

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-512464
(P2025-512464A)

(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	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	4 C 0 7 6	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 C 0 8 6
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z	4 H 0 4 5
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P	21/04		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全85頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-560666(P2024-560666)				(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/US2023/065753				アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02451、ウォルサム、トラペッロ ロード 1560
(87)国際公開番号	WO2023/201318				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	63/331,727				(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 ヒルダーブランド, スコット
(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製剤

(57)【要約】
本開示の側面は複合体に関し、他の側面は、抗体(例として、抗TfR1抗体)へ共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチド(例として、DMPKを標的にするのに有用なもの)を含むかかる複合体を含む製剤(例として、水性の、凍結乾燥された形態)に関する。

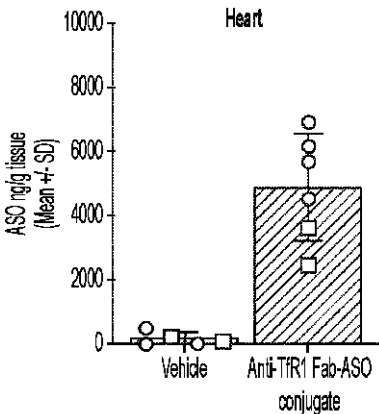


FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗トランスフェリン受容体1(TfR1)抗体へ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製剤であって、

ここで抗TfR1抗体が、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、

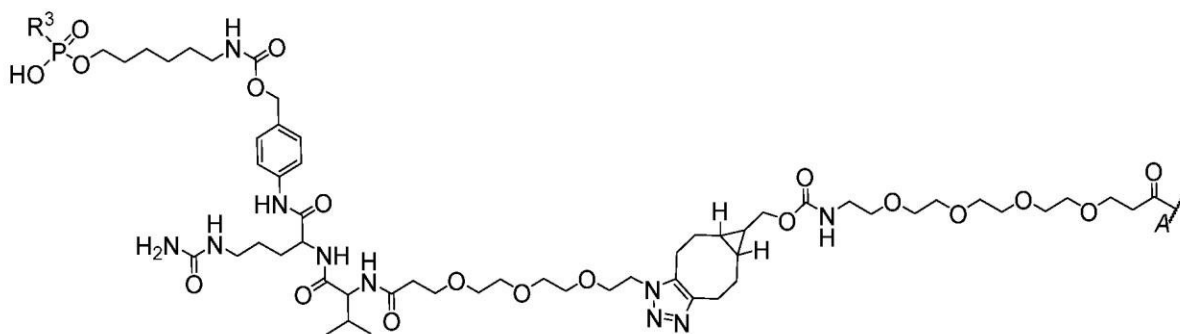
ここでオリゴヌクレオチドが、5'-X-Y-Z-3'配置を含み、ここでXおよびZは、1以上の修飾ヌクレオシドを含むフランキング領域であり、かつYは、1以上の2'-デオキシリボヌクレオシドを含むギャップ領域であり、ならびに

ここで複合体が、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されている、前記製剤。

【請求項 2】

式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含む製剤であって、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、抗体を含み、ならびに

R^3 は、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含むが、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、かつ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る;

式中 R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて共有結合的に連結されている;ならびに

式中 $n1$ は、 R^1 の実例の数を表す整数であり、ここで R^1 の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各々の異なるアミノ酸残基は、リシンである;

ここで複合体が、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されており、任意にここで抗体が、抗TfR1抗体である、前記製剤。

【請求項 3】

抗体が、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、請求項2に記載の製剤。

【請求項4】

製剤が、凍結乾燥形態または凍結固体形態にある、請求項1～3のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項5】

製剤が、水性溶液にある、請求項1～3のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項6】

トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンが、水性溶液中5mM～50mMの範囲にある濃度にて存在する、請求項5に記載の製剤。

【請求項7】

スクロースが、水性溶液中に体積当たり5重量%～15重量%(w/v%)の範囲にある濃度にて存在する、請求項5または6に記載の製剤。

【請求項8】

水性溶液が、6.5～8.5の範囲にあるpHを有する、請求項5～7のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項9】

トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンが、水性溶液中25mMの濃度にて存在するか、および/またはスクロースが、水性溶液中10w/v%の濃度にて存在するか、および/または水性溶液が、7.5のpHにある、請求項5～8のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項10】

抗体が、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである、請求項1～9のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項11】

抗体が、Fabフラグメントである、請求項10に記載の製剤。

【請求項12】

抗体が、配列番号17と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含む;および/または抗体が、配列番号18と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、。

任意に抗体が、配列番号17のアミノ酸配列を含むVH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、請求項1～11のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項13】

抗体が、配列番号19と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む;および/または抗体が、配列番号20と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、

任意に抗体が、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、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、請求項1～12のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項14】

オリゴヌクレオチドが、長さが10～30ヌクレオチドであり、任意に、配列番号22に対し、長さが少なくとも8の連続したヌクレオチドの相補性の領域を有するヌクレオチド

10

20

30

40

50

配列を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項15】

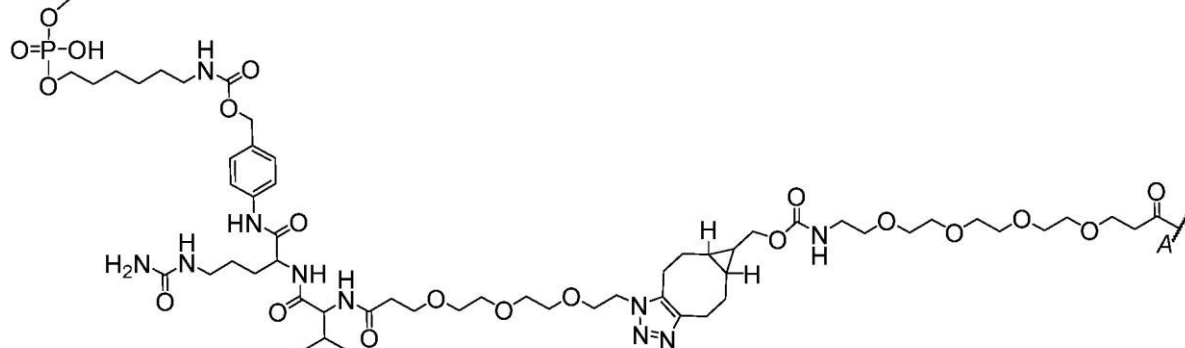
オリゴヌクレオチドが、配列番号21に記載されるとおりのヌクレオチド配列の少なくとも8の連続したヌクレオチドを含み、任意にオリゴヌクレオチドが、配列番号21の塩基配列を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項16】

各R¹が、式(1b)：

【化2】

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



(1b)

で表される基を含み、式中、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むように、+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す、請求項2～15のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項17】

各R¹が、式(1c)：

10

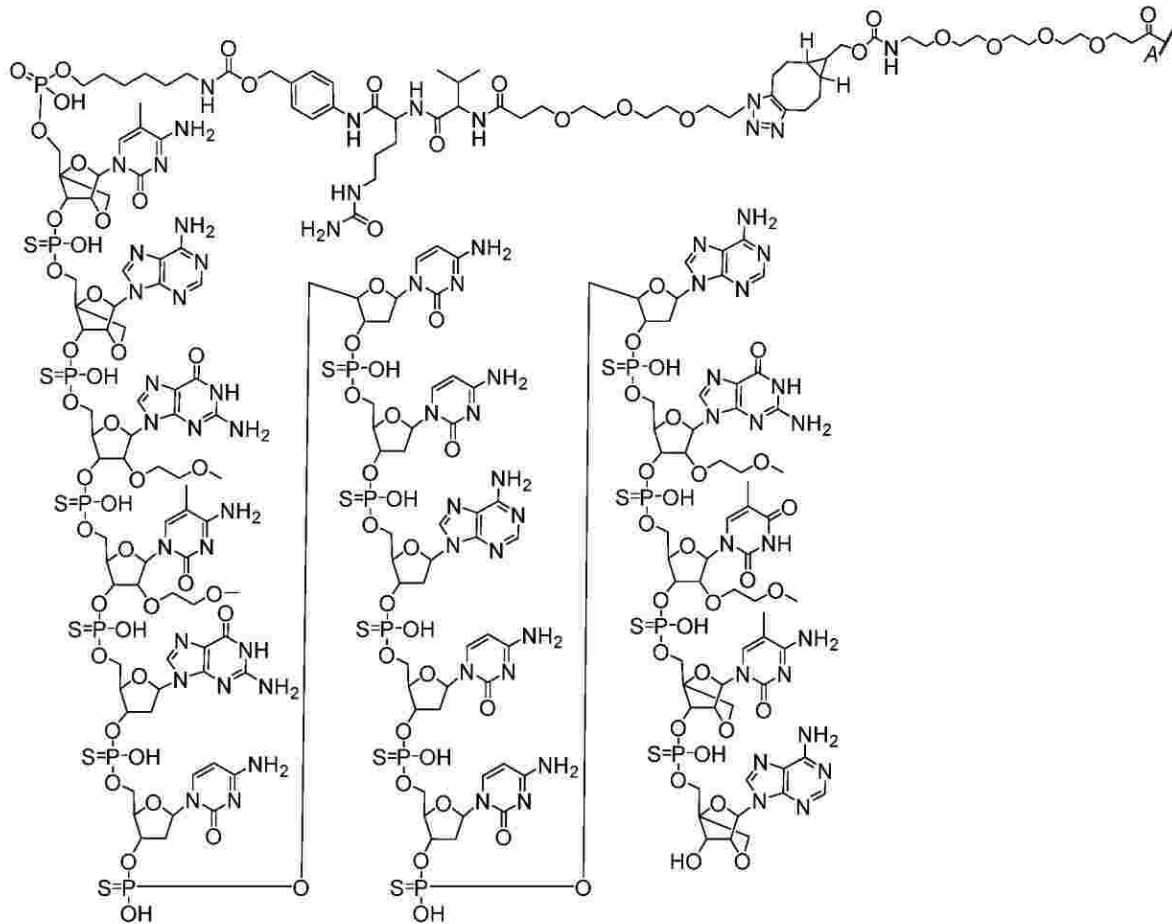
20

30

40

50

【化 3】



(Ic)

で表される基を含む、請求項2～16のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項18】

複合体が、製剤中10mg/mL～50mg/mLの範囲にある濃度にて存在する、請求項5～17のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項19】

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1～18のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項20】

製剤中の複合体のn1の平均値が、0.5～5の範囲にある、請求項19に記載の製剤。

【請求項21】

対象におけるDMPK発現を低減させるか、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1～20のいずれか一項に記載の製剤を対象へ投与することを含む、前記方法。

【請求項22】

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反復の伸長を有し、任意にここで疾患関連反復が、CTGトリヌクレオチド配列の反復単位を含む、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

複合体が、対象におけるDMPK発現を低減させる、請求項21または請求項22に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【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 FORMULATIONS FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY」と題する米国仮出願第63/331,727号の出願日の35 U.S.C. § 119(e)の下での利益を主張するものである;その内容はそれら全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

本発明の分野

本出願は、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、かかる複合体を含む製剤、およびその使用、具体的には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(D082470076W000-SEQ-COB.xml;サイズ:56,346バイト;および作成日:2023年3月22日)の内容は、それら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、筋肉の喪失または変性、減退した筋機能、インスリン抵抗性、心不整脈、平滑筋機能障害、および神経学的異常によって特徴付けられる顕性遺伝の遺伝的疾患である。DMは、成人発症型(adult-onset)筋ジストロフィーの最も一般的な形態であって、世界的発生率は世界の8000人中約1人である。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。疾患のより一般的な形態であるDM1は、19番染色体上のDMPKの3'非コード領域中のCTGトリヌクレオチド反復(repeat)の反復伸長の結果として生じる;DM2は、3番染色体上のZNF9の第1イントロンにおけるCCTGテトラヌクレオチド反復の反復伸長の結果として生じる。DM1患者(patients)におけるCTGトリヌクレオチド反復の反復伸長は、約50回超~約3,000回以上の総反復を含んでいてもよいが、必須の細胞内タンパク質(例として、マッスルブラインド様(muscleblind-like)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のRNA反復の生成へ繋がり、タンパク質の隔離と、その疾患に特徴的な機能喪失表現型とがもたらされる。その疾患の症状に対処するための支持療法および処置は別として、DM1への有効な治療法(therapeutic)は目下、利用不能である。

【発明の概要】

【0005】

概要

いくつかの側面に従うと、本開示は、複合体、およびかかる複合体を含む製剤を提供する。

【0006】

いくつかの側面に従うと、本明細書に提供される製剤は、抗トランスフェリン受容体1(TfR1)抗体へ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み、

ここで抗TfR1抗体は次: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、かつYは、1以上の2'-デオキシリボ

10

20

30

40

50

ならびにここで複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されている。

いくつかの側面に従うと、本明細書に提供される製剤は、式(I)で表される構造: $[R^1]_{n1}$ - R^2 を含む複合体を含み、式中各 R^1 は、独立して、式(Ia):

[illegible]

10

20

R³は、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含むが、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、かつ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る；

式中 n_1 は、 R^1 の実例(instances)の数を表す整数であり、式中 R^1 の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されている;

ここで複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されている。いくつかの態様において、抗体の各異なるアミノ酸残基は、リシンである。いくつかの態様において、抗体は、抗TfR1抗体である。

30

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。

いくつかの態様において、製剤は、凍結乾燥された形態または凍結された固体形態にある。

40

いくつかの態様において、製剤は、水性溶液にある。

いくつかの態様において、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中5 mM~50 mMの範囲にある濃度にて存在する。

いくつかの態様において、スクロースは、水性溶液中、体積当たり5重量%～15重量%(w/v%)の範囲にある濃度にて存在する。

50

いくつかの態様において、水性溶液は、6.5～8.5の範囲にあるpHを有する。

【0014】

いくつかの態様において、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中25 mMの濃度にて存在するか、および/またはスクロースは、水性溶液中10 w/v%の濃度にて存在するか、および/または水性溶液は、7.5のpHにある。

【0015】

いくつかの態様において、抗体は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。

【0016】

いくつかの態様において、抗体は、Fabフラグメントである。

10

【0017】

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%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含む;および/またはここで抗体は、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。

【0018】

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%(同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む;および/またはここで抗体は、配列番号20と少なくとも85%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。

20

【0019】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、長さが10～30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、配列番号22に対し、長さが少なくとも8の連続した(consecutive)ヌクレオチドの相補性の領域を有するヌクレオチド配列を含む。

【0020】

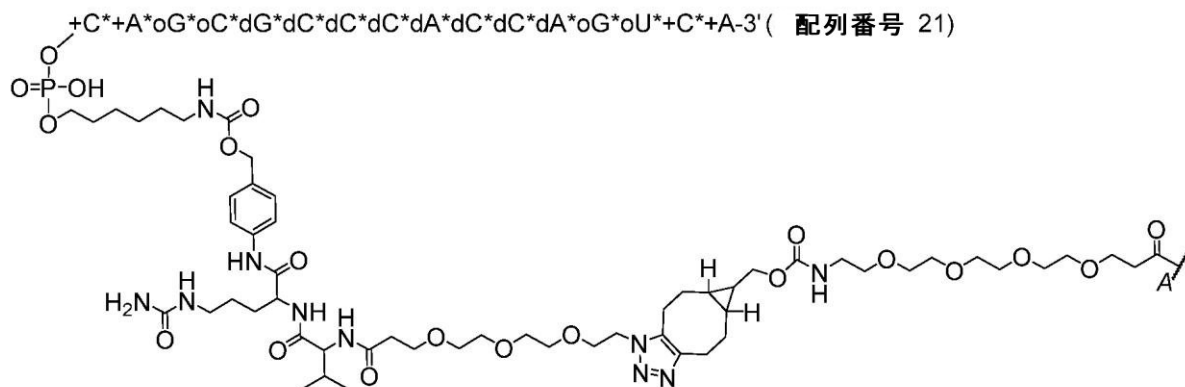
いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号21に記述されるとおりのヌクレオチド配列の少なくとも8の連続したヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、配列番号21のヌクレオチド配列を含む。

