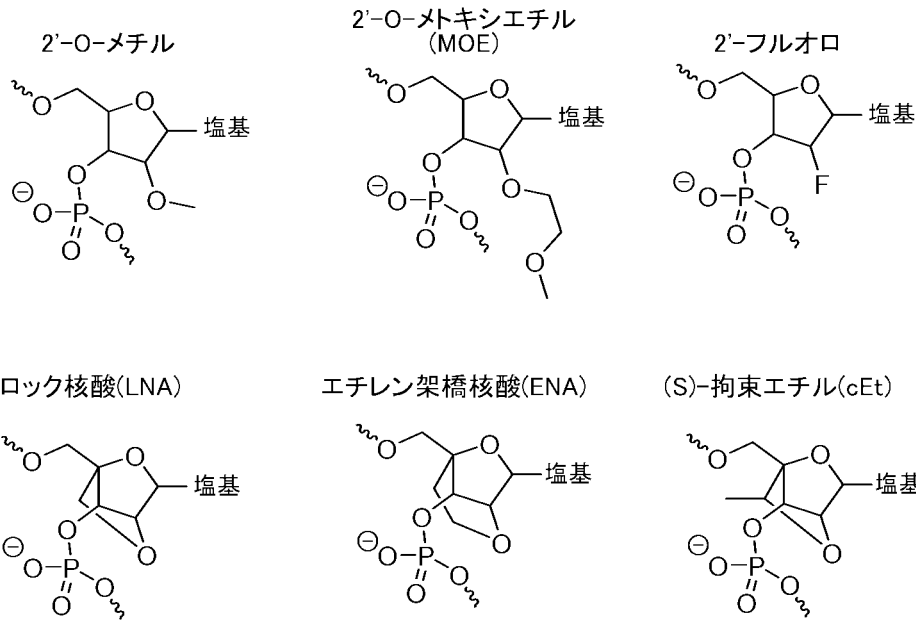
20

30

40

50

【化 4】



10

これらの例はリン酸基を用いて示されているが、いずれのヌクレオシド間連結も、2'-修飾ヌクレオシド間で企図される。

20

【0062】

範囲:本開示に提供されるすべての範囲は、終点を包含する。

【0063】

複合体

複数の複合体を含む組成物が本明細書に提供される。いくつかの態様において、複合体は、1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含み、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結され

30

40

50

ている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0064】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、抗体は、軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドと共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、オリゴヌクレオチドへ、軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、オリゴヌクレオチドへ、軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKで表される連結部位および6位のKによって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0065】

本明細書に記載の複合体は、一般に、本明細書に記載の抗体(例えば、抗TfR1抗体のいずれか1個)を、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチド(例えば、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)へ共有結合的に連結するリンカーを含む。いくつかの態様において、各複合体において、各オリゴヌクレオチドは、抗体の異なるリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。リンカーは、少なくとも1つの共有結合を含む。

【0066】

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、式(I): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含み、式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチドを含む化合物(例えば、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含み、 R^2 は、抗体(例えば、抗TfR1抗体)を含み、ここで各複合体において、 $n1$ は、独立して、各複体内の R^1 の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数である。いくつかの態様において、各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチドを含む基を含む。いくつかの態様において、各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチドに加えて追加の要素を含む基を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体(例えば、抗TfR1抗体)を含む。いくつかの態様において、複合体の各 R^1 は独立して、 R^2 の異なるアミノ酸残基(例えば、リシン)へ共有結合的に連結されている。

。

【0067】

いくつかの態様において、各 R^1 は R^2 へ、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、 R^1 へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、 R^1 へ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

10

20

【0068】

いくつかの態様において、各 R^1 は R^2 へ、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKおよび6位のKによって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、 R^1 へ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、 R^1 へ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、 R^2 は、抗TfR1 Fabを含む。

30

40

【0069】

いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ は、独立して、整数(例えば、1以上)である。いくつかの態様において、抗体は、表2に記述されたとおりの配列を含む。例としては、いくつかの態様において、抗体は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含み;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と

50

、配列番号5もしくは11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗体は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである。いくつかの態様において、抗体はFab断片である。

10

20

30

40

50

【0070】

いくつかの態様において、複数の異なる複合体は、共通の標的化剤(例えば、抗体)および共通のオリゴヌクレオチド(例えば、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含む。かかる態様において、異なる複合体タイプは、抗体へ共有結合的に連結された異なる数のオリゴヌクレオチドを有することによって特徴付けられる。例としては、いくつかの態様において、組成物は、複数の複合体を含み、その組成物中各複合体の型は、式 $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含み、式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチド(例えば、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含む化合物を含み、 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体(例えば、抗TfR1抗体)を含む。いくつかの態様において、各複合体またはいずれかの複合体(例えば、本明細書に開示される組成物または方法のいずれかにおけるいずれかの複合体)の $n1$ の値は、最大で、抱合が所望または標的とされる抗体のアミノ酸残基の数(例えば、リシン残基の数)までの整数である。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ の値は独立して、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および27から選択される。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ の値は独立して、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および26から選択される。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ の値は、独立して、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内である。いくつかの態様において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、1~5の範囲内(例えば、1~5、1~4、1~3、3~5、または1~2)である。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、式中 $n1$ は0である。いくつかの態様において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5の範囲内(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)である。いくつかの態様において、各複合体の型において、 $n1$ は独立して、複合体の型の各複合体における R^1 の実例の数を表す1以上の整数であり、組成物の異なる複合体の型は、異なる $n1$ 値(例えば、1~27、1~26、1~25、1~20、1~15、1~10、1~5、または1~3の範囲の $n1$ 値)を有することにより特徴付けられる。

【0071】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、(例えば、微量の)オリゴヌクレオチドへ抱合されていない抗体と、1以上のオリゴヌクレオチドへ抱合された抗体とを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドへ抱合されていない抗体は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ (式中、 $n1$ は0である)で表される構造を含む化合物と称されることもある。し

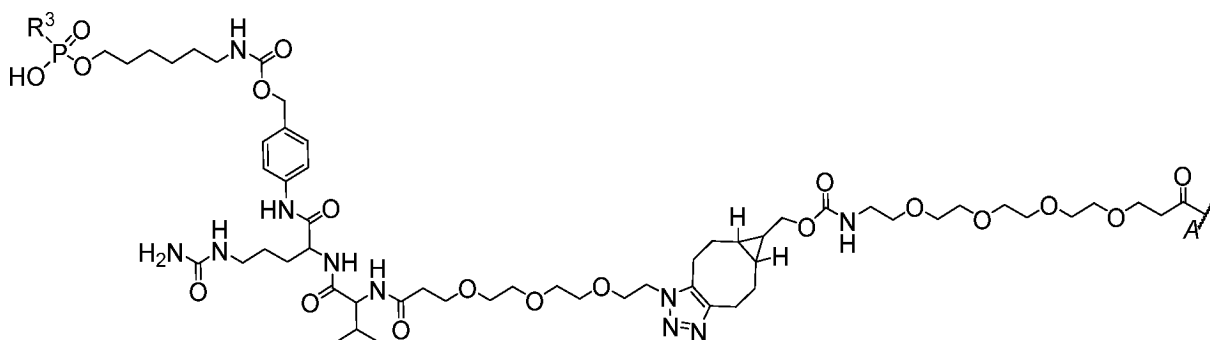
たがって、いくつかの態様において、本明細書に記載の方法では、対象へ投与するための組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む化合物(例えば、複合体)を含み、式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチドを含む基を含み、 R^2 は、抗体を含み、 $n1$ は、独立して、各化合物(例えば、複合体)内の R^1 の実例の数を反映する0以上の整数である。いくつかの態様において、 $n1$ が1以上である組成物中のその構造で表されるあらゆる化合物と比較した、 $n1$ が0である組成物中の式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む化合物の割合は、10%未満、5%未満、1%未満0.5%未満、0.1%未満、0.05%未満または0.01%未満である。したがって、いくつかの態様において、本明細書に開示される組成物中の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲内である。

10

【0072】

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含み、その式中各 R^1 は独立して、式(Ia):

【化5】



20

(Ia)で表される基を含み、その式中 R^3 は、オリゴヌクレオチド、例えば、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含む; R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ここで各複合体において、 $n1$ は独立して、各複合体における R^1 の実例の数を表す整数(例えば、1以上の)であり、各 R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、 R^1 へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、 R^2 は、表2に記述されたとおりの配列を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗TfR1抗体(例え

30

40

50

ば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含む、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片である抗体を含む。いくつかの態様において、 R^3 は、CAGCGCCACACAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、 R^3 は、 $+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dC^*dA^*dC^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A$ (配列番号21)で表される構造を含むオリゴヌクレオチドを含み、ここで+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオチドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオチドを表し、oNは、2'-MOE修飾リボヌクレオチドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオチド間連結を表す。いくつかの態様において、 R^2 はFabを含み、各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、Fabのリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、ここで本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体のFabの軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、 R^1 へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、式中 $n1$ は0である。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲にある。

【0073】

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含み、その式中各 R^1 は、式(Ib):

10

20

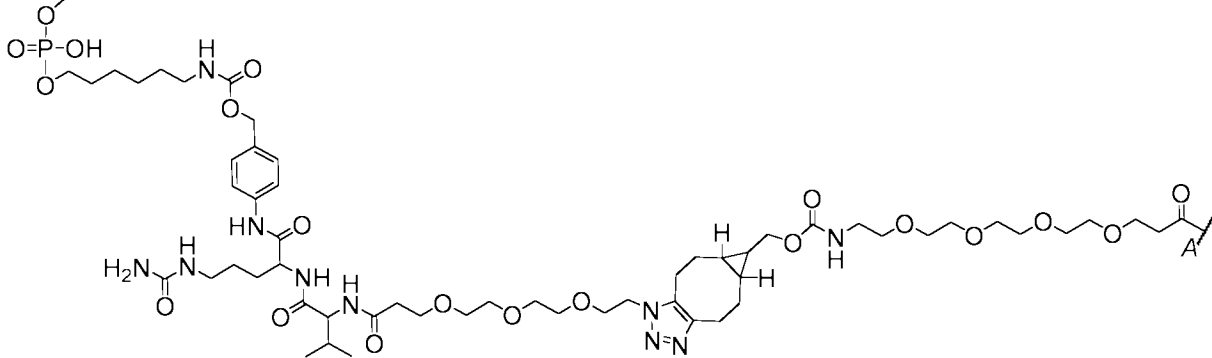
30

40

50

【化 6】

+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A-3' (配列番号21)



10

(1b)で表される基を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリシンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;R²は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ここで各複合体において、n1は独立して、各複合体におけるR¹の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数であり、各R¹は、R²へ付着点Aにて、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、R¹へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、R²は、表2に記述されたとおりの配列を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様において、R²は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含む、お

20

30

40

50

よび/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、 $F(ab')_2$ 断片、scFvまたはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片である抗体を含む。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、 R^2 はFabを含み、各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、Fabのリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、ここで本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体のFabの軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、または90%~95%)は独立して、 R^1 へ、Fabの軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体のFabの重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、 R^1 へ、Fabの重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、式中 $n1$ は0である。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲にある。

10

20

30

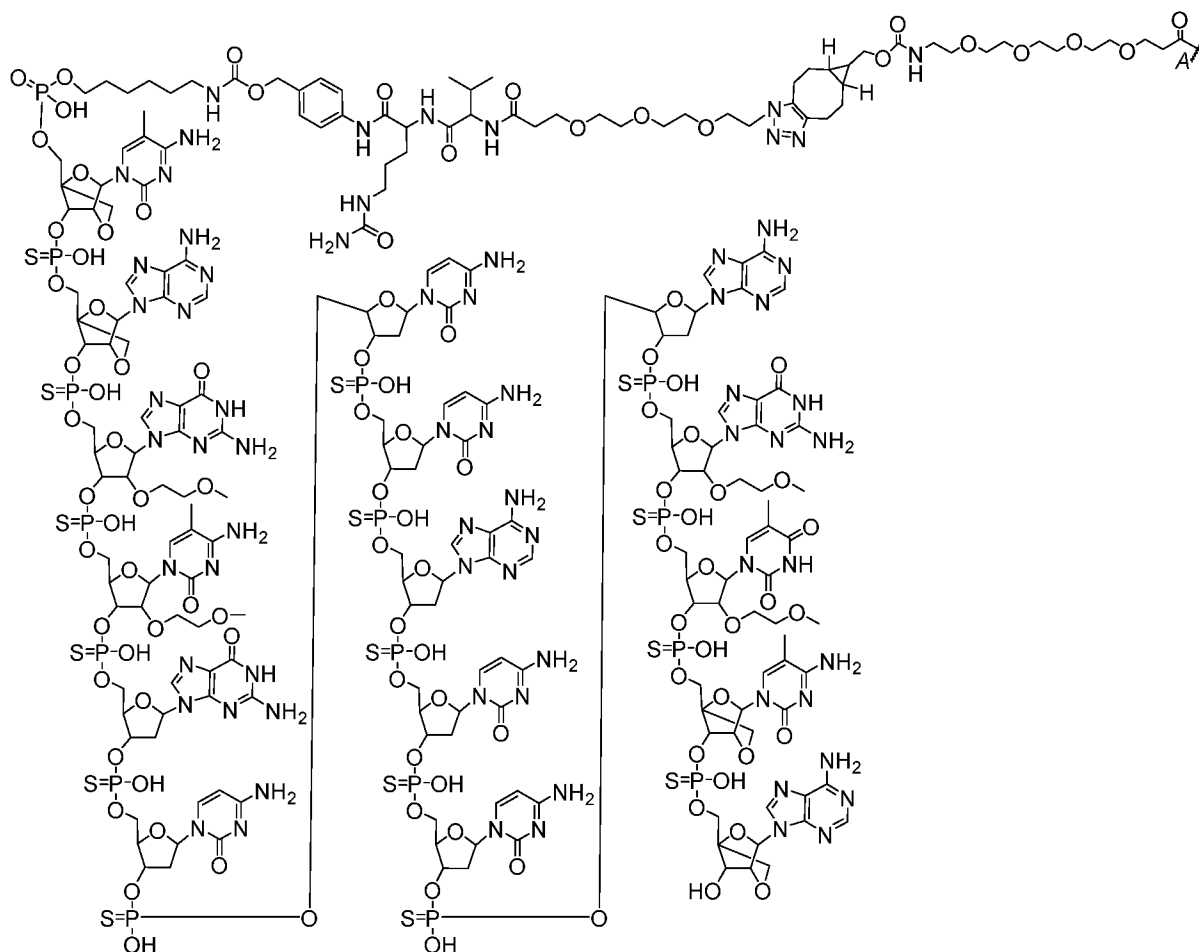
【0074】

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含み、その式中各 R^1 は、式(Ic):

40

50

【化 7】



(1c)で表される基を含み、 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ここで各複合体において、 $n1$ は独立して、各複合体における R^1 の実例の数を表す整数(例えば、1以上の)であり、式中各 R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、 R^1 へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、 R^2 は、表2に記述されたとおりの配列を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列

番号3、9もしくは14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含む、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片である抗体を含む。いくつかの態様において、各複合体では、 n_1 は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、 R^2 はFabを含み、各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、Fabのリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、ここで本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体のFabの軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、 R^1 へ、Fabの軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体のFabの重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、Fabの重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、式中 n_1 は0である。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物の複合体の n_1 の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲にある。

【0075】

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、式(Id):

10

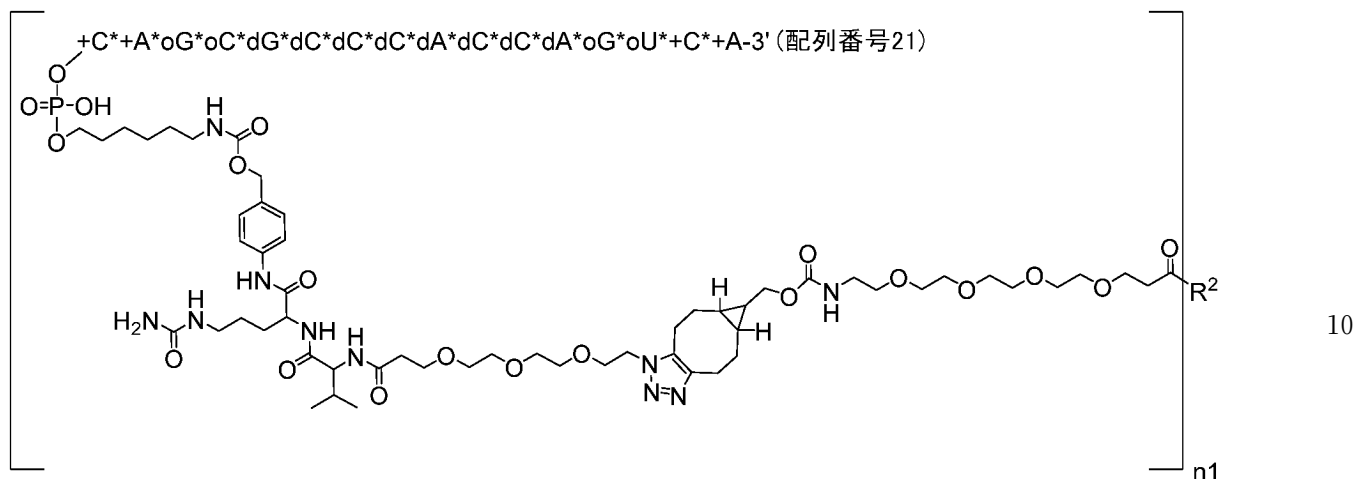
20

30

40

50

【化 8】



(Id)で表される構造を含み、

式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCC CACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;式中R²は、表2から選択されるCDRH1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含み、任意にここで抗TfR1抗体(例えば、Fab)は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号18のアミノ酸配列を含むVLとを含み、さらに任意にここで抗TfR1抗体(例えば、Fab)は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む;ならびにここで各複合体では、n1は、独立して、角括弧によって囲まれた基の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数であり、式中角括弧によって囲まれた基の各実例は、抗体(例えば、Fab)のリシン(K)によって表される連結部位へ共有結合的に連結される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体(例えば、Fab)の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、式(I_d)中の角括弧で囲まれた基へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、R²は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を

含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、 R^2 は、抗体(例えば、Fab)のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている抗体(例えば、Fab)を含み、ここで本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体(例えば、Fab)の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、または90%~95%)は独立して、式(1d)中の角括弧で囲まれた基へ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、式(1d)中の角括弧で囲まれた基へ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書において記載される組成物は、 $n1$ の値が0である複合体を含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲にある。

【0076】

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、式(A):

10

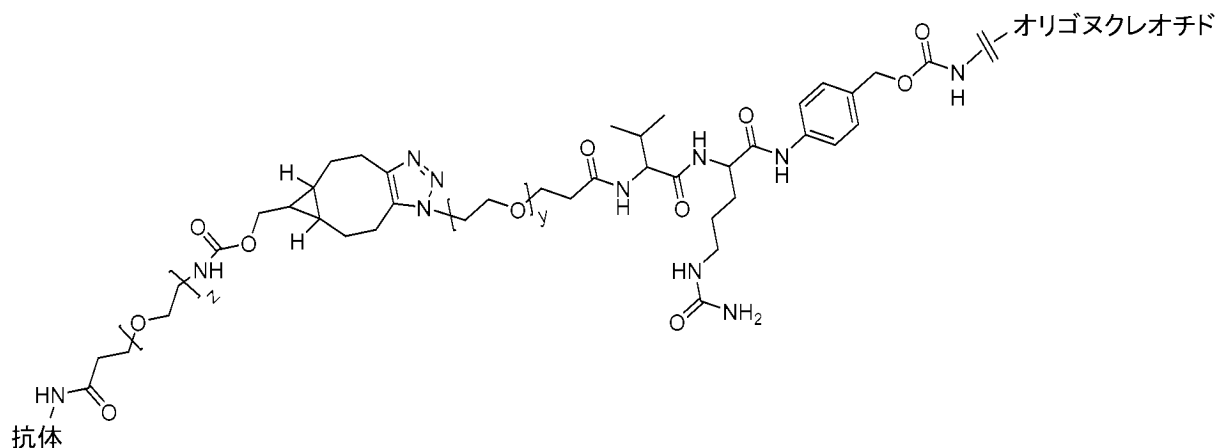
20

30

40

50

【化 9】



10

(A)で表される構造を含み、式中 y は、0～15(例えば、3)であり、 z は、0～15(例えば、4)である。いくつかの態様において、抗体は、各抗体の重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗TfR1抗体(例えば、表2に提供される抗TfR1抗体)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、配列番号21のヌクレオチド配列を含む。

いくつかの態様において、構造中で抗TfR1抗体に隣接して示されるアミドは、リシンイプシロンアミンなどの抗TfR1抗体のアミンとの反応から生じる。いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介してオリゴヌクレオチドの5'末端へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含む。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%～98%、80%～95%、80%～90%、85%～98%、85%～95%、85%～90%、90%～98%、90%～95%、95%～97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%～15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、表2に記述されたとおりの配列を含む。例としては、いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配

20

30

40

50

列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗体は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである。

10

【0077】

本明細書に記載の複合体が式(A)で表される構造を含むか、または式(Ia)、(Ib)、(Ic)もしくは(I'd)の基を含む構造を含む態様などのいくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって任意に表される。いくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって任意に表される。いくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKおよび/または6位のKによって任意に表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中の4位および/または6位にてK残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のKによって任意に表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のK残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物の複合体のn1の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲にある。

20

30

40

【0078】

連結部位

複数の複合体を含む組成物が本明細書に提供され、ここで各複合体は、1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む。いくつかの態様において、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物の各複合体において、各オリゴヌクレオチドは、抗体の異なるリシン

50

(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0079】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の約80%~98%、80%~95%、80%~90%、80%~85%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%または95%~98%は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の約85%~95%(例えば、85%~95%、85%~90%、または90%~95%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の約90%~95%(例えば、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、または約95%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体の軽鎖定常領域を含む複合体は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体を含む複合体;抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体を含む複合体;および/または抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体を含む複合体を包含することが理解されるべきである。

【0080】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、各抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、各抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の少なくとも1%(例えば、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも4%、少な

くとも5%、少なくとも6%、少なくとも7%、少なくとも8%、少なくとも9%、少なくとも10%、少なくとも11%、少なくとも12%、少なくとも13%、少なくとも14%、少なくとも15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

【0081】

いくつかの態様において、本明細書において言及されるリシン(K)残基の番号は、Kabatナンバリング(Kabat et al.(1971)Ann.NY Acad.Sci.190:382-391 and Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987)and(1991))に基づく。本明細書に提供される抗体の重鎖および軽鎖の可変領域および定常領域には、別々に番号が付けられている。抗体の軽鎖可変領域および重鎖可変領域のKabatナンバリングは、当技術分野において、例えばKabat et al.(1971)Ann.NY Acad.Sci.190:382-391 and Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987)and(1991))に記載されている。本明細書に提供される抗体の軽鎖定常領域および重鎖定常領域のKabatナンバリングは、imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.htmlおよびimgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGKCnber.html(also see Edelman,G.M.et al.,Proc.Natl.Acad.USA,63,78-85(1969).PMID:5257969;Hieter,P.A.et al.,Cell,22,197-207(1980).PMID:6775818;Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.647,662,680,689(1991))で見出すことができる。

【0082】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKおよび6位のKによって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の80%~98%、80%~95%、80%~90%、80%~85%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、または95%~98%は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の85%~95%(例えば、85%~95%、85%~90%、または90%~95%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合

10

20

30

40

50

体の抗体の軽鎖の90%~95%(例えば、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、または約95%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体の軽鎖を含む複合体は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中の4位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体を含む複合体;抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中の6位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体を含む複合体;および/または軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中の4位のKによって表される連結部位および6位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結される抗体を含む複合体を包含することが理解されるべきである。

10

【0083】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の1%~10%(例えば、1%~8%、1%~5%、1%~10%、1%~4%、2%~8%、2%~5%、3%~10%、4%~10%、5%~10%、3%~5%、4%~8%、4%~7%、4%~6%、または5%~8%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。

20

【0084】

抗体

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、ヒトトランスフェリン受容体1(TfR1)に結合する抗体を含む。NCBI配列NP_003225.2(トランスフェリン受容体タンパク質1アイソフォーム1、homo sapiens)に対応する、ヒトTfR1のアミノ酸配列の例は、以下のとおりである:

30

MMDQARSAFSNLFGGPELSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLAVDEEENADNNTKAN
VTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGE
DFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLN ENSYVPREAGSQKDENLALYVEN
QFREFKLSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAAT
VTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMD
QTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFP PSRSSGLPNIPVQTISRAAA
EKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEP
DHYVVVGAQRDAWGPGAAGSGVGTALLLKLAQMFS DMVLKDGFGQPSRSIIFASWSA
GDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGT SNFKVSASPLLYTLIEKTMQN
VKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYS GIPAVSFCFCEDTDYPYLGTT
MDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLN
QYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNA EKTDRFVMMKKLNDRVMRVE
YHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLENL KLRKQNNGAFNETLFRNQLALAT
WTIQGAANALSGDVWDIDNEF(配列番号23)。

40

【0085】

表2は、本明細書に提供される複合体に有用な抗TfR1抗体の配列の例を提供する。

50

【表 2】

表2. 抗TfR1抗体配列の例

特徴	IMGT	Kabat	Chothia
CDR-H1	GYSITSGYY (配列番号1)	SGYYWN(配列番号 7)	GYSITSGY(配列番号12)
CDR-H2	ITFDGAN(配 列番号2)	YITFDGANNYNPSL KN(配列番号8)	FDG(配列番号13)
CDR-H3	TRSSYDYDVL DY(配列番号 3)	SSYDYDVLDY(配 列番号9)	SYDYDVLD(配列番号14)
CDR-L1	QDISNF(配列 番号4)	RASQDISNFLN(配 列番号10)	SQDISNF(配列番号15)
CDR-L2	YTS(配列番号 5)	YTSRLHS(配列番 号11)	YTS(配列番号5)
CDR-L3	QQGHTLPYT (配列番号6)	QQGHTLPYT(配列 番号6)	GHTLPY(配列番号16)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFDGANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWGQGTTVTVSS(配列番号17)		
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWFYQQKPGQPVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK(配列番号18)		
Fab HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFDGANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT(配列番号19)		
Fab LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWFYQQKPGQPVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号20)		

【0086】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、(IMGT定義系による)配列番号1の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)と、(IMGT定義系による)配列番号2の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)と、(IMGT定義系による)配列番号3の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)と、(IMGT定義系による)配列番号4の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、(IMGT定義系による)配列番号5の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、(IMGT定義系による)配列番号6の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む。

【0087】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、(Kabat定義系による)配列番号7の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)と、(Kabat定義系による)配列番号8の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)と、(Kabat定義系による)配列番号9の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)と、(Kabat定義系による)配列番号10の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、(Kabat定義系による)配列番号11の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、(Kabat定義系による)配列番号6の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む。

【0088】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、(Chothia定義系による)配列番号12の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)と、(Chothia定義系による)配列番号13の重鎖相

補性決定領域2(CDR-H2)と、(Chothia定義系による)配列番号14の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)と、(Chothia定義系による)配列番号15の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、(Chothia定義系による)配列番号5の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、(Chothia定義系による)配列番号16の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む。

【0089】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHと比較して、フレームワーク領域に25個以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1個以下のアミノ酸変異)を含有する重鎖可変領域(VH)を含む。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号18のアミノ酸配列を含むVLと比較して、フレームワーク領域に25個以下のアミノ酸変異(例えば、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1個以下のアミノ酸変異)を含有する軽鎖可変領域(VL)を含む。

10

【0090】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHと、フレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号18のアミノ酸配列を含むVLと、フレームワーク領域内で少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。

20

【0091】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含む。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0092】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号19のアミノ酸配列と少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号20のアミノ酸配列と少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号19のアミノ酸配列と少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むFabである。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号20のアミノ酸配列と少なくとも75%(例えば、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むFabである。

30

【0093】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含むFabである。代わりにまたは加えて(例えば、加えて)、本開示の抗TfR1抗体は、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むFabである。

40

【0094】

いくつかの態様において、本明細書に提供される抗TfR1抗体は、1以上の翻訳後修飾を有してもよい。いくつかの態様において、ピログルタマート形成(ピロGlu)ともまた呼ばれるN末端環化が、産生中に抗体においてN末端グルタマート(Glu)および/またはグルタミン(Gln)残基で起こることもある。したがって、N末端グルタマートまたはグルタミン残基を含む配列を有すると特定される抗体は、翻訳後修飾に起因するピログルタマート形成を受けた抗体を包摂することを理解されたい。いくつかの態様において、ピログルタ

50

マート形成は、重鎖配列内で起こる。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、軽鎖配列内で起こる。

【0095】

オリゴヌクレオチド

いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体のオリゴヌクレオチドは、一本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、DMPKを標的化するのに(例えば、突然変異型または野生型DMPK RNAのレベルなどのDMPK RNAの発現または活性を低下させるのに)有用である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、DMPK RNAを標的化するのに(例えば、突然変異型または野生型DMPK RNAのレベルなどのDMPK RNAの発現または活性を低下させるのに)有用である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、DMPK RNAに対する相補性領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例えば、筋緊張性ジストロフィーを有するかまたは有すると疑われる対象において、疾患関連リピート伸長を有する毒性DMPKのレベルを低下させるのに有用である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、細胞、例えば、筋細胞(例えば、筋管)、または神経系の細胞(例えば、中枢神経系(CNS)細胞)の核に存在する標的DMPK RNAのRNase H媒介分解を導くように設計される。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、望ましいバイオアベイラビリティおよび/または血清安定性特性を有するように設計される。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、望ましい結合親和性特性を有するように設計される。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、望ましい毒性プロファイルを有するように設計される。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、低補体活性化および/またはサイトカイン誘導特性を有するように設計される。

10

20

【0096】

いくつかの態様において、本明細書において記載されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、DMPK mRNAのRNase H媒介分解を引き起こすように設計される。いくつかの態様において、一方の形式からの機能的配列(例えば、アンチセンス鎖配列)を他方の形式に組み込むことによって、ある形式のオリゴヌクレオチド(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)が、別の形式(例えば、siRNAオリゴヌクレオチド)に好適に適應されてもよいことを理解されたい。

【0097】

DMPKを標的とするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、その各々の内容全体が本明細書に組み込まれる、2010年1月1日に公開されたCompound And Method For Treating Myotonic Dystrophyと題する米国特許出願公開第20100016215号;米国特許出願公開第20130237585号、2010年7月19日公開、Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase(DMPK)Expression;2015年3月5日に公開された「Antisense Conjugates For Decreasing Expression Of Dmpk」と題する米国特許出願公開第20150064181号;2015年8月27日に公開された「Peptide-Linked Morpholino Antisense Oligonucleotides For Treatment Of Myotonic Dystrophy」と題する米国特許出願公開第20150238627号;および2016年10月20日に公開された「Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase(Dmpk)Expression」と題する米国特許出願公開第20160304877号に提供されている。

30

40

【0098】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例示的なヒトDMPK遺伝子配列(遺伝子ID 1760;NM_001081560.2)である、以下に記述される配列に対する相補性領域を含んでいてもよい:

AGGGGGGCTGGACCAAGGGGTGGGGAGAAGGGGAGGAGGCCTCGGCCGGCCGCAGAGAGAAGTGGCCAGAGAGGCCAGGGGACAGCCAGGGACAGGCAGACATGCAGCCAGGGCTCCAGGGCCTGGACAGGGGCTGCCAGGGCCCTGTGACAGGAGGACCCCGAGCCC
CCGGCCCCGGGGAGGGGCCATGGTGCTGCCTGTCCAACATGTCAGCCGAGGTGCGGC

50

TGAGGCGGCTCCAGCAGCTGGTGTGGACCCGGGCTTCCTGGGGCTGGAGCCCCTG
CTCGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGCGCCTCCGAACTGGCCCAGGA
CAAGTACGTGGCCGACTTCTTGCACTGGGCGGAGCCCATCGTGGTGAGGCTTAAGG
AGGTCCGACTGCAGAGGGACGACTTCGAGATTCTGAAGGTGATCGGACGCGGGGCG
TTCAGCGAGGTAGCGGTAGTGAAGATGAAGCAGACGGGCCAGGTGTATGCCATGAA
GATCATGAACAAGTGGGACATGCTGAAGAGGGGCGAGGTGTCGTGCTTCCGTGAGG
AGAGGGACGTGTTGGTGAATGGGGACCGGCGGTGGATCACGCAGCTGCACTTCGCC
TTCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAGTATTACGTGGGCGGGGACCT
GCTGACACTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATTCCGGCCGAGATGGCGCGCTTCT
ACCTGGCGGAGATTGTCTATGGCCATAGACTCGGTGCACCGGCTTGGCTACGTGCAC
AGGGACATCAAACCCGACAACATCCTGCTGGACCGCTGTGGCCACATCCGCCTGGC
CGACTTCGGCTCTTGCCCTCAAGCTGCGGGCAGATGGAACGGTGCGGTGCTGGTGG
CTGTGGGACACCCAGACTACCTGTCCCCCGAGATCCTGCAGGCTGTGGGCGGTGGG
CCTGGGACAGGCAGCTACGGGCCCCGAGTGTGACTGGTGGGCGCTGGGTGTATTGCG
CTATGAAATGTTCTATGGGCAGACGCCCTTCTACGCGGATTCCACGGCGGAGACCT
ATGGCAAGATCGTCCACTACAAGGAGCACCTCTCTGCGCTGGTGGACGAAGGG
GTCCCTGAGGAGGCTCGAGACTTCATTCAGCGGTTGCTGTGTCCCCCGGAGACACG
GCTGGGCGGGGTGGAGCAGGCGACTTCGGGACACATCCCTTCTTCTTTGGCCTCG
ACTGGGATGGTCTCCGGGACAGCGTGCCCCCTTTACACCGGATTTCGAAGGTGCC
ACCGACACATGCAACTTCGACTTGGTGGAGGACGGGCTCACTGCCATGGAGACACT
GTCGGACATTGCGGAAGGTGCGCCGCTAGGGGTCCACCTGCCTTTTGTGGGCTACT
CCTACTCCTGCATGGCCCTCAGGGACAGTGAGGTCCCAGGCCCCACACCCATGGAA
CTGGAGGCCGAGCAGCTGCTTGAGCCACACGTGCAAGCGCCAGCCTGGAGCCCTC
GGTGTCCCCACAGGATGAAACAGCTGAAGTGGCAGTTCCAGCGGCTGTCCCTGCGG
CAGAGGCTGAGGCCGAGGTGACGCTGCGGGAGCTCCAGGAAGCCCTGGAGGAGGAG
GTGCTCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGGGAGATGGAGGCCATCCGCACGGACAACCA
GAACTTCGCCAGTCAACTACGCGAGGCAGAGGCTCGGAACCGGGACCTAGAGGCAC
ACGTCCGGCAGTTGCAGGAGCGGATGGAGTTGCTGCAGGCAGAGGGAGCCACAGCT
GTCACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATGGCCC
CCCGGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCACCGCC
GCCACCTGCTGCTCCCTGCCAGGGTCCCTAGGCCTGGCCTATCGGAGGGCGCTTTCC
CTGCTCCTGTTGCGCGTTGTTCTGTCTCGTGCCGCGCCCTGGGCTGCATTGGGTTG
GTGGCCCCACGCCGGCCAACCTCACCGCAGTCTGGCGCCGCCCAGGAGCCGCCCGCGC
TCCCTGAACCTAGAACTGTCTTCGACTCCGGGGCCCCGTTGGAAGACTGAGTGCC
CGGGGCACGGCACAGAAGCCGCGCCACCGCCTGCCAGTTACAACCGCTCCGAGC
GTGGGTCTCCGCCAGCTCCAGTCCTGTGATCCGGGGCCGCCCCCTAGCGGCCGGG
GAGGGAGGGGCGGGTCCGCGGCCGGCGAACGGGGCTCGAAGGGTCCTTGTAGCCG
GGAATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTGCTGCTGGGGGGATCACAGACCAATTTCTTTCTTTGGGCCAGGCTGAGGCCCTGA
CGTGGATGGGCAAACTGCAGGCCTGGGAAGGCAGCAAGCCGGGCGGTCCGTGTTCC
ATCCTCCACGCACCCCCACCTATCGTTGGTTCGCAAAGTGCAAAGCTTTCTTGTGC
ATGACGCCCTGCTCTGGGGAGCGTCTGGCGCGATCTCTGCCTGCTTACTCGGGAAA
TTTGCTTTTGCCAAACCCGCTTTTTCGGGGATCCCGCGCCCCCTCCTCACTTGCGC
TGCTCTCGGAGCCCCAGCCGGCTCCGCCCGCTTCGGCGGTTTGGATATTTATTGAC
CTCGTCTCCGACTCGCTGACAGGCTACAGGACCCCCAACAACCCCAATCCACGTT
TTGGATGCACTGAGACCCCGACATTCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTAGG
ACCCCCACCCCGACCTCGCGAATAAAAGGCCCTCCATCTGCCCAAAGCTCTGGA(
配列番号24)。