30

【0021】

いくつかの態様において、各R¹は、式(Ib):

【化2】



(Ib)

40

で表される基を含み、式中、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むように、+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-

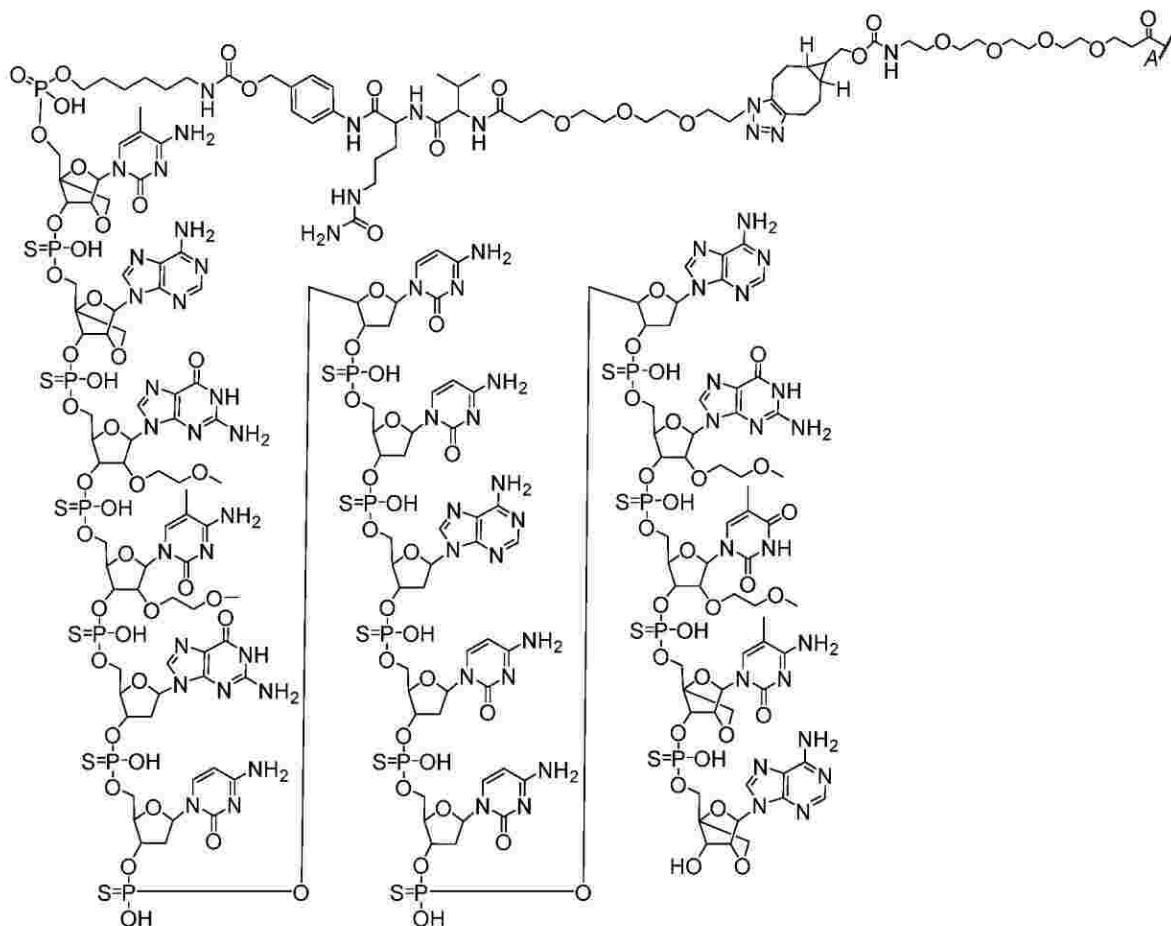
50

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す。

【0022】

いくつかの態様において、各 R^1 は、式(Ic)：

【化3】



(Ic)

で表される基を含む。

【0023】

いくつかの態様において、複合体は、製剤中10mg/mL~50mg/mLの範囲の濃度にて存在する。

【0024】

いくつかの態様において、製剤は、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。

【0025】

いくつかの態様において、製剤中の複合体のn1の平均値は、0.5~5の範囲にある。

【0026】

いくつかの側面に従うと、対象におけるDMPK発現を低減させるかおよび/または筋緊張性ジストロフィーを処置する方法が本明細書に提供され、方法は、有効量の本明細書に提供される製剤を対象へ投与することを含む。

【0027】

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反復の伸長を有する。いくつかの態様において、疾患関連反復は、CTGトリヌクレオチド配列の反復単位(repeating units)を含む。

【0028】

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、複合体は、対象におけるDMPK発現を低減させる。

【図面の簡単な説明】

【0029】

図面の簡単な記載

【図1】図1A~1D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1A)、横隔膜(図1B)、腓腹筋(図1C)、または前脛骨筋(図1D)におけるDMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)の量を示す。

【0030】

【図2】図2A~2Dは、DMPK標的化オリゴヌクレオチド(ASO)へ抱合された抗TfR1 Fabを含有する抱合体の、ヒトTfR1と伸長CTG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子との両方を発現するマウスの心臓(図2A)、横隔膜(図2B)、前脛骨筋(図2C)、および腓腹筋(図2D)におけるヒトDMPK RNAのノックダウン能を示す。

10

【0031】

【図3】図3A~3Bは、ヒトTfR1と伸長CTG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子との両方を発現し、かつ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ける、心筋線維の核中の低減されたDMPKフォーサイ(foci)を示す。図3Aは、DMPKフォーサイに係るin situハイブリダイゼーション染色および筋原線維(挿入パネル)の蛍光染色の後の試料の代表的な画像を示す。図3Aに示される顕微鏡画像において、明るい丸い形状は細胞核を示し、核内の鮮やかな点(puncta)はDMPKフォーサイを示す。図3Bは、DMPKフォーサイの定量化を示す。

20

【0032】

【図4】図4は、ヒトTfR1と伸長CTG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子と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修正活性を示す。Ldb3エキソン11、Mbnl2エキソン6、およびNfixエキソン7のスプライシングに基づく複合スプライシング指標を、ビヒクル対照で処置された対照マウス(「hTfR1-PBS」)、ビヒクル対照で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-PBS」)、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)について示す。

【0033】

30

【図5】図5は、ヒトTfR1と伸長CTG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子と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修正活性を示す。Bin1エキソン11、Insrエキソン11、Ldb3エキソン11、およびNfixエキソン7のスプライシングに基づく複合スプライシング指標を、ビヒクル対照で処置された対照マウス(「hTfR1-PBS」)、ビヒクル対照で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-PBS」)、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)について示す。

【0034】

40

【図6】図6は、ヒトTfR1と伸長CTG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子と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修正活性を示す。Bin1エキソン11、Ldb3エキソン11、Mbnl2エキソン6、およびNfixエキソン7のスプライシングに基づく複合スプライシング指標を、ビヒクル対照で処置された対照マウス(「hTfR1-PBS」)、ビヒクル対照で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-PBS」)、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)について示す。

【0035】

【図7】図7は、ヒトTfR1と伸長CTG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子との両方を発現するマウス(hTfR1/DMSXLマウス)の腓腹筋における、DMP

50

K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修正活性を示す。Mbnl2エキソン6、Nfixエキソン7、およびTtnエキソン313のスプライシングに基づく複合スプライシング指標を、ビヒクル対照で処置された対照マウス(「hTfR1-PBS」)、ビヒクル対照で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-PBS」)、および抗TfR1 Fab-ASO抱合体で処置されたhTfR1/DMSXLマウス(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)について示す。

【0036】

【図8】図8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の結果として生じる、DM1ペイシェント筋管および野生型霊長目非ヒト動物(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ペイシェント筋管またはNHP筋管における発現に対して正規化された結果が示される。データは、条件ごとにn=4の反復試験(replicates)に係る平均値+標準偏差として示される。統計値を一元配置ANOVAによって算出した(*、 $P<0.05$ 、**、 $P<0.01$)。

10

【0037】

【図9】図9は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体の凍結乾燥製剤のX線回折(XRD)パターンを示す。

【0038】

【図10-1】図10A~10Cは、2~8℃にて、0週間(T0)、4週間(T4w)、および8週間(T8w)にて再構成した後の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の凍結乾燥製剤の吸光度データから算出されたタンパク質濃度を示す。図10Aは、抱合体のFabの濃度をmg/ml単位で示す。図10Bは、抱合体のFabの濃度をμM単位で示す。

20

【図10-2】図10Cは、抱合体のオリゴヌクレオチドの濃度をμM単位で示す。

【0039】

【図11】図11A~11Bは、2~8℃にて、T0、T4w、およびT8wにて再構成した後の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の凍結乾燥製剤に係る平均パーセント回復(図11A)および薬物抗体比(DAR;図11B)を示す。

【0040】

【図12-1】図12A~12Cは、25℃にて、0週間(T0)、2週間(T2w)、4週間(T4w)、および8週間(T8w)にて再構成した後の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の凍結乾燥製剤の吸光度データから算出されたタンパク質濃度を示す。図12Aは、抱合体のFabの濃度をmg/ml単位で示す。図12Bは、抱合体のFabの濃度をμM単位で示す。

30

【図12-2】図12Cは、抱合体のオリゴヌクレオチドの濃度をμM単位で示す。

【0041】

【図13】図13A~13Bは、25℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにて再構成した後の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の凍結乾燥製剤に係る平均パーセント回復(図13A)および薬物抗体比(DAR;図13B)を示す。

【0042】

【図14-1】図14A~14Cは、40℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにて再構成した後の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の凍結乾燥製剤の吸光度データから算出されたタンパク質濃度を示す。図14Aは、抱合体のFabの濃度をmg/ml単位で示す。図14Bは、抱合体のFabの濃度をμM単位で示す。

40

【図14-2】図14Cは、抱合体のオリゴヌクレオチドの濃度をμM単位で示す。

【0043】

【図15】図15A~15Bは、40℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにて再構成した後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体に係る平均パーセント回復(図15A)および薬物抗体比(DAR;図15B)を示す。

【0044】

【図16】図16A~16Bは、2~8℃にて、T0、T4w、およびT8wにて再構成した後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を使用して測

50

定された、ピーク1と2との(図16A)およびピーク3と4との相対面積の和(図16B)を示す。

【0045】

【図17】図17A~17Bは、25℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにて再構成した後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を使用して測定された、ピーク1と2との(図17A)およびピーク3と4との相対面積の和(図17A)を示す。

【0046】

【図18】図18A~18Bは、40℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにて再構成した後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を使用して測定された、ピーク1と2との(図18A)およびピーク3と4との相対面積の和(図18A)を示す。

10

【0047】

【図19】図19は、2~8℃にて、T0、T4w、およびT8wにてキャピラリー電気泳動(CE-SDS)を使用して測定された再構成後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体の主ピークのパーセント純度を示す。

【0048】

【図20】図20は、25℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにてCE-SDSを使用して測定された再構成後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体の主ピークのパーセント純度を示す。

20

【0049】

【図21】図21は、40℃にて、T0、T2w、T4w、およびT8wにてCE-SDSを使用して測定された再構成後の凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体の主ピークのパーセント純度を示す。

【発明を実施するための形態】

【0050】

発明の詳細な記載

いくつかの側面に従うと、本開示は、複合体、およびかかる複合体を含む製剤を提供する。いくつかの態様において、複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されている。いくつかの態様において、複合体は、水性のまたは凍結乾燥された(例として、凍結乾燥された粉末)形態として製剤化されている。いくつかの態様において、複合体は、抗体へ共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置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、複合体は、抗トランスフェリン受容体1(TfR1)抗体へ共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含む筋標的化複合体を含む。いくつかの態様において、複合体は、表2に提供される抗トランスフェリン受容体1(TfR1)抗体へ共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含む筋標的化複合体を含む。また提供されるのには、筋緊張性ジストロフィー(例として、DM1)を有する対象を処置するための、本明細書に記載の複合体および製剤を使用する方法、および/または細胞中のDMPK(例として、DMPK RNA)の発現もしくは活性を低減させる方法もある。

30

40

【0051】

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。

【0052】

定義

投与すること:本明細書に使用されるとき、用語「投与すること」または「投与」は、複合体を対象へ、生理学的におよび/または(例として、および)薬理学的に(例として、対象における疾病を処置するのに)有用な様式で提供することを意味する。

【0053】

およそ:本明細書に使用されるとき、用語「およそ」または「約」は、着目した1以上

50

の値へ適用されるとき、定められた参照値と同様の値を指す。ある態様において、用語「およそ」または「約」は、定められた参照値のプラスマイナス(超もしくは未満)15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはこれ未満に収まる広範な値を、別様に述べられない限りまたは文脈から明らかな限り(かかる数字が実行可能な値の100%を超えるであろう場合を除く)、指す。

【0054】

抗体:本明細書に使用されるとき、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、例として抗原へ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、完全長の抗体である。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。しかしながら、いくつかの態様において、抗体は、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fvフラグメント、またはscFvフラグメントである。いくつかの態様において、抗体は、ラクダ科動物の抗体に由来するナノボディー、またはサメ抗体に由来するナノボディーである。いくつかの態様において、抗体は、ダイアボディーである。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の定常領域からなる群から選択される重鎖定常領域を含む。いくつかの態様において、抗体は、重(H)鎖可変領域(本明細書中VHと略される)、および/または(例として、および)軽(L)鎖可変領域(本明細書中VLと略される)を含む。いくつかの態様において、抗体は、定常領域、例としてFc領域を含む。免疫グロブリン定常領域は、重鎖または軽鎖の定常領域を指す。ヒトIgG重鎖および軽鎖の定常領域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、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)重鎖であり得る。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)重鎖を含み得る。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ドメイン、CH2ドメイン、および/または(例として、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、たとえば当該技術分野において知られているいずれのものも含む。ヒト定常領域配列の非限定例は当該技術分野において記載されており、例として米国特許第5,693,780号および上記のKabat E A et al.,(1991)を見よ。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、例としてグリコシル化、リン酸化、SUMO化、および/または(例として、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(例として、および)ホスホグリコシル化を介し、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、単糖類、二糖類、オリゴ糖類、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、分枝オリゴ糖類または分枝グリカンである。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領域へ連結された本開示の1以上の抗原結合性フラグメント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以上のアミノ酸残基を含み、かつ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(例としてHolliger,P.,et al.(1993)Proc.Natl.Acad.

10

20

30

40

50

Sci.USA 90:6444-6448;Poljak,R.J.,et al.(1994)Structure 2:1121-1123を見よ)。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)、ならびに二価のかつビオチン化されたscFv分子を作製するためのシステイン残基、マーカーペプチド、およびC末端ポリヒスチジンタグの使用(Kipriyanov,S.M.,et al.(1994)Mol.Immunol.31:1047-1058)を包含する。

【0055】

CDR:本明細書に使用されるとき、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、これらは大抵、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」)として知られているより保存された領域が散在する、「相補性決定領域」(「CDR」)としてもまた知られている超可変性の領域にさらに細分され得る。各VHおよびVLは、典型的には、アミノ末端(terminus)からカルボキシ末端へ以下の順序:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置された3つのCDRおよび4つのFRから構成されている。フレームワーク領域およびCDRの及ぶ範囲(extent)は、当該技術分野において知られている方法論を使用し、例えば、Kabat定義、IMGT定義、Chothia定義、AbM定義、および/または(例として、および)contact定義(これらすべてが当該技術分野において周知である)によって正確に同定され得る。例として、Kabat,E.A.,et al.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;IMGT(登録商標),the international ImMuNoGeneTics information system(登録商標)<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)を見よ。またhgmp.mrc.ac.ukおよびbioinf.org.uk/absも見よ。本明細書に使用されるとき、CDRは、当該技術分野において知られているいずれかの方法によって定義されるCDRを指してもよい。同じCDRを有する2つの抗体は、同じ方法、例えばIMGT定義によって決定されるとき、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。

【0056】

重鎖および軽鎖の可変領域の各々には3つのCDRがあり、これらは可変領域の各々につきCDR1、CDR2、およびCDR3と指定される。用語「CDRセット」は、本明細書に使用されるとき、抗原に結合することが可能な単一の可変領域に生じる3つのCDRの一群を指す。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.,Sequence of Proteins of Immunological Interest(国立衛生研究所,Bethesda,Md.(1987)および(1991))によって記載される系は、抗体のいずれかの可変領域へ適用可能な一義的な残基ナンバリング系を提供するのみならず、3つのCDRを定義する正確な残基境界をも提供する。これらのCDRは、Kabat CDRと称されることもある。CDRの下位部(sub-portion)は、L1、L2、およびL3、またはH1、H2、およびH3と指定されることもあり、ここで「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と称

10

20

30

40

50

されることもある。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もたら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定義系の例が表1に提供される。

【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))

【0057】

相補的な:本明細書に使用されるとき、用語「相補的な」は、2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。とりわけ、相補的は、2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招来する水素結合対形成の程度を特徴付ける用語である。例えば、オリゴヌクレオチドのある位置での塩基が、標的核酸(例として、mRNA)の対応する位置での塩基と水素結合することが可能であるなら、その場合塩基は、その位置にて互いに相補的であるとみなされる。塩基対合は、標準的な(canonical)Watson-Crick塩基対合と非Watson-Crick塩基対合(例として、Wobble塩基対合およびHoogsteen塩基対合)との両方を包含してもよい。例えば、いくつかの態様において、相補的な塩基対合として、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、いずれのA、C、U、またはTへハイブリダイズし得、これらに相補的であるとみなされる。イノシン(I)もまた、当該技術分野においてユニバーサル塩基であるともみなされ、かついずれかのA、C、U、またはTに相補的であるとみなされる。

【0058】

共有結合的に連結された(Covalently linked):本明細書に使用されるとき、用語「共有結合的に連結された」は、少なくとも1つの共有結合(covalent bond)を介して一緒に連結されている2以上の分子の特徴を指す。いくつかの態様において、2つの分子は一緒に、分子間リンカーとして働く単結合(例として、ジスルフィド結合またはジスルフィド架橋)によって共有結合的に連結され得る。しかしながら、いくつかの態様において、複数の共有結合を通して2以上の分子を一緒に結び合わせるリンカーとして働く分子を介して、2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。しかしながら、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。

【0059】

疾患関連反復:本明細書に使用されるとき、用語「疾患関連反復」は、反復したヌクレオチド配列の単位の数、遺伝的疾患と相関するか、および/または(例として、および)これへ直接的にもしくは間接的に寄与するか、またはこれを引き起こす、ゲノムの場所での反復したヌクレオチド配列を指す。疾患関連反復の各反復単位は、長さが2、3、4、5、またはそれより多くのヌクレオチドであってもよい。例えば、いくつかの態様において、疾患関連反復は、ジヌクレオチド反復である。いくつかの態様において、疾患関連反復は、トリヌクレオチド反復である。いくつかの態様において、疾患関連反復は、テトラヌクレオチド反復である。いくつかの態様において、疾患関連反復は、ペンタヌクレオチド反復である。いくつかの態様において、疾患関連反復は、CAG反復、CTG反復、CUG反復、CGG反復、CCTG反復、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、疾患関連反復は、遺伝子の非コード部分にある。しかしながら、いくつかの態様において、疾患関連反復は、遺伝子のコード領域にある。いくつかの態様において、疾患関連反復は、正常な状態から、遺伝性疾患へ直接的もしくは間接的に寄与するか、またはこれを引き起こす長さまで伸長されている。いくつかの態様において、疾患関連反復は、RNA(例として、RNA転写産物)にある。いくつかの態様において、疾患関連反復は、DNA(例として、染色体、プラスミド)にある。いくつかの態様において、疾患関連反復は、生殖細胞系細胞の染色体中で伸長されている。いくつかの態様において、疾患関連反復は、体細胞の染色体中で伸長されている。いくつかの態様において、疾患関連反復は、疾患の先天的な発病に関連する反復単位の数まで伸長されている。いくつかの態様において、疾患関連反復は、疾患の幼少期の発病に関連する反復単位の数まで伸長されている。いくつかの態様において、疾患関連反復は、疾患の成体での発症に関連する反復単位の数まで伸長されている。DM1において、DMPK遺伝子は、CTG単位の疾患関連反復を含む。

10

20

【0060】

DMPK:本明細書に使用されるとき、用語「DMPK」は、セリン/トレオニンタンパク質キナーゼであるミオトニンタンパク質キナーゼ(また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タンパク質キナーゼとしても知られている)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(Gene ID:1760)、霊長目の非ヒト動物の遺伝子(例として、Gene ID:456139、Gene ID:715328、Gene ID:102125829)、または齧歯類の動物の遺伝子(例として、Gene ID:13400)であってもよい。ヒトにおいて、DMPKの3'非コード非翻訳領域中のCTG反復伸長は、筋緊張性ジストロフィーI型(DM1)に関連している。加えて、種々のタンパク質アイソフォームをコードする、(例として、GenBank RefSeq受託番号:NM_001081563.2、NM_004409.4、NM_001081560.2、NM_001081562.2、NM_001288764.1、NM_001288765.1、およびNM_001288766.1の下で注釈が付されるとおりの)複数のヒト転写産物バリエーションが特徴付けられている。

30

40

【0061】

DMPK対立遺伝子:本明細書に使用されるとき、用語「DMPK対立遺伝子」は、DMPK遺伝子の代替形態(例として、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、その正常かつ典型的な機能を保持する野生型ミオトニンタンパク質キナーゼをコードしていてもよい。いくつかの態様において、DMPK対立遺伝子は、1以上の疾患関連反復伸長を含んでいてもよい。いくつかの態様において、正常な対象は、5~37の範囲にある反復単位を含む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反復単位の数、約50~約3,000個またはそれ多い範囲にあり、反復数が多いほど疾患の重症度の増大へ繋がる。いくつかの態様において、軽度罹患したDM1対象は、50~150の範囲にある反復

50

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をもつ対象は、100～1,000またはそれより多い範囲にある反復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、DM1を有し先天的に発病する対象は、2,000より多くの反復単位を含む少なくとも1つのDMPK対立遺伝子を有していることもある。

【0062】

フレームワーク:本明細書に使用されるとき、用語「フレームワーク」または「フレームワーク配列」は、CDRを差し引いた可変領域の残りの配列を指す。CDR配列の厳密な定義が種々の系によって決定され得ることから、フレームワーク配列の意味は、相応に異なる解釈へ供される。6つのCDR(軽鎖のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3、ならびに重鎖のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3)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とも、FR2とも、FR3とも、FR4とも特定しない、他によって言及されるとおりの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で組み合わせられたFR(複数)を表す。本明細書に使用されるとき、FRは4つの下位領域の1つを表し、FR(複数)はフレームワーク領域を含有する4つの下位領域の2つ以上を表す。ヒト重鎖および軽鎖のアクセプター配列は、当該技術分野において知られている。一態様において、当該技術分野において知られているアクセプター配列は、本明細書に開示の抗体に使用されていてもよい。

【0063】

ヒト抗体:用語「ヒト抗体」は、本明細書に使用されるとき、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、例えばCDRにおいて、とりわけCDR3において、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ていないアミノ酸残基(例として、*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突然変異)を包含していてもよい。しかしながら、用語「ヒト抗体」は、本明細書に使用されるとき、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へ接合された抗体を包含することは意図されない。

【0064】

ヒト化抗体:用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種(例として、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配列および/または(例として、および)VJ配列の少なくとも一部がより「ヒト様」へ、すなわちヒト生殖細胞系可変配列とより同じ様に変更させられている抗体を指す。ヒト化抗体の1つのタイプは、ヒトCDR配列が非ヒトのVH配列およびVJ配列上へ導入されることで、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、既存のハイブリドーマ技術を、これに続く、KasaianらのPCT刊行物第WO 2005/123126 A2号に開示されるものなどの*in vitro*遺伝子工学を使用するヒト化を使用し、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。

【0065】

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、本明細書において互換的に使用される。これらの用語は、当該技術分野において認識されているが、抗体またはその抗原結合部分の重鎖および軽鎖の可変領域中の他のアミノ酸残基より可変(すなわち、高可変)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)。重鎖可変領域につき、超可変領域は、CDR1についてはアミノ酸位置31から35まで、CDR2についてはアミノ酸位置50から65まで、およびCDR3についてはアミノ酸位

置95から102まで及ぶ。軽鎖可変領域につき、超可変領域は、CDR1につきアミノ酸位置24から34まで、CDR2につきアミノ酸位置50から56まで、およびCDR3につきアミノ酸位置89から97まで及ぶ。

【0066】

筋緊張性ジストロフィー(DM):本明細書に使用されるとき、用語「筋緊張性ジストロフィー(DM)」は、筋喪失、筋力低下、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)遺伝子における突然変異によって引き起こされる遺伝的疾患を指す。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。DM1は、DMPKの3'非コード領域中のCTGトリヌクレオチド反復の伸長に関連する。DM2は、ZNF9の第1イントロン中のCCTGテトラヌクレオチド反復の伸長に関連する。DM1とDM2との両方において、ヌクレオチド伸長は、重大な細胞内タンパク質、例として、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反復へ繋がる。筋緊張性ジストロフィーは、この疾患の遺伝学的基礎および関連症状が、当該技術分野において記載されている(例として、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を見よ)。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のバリエーションをもって生まれる。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、すべての筋肉の衰弱、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に関連する。DM2は、OMIM Entry #602668に関連する。

【0067】

オリゴヌクレオチド:本明細書に使用されるとき、用語「オリゴヌクレオチド」は、長さが最大で200ヌクレオチドまで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、これらに限定されないが、RNAiオリゴヌクレオチド(例として、siRNA、shRNA)、マイクロRNA、ギャップマー(gapmers)、ミックスマー(mixmers)、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(例として、Cas9ガイドRNA)等々を包含する。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(例として、2'-O-メチル糖修飾、プリン修飾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の立体化学配座にあってもよい、1以上のホスホロチオアート連結を含んでいてもよい。

【0068】

相補性の領域:本明細書に使用されるとき、用語「相補性の領域」は、2つのヌクレオチド配列が生理学的条件下(例として細胞中)で相互にアニーリングすることが可能となるように、(例として標的核酸の)同族ヌクレオチド配列(cognate nucleotide sequence)と十分に相補的である(例として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、相補性の領域は、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。しかしながら、いくつかの態様において、相補性の領域は、標的核酸の同族ヌクレオチド配列と部分的に相補的である(例として、少なくとも80%、90%、95%、または99%相補性)。いくつかの態様において、相補性の領域は、標的核酸の同族ヌクレオチド配列と比較して1、2、3、または4つのミスマッチを含有する。

【0069】

特異的に結合する:本明細書に使用されるとき、用語「特異的に結合する」は、ある分子が、結合アッセイまたは他の結合状況(binding context)において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ようになる程度の親和性または結合活性での、そ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、適切な参照抗原(単数もしくは複数)と比較して、抗体が他の抗原から特定抗原を区別

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(例として、本明細書に記載のとおり、抗原への結合を通してある細胞(例として、筋細胞)への優先的な標的化を許容する程度までの)、抗体の特定抗原への結合能を指す。いくつかの態様において、抗体が、標的へ結合するのに少なくとも約 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、またはこれ未満の 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、抗体は、トランスフェリン受容体、例として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。

【0070】

対象:本明細書に使用されるとき、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、霊長目の非ヒト動物または齧歯類の動物である。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、ペイシエント、例として疾患を有するかまたは有すると疑われるヒトペイシエントである。いくつかの態様において、対象は、疾患関連反復伸長(例として、DMPK対立遺伝子における前記伸長)の結果として生じる疾患を有するかまたは有すると疑われるヒトペイシエントである。

10

【0071】

トランスフェリン受容体:本明細書に使用されるとき、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 Gene ID 7037)起源、霊長目の非ヒト動物(例として、NCBI Gene ID 711568もしくはNCBI Gene ID 102136007)起源、または齧歯類の動物(例として、NCBI Gene ID 22042)起源から成っていてもよい。加えて、受容体の種々のアイソフォームをコードした、(例として、GenBank RefSeq受託番号:NP_001121620.1、NP_003225.2、NP_001300894.1、およびNP_001300895.1の下で注釈が付されるとおりの)複数のヒト転写産物バリエーションが特徴付けられている。

20

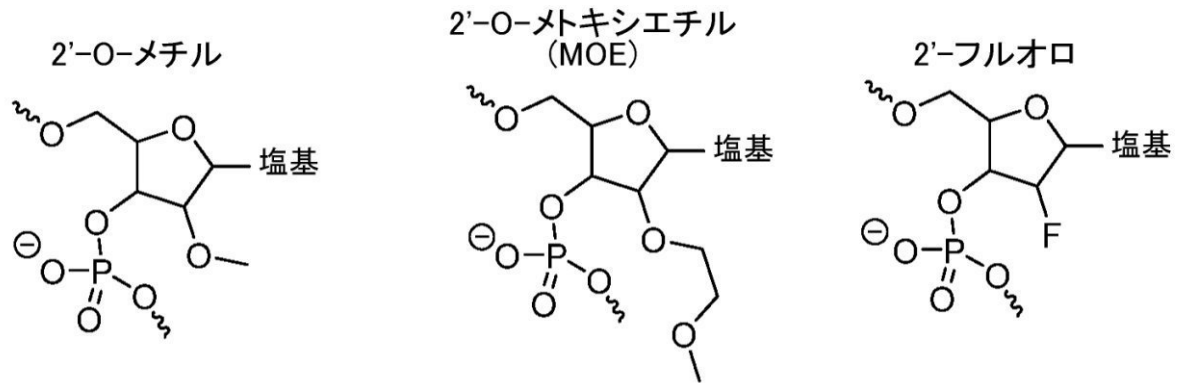
【0072】

2'-修飾ヌクレオシド:本明細書に使用されるとき、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るが、ここで糖の2'位および4'位は、(例として、メチレン、エチレン、または(S)-拘束エチル架橋を介して)架橋されている。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るが、例としてここで糖部分の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次:2'-デオキシ、2'-フルオリ(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して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:

30

40

【化 4】

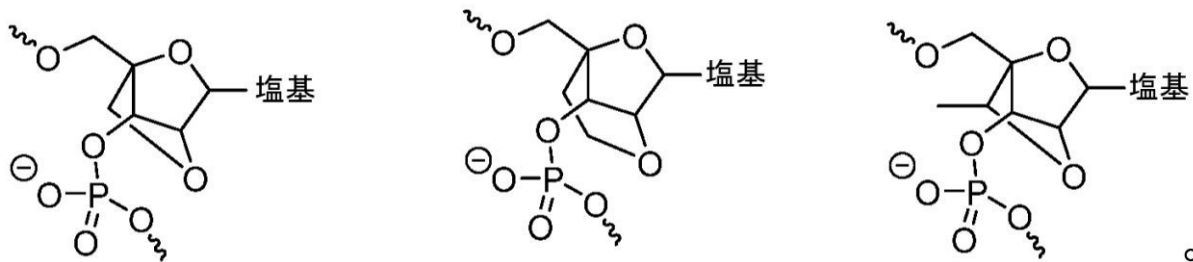


10

ロック核酸(LNA)

エチレン架橋核酸(ENA)

(S)-拘束エチル(cEt)



20

これらの例は、ホスファート基で示されているが、いずれのヌクレオシド間連結も、2'-修飾ヌクレオシド間に企図される。

【0073】

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。

【0074】

複合体

本明細書に提供されるのは、オリゴヌクレオチドへ共有結合的に連結された、標的化剤、例として抗体を含む複合体である。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筋標的化抗体を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、DMPKの発現または活性を低減させる(例として、突然変異体もしくは野生型のDMPK RNAのレベル、またはDMPK遺伝子産物の活性を低減させる)ために、DMPK RNAを標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【0075】

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(例として、抗TfR1抗体)を、オリゴヌクレオチド(例として、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。リンカーは、少なくとも1つの共有結合を含む。