10

20

30

40

50

【0099】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例示的なマウスDMPK遺伝子配列(

遺伝子ID 13400;NM_001190490.1)である、以下に記述される配列に対する相補性領域を含んでいてもよい。

GAAC TGGCCAGAGAGACCCAAGGGATAGTCAGGGACGGGCAGACATGCAGCTAGGG
TTCTGGGGGCTGGACAGGGGCGAGCCAGGCCCTGTGACGGGAAGACCCCGAGCTCCG
GCCCCGGGGAGGGGGCCATGGTGTGCTGCCCAACATGTCAGCCGAAGTGCGGCTGA
GGCAGCTCCAGCAGCTGGTGTGCTGGACCCAGGCTTCCTGGGACTGGAGCCCCCTGCTC
GACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGTGCCTCTCACCTAGCCCAGGACAA
GTATGTGGCCGACTTCTTGCAGTGGGTGGAGCCCATTGCAGCAAGGCTTAAGGAGG
TCCGACTGCAGAGGGATGATTTTGAGATTTTGAAGGTGATCGGGCGTGGGGCGTTC
AGCGAGGTAGCGGTGGTGAAGATGAAACAGACGGGCCAAGTGATGCCATGAAGAT
TATGAATAAGTGGGACATGCTGAAGAGAGGCGAGGTGTCTGCTTCCGGGAAGAAA
GGGATGTATTAGTGAAAGGGGGACCGGCGCTGGATCACACAGCTGCACTTTGCCTTC
CAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAATACTACGTGGGCGGGGACCTGCT
AACGCTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATCCCCGCCGAGATGGCTCGCTTCTACC
TGGCCGAGATTGTCATGGCCATAGACTCCGTGCACCGGCTGGGCTACGTGCACAGG
GACATCAAACCAGATAACATTCTGCTGGACCGATGTGGGCACATTGCGCTGGCAGA
CTTCGGGCTCCTGCCTCAAACCTGCAGCCTGATGGAATGGTGAGGTCGCTGGTGGCTG
TGGGCACCCCGGACTACCTGTCTCCTGAGATTCTGCAGGCCGTTGGTGGAGGGCCT
GGGGCAGGCAGCTACGGGCCAGAGTGTGACTGGTGGGCACTGGGCGTGTTCGCCTA
TGAGATGTTCTATGGGCAGACCCCTTCTACGCGGACTCCACAGCCGAGACATATG
CCAAGATTGTGCACTACAGGGAACACTTGTCTGCTGCCGCTGGCAGACACAGTTGTC
CCCGAGGAAGCTCAGGACCTCATTCTGTGGGCTGCTGTGTCTGCTGAGATAAGGCT
AGGTTCGAGGTGGGGCAGACTTCGAGGGTGCCACGGACACATGCAATTTTCGATGTGG
TGGAGGACCGGCTCACTGCCATGGTGAGCGGGGGCGGGGAGACGCTGTCAGACATG
CAGGAAGACATGCCCCCTTGGGGTGGCGCTGCCCTTCGTGGGCTACTCCTACTGCTG
CATGGCCTTCAGAGACAATCAGGTCCCGGACCCCAACCCCTATGGAAGTACAGGGCCC
TGCAGTTGCCTGTGTCAGACTTGCAAGGGCTTGACTTGCAGCCCCCAGTGTCCCCA
CCGGATCAAGTGGCTGAAGAGGCTGACCTAGTGGCTGTCCCTGCCCTGTGGCTGA
GGCAGAGACCACGGTAACGCTGCAGCAGCTCCAGGAAGCCCTGGAAGAAGAGGTTTC
TACCCCGGCAGAGCCTGAGCCGCGAGCTGGAGGCCATCCGGACCGCCAACCAGAAC
TTCTCCAGCCAACCTACAGGAGGCGGAGGTCCGAAACCGAGACCTGGAGGGCGCATGT
TCGGCAGCTACAGGAACGGATGGAGATGCTGCAGGCCCCAGGAGCCGCAGCCATCA
CGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATGGCCCCCCG
GCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCACCGCCGTCA
CCTGCTGCTCCCTGCCAGGATCCCTAGGCCTGGCCTATCCGAGGCGCGTTGCCTGC
TCCTGTTGCGCGCTGCTCTGGCTGCTGCCGCCACACTGGGCTGCACTGGGTTGGTG
GCCTATACCGGCGGTCTCACCCAGTCTGGTGTTCCTCCGGGAGCCACCTTCGCCCC
CTGAACCTAAGACTCCAAGCCATCTTTCAATTTAGGCCTCCTAGGAAGGTCGAGCG
ACCAGGGAGCGACCCAAAGCGTCTCTGTGCCCATCGCGCCCCCCCCCCCCCCCCAC
CGCTCCGCTCCACACTTCTGTGAGCCTGGGTCCCCACCCAGCTCCGCTCCTGTGATC
CAGGCCTGCCACCTGGCGGGCCGGGGAGGGAGGAACAGGGCTCGTGCCAGCACACCGGAG
TGGTTCTGTCAGAGCTGGTAGCCACCGCTGCTGCAGCAGCTGGGCATTGCGCCGACC
TTGCTTTACTCAGCCCCGACGTGGATGGGCAAACCTGCTCAGCTCATCCGATTTTAC
TTTTTCACTCTCCAGCCATCAGTTACAAGCCATAAGCATGAGCCCCCTATTTCCAG
GGACATCCCATTTCCATAGTGATGGATCAGCAAGACCTCTGCCAGCACACACGGAG
TCTTTGGCTTCGGACAGCCTCACTCCTGGGGGTTGCTGCAACTCCTTCCCCGTGTAC
ACGTCTGCACTCTAACAACGGAGCCACAGCTGCACTCCCCCTCCCCCAAAGCAGT
GTGGGTATTTATTGATCTTGTTATCTGACTCACTGACAGACTCCGGGACCCACGTTT
TAGATGCATTGAGACTCGACATTCCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTACGACC
TCCACTCCCGACCCTTGCGAATAAAATACTTCTGGTCTGCCCTAAA(配列番号25)。

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例えば、ヒト、マウスおよび非ヒト種(例えばカニクイザル)から選択される複数の種のDMPK遺伝子配列に対する相補性領域を含んでいてもよい。

【0100】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、DMPKの突然変異形態、例としては、その各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、Botta A. et al. “The C TG repeat expansion size correlates with the splicing defects observed in muscles from myotonic dystrophy type 1 patients.” J Med Genet. 2008 Oct; 45(10): 639-46.; および Machuca-Tzili L. et al. “Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies: a review.” Muscle Nerve. 2005 Jul; 32(1): 1-18. で報告された突然変異形態に対する相補性領域を含んでいてもよい。

10

【0101】

いくつかの態様において、本明細書に提供されるオリゴヌクレオチドは、DMPKを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチド標的化DMPKは、参照により本明細書に組み込まれる、2016年10月20日に公開された「Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophin Myotonic Protein Kinase(DMPK) Expression」と題する米国特許出願公開第20160304877号に記載されているように、DMPKを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドのいずれか1つである。いくつかの態様において、DMPK標的化オリゴヌクレオチドは、Genbankアクセッション番号NM_001081560.2(配列番号24)に記述されたとおりの、またはGenbankアクセッション番号NG_009784.1(配列番号26)に記述されたとおりのDMPK遺伝子配列の領域を標的とする。

20

【0102】

いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号24の少なくとも8個の連続的なヌクレオチド(例えば、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも12個、少なくとも14個、少なくとも16個、少なくとも18個、少なくとも20個またはそれより多くの連続的なヌクレオチド)である標的領域に相補的な領域を含むヌクレオチド配列を含む。

【0103】

いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、10~35(例えば、10~35、10~30、10~25、10~20、10~15、15~35、15~30、15~25、15~20、20~35、20~30、13~18、14~17、15~18、20~30、15~17、27~30、25~35または30~35)ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長であり、任意に15~30、または16ヌクレオチド長である。いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、16ヌクレオチド長である。

30

【0104】

いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、DMPK RNAに対する少なくとも8個(例えば、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30個またはそれより多く)の連続するヌクレオチドからなる相補性領域を含む。

40

【0105】

いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号24または25に記述されたとおりのDMPK配列に対して少なくとも8個(例えば、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30個またはそれより多く)の連続するヌクレオチドからなる相補性領域を含む。

【0106】

50

いくつかの態様において、本明細書に提供されるDMPK標的化オリゴヌクレオチドは、配列番号22(TGACTGGTGGGCGCTG)に記述されるとおりの標的配列に対して少なくとも8個(例えば、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、または16個)の連続するヌクレオチドからなる相補性領域を含む。いくつかの態様において、DMPKを標的化するのに有用なオリゴヌクレオチドは、配列番号21(CAGCGCCCACCAGUCA)に記述されるとおりの配列の少なくとも8個(例えば、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、または16個)の連続するヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、DMPKを標的化するのに有用なオリゴヌクレオチドは、配列番号21のヌクレオチド配列を含む。

【0107】

いくつかの態様において、DMPK標的化オリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含む。5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドは、RNase H切断を支援する複数のヌクレオシドを有するギャップ領域が、1以上のヌクレオチドを有するフランキング領域間に配置されているキメラアンチセンス化合物を指すことができ、ここでギャップ領域を含むヌクレオシドは、ヌクレオシド、またはフランキング領域を含むヌクレオシドとは化学的に別個である。いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、ギャップ領域Yの周囲のフランキング領域としてXおよびZを有する5'-X-Y-Z-3'配置を含む。いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、1以上の2'-デオキシリボヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、ギャップ領域Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドであり、フランキング領域Xもフランキング領域Zもいずれかの2'-デオキシリボヌクレオシドを含有しない。

【0108】

いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、RNase HなどのRNaseを動員することができる6個以上の2'-デオキシリボヌクレオシドの連続ストレッチを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは標的核酸に結合し、その時点でRNaseが動員され、次いで標的核酸を切断することができる。いくつかの態様において、フランキング領域XおよびZは各々、1以上の修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、フランキング領域XおよびZは各々、1以上の高親和性修飾ヌクレオシド、例えば1~6個の高親和性修飾ヌクレオシドを含む。高親和性修飾ヌクレオシドの例は、限定するものではないが、2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、2'-O-Me、2'-F)または2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、cEt、ENA)を包含する。いくつかの態様において、フランキング領域XおよびZは長さが1~20ヌクレオチド、1~8ヌクレオチド、または1~5ヌクレオチドであってもよい。フランキング領域XおよびZは、類似の長さまたは非類似の長さであってもよい。いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、5~20ヌクレオチド長、5~15ヌクレオチド長、5~12ヌクレオチド長、または6~10ヌクレオチド長のヌクレオチド配列を含んでもよい。

【0109】

いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、1以上の非修飾ヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、一方または両方のフランキング領域XおよびZは、各々独立して、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結(例えば、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結または他の連結)を少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つまたはそれより多くのヌクレオチド間連結を含む。いくつかの態様において、ギャップ領域Yおよび2つのフランキング領域XおよびZは、各々が独立して、修飾されたヌクレオシド間連結(例えば、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結または他の連結)を少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、またはそれより多くのヌクレオチド間連結を含む。

【0110】

いくつかの態様において、ギャップマーのギャップ領域Yは、5~20ヌクレオシド長である。例としては、ギャップ領域Yは、5~20、5~15、5~10、10~20、10~15、

10

20

30

40

50

または15～20ヌクレオシド長であってもよい。いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内のヌクレオシドはいずれも、2'-デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内のヌクレオシドのうちの1以上は修飾ヌクレオシドである(例えば、本明細書において記載されるものなどの2'修飾ヌクレオシド)。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の1以上のシトシンは、任意に5-メチル-シトシンである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y内の各シトシンは、5-メチル-シトシンである。

【0111】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域X(5'-X-Y-Z-3'配置のX)およびオリゴヌクレオチドのフランキング領域Z(5'-X-Y-Z-3'配置のZ)は、独立して、1～20ヌクレオシド長である。例としては、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Xおよびオリゴヌクレオチドのフランキング領域Zは、独立して、1～20、1～15、1～10、1～7、1～5、1～3、1～2、2～5、2～7、3～5、3～7、5～20、5～15、5～10、10～20、10～15、または15～20ヌクレオシド長であってもよい。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Xおよびオリゴヌクレオチドのフランキング領域Zは、独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20ヌクレオシド長である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Xおよびオリゴヌクレオチドのフランキング領域Zは、同じ長さである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Xおよびオリゴヌクレオチドのフランキング領域Zは、異なる長さである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Xは、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Zよりも長い。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Xは、オリゴヌクレオチドのフランキング領域Zよりも短い。

【0112】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、DMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、5-10-5,4-12-4,3-14-3,2-16-2,1-18-1,3-10-3,2-10-2,1-10-1,2-8-2,4-6-4,3-6-3,2-6-2,4-7-4,3-7-3,2-7-2,4-8-4,3-8-3,2-8-2,1-8-1,2-9-2,1-9-1,2-10-2,1-10-1,1-12-1,1-16-1,2-15-1,1-15-2,1-14-3,3-14-1,2-14-2,1-13-4,4-13-1,2-13-3,3-13-2,1-12-5,5-12-1,2-12-4,4-12-2,3-12-3,1-11-6,6-11-1,2-11-5,5-11-2,3-11-4,4-11-3,1-17-1,2-16-1,1-16-2,1-15-3,3-15-1,2-15-2,1-14-4,4-14-1,2-14-3,3-14-2,1-13-5,5-13-1,2-13-4,4-13-2,3-13-3,1-12-6,6-12-1,2-12-5,5-12-2,3-12-4,4-12-3,1-11-7,7-11-1,2-11-6,6-11-2,3-11-5,5-11-3,4-11-4,1-18-1,1-17-2,2-17-1,1-16-3,1-16-3,2-16-2,1-15-4,4-15-1,2-15-3,3-15-2,1-14-5,5-14-1,2-14-4,4-14-2,3-14-3,1-13-6,6-13-1,2-13-5,5-13-2,3-13-4,4-13-3,1-12-7,7-12-1,2-12-6,6-12-2,3-12-5,5-12-3,1-11-8,8-11-1,2-11-7,7-11-2,3-11-6,6-11-3,4-11-5,5-11-4,1-19-1,1-18-2,2-18-1,1-17-3,3-17-1,2-17-2,1-16-4,4-16-1,2-16-3,3-16-2,1-15-5,2-15-4,4-15-2,3-15-3,1-14-6,6-14-1,2-14-5,5-14-2,3-14-4,4-14-3,1-13-7,7-13-1,2-13-6,6-13-2,3-13-5,5-13-3,4-13-4,1-12-8,8-12-1,2-12-7,7-12-2,3-12-6,6-12-3,4-12-5,5-12-4,2-11-8,8-11-2,3-11-7,7-11-3,4-11-6,6-11-4,5-11-5,1-20-1,1-19-2,2-19-1,1-18-3,3-18-1,2-18-2,1-17-4,4-17-1,2-17-3,3-17-2,1-16-5,2-16-4,4-16-2,3-16-3,1-15-6,6-15-1,2-15-5,5-15-2,3-15-4,4-15-3,1-14-7,7-14-1,2-14-6,6-14-2,3-14-5,5-14-3,4-14-4,1-13-8,8-13-1,2-13-7,7-13-2,3-13-6,6-13-3,4-13-5,5-13-4,2-12-8,8-12-2,3-12-7,7-12-3,4-12-