40

【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(I): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含み、その式中各 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、および R^2 は、抗体(例として、抗TfR1抗体)を含み、ならびにここで各複合体において、 $n1$ は、独立して、各複合体中の R^1 の実例の数を表す整数(例として、1以上)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(例として、抗TfR1抗体)を含む。いくつかの態様

50

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(例として、リシンまたはシステイン)へ共有結合的に連結されている。

【0077】

いくつかの態様において、各複合体において、 n_1 は、独立して、整数(例として、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。例えば、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)、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)、および配列番号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。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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フラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。いくつかの態様において、抗体は、Fabフラグメントである。

10

20

【0078】

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(例として、本明細書に開示の組成物または製剤のいずれかにおける、いずれかの複合体)の n_1 の値は、最大で、抱合が所望または標的にされる抗体のアミノ酸残基の数(例として、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、各複合体における n_1 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、各複合体における n_1 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、各複合体における n_1 の値は、独立して、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲にある。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、1~5(例として、1~5、1~4、1~3、3~5、または1~2)の範囲にある。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): $[R^1]_{n_1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複合体を含むが、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(例として、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。いくつかの態様において、各複合体タイプにおける n_1 は、独立して、複合体タイプ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、その各複合体タイプにおける異なる複合体タイプは、異なる n_1 値(例として、1~27、1~26、1~25、1~20、1~15、1~10、1~5、または1~3の範囲にある n_1 値)を有することによって特徴付けられる。

30

40

【0079】

いくつかの態様において、複数の異なる複合体を含む組成物(例として、本明細書に記

50

載のとおりトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよび/またはスクロースを含む製剤)が提供される。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(例として、抗体)および共通のオリゴヌクレオチド(例として、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。例えば、いくつかの態様において、式(1): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複数の複合体を含む組成物が提供されるが、その式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチド(例として、DMPK標的化オリゴヌクレオチド)を含む化合物を含み、および R^2 は、抗体(例として、抗TfR1抗体)を含み、ならびにその式中 $n1$ は、複合体中の R^1 の実例の数を表す整数であり、およびその点において、組成物の異なる複合体は、異なる $n1$ 値(例として、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲にある $n1$ 値)を有していてもよい。いくつかの態様において、組成物の複合体における $n1$ は、独立して整数である。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(例として、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)の範囲内にある。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、 $n1$ が0である複合体を含む。

10

【0080】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、(例として、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(1): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含むが、そのため $n1$ はゼロである化合物と称されることもある。結果的に、いくつかの態様において、本明細書に記載の方法において対象へ投与するための組成物は、式(1): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む化合物(例として、複合体)を含むが、その式中各 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、および $n1$ は、独立して、各化合物(例として、複合体)中の R^1 の実例の数を反映するゼロ以上の整数である。いくつかの態様において、 $n1$ がゼロである組成物中の式(1): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む化合物の割合は、 $n1$ が1以上である組成物中のその構造で表されるすべての化合物と比較して、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。そのため、いくつかの態様において、本明細書に開示の組成物中の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5(例として、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)の範囲内にある。

20

30

【0081】

いくつかの態様において、複合体中の R^1 の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残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、 R^1 が共有結合的に連結されているアミノ酸は、 ϵ -アミノ基(例として、リシン、アルギニン)を含む。しかしながら、いくつかの態様において、 R^1 が共有結合的に連結されているアミノ酸は、システインである。いくつかの態様において、 R^1 は、抗体のアミノ酸残基へ共有結合的に直接連結されている。しかしながら、いくつかの態様において、 R^1 は、抗体のアミノ酸へ共有結合的に間接的に連結されており、例として、アミノ酸上のグリコシル化部位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^1 は、抗体のCDR領域にあるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されていない。

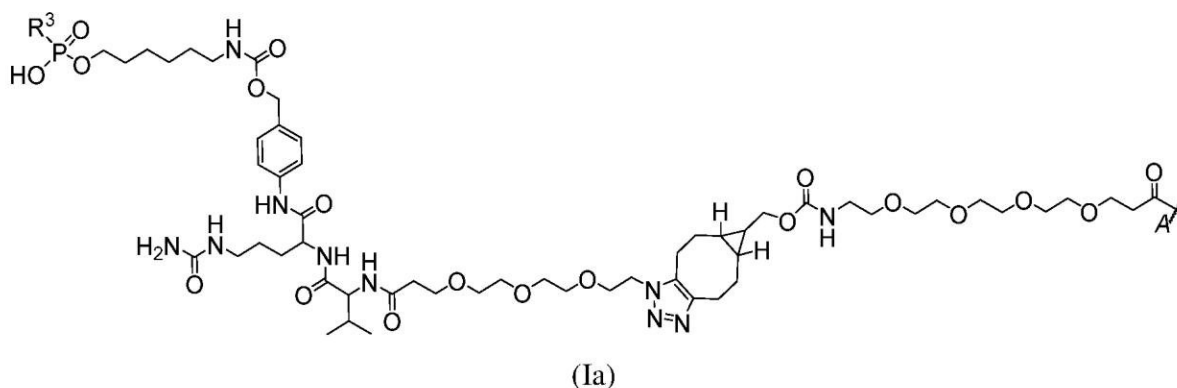
40

【0082】

いくつかの態様において、本明細書に提供される(例として、本明細書に記載の組成物または製剤中の)複合体は、式(1): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含み、その式中 R^1 の各実例は、独立して、式(1a):

50

【化 5】



10

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、例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含む；および R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて共有結合的に連結（例として、間接的または直接的に連結、例として直接的に連結）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体を含む。例えば、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)、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)、および配列番号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、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、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^3 は、CAGCGCCCACCAGUCA(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-ウリジンを表し、および*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す。

20

30

40

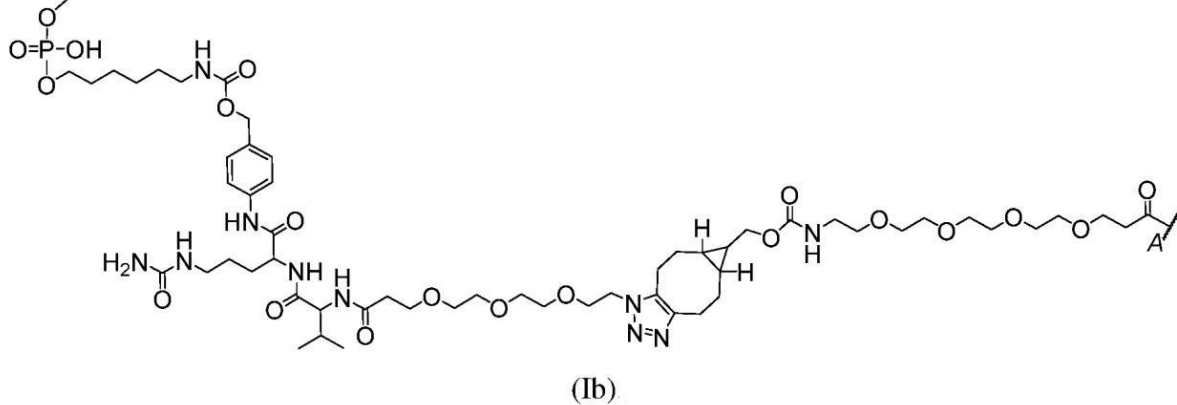
【0083】

いくつかの態様において、本明細書に提供される(例として、本明細書に記載の組成物または製剤中の)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):

50

【化 6】

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



10

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、ならびに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が、式中n1は、各複合体中のR¹の実例の数を表す整数(例として、1以上)であり、および各R¹は、R²へ付着点A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体を含む。例えば、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)、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)、および配列番号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、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。いくつかの態様において、R²は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである抗体を含む。

20

30

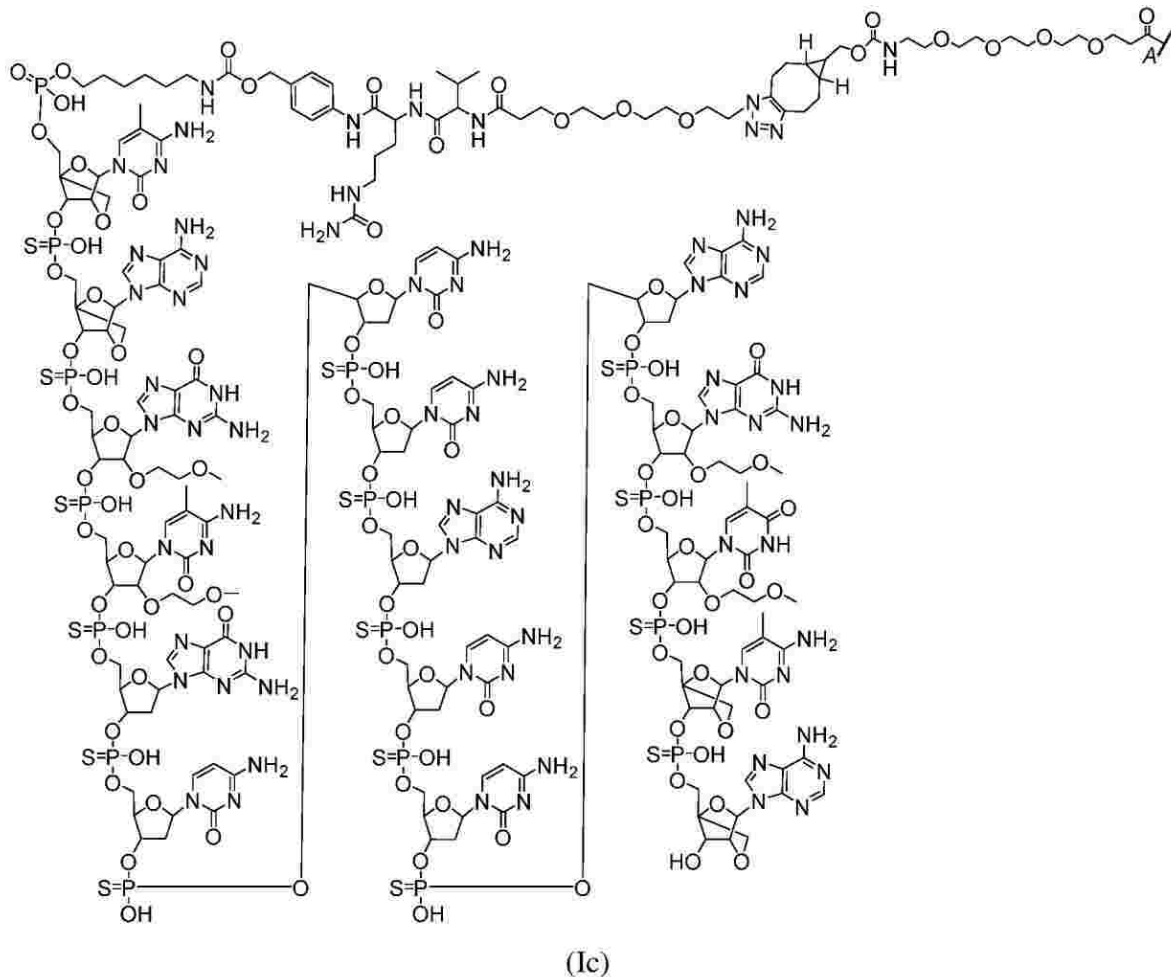
40

【0084】

いくつかの態様において、本明細書に提供される(例として、本明細書に記載の組成物または製剤中の)複合体は、式(I):[R¹]_{n1}-R²で表される構造を含み、その式中各R¹は、式(Ic):

50

【化 7】



10

20

30

40

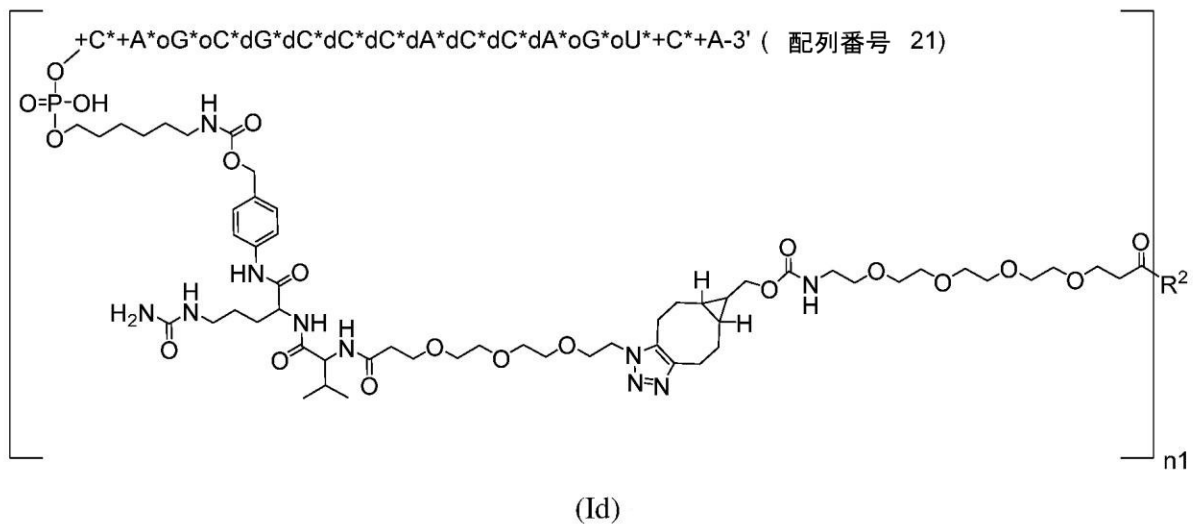
50

で表される基を含み、式中 R^1 は、 R^2 へ付着点A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に記述されるとおりの配列を含む抗体を含む。例えば、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)、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)、および配列番号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)を含む、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである抗体を含む。

【0085】

いくつかの態様において、本明細書に提供される(例として、本明細書に記載の組成物中または製剤中の)複合体は、式(Id):

【化8】

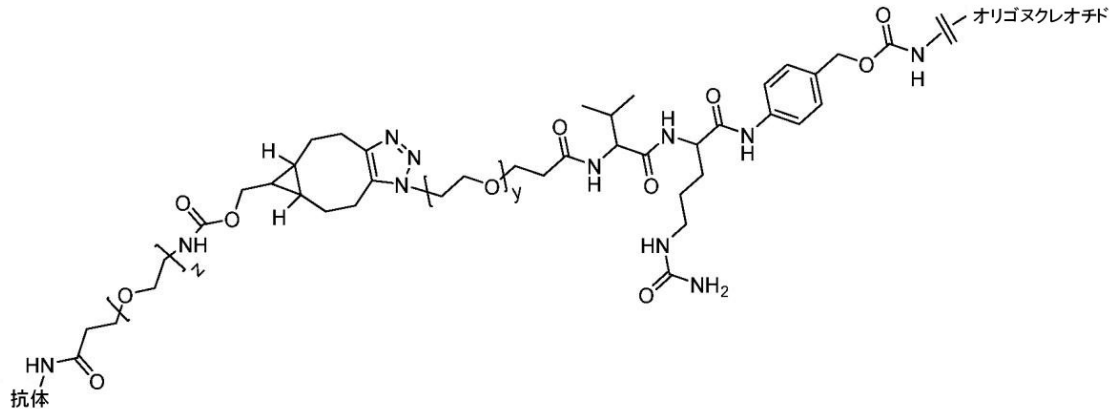


で表される構造を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ならびにここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACCCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含む;式中R²は、表2に記述されるとおりの配列を含む抗体を含む;式中n1は、角括弧によって囲まれる基の実例の数を表す整数(例として、1以上)であり、ここで角括弧によって囲まれる基の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各異なるアミノ酸残基は、リシンである。例えば、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)を含むか;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)、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)、および配列番号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)を含む、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。いくつかの態様において、R²は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである抗体を含む。

【0086】

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):

【化 9】



10

で表される構造を含み、式中 y は、0～15(例として、3)であり、および z は、0～15(例として、4)である。いくつかの態様において、構造(A)中で抗体(例として、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体のアミンとの反応の結果として生じる。いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、その抗体のリシンを介しオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)の5'末へ共有結合的に連結された抗TfR1抗体(例として、抗TfR1 Fab)を含む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。例えば、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)、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)、および配列番号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。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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フラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。

20

30

【0087】

40

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アミノ酸配列の例は、以下のとおりである:

```
MMDQARSAFSNLFGGPELSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLAVDEEENADNNTKAN
VTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGE
DFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLN ENSYVPREAGSQKDENLALYVEN
QFREFKLSKVWRDQH FVKIQVKDS AQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAAT
VTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAG KITFAEKVANAESLNAIGVLIYMD
```

50

QTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAA
 EKLFNGMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSEKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEP
 DHYVVVGAQRDAWGPGAAGSGVGTALLKLAQMFSMDVLKDGFPQRSIIFASWSA
 GDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQN
 VKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTT
 MDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLN
 QYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDVRMRVE
 YHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLENLKLKQNNGAFNETLFRNQLALAT
 WTIQGAANALSGDVWDIDNEF(配列番号23)。

【0088】

10

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。

【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	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYISITSGYYWNWIRQPPGKGLEWI GYITFDGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVLDYWGQGTTVTVSS(配列番号17)		
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWFYQQKPGQPVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFG QGKLEIK(配列番号18)		
Fab HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYISITSGYYWNWIRQPPGKGLEWI GYITFDGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYDYDVLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT(配列番号19)		
Fab LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWFYQQKPGQPVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHTLPYTFG QGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号20)		

20

30

40

【0089】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、(IMGT定義系に従う)配列番号1の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、(IMGT定義系に従う)配列番号2の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、(IMGT定義系に従う)配列番号3の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、(IMGT定義系に従う)配列番号4の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、(IMGT定義系に従う)配列番号5の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および(IMGT定義系に従う)配列番号6の

50

軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む。

【0090】

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

【0091】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、(Chothia定義系に従う)配列番号12の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、(Chothia定義系に従う)配列番号13の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)、(Chothia定義系に従う)配列番号14の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、(Chothia定義系に従う)配列番号15の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、(Chothia定義系に従う)配列番号5の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)、および(Chothia定義系に従う)配列番号16の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む。

10

【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以下のアミノ酸バリエーション(例として、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1以下のアミノ酸バリエーション)を含有する重鎖可変領域(VH)を含む。代替的にまたは加えて(例として、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以下のアミノ酸バリエーション(例として、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1以下のアミノ酸バリエーション)を含有する軽鎖可変領域(VL)を含む。

20

【0093】

いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、フレームワーク領域において、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHと少なくとも75%(例として、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。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗TfR1抗体は、フレームワーク領域において、配列番号18のアミノ酸配列を含むVLと少なくとも75%(例として、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。

30

【0094】

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。代替的にまたは加えて(例として、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。

【0095】

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%(例として、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。代替的にまたは加えて(例として、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%(例として、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%(例として、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。代替的にまたは加えて(例として、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%(例として、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。

40

【0096】

50

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。代替的にまたは加えて(例として、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。代替的にまたは加えて(例として、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。

【0097】

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いてもよい。いくつかの態様において、N末端環化は、またピログルタマート形成(ピロGlu)ともまた呼ばれるが、抗体において、産生の最中にN末端のグルタマート(Glu)残基および/またはグルタミン(Gln)残基にて生じていてもよい。そのため、N末端のグルタマート残基またはグルタミン残基を含む配列を有すると特定された抗体が、翻訳後修飾の結果として生じるピログルタマート形成を経た抗体を網羅することは解されるはずである。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、重鎖配列に生じる。いくつかの態様において、ピログルタマート形成は、軽鎖配列に生じる。

【0098】

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を標的にするのに(例として、突然変異体もしくは野生型のDMPK RNAのレベルなどの、DMPK RNAの発現または活性を低減させるのに)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を標的にするのに(例として、突然変異体もしくは野生型のDMPK RNAのレベルなどの、DMPK RNAの発現または活性を低減させるのに)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に対する相補性の領域を含む。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例として、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、疾患関連反復伸長を有する毒性DMPKのレベルを低減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、例として筋細胞(例として筋管)または神経系の細胞(例として中枢神経系(CNS)細胞)の核中にある標的DMPK RNAのRNAse H媒介分解へ向かわせ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、所望されるバリエーションおよび/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、所望される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、所望される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。

【0099】

いくつかの態様において、本明細書に記載の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、ある形式にあるオリゴヌクレオチド(例として、アンチセンスオリゴヌクレオチド)が、別の形式(例として、siRNAオリゴヌクレオチド)へ、機能的配列(例として、アンチセンス鎖配列)を一方の形式からの他方の形式へ組み込むことによって、好適に適応されてもよいことは解されるはずである。

【0100】

DMPKを標的にするのに有用なオリゴヌクレオチドの例は、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刊行物20100016215A1;米国特許出願刊行物20130237585A1、2010年7月19日公開、Modulation Of Dystrophin Myotonic-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刊行物20150064181A1;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刊行物20150238627A1;および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刊行物20160304877A1に提供されており、それら各々の内容はそれら全体が本明細書に組み込まれる。

【0101】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、ヒトDMPK遺伝子配列の例(Gene ID 1760;NM_001081560.2)である、以下のとおりに記述される配列に対して相補性の領域を含んでいてもよい:

AGGGGGGCTGGACCAAGGGGTGGGGAGAAGGGGAGGAGGCCTCGGCCGGCCGCAGAGAGAAGTGGCCAGAGAGGCCAGGGGACAGCCAGGGACAGGCAGACATGCAGCCAGGGCTCCAGGGCCTGGACAGGGGCTGCCAGGGCCCTGTGACAGGAGGACCCCGAGCCC
CCGGCCCCGGGGAGGGGCCATGGTGCTGCCTGTCCAACATGTCAGCCGAGGTGCGGCTGAGGCGGCTCCAGCAGCTGGTGTTGGACCCGGGCTTCCTGGGGCTGGAGCCCCTGCTCGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGCGCCTCCGAACCTGGCCCAGGACAAGTACGTGGCCGACTTCTTGCACTGGGCGGAGCCCATCGTGCTGAGGCTTAAGGAGGTCCGACTGCAGAGGGACGACTTCGAGATTCTGAAGGTGATCGGACGCGGGGCGTTCAGCGAGGTAGCGGTAGTGAAGATGAAGCAGACGGGCCAGGTGTATGCCATGAAGATCATGAACAAGTGGGACATGCTGAAGAGGGGCGAGGTGTCGTGCTTCCGTGAGGAGAGGGACGTGTTGGTGAATGGGGACCGGCGGTGGATCACGCAGCTGCACTTCGCC
TTCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAGTATTACGTGGGCGGGGACCTGCTGACACTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATTCCGGCCGAGATGGCGCGCTTCTACCTGGCGGAGATTGTCATGGCCATAGACTCGGTGCACCGGCTTGGCTACGTGCACAGGGACATCAAACCCGACAACATCCTGCTGGACCGCTGTGGCCACATCCGCCTGGCCGACTTCGGCTCTTGCTCAAGCTGCGGGCAGATGGAACGGTGCGGTCGCTGGTGGCTGTGGGCACCCAGACTACCTGTCCCCCGAGATCCTGCAGGCTGTGGGCGGTGGGCCTGGGACAGGCAGCTACGGGCCCGAGTGTGACTGGTGGGCGCTGGGTGTATTCGCTATGAAATGTTCTATGGGCAGACGCCCTTCTACGCGGATTCCACGGCGGAGACCTATGGCAAGATCGTCCACTACAAGGAGCACCTCTCTCTGCCGCTGGTGGACGAAGGGGTCCCTGAGGAGGCTCGAGACTTCATTACAGCGGTTGCTGTGTCCCCCGGAGACACGGCTGGGCGGGGTGGAGCAGGCGACTTCCGGACACATCCCTTCTTCTTTGGCCTCGACTGGGATGGTCTCCGGGACAGCGTGCCCCCTTTACACCGGATTTGAAGGTGCCACCGACACATGCAACTTCGACTTGGTGGAGGACGGGCTCACTGCCATGGAGACACTGTCGGACATTTCGGGAAGGTGCGCCGCTAGGGGTCCACCTGCCTTTTGTGGGCTACTCCTACTCCTGCATGGCCCTCAGGGACAGTGAGGTCCAGGCCCCACACCCATGGAACTGGAGGCCGAGCAGCTGCTTGAGCCACACGTGCAAGCGCCAGCCTGGAGCCCTCGGTGTCCCCACAGGATGAAACAGCTGAAGTGGCAGTTCCAGCGGCTGTCCCTGCGGCAGAGGCTGAGGCCGAGGTGACGCTGCGGGAGCTCCAGGAAGCCCTGGAGGAGGAGGTGCTACCCGGCAGAGCCTGAGCCGGGAGATGGAGGCCATCCGCACGGACAACCA
GAACTTCGCCAGTCAACTACGCGAGGCAGAGGCTCGGAACCGGGACCTAGAGGGCACACGTCCGGCAGTTGCAGGAGCGGATGGAGTTGCTGCAGGCAGAGGGAGCCACAGCTGTCACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATGGCCCCCGGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCACCGCCGCCACCTGCTGCTCCCTGCCAGGGTCCCTAGGCCTGGCCTATCGGAGGCGCTTTCCCTGCTCCTGTTGCGCGTTGTTCTGTCTCGTGCCGCGCCCTGGGCTGCATTGGGTTGTGGCCACGCGGCCAACTCACCGCAGTCTGGCGCCGCCAGGAGCCGCCCGCGCTCCCTGAACCTAGAACTGTCTTCGACTCCGGGGCCCCGTTGGAAGACTGAGTGCCCGGGGCACGGCACAGAAGCCGCGGCCACCGCCTGCCAGTTACAAACCGCTCCGAGCGTGGGTCTCCGCCAGCTCCAGTCCTGTGATCCGGGGCCGCCCCCTAGCGGCCGGGAGGGAGGGGCCGGGTCCGCGGGCCGCGAACGGGGCTCGAAGGGTCCTTGTAGCCG

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

CTGAACCCCTAAGACTCCAAGCCATCTTTTCATTTAGGCCTCCTAGGAAGGTCGAGCG
ACCAGGGAGCGACCCAAAGCGTCTCTGTGCCCATCGCGCCCCCCCCCCCCCCCCAC
CGCTCCGCTCCACACTTCTGTGAGCCTGGGTCCCCACCCAGCTCCGCTCCTGTGATC
CAGGCCTGCCACCTGGCGGGCCGGGGAGGGAGGAACAGGGCTCGTGCCACGACCCCC
TGGTTCCTGCAGAGCTGGTAGCCACCGCTGCTGCAGCAGCTGGGCATTTCGCCGACC
TTGCTTTACTCAGCCCCGACGTGGATGGGCAAACCTGCTCAGCTCATCCGATTTTCAC
TTTTTCACTCTCCCAGCCATCAGTTACAAGCCATAAGCATGAGCCCCCTATTTCCAG
GGACATCCCATTCCCATAGTGATGGATCAGCAAGACCTCTGCCAGCACACACGGAG
TCTTTGGCTTCGGACAGCCTCACTCCTGGGGGTTGCTGCAACTCCTTCCCCGTGTAC
ACGTCTGCACTCTAACAACGGAGCCACAGCTGCACTCCCCCCTCCCCCAAAGCAGT
GTGGGTATTTATTGATCTTGTATCTGACTCACTGACAGACTCCGGGACCCACGTTT
TAGATGCATTGAGACTCGACATTCCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTACGACC
TCCACTCCCGACCCTTGCGAATAAAATACTTCTGGTCTGCCCTAAA(配列番号25)。

10

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、例としてヒト、マウス、および非ヒト種(例として、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の領域を含んでいてもよい。

【0103】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、DMPKの突然変異型、例えば、Botta A. et al. “The CTG repeat expansion size correlates with the splicing defects observed in muscles from myotonic dystrophy type 1 patients.” J Med Genet. 2008 Oct; 45(10): 639-46.; 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. において報告されるとおりの突然変異型に対して相補性の領域を含んでいてもよい; それら各々の内容はそれら全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0104】

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を標的に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刊行物20160304877A1に記載のとおり、DMPKを標的に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 受託番号 NM_001081560.2 (配列番号24) に記述されるとおりの、または Genbank 受託番号 NG_009784.1 (配列番号26) に記述されるとおりのDMPK遺伝子配列の領域を標的にする。

30

【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の少なくとも8の連続したヌクレオチド(例として、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも12、少なくとも14、少なくとも16、少なくとも18、少なくとも20、またはそれより多くの連続したヌクレオチド)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。

40

【0106】

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、長さが10~35(例として、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、長さが10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチドであり、任意に長さが15~30または16ヌク

50

レオチドである。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、長さが16ヌクレオチドである。

【0107】

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に対し、少なくとも8(例として、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、またはそれより多く)の連続するヌクレオチドの相補性の領域を含む。

【0108】

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に記述されるとおりのDMPK配列に対し、少なくとも8(例として、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、またはそれより多く)の連続するヌクレオチドの相補性の領域を含む。

10

【0109】

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、少なくとも8(例として、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、または16)の連続するヌクレオチドの相補性の領域を含む。いくつかの態様において、DMPKを標的に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(例として、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、または16)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を標的に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。

20

【0110】

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切断を支持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位置付けられている、キメラアンチセンス化合物を指し得、ここでギャップ領域を含むヌクレオシドは、フランキング領域を含むヌクレオシド(単数または複数)とは化学的に別個のものである。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(例として、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周囲のフランキング領域としてXおよびZをもつ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中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、かつフランキング領域Xもフランキング領域Zも、いずれの2'-デオキシリボヌクレオシドも含有しない。

30

【0111】

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を動員することが可能な、連続した一続きの6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、オリゴヌクレオチドは、標的核酸へ結合するが、その時点にてRNaseが動員され、次いで標的核酸が切断され得る。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、例として、1~6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、これらに限定されないが、2'-修飾ヌクレオシド(例として、2'-MOE、2'-O-Me、2'-F)または2'-4'二環式ヌクレオシド(例として、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ヌクレオチドから成っていてもよい。フランキング領域XおよびZは、同様の長さまたは同様ではない長さから成っていてもよい。いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、長さが5~20ヌクレオチド、5~15ヌクレオチド、5~12ヌクレオチド、または6~10ヌクレオチドのヌクレオチド配列を含んでいてもよい。

40

50

【0112】

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、フランキング領域XとZとの一方または両方は各々、独立して、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結(例として、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を含む。いくつかの態様において、ギャップ領域Yと、2つのフランキング領域XおよびZとは各々、独立して、修飾ヌクレオシド間連結(例として、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を含む。

10

【0113】

いくつかの態様において、ギャップマー中のギャップ領域Yは、長さが5~20ヌクレオシドである。例えば、ギャップ領域Yは、長さが5~20、5~15、5~10、10~20、10~15、または15~20ヌクレオシドであってもよい。いくつかの態様において、ギャップ領域Yは、長さが5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20ヌクレオシドである。いくつかの態様において、ギャップ領域Y中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中のすべてのヌクレオシドが、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中のヌクレオシドの1以上は、修飾ヌクレオシド(例として、2'修飾ヌクレオシド、たとえば本明細書に記載のもの)である。いくつかの態様において、ギャップ領域Y中の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中の各シトシンは、5-メチルシトシンである。

20

【0114】

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'配置中の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'配置中のZ)は、独立して、1~20ヌクレオシド長である。例えば、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、同じ長さから成る。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、異なる長さから成る。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より短い。

30

【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(例として、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、