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の5'-X-Y-Z-3'配置、または7-11-6を含む。数字は、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド中のX、Y、およびZ領域のヌクレオシドの数を夫々指し示す。

10

20

30

40

50

【0113】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのフランキング領域X(5'-X-Y-Z-3'配置のX)またはオリゴヌクレオチドのフランキング領域Z(5'-X-Y-Z-3'配置のZ)中の1以上のヌクレオシドは、修飾ヌクレオシド(例えば、高親和性修飾ヌクレオシド)である。いくつかの態様において、修飾ヌクレオシド(例えば、高親和性修飾ヌクレオシド)は2'-修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、2'-修飾ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシドまたは非二環式2'-修飾ヌクレオシドである。いくつかの態様において、高親和性修飾ヌクレオシドは、2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、cEtまたはENA)または非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メチル(2'-O-Me)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA))である。

【0114】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は5'-X-Y-Z-3'構成を含み、ここで、XおよびZは、独立して、2~7(例えば、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、ここで、Xの1、2、3、4、5、6または7位(5'末端は1位である)のすべてではないが少なくとも1つ(例えば、1、2、3、4、5または6つ)は非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、ここで、XおよびZの両方のヌクレオシドの残りは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、Yの各ヌクレオシドは2'デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は5'-X-Y-Z-3'構成を含み、ここで、XおよびZは、独立して、2~7(例えば、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、ここで、Zの1、2、3、4、5、6または7位(5'末端は1位である)のすべてではないが少なくとも1つ(例えば、1、2、3、4、5または6つ)は非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、ここで、XおよびZの両方のヌクレオシドの残りは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、ここでYの各ヌクレオシドは2'デオキシリボヌクレオシドである。いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は5'-X-Y-Z-3'構成を含み、ここで、XおよびZは、独立して、2~7(例えば、2、3、4、5、6または7)ヌクレオシド長であり、Yは、6~10(例えば、6、7、8、9または10)ヌクレオシド長であり、ここで、Xの1、2、3、4、5、6または7位のすべてではないが少なくとも1つ(例えば

、1、2、3、4、5または6つ)およびZの1、2、3、4、5、6または7位(5'末端は1位である)のすべてではないが少なくとも1つ(例えば、1、2、3、4、5または6つ)は非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE、または2'-O-Me)であり、ここで、XおよびZの両方のヌクレオシドの残りは2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)であり、ここで、Yの各ヌクレオシドは2'-デオキシリボヌクレオシドである。

【0115】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、DMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、10~20ヌクレオシド長(例えば、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20ヌクレオシド長)であり、配列番号22(TGACTGGTGGCGCTG)の少なくとも8個の連続するヌクレオシド(例えば、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、または少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、または少なくとも16個の連続するヌクレオシド)に対する相補性領域を含み、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここで、Xは3~5個(例えば、3、4、または5個)の連結したヌクレオシドを含み、ここで、X中のヌクレオシドの少なくとも1つは2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシド、2'-O-Me修飾ヌクレオシド、LNA、cEtまたはENA)であり;Yは6~10個(例えば、6、7、8、9、または10個)の連結した2'-デオキシリボヌクレオシドを含み、ここで、Y中の各シトシンは、任意に独立して、5-メチル-シトシンであり;およびZは3~5個(例えば、3、4、または5個)の連結されたヌクレオシドを含み、ここで、Z中のヌクレオシドの少なくとも1つは、2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシド、2'-O-Me修飾ヌクレオシド、LNA、cEtまたはENA)である。

【0116】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、配列番号21(CAGCGCCACCAAGUCA)のヌクレオチド配列の少なくとも8個の連続するヌクレオシド(例えば、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、または少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、または少なくとも16個の連続するヌクレオシド)を含み、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここで、Xは3~5個(例えば、3、4、または5個)の連結したヌクレオシドを含み、ここで、X中のヌクレオシドの少なくとも1つは2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシド、2'-O-Me修飾ヌクレオシド、LNA、cEtまたはENA)であり;Yは6~10個(例えば、6、7、8、9、または10個)の連結した2'-デオキシリボヌクレオシドを含み、ここで、Y中の各シトシンは、任意に独立して、5-メチル-シトシンであり;およびZは3~5個(例えば、3、4、または5個)の連結されたヌクレオシドを含み、ここで、Z中のヌクレオシドの少なくとも1つは、2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシド、2'-O-Me修飾ヌクレオシド、LNA、cEtまたはENA)である。いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドのヌクレオチド配列の各チミン塩基(T)は、独立してかつ任意に、ウラシル塩基(U)に置き換えられていてもよく、かつ各Uは、独立してかつ任意に、Tに置き換えられていてもよい。

【0117】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、配列番号21のヌクレオチド配列を含み、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXは3~5個(例えば、3、4、または5個)の連結されたヌクレオシドを含み、ここでX中のヌクレオシドの少なくとも1つは2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシド、2'-O-Me修飾ヌクレオシド、LNA、cEtまたはENA)であり;Yは、6~10個(例えば、6、7、8、9、または10個)の連結された2'-デオキシリボヌクレオシドを含み、ここで、Y中の各シトシンは、任意に独立して、5-メチル-シトシンであり;Zは、3~5個(例えば、3、4、または5個)の連結されたヌクレオシドを含み、ここで、Z中のヌクレオシドの少なくとも1つは、2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシド、2'-O-Me修飾ヌクレオシド、LNA、cEtまたはENA)である。いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドのヌクレオチド配列の各チミ

ン塩基(T)は、独立してかつ任意に、ウラシル塩基(U)に置き換えられていてもよく、かつ各Uは、独立してかつ任意に、Tに置き換えられていてもよい。

【0118】

いくつかの態様において、Xは、少なくとも1つの2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、cEtまたはENA)と、少なくとも1つの非二環式2'-修飾ヌクレオシド、例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシドまたは2'-O-Me修飾ヌクレオシド、とを含み、および/または(例えば、および)Zは、少なくとも1つの2'-4'二環式ヌクレオシド(例えば、LNA、cEtまたはENA)と、少なくとも1つの非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例えば、2'-MOE修飾ヌクレオシドまたは2'-O-Me修飾ヌクレオシド)とを含む。

【0119】

いくつかの態様において、2'-4'二環式ヌクレオシドは、LNA、cEtおよびENAヌクレオシドから選択される。いくつかの態様において、非二環式2'-修飾ヌクレオシドは、2'-MOE修飾ヌクレオシドまたは2'-OMe修飾ヌクレオシドである。

【0120】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結、ホスホジエステルヌクレオシド間連結またはそれらの組合せによって結合される。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、各ヌクレオシドを連結するホスホロチオアートヌクレオシド間連結のみを含む(すなわち、オリゴヌクレオチドは、完全なホスホロチオアート骨格を含む)。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのホスホロチオアートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結とホスホジエステルヌクレオシド間連結との混合物を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、2'-デオキシリボヌクレオシドの各対を結び合わせるホスホロチオアートヌクレオシド間連結のみ、および残りのヌクレオシドを結び合わせるホスホロチオアートヌクレオシド間連結とホスホジエステルヌクレオシド間連結との混合物を含む。

【0121】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、LLEE-(D)₈-EELLの5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここで「E」は、2'-MOE修飾リボヌクレオシドである;「L」は、LNAである;「D」は、2'-デオキシリボヌクレオシドである;および「10」または「8」は、Yにおける2'-デオキシリボヌクレオシドの数であり、ここでオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結、ホスホジエステルヌクレオシド間連結、またはそれらの組合せを含む。

【0122】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドのXおよび/またはZ内の各シチジン(例えば、2'-修飾シチジン)は、任意にかつ独立して、5-メチル-シチジンであり、および/またはXおよび/またはZ内の各ウリジン(例えば、2'-修飾ウリジン)は、任意にかつ独立して、5-メチル-ウリジンである。

【0123】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、CAGCGCCCAC CAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む。いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A(配列番号21)で表される構造を含み、ここで+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す。

【0124】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に

10

20

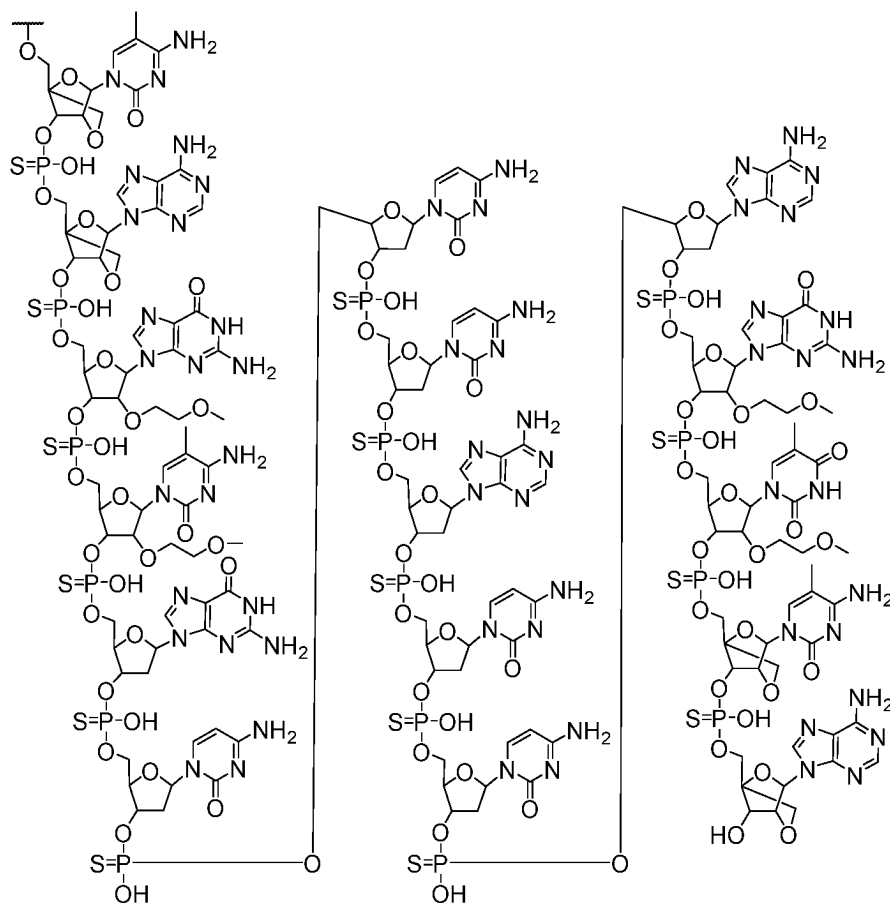
30

40

50

記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、式(1e):

【化10】



(1e)で表される構造を含む。

【0125】

いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、塩の形態であり得、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩またはマグネシウム塩であり得る。

【0126】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシド(例えば、末端ヌクレオシド)は、任意にスペーサーを介してアミン基へ抱合される。いくつかの態様において、スペーサーは脂肪族部分を含む。いくつかの態様において、スペーサーはポリエチレングリコール部分を含む。いくつかの態様において、ホスホジエステル連結がスペーサーとオリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシドとの間に存在する。いくつかの態様において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシド(例えば、末端ヌクレオシド)はスペーサーへ共有結合的に連結され、これが置換もしくは非置換の脂肪族、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族、置換もしくは非置換のカルボシクリレン、置換もしくは非置換のヘテロシクリレン、置換もしくは非置換のアリーレン、置換もしくは非置換のヘテロアリーレン、 $-O-$ 、 $-N(R^A)-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^A-$ 、 $-NR^AC(=O)-$ 、 $-NR^AC(=O)R^A-$ 、 $-C(=O)R^A-$ 、 $-NR^AC(=O)O-$ 、 $-NR^AC(=O)N(R^A)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)N(R^A)-$ 、 $-S(O)_2NR^A-$ 、 $-NR^AS(O)_2-$ 、またはそれらの組合せであり;各 R^A は独立して水素または置換もしくは非置換のアルキルである。ある種の態様において、スペーサーは置換もしくは非置換のアルキレン、置換もしくは非置換のヘテロシクリレン、置換もしくは非置換のヘテロアリーレン、 $-O-$ 、 $-N(R^A)-$ 、または $-C(=O)N(R^A)_2$ 、あるいはそれらの組合せである。

【0127】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシドは、式-NH₂-(CH₂)_n-の化合物へ抱合され、式中nは1~12の整数である。いくつかの態様において、nは6、7、8、9、10、11、または12である。いくつかの態様において、ホスホジエステル連結が式NH₂-(CH₂)_n-の化合物とオリゴヌクレオチドの5'または3'ヌクレオシドとの間に存在する。いくつかの態様において、式NH₂-(CH₂)₆-の化合物は6-アミノ-1-ヘキサノール(NH₂-(CH₂)₆-OH)とオリゴヌクレオチドの5'リン酸との間の反応によってオリゴヌクレオチドへ抱合される。

【0128】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、標的化薬剤、例えば、抗TfR1抗体などの筋標的化剤に、例えば、標的化剤のリシンのアミン基を介して抱合される。

10

【0129】

いくつかの態様において、C5位での核酸塩基ウラシルのメチル化は、チミンを形成することを理解されたい。したがって、いくつかの態様において、C5メチル化ウラシル(または5-メチル-ウラシル)を有するヌクレオチドまたはヌクレオシドは、チミンヌクレオチドまたはチミンヌクレオシドとして同等に同定されてもよい。

【0130】

いくつかの態様において、本明細書に提供されるオリゴヌクレオチドのいずれか1個のチミン塩基(T)のうちのいずれか1以上は、独立してかつ任意にウラシル塩基(U)であってもよく、および/または本明細書に提供されるオリゴヌクレオチド(例えば、配列番号21に記述されるとおりのオリゴヌクレオチド)のUのうちのいずれか1以上は、独立してかつ任意にTであってもよい。

20

【0131】

組成物

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、複合体(すなわち、複数の複合体)を含み、それら複合体の各々は、1以上のオリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)へ、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結される抗体(例えば、抗TfR1抗体)を含み、ここで抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む。いくつかの態様において、かかる複合体の抗体は、表2に記述されるとおりのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む。

30

【0132】

いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。い

40

50

くつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、抗体は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKで表される連結部位および6位のKによって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖は独立して、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗体は抗TfR1 Fabである。

【0133】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、複合体(すなわち、複数の複合体)を含み、ここで各複合体は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含み、式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)を含む化合物を含み、 R^2 へ共有結合的に連結されており、式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体(例えば、抗TfR1抗体)を含む。いくつかの態様において、各 R^1 は、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して R^2 へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1

10

20

30

40

50

へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、各複合体において、 $n1$ は独立して、各複合体における R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

10

【0134】

20

いくつかの態様において、組成物中の複合体の $n1$ の値は、独立してかつ任意に、1から、抗体(例えば、 R^2 内に含まれる抗体)内の抱合が所望されるかまたは標的とされるアミノ酸残基の数(例えば、リシン残基の数)までの整数である。いくつかの態様において、組成物中の各複合体の $n1$ の値は、独立してかつ任意に、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および27から選択される。いくつかの態様において、組成物中の各複合体の $n1$ の値は、独立してかつ任意に、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および26から選択される。いくつかの態様において、組成物中の各複合体の $n1$ の値は、独立してかつ任意に、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数から選択される。いくつかの態様において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、1~3、1~5、1~10、1~26、または1~27の範囲内である。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、 $n1$ の値が0である複合体Iを含む。いくつかの態様において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5の範囲内(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1~1.1、1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)である。

30

【0135】

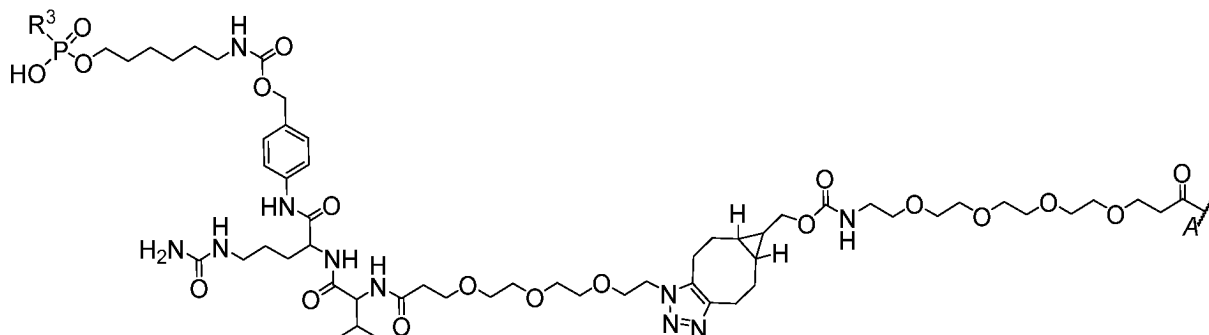
いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、(例えば、微量の)オリゴヌクレオチドへ抱合されていない抗体と、1以上のオリゴヌクレオチドへ抱合された抗体とを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドへ抱合されていない抗体は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ (式中 $n1$ は0である)で表される構造を含む化合物と称されることもある。したがって、いくつかの態様において、本明細書に記載の方法では、対象へ投与するための組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む化合物(例えば、複合体)を含み、式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチドを含む基を含み、 R^2 は、抗体を含み、 $n1$ は、独立して、各化合物(例えば、複合体)内の R^1 の実例の数を反映する0以上の整数である。いくつかの態様において、 $n1$ が1以上である組成物中のその構造で表されるあらゆる化合物と比較した、 $n1$ が0である組成物中の式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む化合物の割合は、10%未満、5%未満、1%未満、0.5%未満、0.1%未満、0.05%未満または0.01%未満である。したがって、いくつかの態様において、本明細書に開示される組成物中