40

50

5-14-1、2-14-4、4-14-2、3-14-3、1-13-6、6-13-1、2-13-5、5-13-2、3-13-4、4-13-3、1-12-7、7-12-1、2-12-6、6-12-2、3-12-5、5-12-3、1-11-8、8-11-1、2-11-7、7-11-2、3-11-6、6-11-3、4-11-5、5-11-4、1-18-1、1-17-2、2-17-1、1-16-3、3-16-1、2-16-2、1-15-4、4-15-1、2-15-3、3-15-2、1-14-5、2-14-4、4-14-2、3-14-3、1-13-6、6-13-1、2-13-5、5-13-2、3-13-4、4-13-3、1-12-7、7-12-1、2-12-6、6-12-2、3-12-5、5-12-3、1-11-8、8-11-1、2-11-7、7-11-2、3-11-6、6-11-3、4-11-5、5-11-4、1-19-1、1-18-2、2-18-1、1-17-3、3-17-1、2-17-2、1-16-4、4-16-1、2-16-3、3-16-2、1-15-5、2-15-4、4-15-2、3-15-3、1-14-6、6-14-1、2-14-5、5-14-2、3-14-4、4-14-3、1-13-7、7-13-1、2-13-6、6-13-2、3-13-5、5-13-3、4-13-4、1-12-8、8-12-1、2-12-7、7-12-2、3-12-6、6-12-3、4-12-5、5-12-4、2-11-8、8-11-2、3-11-7、7-11-3、4-11-6、6-11-4、5-11-5、1-20-1、1-19-2、2-19-1、1-18-3、3-18-1、2-18-2、1-17-4、4-17-1、2-17-3、3-17-2、1-16-5、2-16-4、4-16-2、3-16-3、1-15-6、6-15-1、2-15-5、5-15-2、3-15-4、4-15-3、1-14-7、7-14-1、2-14-6、6-14-2、3-14-5、5-14-3、4-14-4、1-13-8、8-13-1、2-13-7、7-13-2、3-13-6、6-13-3、4-13-5、5-13-4、2-12-8、8-12-2、3-12-7、7-12-3、4-12-6、6-12-4、5-12-5、3-11-8、8-11-3、4-11-7、7-11-4、5-11-6、6-11-5、1-21-1、1-20-2、2-20-1、1-20-3、3-19-1、2-19-2、1-18-4、4-18-1、2-18-3、3-18-2、1-17-5、2-17-4、4-17-2、3-17-3、1-16-6、6-16-1、2-16-5、5-16-2、3-16-4、4-16-3、1-15-7、7-15-1、2-15-6、6-15-2、3-15-5、5-15-3、4-15-4、1-14-8、8-14-1、2-14-7、7-14-2、3-14-6、6-14-3、4-14-5、5-14-4、2-13-8、8-13-2、3-13-7、7-13-3、4-13-6、6-13-4、5-13-5、1-12-10、10-12-1、2-12-9、9-12-2、3-12-8、8-12-3、4-12-7、7-12-4、5-12-6、6-12-5、4-11-8、8-11-4、5-11-7、7-11-5、6-11-6、1-22-1、1-21-2、2-21-1、1-21-3、3-20-1、2-20-2、1-19-4、4-19-1、2-19-3、3-19-2、1-18-5、2-18-4、4-18-2、3-18-3、1-17-6、6-17-1、2-17-5、5-17-2、3-17-4、4-17-3、1-16-7、7-16-1、2-16-6、6-16-2、3-16-5、5-16-3、4-16-4、1-15-8、8-15-1、2-15-7、7-15-2、3-15-6、6-15-3、4-15-5、5-15-4、2-14-8、8-14-2、3-14-7、7-14-3、4-14-6、6-14-4、5-14-5、3-13-8、8-13-3、4-13-7、7-13-4、5-13-6、6-13-5、4-12-8、8-12-4、5-12-7、7-12-5、6-12-6、5-11-8、8-11-5、6-11-7、または7-11-6の5'-X-Y-Z-3'配置を含む。数字は夫々、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド中のX領域、Y領域、およびZ領域中のヌクレオシドの数を指し示す。

【0116】

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'配置中の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'配置中のZ)中の1以上のヌクレオシドは、修飾ヌクレオシド(例として、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(例として、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(例として、LNA、cEt、もしくはENA)、または非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例として、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)、もしくは2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA))である。

【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(例として、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'配置を含むが、ここでXおよびZは、独立して、長さが2~7(例として、2、3、4、5、6、または7)ヌクレオシド

10

20

30

40

50

であり、ならびにYは、長さが6~10(例として、6、7、8、9、または10)ヌクレオシドであり、ここでX中の位置1、2、3、4、5、6、または7(最も5'にある位置が位置1である)のすべてではないが少なくとも1つ(例として、1、2、3、4、5、または6つ)は、非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例として、2'-MOEまたは2'-O-Me)であり、ここでXとZとの両方におけるヌクレオシドの残りは、2'-4'二環式ヌクレオシド(例として、LNAまたはcEt)であり、ならびにここでY中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(例として、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'配置を含むが、ここでXおよびZは、独立して、長さが2~7(例として、2、3、4、5、6、または7)ヌクレオシドであり、ならびにYは、長さが6~10(例として、6、7、8、9、または10)ヌクレオシドであり、ここでZ中の位置1、2、3、4、5、6、または7(最も5'にある位置が位置1である)のすべてではないが少なくとも1つ(例として、1、2、3、4、5、または6つ)は、非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例として、2'-MOEまたは2'-O-Me)であり、ここでXとZとの両方におけるヌクレオシドの残りは、2'-4'二環式ヌクレオシド(例として、LNAまたはcEt)であり、ならびにここでY中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(例として、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'配置を含むが、ここでXおよびZは、独立して、長さが2~7(例として、2、3、4、5、6、または7)ヌクレオシドであり、ならびにYは、長さが6~10(例として、6、7、8、9、または10)ヌクレオシドであり、ここでX中の位置1、2、3、4、5、6、または7のすべてではないが少なくとも1つ(例として、1、2、3、4、5、または6つ)およびZ中の位置1、2、3、4、5、6、または7(最も5'にある位置が位置1である)のすべてではないが少なくとも1つ(例として、1、2、3、4、5、または6つ)は、非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例として、2'-MOEまたは2'-O-Me)であり、ここでXとZとの両方におけるヌクレオシドの残りは、2'-4'二環式ヌクレオシド(例として、LNAまたはcEt)であり、ならびにここでY中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。

10

20

【0118】

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(例として、DMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、長さが10~20ヌクレオシド(例として、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20ヌクレオシド)であり、配列番号22(TGAC TGGTGGGCGCTG)の少なくとも8の連続するヌクレオシド(例として、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、または少なくとも16の連続するヌクレオシド)に対する相補性の領域を含み、かつ5'-X-Y-Z-3'配置を含むが、ここでXは、3~5(例として、3、4、または5)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(例として、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;Yは、6~10(例として、6、7、8、9、または10)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、任意にかつ独立して、5-メチル-シトシンである;およびZは、3~5(例として、3、4、または5)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(例として、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。

30

40

【0119】

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(例として、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(CAGCGCCACCAUGA)のヌクレオチド配列の少なくとも8の連続するヌクレオシド(例として、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、または少なくとも16の連続するヌクレオシド)を含み、かつ5'-X-Y-Z-3'配置を含むが、ここでXは、3~5(例として、3、4、または5)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

50

として、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;Yは、6~10(例えば、6、7、8、9、または10)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、任意にかつ独立して、5-メチル-シトシンである;およびZは、3~5(例えば、3、4、または5)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(例として、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)と置き換えられていてもよく、および各Uは、独立してかつ任意に、Tと置き換えられていてもよい。

【0120】

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(例として、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、かつ5'-X-Y-Z-3'配置を含むが、ここでXは、3~5(例として、3、4、または5)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(例として、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;Yは、6~10(例として、6、7、8、9、または10)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、任意にかつ独立して、5-メチル-シトシンである;およびZは、3~5(例として、3、4、または5)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(例として、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)と置き換えられていてもよく、および各Uは、独立してかつ任意に、Tと置き換えられていてもよい。

【0121】

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(例として、LNA、cEt、またはENA)、および少なくとも1つの非二環式2'-修飾ヌクレオシド、例として2'-MOE修飾ヌクレオシドまたは2'-O-Me修飾ヌクレオシドを含むか、および/または(例として、および)Zは、少なくとも1つの2'-4'二環式ヌクレオシド(例として、LNA、cEt、またはENA)、および少なくとも1つの非二環式2'-修飾ヌクレオシド(例として、2'-MOE修飾ヌクレオシドまたは2'-O-Me修飾ヌクレオシド)を含む。

【0122】

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の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。

【0123】

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、またはそれらの組み合わせによって一緒に結び合わされている。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、各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ミックスを含む。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ミックスを含む。

【0124】

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'

配置を含むが、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中の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、またはそれらの組み合わせを含む。

【0125】

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中の各シチジン(例として、2'-修飾シチジン)は、任意にかつ独立して、5-メチル-シチジンであるか、および/または、Xおよび/またはZ中の各ウリジン(例として、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。

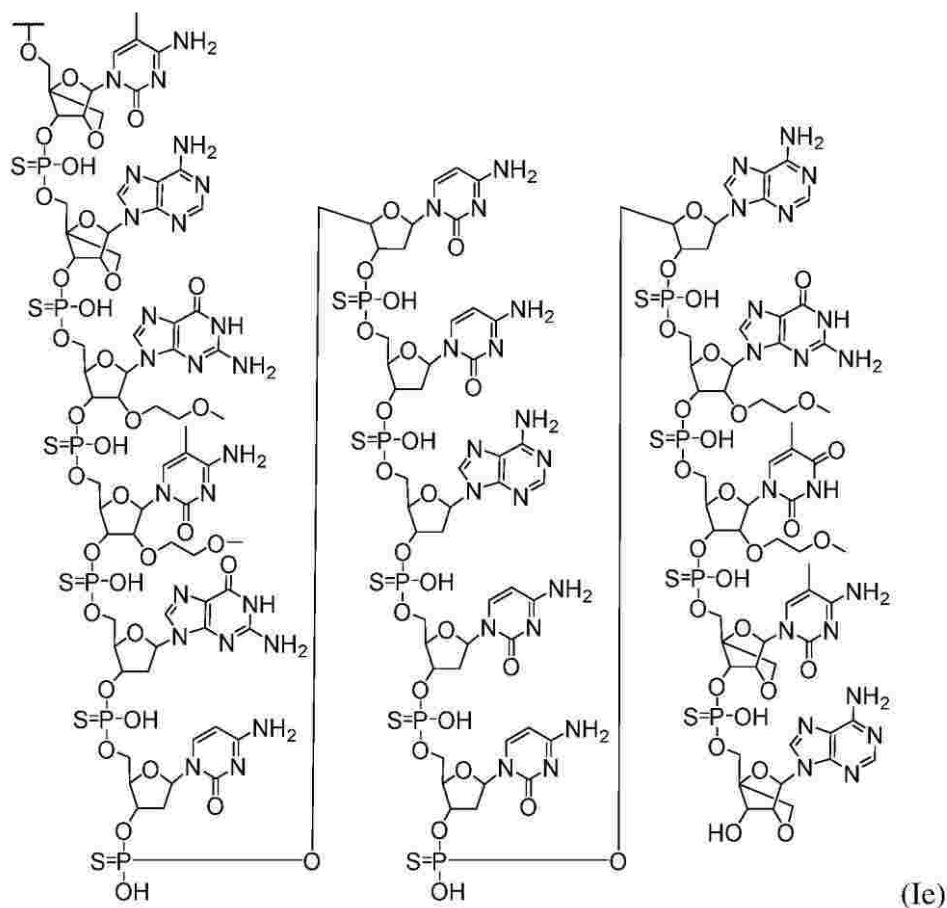
【0126】

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(例として、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、かつCAGCGCCACCAGUCA(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(例として、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*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。

【0127】

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(例として、本明細書に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)は、式(Ie)：

【化10】



で表される構造を含む。

【0128】

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(例として、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、例として、ナトリウム塩、カリウム塩、またはマグネシウム塩としての塩形態にあり得る。

【0129】

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(例として、末端ヌクレオシド)は、アミン基へ、任意にスペーサーを介して、抱合されている。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は、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(例として、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ており、前記スペーサーは、置換もしくは非置換の脂肪族、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族、置換もしくは非置換のカルボシクリレン、置換もしくは非置換のヘテロシクリレン、置換もしくは非置換のアリーレン、置換もしくは非置換のヘテロアリーレン、-O-、-N(R^A)-、-S-、-C(=O)-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^A-、-NR^AC(=O)-、-NR^AC(=O)R^A-、-C(=O)R^A-、-NR^AC(=O)O-、-NR^AC(=O)N(R^A)-、-OC(=O)-、-OC(=O)O-、-OC(=O)N(R^A)-、-S(O)₂NR^A-、-NR^AS(O)₂-、またはそれらの組み合わせである;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み合わせである。

10

20

【0130】

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-で表される化合物へ抱合されているが、式中nは、1から12までの整数である。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は、式NH₂-(CH₂)_n-で表される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-で表される化合物は、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'ホスファートとの間の反応を介してオリゴヌクレオチドへ抱合されている。

30

【0131】

いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、標的化剤、例として抗TfR1抗体などの筋標的化剤へ、例として標的化剤のリシンのアミン基を介して、抱合されている。

【0132】

いくつかの態様において、C5位置での核酸塩基ウラシルのメチル化が、チミンを形成することは解されるはずである。よって、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。

40

【0133】

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つにおけるチミン塩基(T)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(例として、配列番号21に記述されるとおりのオリゴヌクレオチド)におけるU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。

【0134】

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)を含むが、それら複合体の各々は、1以上のオリゴヌクレオチド(例として、本明細書

50

に記載のDMPK標的化オリゴヌクレオチド)へ共有結合的に連結される抗体(例として、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。本明細書に記載の組成物の複合体は、本明細書に提供されるいずれかの構造、例として、式(I)(例として、式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)、もしくは式(Id)を含む)または式(A)で表される構造を含み得る。

【0135】

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、その式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチド(例として、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、かつ 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(例として、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(例として、リシン)へ共有結合的に連結されている。

10

【0136】

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、最大で、抗体(例として、 R^2 内に含まれる抗体)中の抱合が所望または標的に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の範囲にある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、1~2、1~3、1~5、1~10、1~26、または1~27の範囲にある。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(例として、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

【0137】

いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物は、(例として、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): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含むが、そのため $n1$ はゼロである化合物と称されることもある。結果的に、いくつかの態様において、本明細書に記載の方法において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(例として、複合体)を含むが、その式中各 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、および $n1$ は、独立して、各化合物(例として、複合体)中の R^1 の実例の数を反映するゼロ以上の整数である。いくつかの態様において、 $n1$ 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、 $n1$ が1以上である組成物中のその構造で表されるすべての化合物と比較して、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。そのため、いくつかの態様において、本明細書に開示の組成物中の複合体の $n1$ の平均値は、0.5~5(例として、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

40

50

、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)の範囲内にある。

【0138】

製剤

本明細書に提供される複合体は、医薬への使用に好適な様式で製剤化されている。いくつかの態様において、複合体は、分解を最小限に抑え、送達および/または(例として、および)取り込みを容易にする製剤を使用して、対象へ送達され得るか、あるいは製剤中の複合体へ別の有益な特性を提供する。従って、いくつかの態様において、複合体(例として、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、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(またトロメタミンもしくはTHAMとしても知られている)および/またはスクロースとともに製剤化することは、例として本明細書に記載のとおり、医薬への使用に殊更有利であることが見出されている。よって、いくつかの態様において、本明細書に提供されるのは、複合体を、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよび/またはスクロースと一緒に含む製剤(例として、水性溶液、凍結乾燥形態、または凍結形態)である。かかる製剤は、対象の標的細胞周囲の環境中または対象の全身のいずれかへ投与されたとき充分量の複合体が標的筋細胞に侵入できるように、好適に調製され(prepared)得る。

【0139】

いくつかの態様において、抗体へ共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含む複合体(すなわち、複数の複合体)を含む製剤が本明細書に提供される。いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、複合体を含む製剤であるが、それら複合体における各複合体は、抗TfR1抗体へ共有結合的に連結されたオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)を含み、任意にここにかかる複合体の抗体は、表2に記述されたとおりのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含み、ならびに、さらにいくつかの態様において、ここで複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースで製剤化されている。いくつかの態様において、抗体は、抗TfR1抗体である。