40

50

【 0 1 3 6 】

【化 1 1】



(1a)で表される基を含み、式中 R^3 は、オリゴヌクレオチド、例えば5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含む; R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体を含み、式中各複合体において、 n_1 は独立して、各複合体における R^1 の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数であり、各 R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、 R^2 は、表2に記述されるおりの配列を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様に

おいて、 R^2 は、配列番号1、7もしくは12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片である抗体を含む。いくつかの態様において、 R^3 は、CAGCGCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、 R^3 は、 $+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dA^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A$ (配列番号21)で表される構造を含むオリゴヌクレオチドを含み、ここで+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す。いくつかの態様において、各複合体では、n1は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、式中n1は0である。いくつかの態様において、組成物の複合体のn1の平均値は、0.5~5の範囲内(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)である。

【0137】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、その式中、本明細書に提供される組成物の複合体中の R^1 の各実例は、式(Ib):

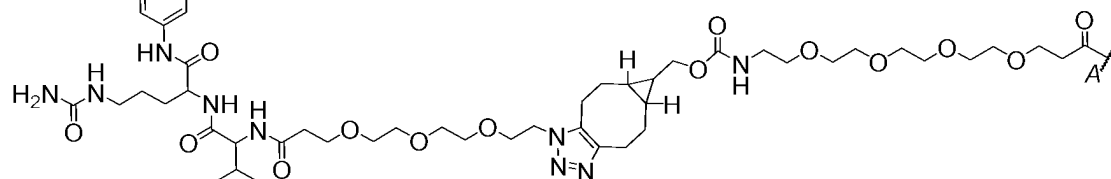
10

20

30

40

50



(1b)で表される基を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、およびここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;式中R²は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ここで各複合体において、n1は独立して、各複合体におけるR¹の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数であり、各R¹は、R²へ付着点Aにて、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、R²は、表2に記述されたとおりの配列を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様において、R²は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4

、10もしくは15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fab断片である抗体を含む。いくつかの態様において、各複合体では、 n_1 は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ で表される構造を含む複合体をさらに含み、式中 n_1 は0である。いくつかの態様において、組成物の複合体の n_1 の平均値は、0.5~5の範囲内(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)である。

10

20

【0138】

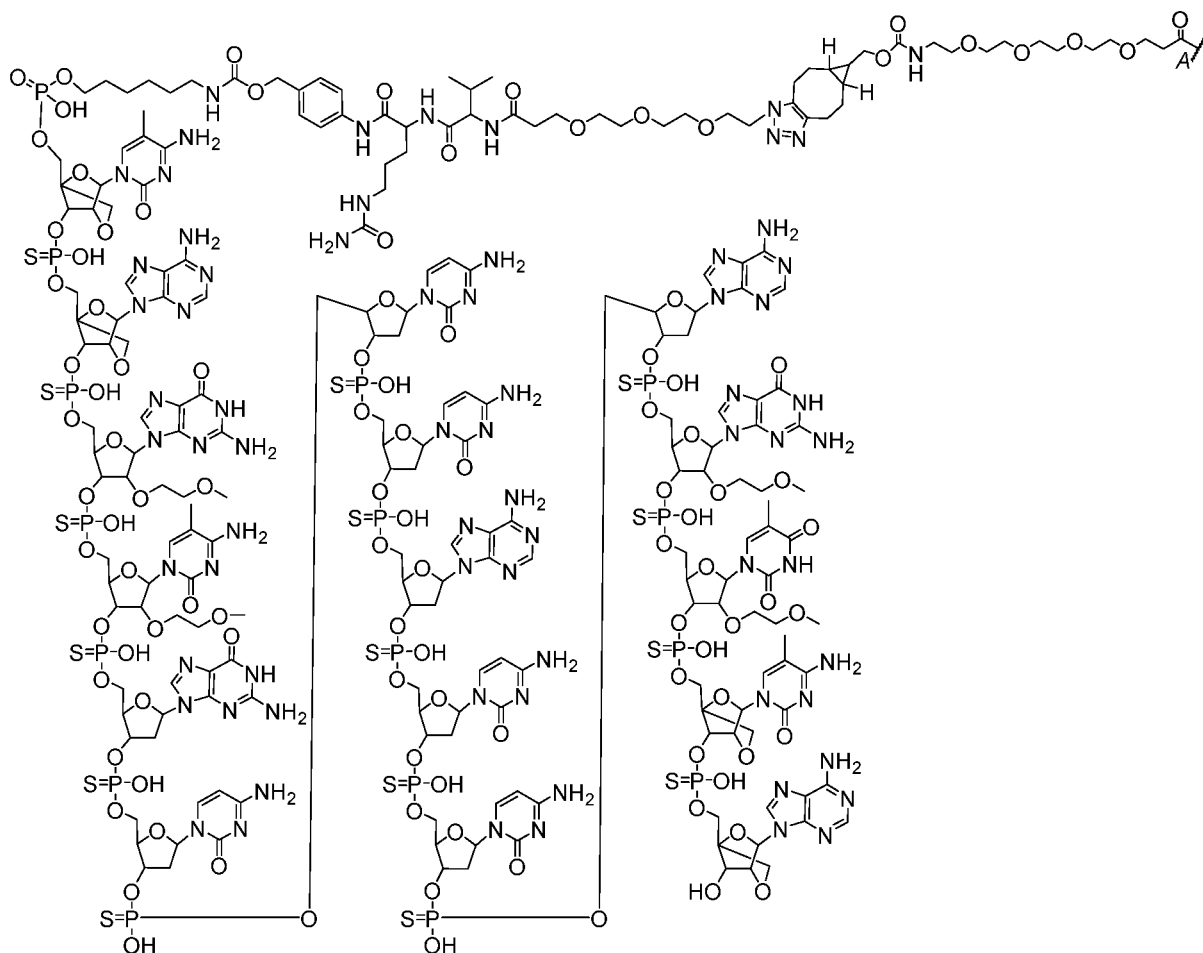
いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、その式中、本明細書に提供される組成物の複合体中の R^1 の各実例は、式(Ic):

30

40

50

【化 1 3】



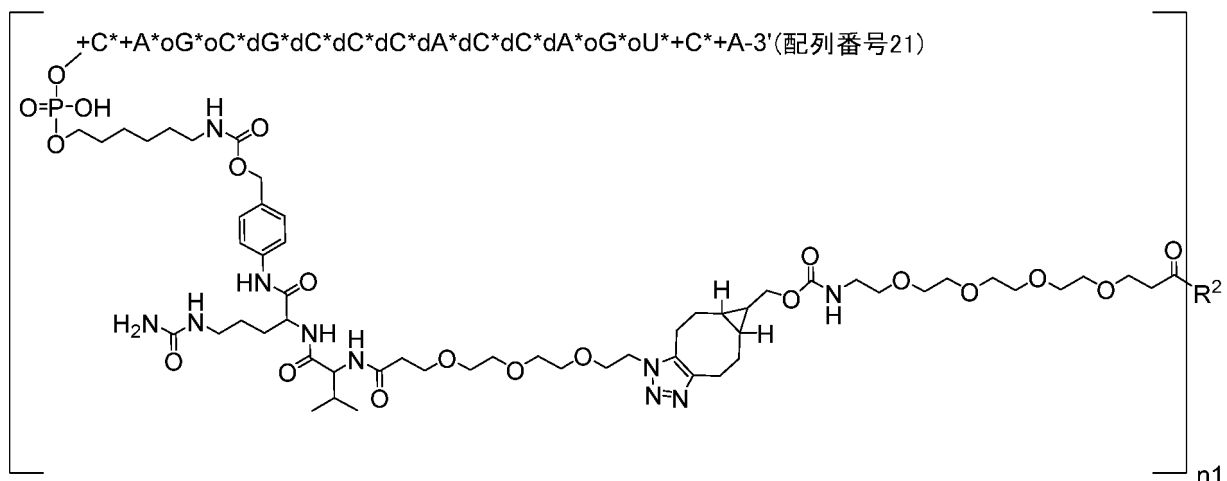
(1c)で表される基を含み、式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ここで各複合体において、 n_1 は独立して、各複合体における R^1 の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数であり、式中各 R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1

%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213 (Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、R²は、表2に記述されたとおりの配列を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様において、R²は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、R²は、Fab断片である抗体を含む。いくつかの態様において、各複合体では、n1は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(I):[R¹]_{n1}-R²で表される構造を含む複合体をさらに含み、式中n1は0である。いくつかの態様において、組成物の複合体のn1の平均値は、0.5~5の範囲内(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)である。

【0139】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(Id):

【化14】



10

20

30

40

50

(Id)で表される構造を含む複合体を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、およびここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;式中R²は、表2から選択されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含み、任意にここで抗TfR1抗体(例えば、Fab)は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号18のアミノ酸配列を含むVLとを含み、さらに任意にここで抗TfR1抗体(例えば、Fab)は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む;およびここで各複合体では、n1は、独立して、角括弧によって囲まれた基の実例の数を表す(例えば、1以上の)整数であり、式中角括弧によって囲まれた基の各実例は、抗体(例えば、Fab)のリシン(K)によって表される連結部位へ共有結合的に連結される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて式(Id)の角括弧で囲まれた基へ共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体(例えば、Fab)の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて式(Id)中の角括弧で囲まれた基へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて式(Id)中の角括弧で囲まれた基へ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、R²は、表2に記述されるとおりの配列を含む抗体(例えば、Fab)を含む。例としては、いくつかの態様において、R²は、配列番号1、7もしくは12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、R²は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸

10

20

30

40

50

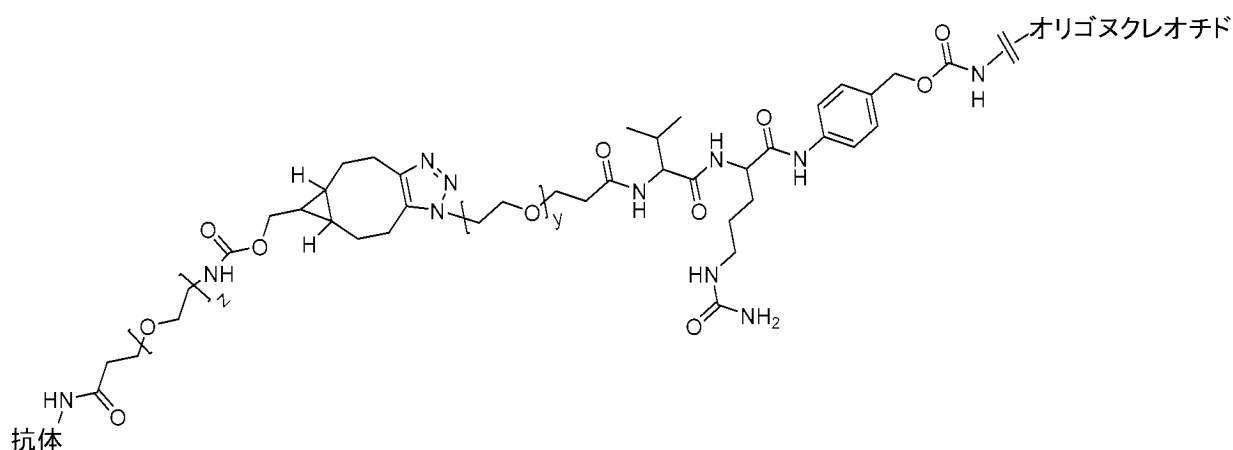
配列を含むVLを含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体(例えば、Fab)を含む。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ は、独立して、整数(例えば、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲内の整数)である。いくつかの態様において、各複合体では、 $n1$ は、独立して、1以上の整数である。いくつかの態様において、本明細書において記載される組成物は、 $n1$ が0である複合体をさらに含む。いくつかの態様において、組成物の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5の範囲内(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)である。

10

【0140】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、式(A):

【化15】



20

30

(A)で表される構造を含む複合体を含み、式中 y は、0~15(例えば、3)であり、 z は、0~15(例えば、4)である。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗TfR1抗体(例えば、表2に提供される抗TfR1抗体)である。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、配列番号21の核酸塩基配列を含む。いくつかの態様において、構造中で抗体に隣接して示されるアミドは、リシンイプシロンアミンなどの抗体のアミンとの反応から生じる。いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介してオリゴヌクレオチドの5'末端へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含む。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。例としては、いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、連結部位は、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)およびK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、

40

50

少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、オリゴヌクレオチドへ、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、表2に記述されたとおりの配列を含む。例としては、いくつかの態様において、抗体は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含む;および/または配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)と、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と、配列番号6もしくは16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)とを含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号17と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含み、および/または配列番号18と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHを含み、および/または配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号19と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20と少なくとも85%(例えば、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗TfR1抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、および/または配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗体は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFvまたはFvである。

10

20

30

40

50

【0141】

組成物が式(A)で表される構造を含むか、または式(1a)、(1b)、(1c)もしくは(1d)で表される基を含む構造を含む複合体を含む態様などのいくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKによって任意に表される。いくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の6位のKによって任意に表される。いくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)の4位のKおよび/または6位のKによって任意に表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%(例えば、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、80%~98%、80%~95%、80%~90%、85%~98%、85%~95%、85%~90%、90%~98%、90%~95%、95%~97%、またはそれより多く)は独立して、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のK残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、連結部位は、本明細書に記載の複合体の抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のK

によって任意に表される。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%(例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、または約15%)は独立して、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のK残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。いくつかの態様において、本明細書に記載の複数の複合体を含む組成物において、組成物の複合体のn1の平均値は、0.5~5(例えば、0.5~5、1~5、1~4、1~3、3~5、0.5~4、0.5~3、0.5~2、0.5~1.5、0.5~1、0.7~1.5、1~1.6、1~1.5、1~1.4、1~1.3、1~1.2、1.1~1.5、0.8~2、0.8~1.5、0.8~1.3、0.8~1.2、0.8~1.1、0.9~3、0.9~2、0.9~1.8、0.9~1.6、0.9~1.5、0.9~1.4、0.9~1.3、または0.9~1.2)の範囲にある。

10

【0142】

いくつかの態様において、複合体(すなわち、複数の複合体)を含む組成物は、本明細書に記載の方法に適した様式で製剤化される。いくつかの態様において、筋肉標的化複合体を含む組成物は、分解を最小限に抑え、送達および/または(例えば、および)取込みを容易にするか、または製剤中の複合体に別の有益な特性を提供する製剤を使用して対象へ送達される。したがって、いくつかの態様において、複合体(例えば、Fabと共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチドを含む複数の複合体)を含む組成物は、1以上の薬学的に許容される担体および/または賦形剤と共に製剤化される。いくつかの態様において、筋肉標的化複合体(例えば、Fabと共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチドを含む複合体)を含む組成物は、水溶液中で1以上の薬学的に許容される担体および/または賦形剤と共に製剤化される。いくつかの態様において、複数の複合体と、1以上の薬学的に許容される担体および/または賦形剤とを含む組成物を(例えば、保管のために)凍結乾燥することができる。いくつかの態様において、凍結乾燥組成物は、対象への投与のために(例えば、水によって)再構成されてもよい。いくつかの態様において、複数の複合体を含む組成物を(例えば、保管のために)凍結することができる。いくつかの態様において、凍結組成物は、例えば、水溶液を生成するために、対象への投与前に解凍されてもよい。組成物(例えば、水溶液中、凍った組成物中または凍結乾燥組成物中)は、対象の標的細胞の周囲の環境、または全身のいずれかへ投与されると、十分な量の複合体が標的筋細胞に入るように、好適に調製されることができる。

20

30

【0143】

いくつかの態様において、組成物は、その意図された投与経路に適合するように製剤化される。投与経路の例は、非経口投与、例えば、静脈内投与、皮内投与、皮下投与を包含する。典型的には、投与経路は、静脈内または皮下である。

【0144】

使用/処置の方法

本明細書に記載の分子ペイロード(例えば、DMPK標的化オリゴヌクレオチド)へ共有結合的に連結された抗TfR1抗体(例えば、Fab)を含む複合体は、筋緊張性ジストロフィー、例えば、DM1を有する対象の処置に有効である。いくつかの態様において、複合体は、オリゴヌクレオチド、例えば、DMPKの発現または活性の低下(例えば、突然変異型または野生型DMPK RNAのレベル低下)を促進するオリゴヌクレオチドである分子ペイロードを含む。

40

【0145】

いくつかの態様において、対象は、ヒト対象、霊長目の非ヒト動物対象、齧歯類動物対象、またはいずれの好適な哺乳動物対象であってもよい。いくつかの態様において、対象は、DM1などの筋緊張性ジストロフィーを有してもよい。いくつかの態様において、対象は、疾患関連リピート、例えば、CTGトリヌクレオチドリピート伸長を任意に含有してもよいDMPK対立遺伝子を有する。いくつかの態様において、対象は、約2~10個のリピート単位、約2~50個のリピート単位、約2~100個のリピート単位、約50~1,000個のリピート単位、約50~500個のリピート単位、約50~250個のリピート単位、約

50

50～100個のリピート単位、約500～10,000個のリピート単位、約500～5,000個のリピート単位、約500～2,500個のリピート単位、約500～1,000個のリピート単位、または約1,000～10,000個のリピート単位を含む、伸長した疾患関連リピートを有するDMPK対立遺伝子を有してもよい。いくつかの態様において、対象は、DM1の症状、例えば、筋萎縮、筋肉減少、日中の過剰な眠気または認知遅延を患っている。いくつかの態様において、対象は、DM1の症状に罹患していない。いくつかの態様において、対象は、先天性筋緊張性ジストロフィーを有する。いくつかの態様において、対象は歩行可能である。いくつかの態様において、対象は歩行不能である。

【0146】

本開示の側面は、本明細書に記載のとおり有効量の複合体を対象へ投与することを伴う方法を包含する。いくつかの態様において、分子ペイロードへ共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む有効量の医薬組成物は、処置を必要とする対象へ投与され得る。

10

【0147】

いくつかの態様において、本明細書に記載のとおり複合体を含む医薬組成物は、静脈内投与を包含してもよい好適なルートによって、例えば、ボラスとして、またはある期間にわたる連続注入によって、投与されてもよい。いくつかの態様において、医薬組成物は、固体形態、水性形態または液体形態であってもよい。いくつかの態様において、水性または液体形態は、噴霧されてもよく、または凍結乾燥されてもよい。いくつかの態様において、凍結乾燥形態は、水溶液または液体溶液によって再構成されてもよい。

20

【0148】

静脈内投与のための組成物は、植物油、ジメチルアセトアミド、ジメチルホルムアミド、乳酸エチル、炭酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、エタノール、およびポリオール(グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど)などの様々な担体を含むとしてもよい。静脈内注射のための水可溶性抗体は点滴法によって投与され得、これによって抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬製剤が注入される。生理学的に許容される賦形剤は、例としては、5%デキストロース、0.9%生理食塩水、リンガー溶液、または他の好適な賦形剤を包含してもよい。筋肉内用調製物、例えば、抗体の好適な可溶性の塩形態の滅菌製剤は、注射用水、0.9%生理食塩水、または5%グルコース溶液などの医薬賦形剤に溶解されて投与され得る。

30

【0149】

いくつかの態様において、分子ペイロードへ共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物は、部位特異的または局所的な送達技法を介して投与される。これらの技術の例は、複合体の埋込み型デポ供給源、局所送達カテーテル、部位特異的担体、直接注射、または直塗り(direct application)を包含する。

【0150】

いくつかの態様において、分子ペイロードへ共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物は、治療効果を対象へ付与する有効濃度にて投与される。有効量は、当業者によって認識されたとおり、疾患の重症度、処置される対象の特有な特徴、例えば、年齢、体調、健康状態、または体重、処置時間、いずれの併用療法の性質、投与ルート、および関連因子に応じて変動する。これらの関連因子は当業者に知られており、わずかな定型的実験法で対処されてもよい。いくつかの態様において、有効濃度は、ペイシエントに安全であると見なされる最大用量である。いくつかの態様において、有効濃度は、最大限の効き目を提供する、実行可能な最低濃度であろう。

40

【0151】

経験的考察、例えば、対象における複合体の半減期は一般に、処置のために使用される医薬組成物の濃度の決定に寄与するであろう。投与頻度は、処置の効果を最大にするために経験的に決定および調節されてもよい。

【0152】

処置の効果は、いずれかの好適な方法を使用して査定されてもよい。いくつかの態様に

50

において、処置の有効性は、筋緊張性ジストロフィーに関連する症状、例えば、筋萎縮、または筋力低下の観察の評価によって、対象の自己報告された転帰、例えば運動性、セルフケア、通常の活動、疼痛/不快感、および不安/抑うつ の尺度を通して、または生活の質の指標、例えば寿命によって評価されてもよい。

【 0 1 5 3 】

いくつかの態様において、本明細書に記載の分子ペイロードへ共有結合的に連結された筋標的化剤を含む複合体を含む医薬組成物は、対照(例えば、処置に先立つ遺伝子発現のベースラインレベル)と比べて、標的遺伝子の活性または発現を少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%調節するのに十分な有効濃度で対象へ投与される。

10

【 0 1 5 4 】

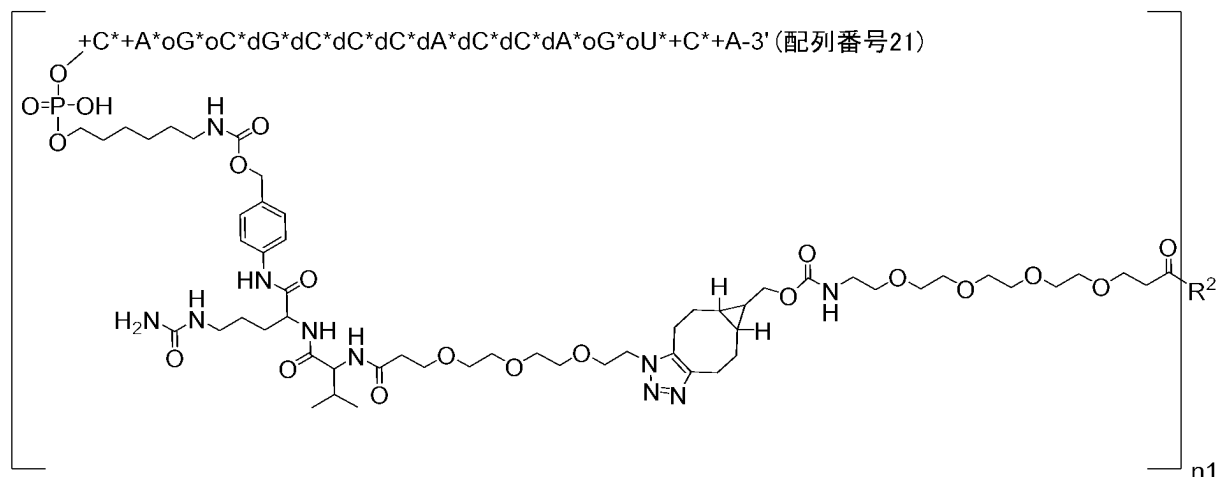
例

例1. 抗TfR1 Fab-オリゴヌクレオチド抱合体上のオリゴヌクレオチドの抱合体部位を決定するためのペプチドマッピング

バリン-シトルリン配列を含むリンカーを介してDMPKを標的化するアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)へ(リシン抱合によって)共有結合的に連結された、表2に示される重鎖配列と軽鎖配列とを有する抗TfR1 Fabを含む抗TfR1抱合体の抱合を決定するためにペプチドマッピングが行われた。ASOを標的化するDMPKは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、配列番号21の核酸塩基配列を含む。抱合体は、式(1d):

20

【化 1 6】



30

(1d)で表される構造を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、およびここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACCAAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含み、式中R²は、表2に提供される抗TfR1 Fabであり、ここで各抱合体において、n1は独立して、1~3の整数である。

40

【 0 1 5 5 】

パイプ消化

オリゴヌクレオチドが、パパインによる消化によって抗TfR1抱合体から切断された。Thermo Scientific Immobilized Papain(P/N:20341)が、消化の前に、0.5mLの50%スラリーを4mLの新たに調製したパパイン活性化緩衝液(20mMのリン酸ナトリウム、10mMのEDTA、20mMのシステイン、pH7.0)に添加することによって活性化された。パパイン樹脂が十分に混合され、3000rcfで5分間遠心分離されて、樹脂をプルダ

50

ウンした。上清が捨てられて、洗浄が2回繰り返された。2回の洗浄後、250 μ Lのパパイン活性化緩衝液の添加によって、パパインが50%のスラリーに再懸濁された。Thermo Scientific Zeba脱塩カラム(P/N:89882)を使用して、抗TfR1抱合体はパパイン消化緩衝液(20mMのリン酸ナトリウム、10mMのEDTA、pH7.0)への緩衝液交換を受けた。抱合体を添加する前、カラムが0.3mLの緩衝液で3回平衡化された。少なくとも8mg/mLの濃度の40 μ Lの抱合体が、100 μ Lの平衡化固定化パパイン樹脂に添加された。試料が、1400rpmで振盪しながら40°Cで1時間インキュベートされた。インキュベーション後、パパイン樹脂は、各試料をフィルターチューブに添加し、すべての液体試料が濾過されるまで短時間遠心分離することによって、除去された。別のセットのZebaカラムが、LC-MSグレードの水、3×300 μ Lで平衡化された。100 μ Lのパパイン消化抱合体が各カラムに添加され、緩衝液交換に対して1500rcfで3分間回転された。LC-MS水で50 μ Lの体積に40 μ gの物質が希釈された。オリゴヌクレオチドの完全な消化が、すべての試料において観察された。

10

【0156】

非連結抗TfR1抗体のインタクト質量の質量スペクトルが図1に示されている。非連結抗体のインタクト質量は、質量分析によって決定されるものとして、47968.73Daであり、重鎖の最初の残基(Q)をピログルタミン酸に変換する翻訳後修飾(PTM)がある抗体の理論的な質量と一致しており、これは47968.01Daである(PTMを含まない抗体の理論的な質量は47986.03Daである)。パパイン消化を介するオリゴヌクレオチドの切断後本明細書に提供される組成物の抗TfR1抗体-リンカー複合体の質量を示す質量スペクトルが図2に示されている。2つの主要なピークが観察され、夫々1のリンカー対抗体比(LAR)(「LAR1」)および2のLAR(「LAR2」)に対応した。各ピークの隣に、抗TfR1抗体-リンカー複合体の質量が示されており、これはインタクト抗体(ピログルタミン酸PTM付)の質量(47968.01Da)プラスリンカーの質量(リンカーあたり約927.07Da)に等しい。1のLARを有する抗TfR1抗体-リンカー複合体は、48895.08の理論的質量を有する。2のLARを有する抗TfR1抗体-リンカー複合体は、49822.15の理論的質量を有する。図1に示されるデータは、試験された組成物の抗TfR1抱合体が、主に、抱合体の抗体が1つのDMPK標的化ASO分子に連結された抱合体と、抱合体の抗体が2つのDMPK標的化ASO分子に連結された抱合体とを含んでいたことを示唆している。

20

【0157】

キモトリプシン消化

オリゴヌクレオチドが切断された抗TfR1リンカー抱合体が、固定化キモトリプシンで消化された。15 μ LのThermo SMART Chymotrypsin樹脂(キットP/N:60109104 MBLPH)がエッペンドルフチューブに加えられた。150 μ LのChymotrypsin Smart Digest Bufferが添加された。パパイン消化後に調製された50 μ Lの試料中の抗TfR1リンカー抱合体40 μ gが添加された。ヒートブロックが70°Cおよび1400rpmミックスに設定され、2.5時間インキュベートされた。インキュベーション後、パパイン樹脂は、各試料をフィルターチューブに添加してすべての液体試料が濾過されるまで短時間遠心分離することによって、除去された。500mMのトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン(TCEP)の水溶液のストック溶液が調製された。ストック溶液は、消化試料に、最終濃度20mMのTCEPまで添加されて、室温で30分間インキュベートされてジスルフィドを還元した。総試料体積が約100 μ Lになるまで、試料はspeed vacによって濃縮された。次いで、25 μ Lのペプチド試料(約10 μ gの総ペプチド)が、ペプチドマッピング分析のために質量分析計に注入された。全キモトリプシン消化物において100%の配列包括度(sequence coverage)があり(データは示さず)、全抱合体群においてパパイン切断リンカーが同定された。次いで、オリゴヌクレオチドが抗体の重鎖および軽鎖ごとに定量された。

40

【0158】

リンカー部位あたりのオリゴヌクレオチドの占有率の概要が、以下の表7に示されている。ホットスポットリンカー部位は、Kabatナンバリングに基づいて組成物中の軽鎖定常領域中のリシン188(K188)およびリシン190(K190)であった。まとめると、K188

50

およびK190に対応するリシン残基の約96%がオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されていた。K213に対応するリシン残基の4~8%がオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されていたので、組成物中の重鎖定常領域のKabatナンバリングに基づき、リンカー部位リシン213(K213)にて、いくらかの連結が観察された。他のリシン上の少量の修飾が極めて低レベル(<1%)で観察された。

【表7】

表7.

部位**	リンカー部位あたりの占有率%
重定常 K213	大凡4~8%
軽定常 K188	約96% (K188が連結した複合体とK190が連結した複合体とを包含する)*
軽定常 K190	

*ホットスポットはK188および/またはK190

**Kabatナンバリングに基づく

【0159】

例2. DM1マウスモデルにおけるDMPK標的化オリゴヌクレオチドに抱合体した抗TfR1 Fabを含有する抱合体のin vivo組織分布

DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結した抗TfR1 Fabを含有する、例1に記載のと通りの抱合体(この例では「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識された)を、ヒトTfR1と、伸長したCUGリピートを有するヒトDMPK変異体の両方を発現するマウスモデルで試験した。

【0160】

抱合体を、0日目および7日目にてマウスへ毎回、9.7mg/kgのASOに相当する用量にて静脈内投与した。ASOの組織曝露をハイブリダイゼーションELISA(Burki et al., Nucleic Acid Ther. 2015 Oct; 25(5): 275-84、参照により本明細書に組み込まれる)によって調べ、組織中のASOのレベルをグラフ化した。図3A、図3B、図3Cおよび図3Dは夫々、1回目の注射の2週間後の心臓、横隔膜、腓腹筋、または前脛骨筋のASOの量を示す。これらの結果は、抗TfR1抗体(例えば、表2に提供されるVH配列およびVL配列を有する抗TfR1 Fab)を含む抱合体が、静脈内投与後に様々な筋肉組織にオリゴヌクレオチド(例えば、DMPK標的化ASO)を送達することができることを実証している。

【0161】

例3. 抗TfR1 Fab-ASO抱合体のリピート投与の4週間後のhTfR1/DMSXLホモ接合マウスにおける毒性ヒトDMPKの持続的ノックダウン

DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結した抗TfR1 Fabを含有する、例1に記載のと通りの抱合体(この例では「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識された)を、ヒトTfR1と、伸長したCUGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2つのコピーの両方を発現するマウスモデル(hTfR1/DMSXLマウス)で試験した。

【0162】

0日目および7日目にて、ビヒクル対照(PBS)または10mg/kgのASO等価用量の抗TfR1 Fab-ASO抱合体のいずれかをマウスへ投与した。マウスを28日目にて(抗TfR1 Fab-ASO抱合体の初回投与の4週間後に) 殺し、組織を採取した。RNAを抽出し、選択した組織試料を固定し、パラフィン包埋し、切片化し、次いで、in situハイブリダイゼーションに供した。ヒトDMPKと、内部対照としてのマウスPpib(ペプチジルプロリルイソメラーゼ)とを測定するために、RNA試料の逆転写定量的ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)が行われた。DMPK発現を、幾何平均 $\pm$ 標準偏差(n=6~9)として図4A~4Dに示す。有意性は、スチューデントのt検定によって評価した(**** P<0.0001)。

【0163】

10

20

30

40

50

図4Aは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、PBS処置マウスと比較して心臓におけるDMPK発現を49%ノックダウンしたことを示す。図4Bは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、PBS処置マウスと比較して横隔膜におけるDMPK発現を40%ノックダウンしたことを示す。図4Cは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、PBS処置マウスと比較して前脛骨筋におけるDMPK発現を49%ノックダウンしたことを示す。図4Dは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、PBS処置マウスと比較して腓腹筋におけるDMPK発現を44%ノックダウンしたことを示す。

【0164】

図5Aおよび5Bは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が筋線維の核内のDMPK病巣を減少させたことを示す。図5Aは、*in situ*ハイブリダイゼーションによるDMPK病巣の減少を示し、図5Bは、蛍光顕微鏡画像におけるDMPK病巣の定量化を示し、抱合体が病巣面積を49%減少させたことを実証している。データは平均 $\pm$ 標準偏差($n=7$)として示されている。有意性をt検定によって評価した(* $P<0.05$)。

【0165】

これらの結果は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体の投与が、心筋および骨格筋におけるヒト毒性DMPKの堅牢で持続的なノックダウンをもたらすことを実証している。

【0166】

例4. 抗TfR1 Fab-ASO抱合体によるhTfR1/DMSXLホモ接合マウスにおけるスプライシング欠陥の補正

DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含む、例2に記載のとおり抱合体(この例では「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識された)を、ヒトTfR1と、伸長したCUGリピートを有する突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子の2つのコピーの両方を発現するマウスモデル(「hTfR1/DMSXL」)で試験した。これらのマウスは、DM1に罹患している患者において観察されるものと一致するスプライシング欠陥を示すことが知られている(Huguet, et al.(2012)PLOS Genetics 8(11):e1003043)。マウスに、ビヒクル対照(「hTfR1/DMSXL-PBS」)または10mg/kgのASO等価用量の抗TfR1 Fab-ASO抱合体(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)のいずれかを0日目および7日目に投与した。ヒトTfR1のみを発現し、突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子が発現しないマウス(hTfR1マウス)、およびPBSで処置されたマウス(「hTfR1-PBS」)を別の対照として使用して、hTfR1/DMSXLマウスにおけるスプライシング表現型の程度を定義し、スプライシングに対する抱合体の効果の大きさを評価した。マウスを28日目(抗TfR1 Fab-ASO抱合体の初回投与の4週間後)に殺し、組織を採取し、RNAを抽出した。逆転写-定量的ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)を実施して、ヒトおよびマウスにおけるDM1進行中にミスプライシングされることが知られている一組のRNA中のエクソンインクルージョンを測定した(Nakamori, et al.(2013)Ann. Neurol. 74(6):862-872; Huguet, et al.(2012)PLOS Genetics 8(11):e1003043)。エクソンインクルージョンを、各スプライシングRNAマーカーについて正規化されたパーセントスプライスイン(PSI)として算出し、心臓(図6)、横隔膜(図7)、前脛骨筋(図8)および腓腹筋(図9)のスプライシングマーカーからの正規化PSI値を使用して複合スプライシングインデックスを算出した。複合スプライシングインデックスを前述のように算出し(Tanner MK, et al.(2021)Nucleic Acids Res. 49:2240-2254)、平均 $\pm$ 標準偏差として示す。