【0140】

いくつかの態様において、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含む製剤が提供されるが、その式中各 R^1 は、独立して、オリゴヌクレオチド(例として、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、および R^2 は、抗体(例として、抗TfR1抗体)を含み、ならびに式中 $n1$ は、各複合体中の R^1 の実例の数を表す整数である。

【0141】

いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤は、表2に記述されたとおりのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む抗体を含む複合体を含む。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、および配列番号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、Fabであり、かつ配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0142】

いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤は、本明細書に記載の複合体を、製剤の1mL当たり1mgと50mgとの間の複合体の濃度にて含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤は、複合体を、10～50mg/mLまたは20～35mg/mL(例として、15～45mg/mL、20～40mg/mL、25～35mg/mL、25.5～34.5mg/mL、26～34mg/mL、27～33mg/mL、28～32mg/mL、29～31mg/mL、29.5～30.5mg/mL、10～40mg/mL、15～35mg/mL、20～30mg/mL、21～29mg/mL、21.2～28.8mg/mL、22～28mg/mL、23～27mg/mL、24～26mg/mL、もしくは24.5～2

5.5 mg/mL)の濃度にて含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤は、複合体を、およそ25 mg/mL(例として、25 mg/mL)の濃度にて含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤は、複合体を、およそ30 mg/mL(例として、30 mg/mL)の濃度にて含む。いくつかの態様において、製剤中の複合体の濃度は、設定値の最大で20%まで(例として、最大で $\pm 20\%$ まで、最大で $\pm 15\%$ まで、最大で $\pm 10\%$ まで、または最大で $\pm 5\%$ まで)の差で変動してもよい。例えば、いくつかの態様において、製剤中の複合体の濃度は、30 mg/mLの最大で $\pm 15\%$ まで(例として、 30 ± 4.5 mg/mL)である。例えば、いくつかの態様において、製剤中の複合体の濃度は、25 mg/mLの最大で $\pm 15\%$ まで(例として、 25 ± 3.8 mg/mL)である。

【0143】

いくつかの態様において、本明細書に記載の、いずれか1つのまたは複数の複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに、水性溶液で製剤化されている。いくつかの態様において、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中5~50 mM(例として、5~40 mM、5~35 mM、5~30 mM、10~50 mM、15~45 mM、10~40 mM、20~40 mM、20~35 mM、20~30 mM、21~29 mM、22~28 mM、23~27 mM、24~26 mM)の範囲にある濃度にて存在する。いくつかの態様において、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中およそ25 mM(例として、25 mM)の濃度にて存在する。いくつかの態様において、スクロースは、水性溶液中に、体積当たり5%~15%重量(w/v%)、例えば、7~13% w/v%、8~15% w/v%、9~15% w/v%、9~11% w/v%、9.5~11% w/v%の範囲にあるか、または例えば、9~10 w/v%、10~11 w/v%、10~12 w/v%、もしくは8~12 w/v%の範囲にある濃度にて存在する。いくつかの態様において、スクロースは、水性溶液中7~13 w/v%、8~12 w/v%、9~11 w/v%の範囲にある濃度にて存在する。いくつかの態様において、スクロースは、水性溶液中およそ10 w/v%(例として、10 w/v%)の濃度にて存在する。いくつかの態様において、水性溶液は、6.5~8.5、例えば、6.5~6.5、6.7~6.9、6.9~7.1、7.1~7.3、7.2~7.8、7.3~7.5、7.4~7.5、7.4~7.6、7.5~7.6;例えば、7.0~8.0の範囲にあるpH、または例えば、7.0~7.3、7.2~7.8、7.3~7.5、7.4~7.6、7.5~7.6、7.5~7.7、7.7~7.9、7.9~8.0、8.0~8.2、8.2~8.4、8.3~8.4、8.4~8.5、8.5~8.6、もしくは7.3~7.7の範囲にあるpHを有する。いくつかの態様において、水性溶液は、7.0~8.0(例として、7.0~7.8、7.1~7.8、7.2~7.8、7.3~7.7、7.3~7.5、7.3~7.6、7.4~7.6、または7.4~7.8)の範囲にあるpHを有する。いくつかの態様において、水性溶液は、およそ7.5(例として、7.5)のpHを有する。いくつかの態様において、水性溶液は、7.4~7.7の範囲にあるpHを有する。いくつかの態様において、水性溶液は、7.4~7.6の範囲にある(例として、7.5または約7.5)のpHを有する。

【0144】

いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤のいずれか1つは、水性溶液にあり、ここでトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中におよそ25 mM(例として、25 mM)の濃度にて存在し、ここでスクロースは、水性溶液中におよそ10 w/v%(例として、10 w/v%)の濃度にて存在し、およびここで水性溶液は、およそ7.5(例として、7.5)のpHにある。

【0145】

いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤のいずれか1つは、水性溶液にあり、ここでトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中におよそ25 mM(例として、25 mM)の濃度にて存在し、ここでスクロースは、水性溶液中におよそ10 w/v%(例として、10 w/v%)の濃度にて存在し、ここで複合体は、水性溶液中におよそ20~35 mg/mL(例として、25 mg/mLまたは30 mg/mL)の濃度にて存在し、およびここで水性溶液は、およそ7.5(例として、7.5)のpHにある。

【0146】

いくつかの態様において、本明細書に記載の、いずれか1つのまたは複数の複合体は、

10

20

30

40

50

トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに、凍結乾燥形態(例として、凍結乾燥粉末)で製剤化されている。いくつかの態様において、凍結乾燥形態(例として、凍結乾燥粉末)は、本明細書に記載の水性溶液のいずれか1つの凍結乾燥によって得られる。

【0147】

いくつかの態様において、凍結乾燥形態は、凍結乾燥ケーキである。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、本明細書に提供される複数の複合体、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、およびスクロースを含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり $1 \times 10^{-2} \text{mg} \sim 1.5 \text{mg}$ (例として、 $1 \times 10^{-2} \text{mg} \sim 1.5 \text{mg}$ 、 $4.02 \times 10^{-2} \text{mg} \sim 1.21 \text{mg}$ 、 $6 \times 10^{-2} \text{mg} \sim 1 \text{mg}$ 、 $8 \times 10^{-2} \text{mg} \sim 1 \text{mg}$ 、 $0.1 \text{mg} \sim 1 \text{mg}$ 、 $0.05 \text{mg} \sim 0.2 \text{mg}$ 、 $0.05 \text{mg} \sim 0.3 \text{mg}$ 、 $0.05 \text{mg} \sim 0.4 \text{mg}$ 、 $0.1 \text{mg} \sim 0.2 \text{mg}$ 、 $0.1 \text{mg} \sim 0.3 \text{mg}$ 、 $0.1 \text{mg} \sim 0.4 \text{mg}$ 、 $0.1 \text{mg} \sim 0.5 \text{mg}$ 、 $0.2 \text{mg} \sim 0.3 \text{mg}$ 、 $0.2 \text{mg} \sim 0.4 \text{mg}$ 、 $0.2 \text{mg} \sim 0.4 \text{mg}$ 、 $0.3 \text{mg} \sim 0.4 \text{mg}$ 、または $0.3 \text{mg} \sim 0.5 \text{mg}$)トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり $900 \text{mg} \sim 1100 \text{mg}$ (例として、 $900 \text{mg} \sim 1100 \text{mg}$ 、 $989 \text{mg} \sim 999 \text{mg}$ 、 $950 \text{mg} \sim 1000 \text{mg}$ 、 $980 \text{mg} \sim 1000 \text{mg}$ 、 $980 \text{mg} \sim 1000 \text{mg}$ 、 $980 \text{mg} \sim 990 \text{mg}$ 、 $990 \text{mg} \sim 1000 \text{mg}$ 、 $995 \text{mg} \sim 1000 \text{mg}$ 、 $992 \text{mg} \sim 998 \text{mg}$ 、 $994 \text{mg} \sim 999 \text{mg}$)スクロースを含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり $0.5 \text{mg} \sim 10 \text{mg}$ (例として、 $0.5 \text{mg} \sim 10 \text{mg}$ 、 $0.5 \text{mg} \sim 1.5 \text{mg}$ 、 $1 \text{mg} \sim 2 \text{mg}$ 、 $1.5 \text{mg} \sim 3 \text{mg}$ 、 $1 \text{mg} \sim 8 \text{mg}$ 、 $0.5 \text{mg} \sim 6 \text{mg}$ 、 $0.5 \text{mg} \sim 5 \text{mg}$ 、 $1.5 \text{mg} \sim 3.5 \text{mg}$ 、 $1.5 \text{mg} \sim 4 \text{mg}$ 、 $1.5 \text{mg} \sim 5 \text{mg}$ 、 $2 \text{mg} \sim 5 \text{mg}$ 、 $2.5 \text{mg} \sim 5 \text{mg}$ 、 $2 \text{mg} \sim 3 \text{mg}$ 、 $3 \text{mg} \sim 4 \text{mg}$ 、 $4 \text{mg} \sim 5 \text{mg}$)の複合体を含む。

【0148】

いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり 0.303mg トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ケーキの1g当たり 998.6mg スクロース、および/または(例として、および)ケーキの1g当たり 0.999mg 複合体を含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり 0.302mg トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ケーキの1g当たり 997.7mg スクロース、および/または(例として、および)ケーキの1g当たり 1.995mg 複合体を含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり 0.302mg トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ケーキの1g当たり 997.2mg スクロース、および/または(例として、および)ケーキの1g当たり 2.49mg 複合体を含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり 0.302mg トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ケーキの1g当たり 996.7mg スクロース、および/または(例として、および)ケーキの1g当たり 2.99mg 複合体を含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり 0.302mg トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ケーキの1g当たり 995.7mg スクロース、および/または(例として、および)ケーキの1g当たり 3.98mg 複合体を含む。いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキは、ケーキの1g当たり 0.301mg トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ケーキの1g当たり 994.7mg スクロース、および/または(例として、および)ケーキの1g当たり 4.97mg 複合体を含む。

【0149】

いくつかの態様において、凍結乾燥ケーキの(例として、水での)再構成により、 $5 \sim 10 \text{mg/mL}$ のトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを $5 \sim 50 \text{mM}$ の濃度にて、スクロースを $5 \text{w/v} \% \sim 15 \text{w/v} \%$ の濃度にて、および/または(例として、および)複合体を $10 \text{mg/mL} \sim 50 \text{mg/mL}$ の濃度にて、含む溶液がもたらされる。いくつかの態様において、 10.053g の凍結乾燥ケーキの、溶媒(例として、水)での再構成により、 1mL の再構成溶液を形成すると、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを $5 \sim 50 \text{mM}$ (任意に 25mM)の濃度にて、スクロースを $5 \text{w/v} \% \sim 15 \text{w/v} \%$ (任意に $10 \text{w/v} \%$)の濃度にて、および/または(例として、および)複合体を $10 \text{mg/mL} \sim 50 \text{mg/mL}$ の濃度にて、含む溶液がもたらされる。いくつかの態様において、約 10g の凍結乾燥ケーキの、溶媒(例として、水)での再構成により、 1mL の再構成溶液を形成すると、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを $5 \sim 50 \text{mM}$ (

任意に25 mM)の濃度にて、スクロースを5 w/v%~15 w/v%(任意に10 w/v%)の濃度にて、および/または(例として、および)複合体を10 mg/mL~50 mg/mLの濃度にて、含む溶液がもたらされる。

【0150】

いくつかの態様において、本明細書に記載の、いずれか1つのまたは複数の複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに、凍結形態(例として、凍結水性固体)で製剤化されている。いくつかの態様において、凍結形態(例として、凍結水性固体)は、本明細書に記載の水性溶液のいずれか1つを凍結することによって得られる。凍結形態は、-20℃未満の(例として、-20℃未満、-30℃未満、-40℃未満、-50℃未満、-60℃未満、-70℃未満、-80℃未満の、またはそれより低い)温度まで凍結されていてもよい。

10

【0151】

いくつかの態様において、製剤中の各複合体の n_1 の値は、独立してかつ任意に、ゼロから、最大で、抗体(R^2)において抱合が所望または標的にされるアミノ酸残基の数(例として、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、製剤中の各複合体の n_1 の値は、独立してかつ任意に、0、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、製剤中の各複合体の n_1 の値は、独立してかつ任意に、0、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、製剤中の各複合体の n_1 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の範囲にある整数から選択される。いくつかの態様において、製剤中の複合体の n_1 の平均値は、1~2、1~3、1~5、1~10、1~26、または1~27の範囲にある。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤は、式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含むが、式中 n_1 は、0である。いくつかの態様において、製剤の複合体の n_1 の平均値は、0.5~5(例として、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

【0152】

いくつかの態様において、本明細書における複合体(例えば、本明細書に提供される製剤の複合体)中の R^1 の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残基へにコ抱合されている。いくつかの態様において、各異なるアミノ酸は、 ϵ -アミノ基(例として、リシン、アルギニン)を含む。しかしながら、いくつかの態様において、 R^1 が共有結合的に連結されている各異なるアミノ酸は、システインである。いくつかの態様において、 R^1 は、抗体のアミノ酸残基へ共有結合的に直接連結されている。しかしながら、いくつかの態様において、 R^1 は、抗体のアミノ酸へ共有結合的に間接的に連結されており、例として、アミノ酸上のグリコシル化部位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、その R^1 が抗体のCDR領域にあるアミノ酸残基へ共有結合的に連結された複合体が、微量でしか存在しないか、または検出不能な量で存在するか、またはまったく存在しない製剤が提供される。いくつかの態様において、その R^1 が抗体のCDR領域にあるアミノ酸残基へ共有結合的に連結された複合体が、標準的な検出技法を使用しても製剤から検出不能である製剤が提供される。

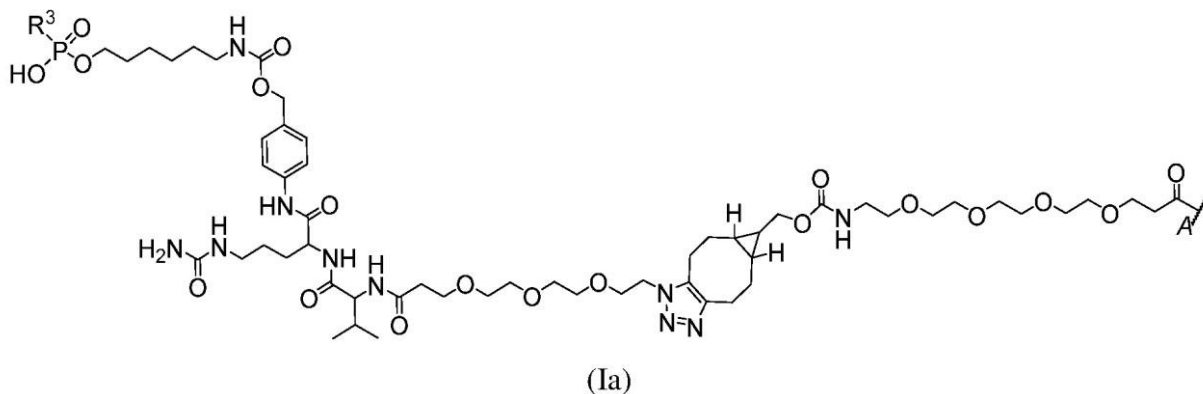
40

【0153】

いくつかの態様において、本明細書に提供される製剤は、式(I): $[R^1]_{n_1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含むが、その式中 R^1 の各実例は、独立して、式(Ic):

50

【化 1 1】



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、例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含む；および R^1 は、 R^2 へ付着点A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体を含む。例えば、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)、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)、および配列番号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、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、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^3 は、CAGCGCCACCCAGUCA(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-ウリジンを表し、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(例として、1~27、1~26、1~10、1~5、または1~3の範囲にある整数)である。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤はさらに、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複合体を含む。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(例として、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