【0167】

図6は、複合スプライシングインデックスデータによって実証されるように、hTfR1/DMSXLマウスの心臓組織における抗TfR1 Fab-ASO抱合体補正スプライシングを示す。複合スプライシングインデックスデータを生成するために使用される正規化PSI値は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体での処置によるhTfR1/DMSXLマウスの心臓組織におけるMbnl2エクソン6(E6)およびNfix E7スプライシングの補正を示したが、Ldb3 E11スプライシングの補正は示さなかった。図6に示す複合スプライシングインデックスデータは、Ldb3 E11、Mbnl2 E6、およびNfix E7スプライシングデータに基づいており; Bin1

E11、Dtna E12、Insr E11およびMbnl2 E5は、心臓組織におけるそれらの正規化PSI値が、試験された実験条件下でhTfR1マウスと比較してhTfR1/DMSXLマウスにおいて変化しなかったため、包含されなかった。

【0168】

図7は、複合スプライシングインデックスデータによって実証されるように、hTfR1/DMSXLマウスの横隔膜組織における抗TfR1 Fab-ASO抱合体補正スプライシングを示す。複合スプライシングインデックスデータを生成するために使用される正規化PSI値は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体での処置によるhTfR1/DMSXLマウスの横隔膜組織におけるBin1 E11、Insr E11、Ldb3 E11およびNfix E7スプライシングの補正を示した。図7に示す複合スプライシングインデックスデータは、Bin1 E11、Insr E11、Ldb3 E11およびNfix E7スプライシングデータに基づいており;Dtna E12、Mbnl2 E5、Mbnl2 E6、およびTtn E313は、試験した実験条件下で、hTfR1マウスと比較して、hTfR1/DMSXLマウスでは、横隔膜組織におけるそれらの正規化PSI値が変化しなかったため、包含されなかった。

10

【0169】

図8は、複合スプライシングインデックスデータによって実証されるように、hTfR1/DMSXLマウスの前脛骨筋組織における抗TfR1 Fab-ASO抱合体補正スプライシングを示す。複合スプライシングインデックスデータを生成するために使用される正規化PSI値は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体での処置によるhTfR1/DMSXLマウスの前脛骨筋組織におけるBin1 E11、Ldb3 E11およびNfix E7スプライシングの補正を示したが、Mbnl2 E6スプライシングの補正を示さなかった。図8に示す複合スプライシングインデックスデータは、Bin1 E11、Ldb3 E11、Mbnl2 E6、およびNfix E7スプライシングデータに基づいており;Dtna E12、Insr E11、Mbnl2 E5およびTtn E313は、前脛骨筋組織におけるそれらの正規化PSI値が、試験された実験条件下でhTfR1マウスと比較してhTfR1/DMSXLマウスにおいて変化しなかったため、包含されなかった。

20

【0170】

図9は、複合スプライシングインデックスデータによって実証されるように、hTfR1/DMSXLマウスの腓腹筋組織における抗TfR1 Fab-ASO抱合体補正スプライシングを示す。複合スプライシングインデックスデータを生成するために使用される正規化PSI値は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体での処置によるhTfR1/DMSXLマウスの腓腹筋組織におけるMbnl2 E6、Nfix E7およびTtn E313スプライシングの補正を示した。図9に示す複合スプライシングインデックスデータは、Mbnl2 E6、Nfix E7、およびTtn E313スプライシングデータに基づいており;Bin1 E11、Dtna E12、Insr E11、Ldb3 E11およびMbnl2 E5は、試験した実験条件下でhTfR1マウスと比較して、腓腹筋組織におけるそれらの正規化PSI値がhTfR1/DMSXLマウスにおいて変化しなかったため、包含されなかった。

30

【0171】

これらの結果は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体の投与が、心筋および骨格筋におけるDM1スプライシング欠陥の補正を容易にすることを実証している。

【0172】

40

例5. 非ヒト霊長類およびDM1患者筋管におけるDMPKノックダウン

DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ共有結合的に連結した抗TfR1 Fabを含有する、例2に記載のとおり抱合体(この例では「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識される)を、ヒトDM1患者筋管(32F細胞)および非ヒト霊長類(NHP)筋管で試験した。使用したDM1患者筋管は、380回のCUGリピートを含有する突然変異体DMPK mRNAと野生型DMPK mRNAの両方を発現する。使用したNHP筋管は、野生型DMPKのみを発現する。

【0173】

DM1患者細胞またはNHP細胞を、増殖培地中の96ウェルプレートにウェルあたり50,000細胞の密度にて播種し、一晚回復させた。翌日、増殖培地を低血清分化培

50

地に交換し、細胞を125nM、250nMまたは500nMのASOに等しい濃度の抱合体で処置した。細胞を10日間インキュベートし、次いで、全RNA源として粗細胞溶解物を含むCells-to-Ctキットを使用してcDNAを合成した。

【0174】

cDNAを使用して、Taqman PCRを用いて全DMPKノックダウンを評価した。データはPPIB発現に対して正規化され、PBSで処置された対照(「ビヒクル」)と比較してDMPKノックダウンを決定するために $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法が使用された。図10に示すデータは、種が一致するビヒクル対照に対する平均DMPK発現+標準偏差(条件ごとにn=4反復)として示されている。

【0175】

結果は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、生理学的に適切な濃度(図10)で処置された場合、NHP細胞(野生型DMPK mRNAのみを発現する)と比較して、正常NHP筋管およびDM1ペイシェント筋管の両方でDMPK発現のノックダウンを達成し、DM1ペイシェント細胞(380回のCUGリピートを含有するDMPK mRNAと野生型DMPK mRNAの両方を発現する)ではDMPK発現のより大きなノックダウンを達成したことを示す。125nMのASO等価濃度で、抱合体は、NHP筋管にてビヒクルのみの対照と比較して約40%のDMPKノックダウンを達成し、DM1ペイシェント筋管において約65%のDMPKノックダウンを達成した。250nMのASO等価濃度で、抱合体は、NHP筋管にてビヒクルのみの対照と比較して約45%のDMPKノックダウンを達成し、DM1ペイシェント筋管において約80%のDMPKノックダウンを達成した。500nMのASO等価濃度で、抱合体は、NHP筋管にてビヒクルのみの対照と比較して約60%のDMPKノックダウンを達成し、DM1ペイシェント筋管において約90%のDMPKノックダウンを達成した。

【0176】

これらの結果は、DMPK標的化オリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗TfR1 Fabを含有する抱合体が、野生型DMPKを発現するカニクイザル筋管と比較して、野生型DMPK mRNAおよび突然変異体DMPK mRNAの両方を発現するヒト筋管(伸長されたCUGリピートを有する)においてDMPKのより大きなノックダウンを達成できることを指し示している。

追加の態様

1. 1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物であって、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、

ここでオリゴヌクレオチドは、DMPK RNAに対する相補性領域を含み、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。

2. 1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物であって、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含み、

ここでオリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZは、1以上の修飾ヌクレオシドを含むフランキング領域であり、Yは、1以上の2'-デオキシリボヌクレオシドを含むギャップ領域であり、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレ

10

20

30

40

50

オチドへ共有結合的に連結されている。

3. 組成物中の複合体の抗体の重鎖定常領域の約1%~15%は独立して、抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている、態様1または態様2の組成物。

4. 1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物であって、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体は、重鎖および軽鎖を含み、

ここでオリゴヌクレオチドは、DMPK RNAに対する相補性領域を含み、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%は独立して、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結している、組成物。

10

5. 1以上のオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された抗体を含む複数の複合体を含む組成物であって、各オリゴヌクレオチドは、抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位にて共有結合的に連結されており、

ここで抗体は、重鎖および軽鎖を含み、

ここでオリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZは、1以上の修飾ヌクレオシドを含むフランキング領域であり、Yは、1以上の2'-デオキシリボヌクレオシドを含むギャップ領域であり、ならびに

ここで組成物中の複合体の抗体の軽鎖の少なくとも80%は独立して、抗体の軽鎖の配列モチーフDYEKHKVYA(配列番号27)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている。

20

6. 組成物中の複合体の抗体の重鎖の約1%~15%は独立して、抗体の重鎖の配列モチーフVNHKPSN(配列番号28)中のリシン(K)残基によって表される連結部位にてオリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されている、態様4または態様5の組成物。

7. 抗体は、配列番号1、7もしくは12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8もしくは13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9もしくは14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10もしくは15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5もしくは11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、配列番号6もしくは16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体である、態様1~6のいずれか1つの組成物。

30

8. オリゴヌクレオチドは、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZは各々、4個の連結されたヌクレオシドを含み、Yは、8個の連結されたヌクレオシドを含む、態様1~7のいずれか1つの組成物。

9. オリゴヌクレオチドは、LLEE-D₈-EELLの5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここで「L」は、LNAヌクレオシドを表し、「E」は、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、「D」は、2'-デオキシリボヌクレオシドを表す、態様1~8のいずれか1つの組成物。

10. オリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACCAAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む、態様1~9のいずれか1つの組成物。

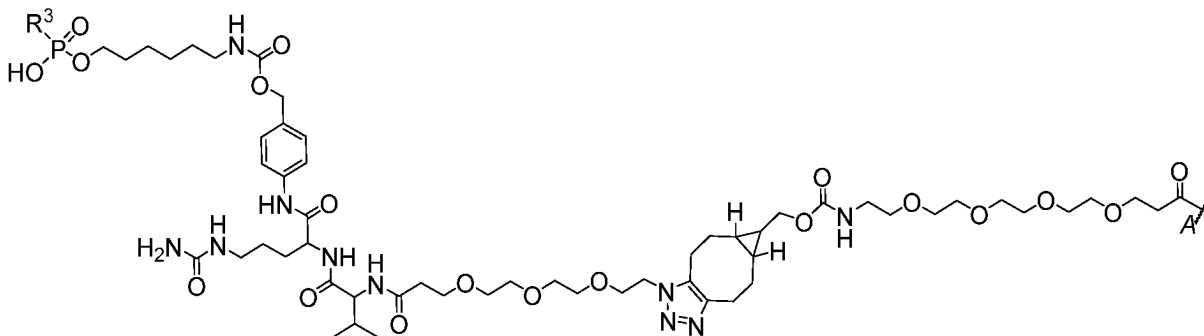
40

11. オリゴヌクレオチドは、構造+C*+A*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*oG*oU*+C*+A(配列番号21)を含み、ここで+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す、態様1~10のいずれか1つの組成物。

12. 式(I): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物であって、式中各R¹は、独立して、式(Ia):

50

【化 17】



10

(1a)で表される基を含み、

式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む; ならびにここで抗TfR1抗体は、配列番号1、7または12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;

20

式中 R^3 は、 $+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dC^*dA^*dC^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A$ (配列番号21)で表される構造を含み、ここで $+N$ は、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、 dN は、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、 oN は、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、 oC は、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、 $+C$ は、5-メチル-2'-4'-二環-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、 oU は、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、 $*$ は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す;

式中各 R^1 は、付着点Aにて、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して R^2 へ共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている; ならびに

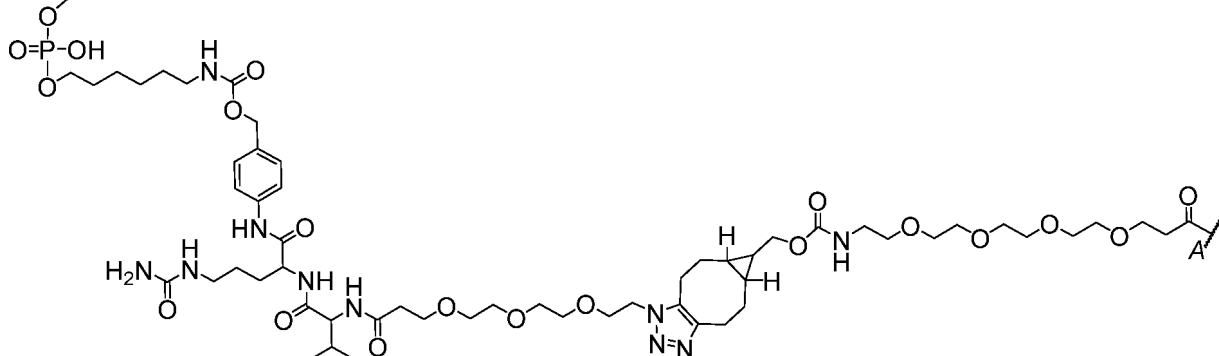
30

ここで複数の複合体の各複合体において、 $n1$ は、独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

13. 式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物であって、式中各 R^1 は、独立して、式(1b):

【化 18】

$+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dC^*dA^*dC^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A-3'$ (配列番号21)



40

(1b)で表される基を含み、式中 $+N$ は、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表

50

し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-MOE修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、 R^1 のオリゴヌクレオチドは、CAGCG CCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;

R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体は、配列番号1、7または12に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されたとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されたとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;ならびに

式中各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている;ならびに

ここで複数の複合体の各複合体において、 $n1$ は、独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

14. 式(I): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物であって、式中: 各 R^1 は、式(Ic):

10

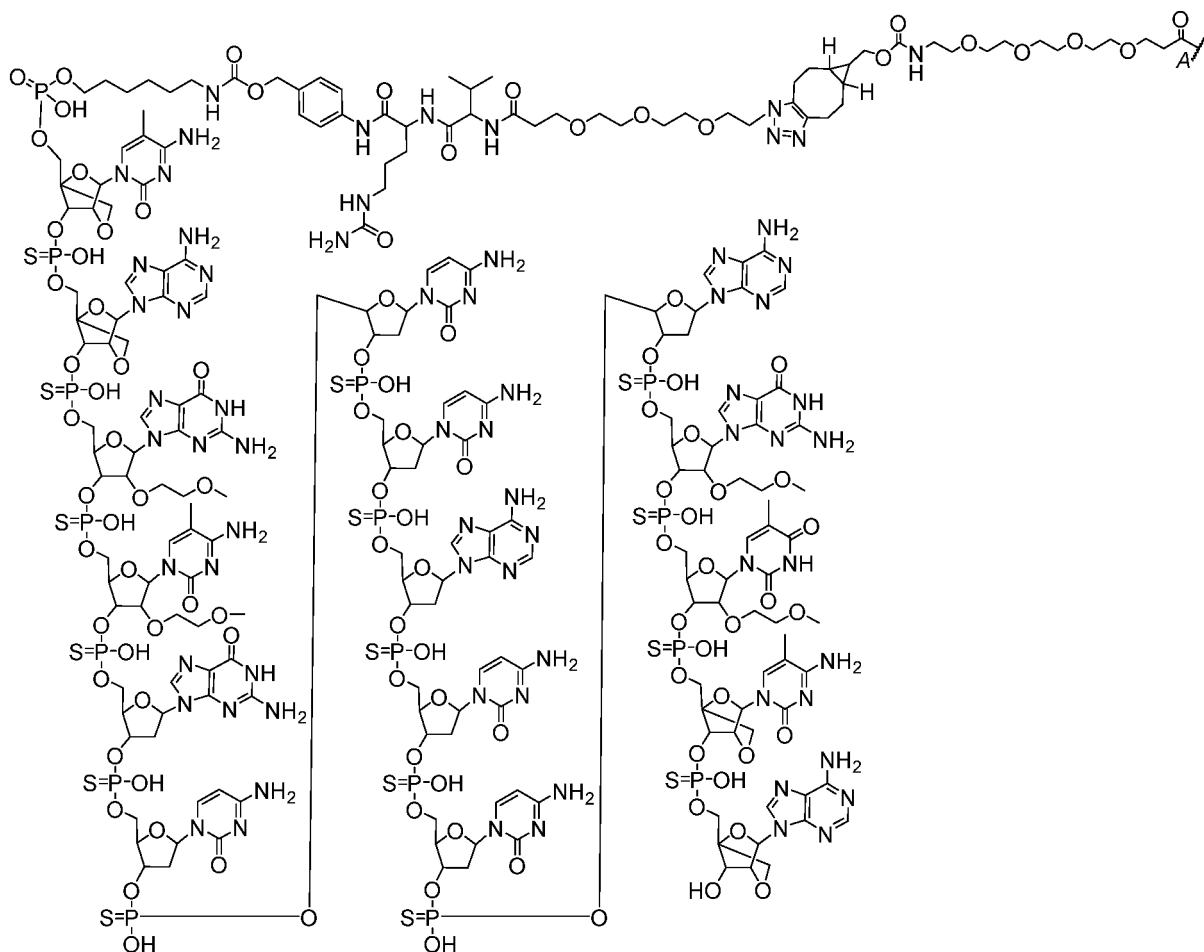
20

30

40

50

【化 19】



10

20

(1c)で表される基を含み、

式中 R^2 は、重鎖可変領域(VH)および重鎖定常領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域(VL)および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む抗トランスフェリン受容体(TfR1)抗体を含む;ならびにここで抗TfR1抗体は:配列番号1、7または12に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、配列番号2、8または13に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、配列番号3、9または14に記述されるとおりの配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、配列番号4、10または15に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、配列番号5または11に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および配列番号6または16に記述されるとおりの配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む;ならびに

30

式中各 R^1 は、付着点Aにて R^2 へ、抗TfR1抗体のリシン(K)残基によって表される連結部位を介して共有結合的に連結されており、およびここで組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の少なくとも80%は独立して、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている;ならびに

40

ここで複数の複合体の各複合体において、n1は、独立して、 R^1 の実例の数を表す1以上の整数である。

15. 組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の85%~98%は独立して、抗TfR1抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にて R^1 へ共有結合的に連結されている、態様12~14のいずれか1つの組成物。

16. 組成物中の複合体の抗TfR1抗体の軽鎖定常領域の95%~97%は独立して、抗TfR

50

1 抗体の軽鎖定常領域のK188(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位および/またはK190(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている、態様12~15のいずれか1つの組成物。

17. 組成物中の複合体の抗TfR1抗体の重鎖定常領域の1%~15%は独立して、抗TfR1抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている、態様12~16のいずれか1つの組成物。

18. 組成物中の複合体の抗TfR1抗体の重鎖定常領域の4%~8%は独立して、抗TfR1抗体の重鎖定常領域のK213(Kabatナンバリングに基づく)によって表される連結部位にてR¹へ共有結合的に連結されている、態様12~17のいずれか1つの組成物。

19. 抗体は、Fab断片、完全長IgG、Fab'断片、またはF(ab')₂断片である、態様1~18のいずれか1つの組成物。

20. 抗体は、Fab断片である、態様1~19のいずれか1つの組成物。

21. VHは、配列番号17と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む;および/またはVLは、配列番号18と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む、態様1~20のいずれか1つの組成物。

22. 抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と、配列番号18のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)とを含む、態様1~21のいずれか1つの組成物。

23. 重鎖は、配列番号19のアミノ酸配列を含み、軽鎖は配列番号20のアミノ酸配列を含む、態様1~22のいずれか1つの組成物。

24. オリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結されていない1以上の抗体をさらに含む、態様1~23のいずれか1つの組成物。

25. 組成物中の複合体のn1の平均値は、0.5~5の範囲にある、態様24の組成物。

26. 対象におけるDMPK発現を低下させる方法であって、方法は、有効量の態様1~25のいずれか1つの組成物を対象へ投与することを含む。

27. 対象の筋緊張性ジストロフィーを処置する方法であって、方法は、有効量の態様1~25のいずれか1つの組成物を対象へ投与することを含む。

28. 対象は、筋緊張性ジストロフィーに関連するDMPK対立遺伝子の疾患関連リピートの伸長を有する、態様26または態様27の方法。

29. 疾患関連リピート配列は、CTGトリヌクレオチド配列のリピート単位を含む、態様28の方法。

30. 複合体は、対象におけるDMPK発現を低下させる、態様26~29のいずれか1つの方法。

31. DMPK発現を低下させることは、筋細胞中のDMPK mRNAのレベルを低下させることを含み、任意にここでDMPK mRNAは、突然変異体DMPK mRNAである、態様30の方法。

【0177】

均等物および用語

例証的に本明細書に記載された開示は、好適には、本明細書に具体的には開示されないいずれかの単数または複数の要素、単数または複数の限定の非存在下において実施されることができる。したがって、例としては、本明細書における各事例では、用語「含む」、「から本質的になる」および「からなる」のいずれかは、他の2つの用語のいずれかによって置き換えられてもよい。採用された用語および表現は、限定ではなく記載の用語として使用され、かかる用語および表現の使用には、示されるおよび記載される特徴のいずれかの均等物またはそれらの部分を排除する意図はなく、様々な改変が本開示の範囲内で可能であることが認識される。したがって、本開示は好ましい態様によって具体的に開示されたが、本明細書に開示される概念の任意の特徴、改変および変形が当業者によってとられることがあることと、かかる改変および変形は本開示の範囲内であると考慮されることとは理解されるべきである。

【0178】

加えて、本開示の特徴または側面がマーカッシュ群または代替物の他の群分けとして記

10

20

30

40

50

載されるところでは、当業者は、本開示がそれによってマーカッシュ群または他の群のいずれかの個々の構成員または構成員のサブグループとしてもまた記載されることを認識するであろう。

【0179】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドまたは他の核酸の構造を記載する際には、配列表で提示される配列が参照されてもよいことを理解されたい。かかる態様においては、実際のオリゴヌクレオチドまたは他の核酸は、指定された配列と本質的に同じかまたは類似の相補的な特性を保持しながら、指定された配列と比較して、1以上の代替的なヌクレオチド(例えば、DNAヌクレオチドのRNA対応物、またはRNAヌクレオチドのDNA対応物)および/または(例えば、および)1以上の修飾ヌクレオチドおよび/または(例えば、および)1以上の修飾ヌクレオチド間連結および/または(例えば、および)1以上の他の修飾を有してもよい。

10

【0180】

本発明を説明する文脈における(特に以下の請求項の文脈における)用語「a」および「an」および「the」ならびに同様の指示対象の使用は、本明細書に別段の指示がないかまたは文脈と明らかに矛盾しない限り、単数および複数の両方を網羅すると解釈されるべきである。用語「含む」、「有する」、「包含する」および「含有する」は、特に断りのない限り、オープンエンドの用語として解釈されるべきである(すなわち、「包含するが、それらに限定されない」を意味する)。本明細書における値の範囲の記載は、本明細書に別段の指示がない限り、単に、範囲内に収まる各別個の値を個々に参照する簡略な方法として働くことが意図され、各別個の値は、それがあたかも本明細書に個々に記載されているかのように本明細書に組み込まれる。別段示されない限り、本明細書における値の範囲は、それらの終点を包含する(例えば、X~Yの範囲は、値XおよびYを包含する)。本明細書におけるX~Yの値の列挙は、指定された値がX~Yの範囲内にあることを指し示すことを理解されたい。本明細書に記載のすべての方法は、本明細書に別段の指示がない限り、または文脈と明らかに矛盾しない限り、いずれかの適切な順序で実行することができる。別様に請求されない限り、本明細書に提供されるいずれかのおよびすべての例または例示的な文言(例えば、「など」)の使用は、単に本発明をより良く解き明かすことを意図され、本発明の範囲に限定を課さない。本明細書のいかなる文言も、いずれかの請求されない要素を本発明の実施にとって必須であると指し示すものと解釈されるべきではない。

20

30

【0181】

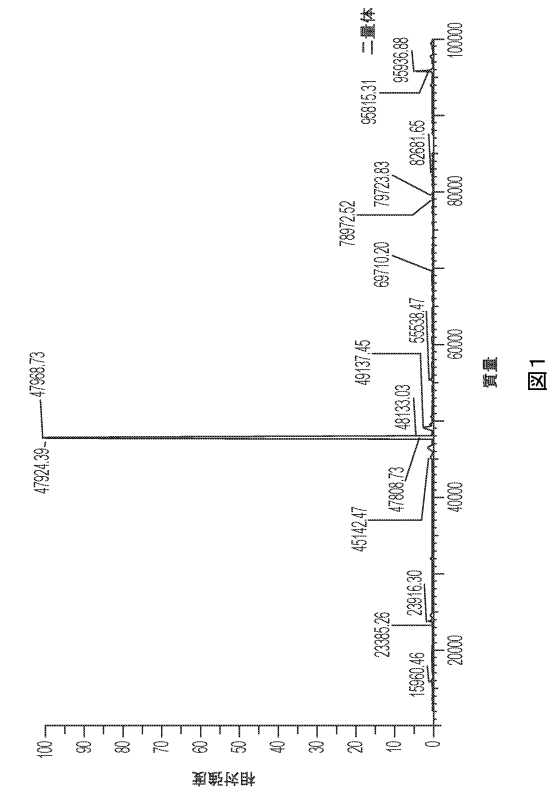
本発明の態様が本明細書に記載されている。それらの態様の変形は、先述の記載を読むことによって当業者には明らかになることもある。

【0182】

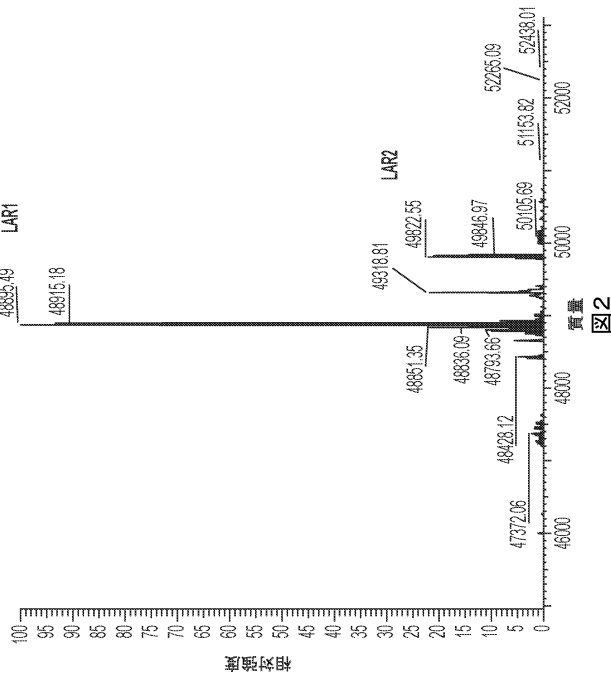
本発明者は当業者がかかる変形を適当に採用することを予期し、本発明者は本発明が本明細書に具体的に記載されるとおりとは別様に実施されることを意図する。したがって、本発明は、然るべき法律によって許可される本明細書に添付される請求項に記載される主題のすべての改変および均等物を包含する。その上、それらのすべての可能な変形における上に記載された要素のいずれかの組合せは、本明細書に別段の指示がないかまたは文脈と明らかに矛盾しない限り、本発明によって包摂される。当業者は、本明細書に記載の本発明の特定の態様の多くの均等物を認識するか、または常用的な実験のみを使用して確かめることが可能であろう。かかる均等物は、添付の請求項によって包摂されることを意図される。

40

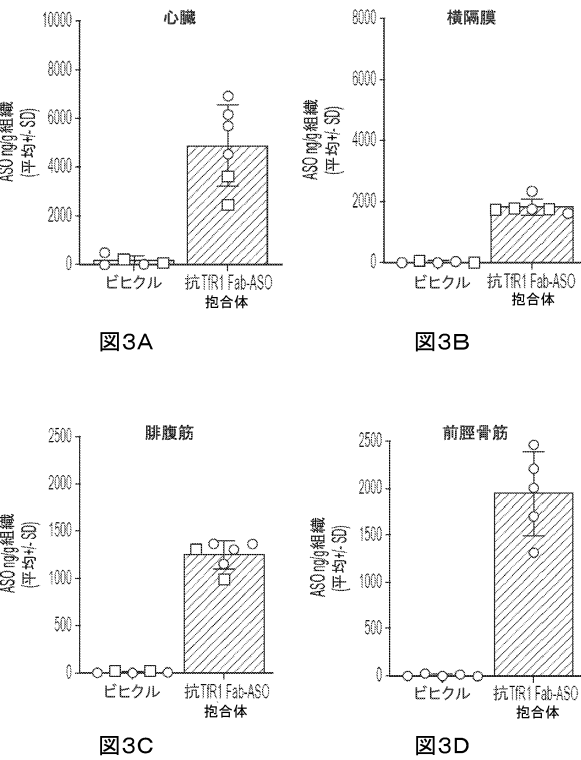
【図面】
【図 1】



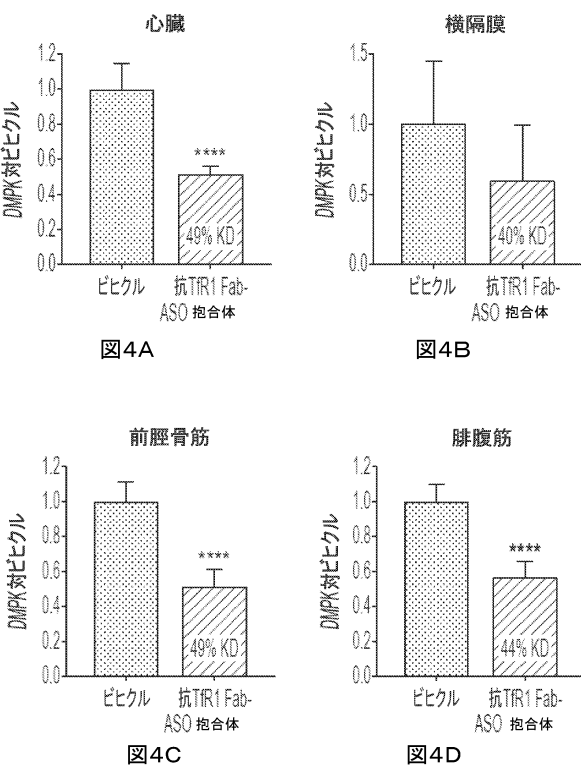
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

20

30

40

50

【 図 5 】

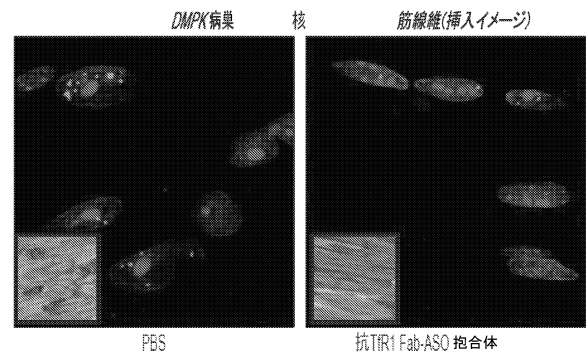


図5A

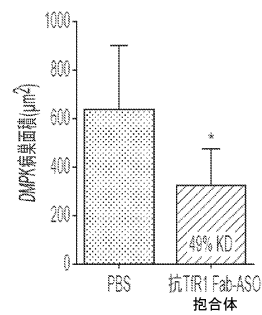


図5B

【 図 6 】

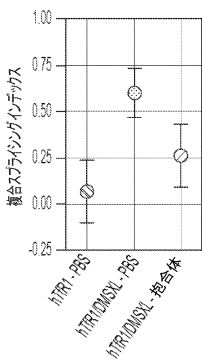


図6

10

20

【 図 7 】

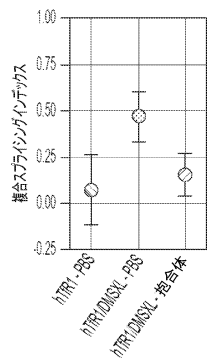


図7

【 図 8 】

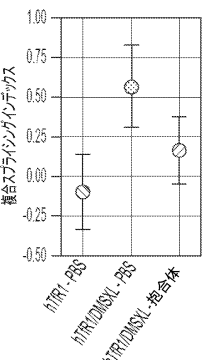


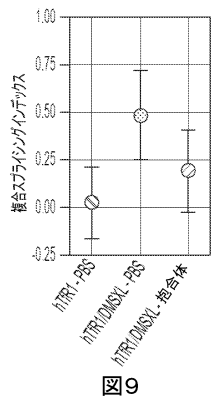
図8

30

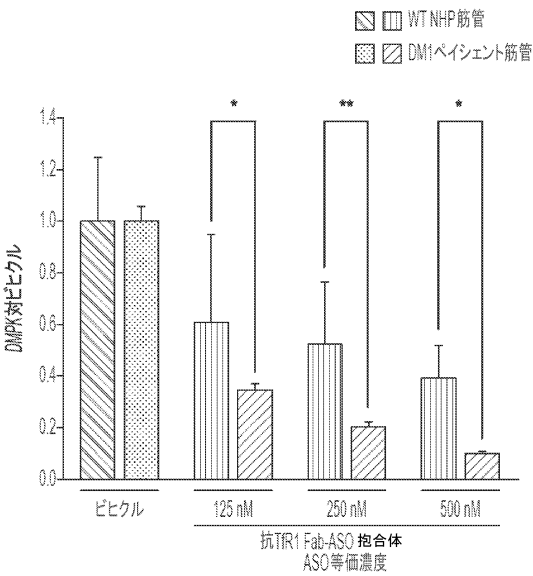
40

50

【 図 9 】



【 図 1 0 】



【 配 列 表 】

202551246900001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/85764

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. C07K 16/28, A61K 39/395, A61K 47/68, C12N 15/11 (2023.01)
ADD. C12N 15/113, A61P 21/00 (2023.01)

CPC - INV. C07K 16/2881, A61K 47/6807, C12N 15/11

ADD. C12N 15/113, A61P 21/00, A61K 2039/505, C12N 2310/11, C12N 2320/32

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2022/026152 A2 (DYNE THERAPEUTICS, INC.) 03 February 2022 (03.02.2022) Claim 1, para [000113], [000117], [000295], [000313], [000314], [000327], [000328], [000379], [000407], [000457], [000461], [000462], [000556]	1-3, 7-10
Y	US 2012/0201809 A1 (BHAT ET AL.) 09 August 2012 (09.08.2012) Claim 81, Claim 90, Claim 100, para [0333]	1-3, 7-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"B" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 July 2023 (06.07.2023)

Date of mailing of the international search report

JUL 31 2023

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Karl Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/65764

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed.

b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/65764

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-6, 11-20
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

20

30

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

40

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 K	31/7125	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 K	47/65	(2017.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	47/55	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
C 1 2 N	15/113	(2010.01)	A 6 1 K	47/65	
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	A 6 1 K	47/55	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/113	1 3 0 Z
			C 0 7 K	16/28	Z N A
			C 1 2 N	15/13	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW ,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL ,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 ヴィエラ、ベンジャミン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 ナジム、ジョン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 ザノッティ、ステファノ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 サブラマニアン、ロメシュ、アール。

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 0 1、フラミンガム、アラン ストリート 9

(72)発明者 カタナニ、モハマド、ティー。

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 デジャルダン、コディ、エー。

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 タン、キム

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

(72)発明者 クイン、ブレンダン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1、ウォルサム、トラペツロ ロード 1 5 6 0

F ターム (参考) 4C076 CC09 CC26 CC29 EE41 EE59 FF34

4C085 AA14 AA16 AA25 BB36 BB41 BB43 DD62 EE01

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA94 ZB21 ZC41

4H045 AA10 AA30 BA09 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74