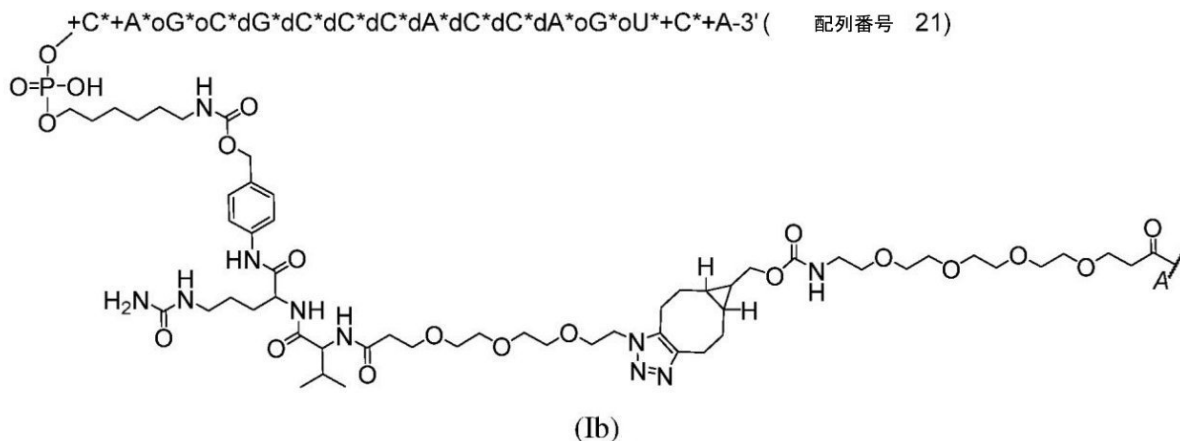
.8、0.9～1.6、0.9～1.5、0.9～1.4、0.9～1.3、または0.9～1.2)の範囲内にある。いくつかの態様において、製剤はさらに、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースを含む。いくつかの態様において、製剤は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを25mMの濃度にて、および/または(例として、および)スクロースを10w/v%の濃度にて含み、任意にここで製剤は、7.5のpHを有する。いくつかの態様において、製剤は、複合体を30mg/mLの濃度にて含む。

【0154】

いくつかの態様において、本明細書に提供される製剤は、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製剤の複合体中の R^1 の各実例は、式(Ib):

10

【化12】



20

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、ならびに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が、式中 $n1$ は、各複合体中の R^1 の実例の数を表す整数(例として、1以上)であり、および各 R^1 は、 R^2 へ付着点A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体を含む。例えば、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)、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)、および配列番号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、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。

30

40

50

いくつかの態様において、 R^2 は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント、scFv、またはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤はさらに、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複合体を含む。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(例として、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)の範囲内にある。いくつかの態様において、製剤はさらに、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースを含む。いくつかの態様において、製剤は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを25mMの濃度にて、および/または(例として、および)スクロースを10w/v%の濃度にて含み、任意にここで製剤は、7.5のpHを有する。いくつかの態様において、製剤は、複合体を30mg/mLの濃度にて含む。

10

20

30

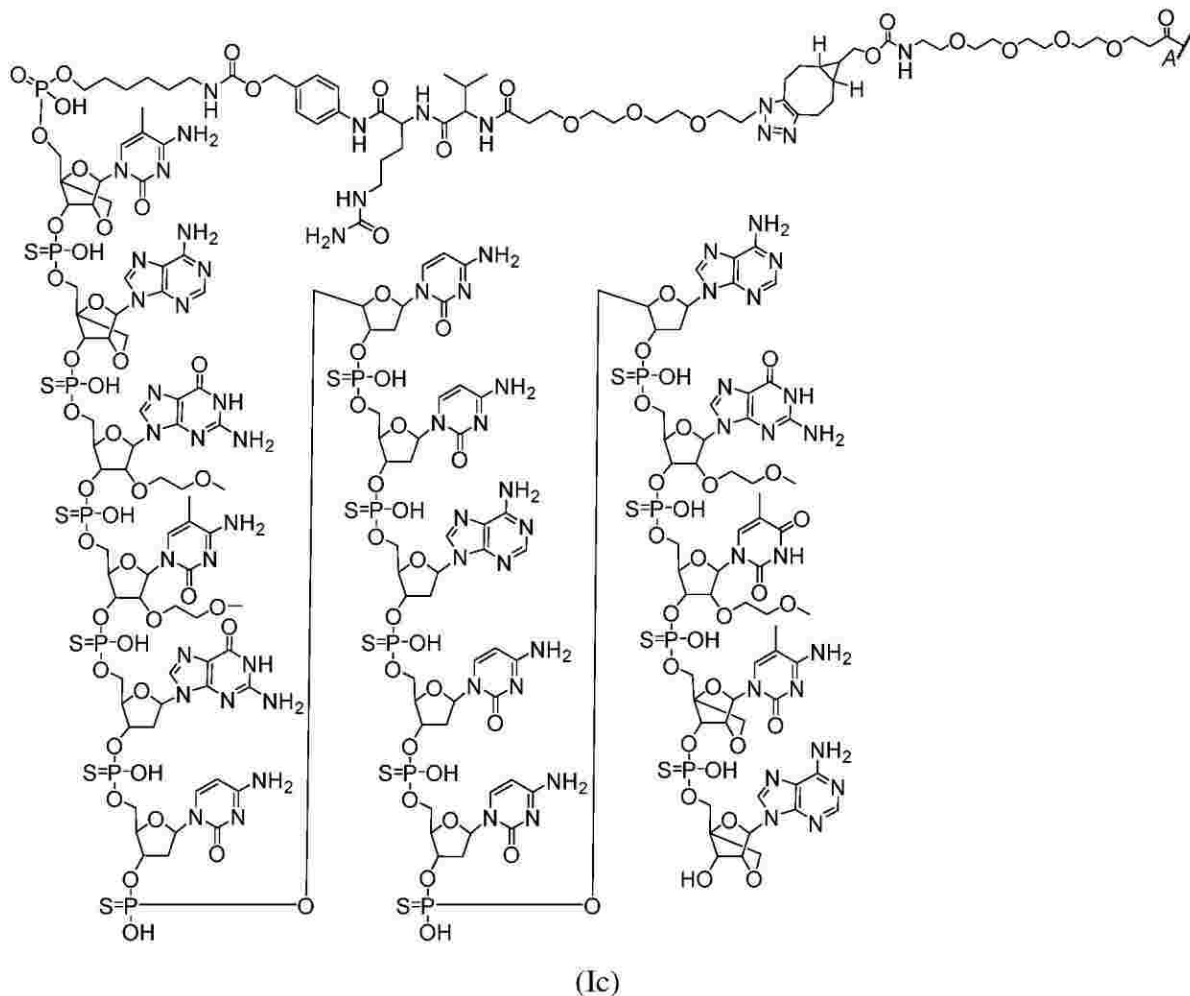
40

50

【0155】

いくつかの態様において、本明細書に提供される製剤は、式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含み、その式中各 R^1 は、式(Ic):

【化13】



で表される基を含み、式中 R^1 は、 R^2 へ付着点A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に記述されるとおりの配列を含む抗体を含む。例えば、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)、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)、および配列番号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)を含む、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤はさらに、式(I):[R¹]_{n1}-R²、式中n1は0である、で表される構造を含む複合体を含む。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(例として、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)の範囲内にある。いくつかの態様において、製剤はさらに、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースを含む。いくつかの態様において、製剤は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを25mMの濃度にて、および/または(例として、および)スクロースを10w/v%の濃度にて含み、任意にここで製剤は、7.5のpHを有する。いくつかの態様において、製剤は、複合体を30mg/mLの濃度にて含む。

10

20

30

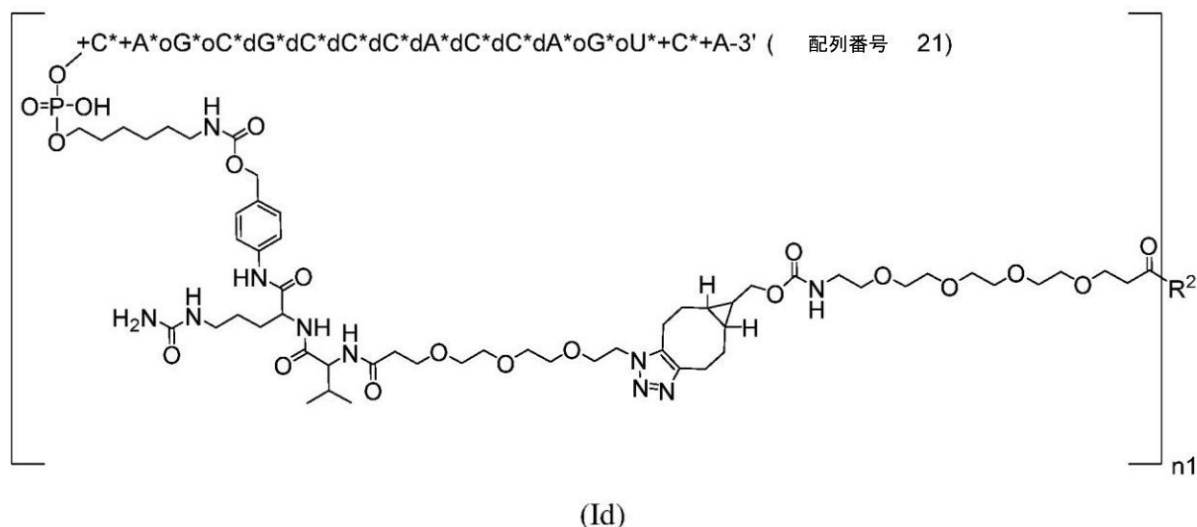
40

50

【0156】

いくつかの態様において、本明細書に提供される製剤は、式(Id):

【化14】



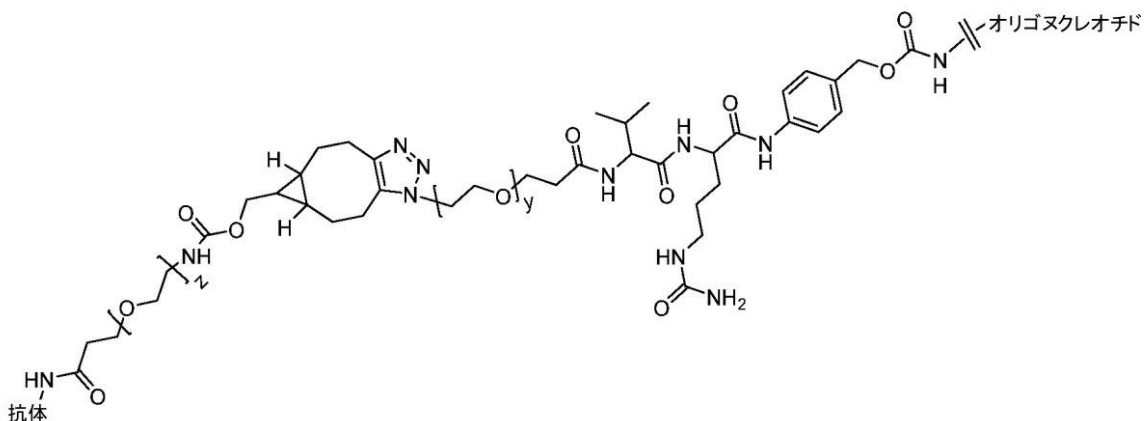
で表される構造を含む複合体を含み、式中+Nは、LNA(2'-4'メチレン架橋)リボヌクレオシドを表し、dNは、2'-デオキシリボヌクレオシドを表し、oNは、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボヌクレオシドを表し、oCは、5-メチル-2'-MOE-シチジンを表し、+Cは、5-メチル-2'-4'-二環式-シチジン(2'-4'メチレン架橋)を表し、oUは、5-メチル-2'-MOE-ウリジンを表し、*は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表し、ならびにここでオリゴヌクレオチドは、CAGCGCCACACAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列

を含む;式中 R^2 は、表2に記述されたとおりの配列を含む抗体を含む;式中 $n1$ は、角括弧によって囲まれる基の実例の数を表す整数(例として、1以上)であり、ここで角括弧によって囲まれる基の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各異なるアミノ酸残基は、リシンである。例えば、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)を含むか;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)、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)、および配列番号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、抗体を含む。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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、抗体を含む。いくつかの態様において、 R^2 は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント、scFv、またはFvである抗体を含む。いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤はさらに、 $n1$ が0である複合体を含む。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(例として、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)の範囲内にある。いくつかの態様において、製剤はさらに、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースを含む。いくつかの態様において、製剤は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを25mMの濃度にて、および/または(例として、および)スクロースを10w/v%の濃度にて含み、任意にここで製剤は、7.5のpHを有する。いくつかの態様において、製剤は、複合体を30mg/mLの濃度にて含む。

【0157】

いくつかの態様において、本明細書に記載の製剤中に提供される複合体は、式(A):

【化15】



10

20

30

40

50

で表される構造を含み、式中yは、0～15(例として、3)、およびzは、0～15(例として、4)である。いくつかの態様において、構造(A)中で抗体(例として、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体のアミンとの反応の結果として生じる。いくつかの態様において、本明細書に記載の複合体は、その抗体のリシンを介しオリゴヌクレオチド(例として、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチド)の5'末へ共有結合的に連結された抗TfR1抗体(例として、抗TfR1 Fab)を含む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。例えば、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)、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)、および配列番号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。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%(例として、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)を含むか、および/または配列番号18と少なくとも85%(例として、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を含むか、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%(例として、少なくとも95%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、および/または配列番号20と少なくとも85%(例として、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むか、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フラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。いくつかの態様において、抗体は、Fabフラグメントである。いくつかの態様において、製剤はさらに、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースを含む。いくつかの態様において、製剤は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを25mMの濃度にて、および/または(例として、および)スクロースを10w/v%の濃度にて含み、任意にここで製剤は、7.5のpHを有する。いくつかの態様において、製剤は、複合体を30mg/mLの濃度にて含む。

【0158】

本明細書に記載のとおり、いくつかの態様において、本明細書に提供される製剤は、スクロースを含む。いくつかの態様において、スクロースは、少なくとも一部が凍結乾燥保護剤(lyoprotectant)として働く。いくつかの態様において、スクロースは、植物、例として、草、果実、もしくは野菜(例として、根菜)の供給源(例として、ビート(例として、サトウダイコン、例えば、*Saccharum* spp.))、サトウキビ(例として、*Beta vulgaris*)、ナツメヤシ、サトウカエデ、スイートソルガム、リンゴ、オレンジ、ニンジン、モラッセ、メープルシロップ、トウモロコシ甘味料)、または動物製品(例として、蜂蜜)からのものである。いくつかの態様において、スクロースは、ビートまたはサトウキビ(例として、ビートスクロース、サトウキビスクロース)からのものである。いくつかの態様において、スクロース以外の凍結保護剤(lyoprotectant)、例として、トレハロース、マンニトール、ラクトース、ポリエチレングリコール、またはポリビニルピロリドンも、使用されてもよい。しかしながら、いくつかの態様において、崩壊温度改良剤(collapse temperature modifier)(例として、デキストラン、フィコール、またはゼラチン)が製剤中に提供されていてもよい。

【0159】

いくつかの態様において、提供されるのは、本明細書に記載の製剤(例として、水性形態)の水性溶液を凍結乾燥することを含むプロセスによって産生された産物(例として、本明細書に記載の凍結乾燥製剤)である。

【0160】

いくつかの態様において、医薬組成物は、その意図された投与ルートに適合するように製剤化されている。投与ルートの例は、非経口、例として、静脈内、皮内与、皮下を包含する。典型的には、投与ルートは、静脈内または皮下である。

【0161】

使用/処置の方法

本明細書に記載のとおり分子ペイロード(例として、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(例として、Fab)を含む複合体は、筋緊張性ジストロフィー、例としてDM1を有する対象を処置するのに有効である。いくつかの態様において、複合体は、オリゴヌクレオチド、例として、DMPKの低減された発現または活性(例として、突然変異体または野生型のDMPK RNAの低減されたレベル)を容易にするオリゴヌクレオチド、である分子ペイロードを含む。

10

【0162】

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、またはいずれか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、筋緊張性ジストロフィーを有していてもよい。いくつかの態様において、対象は、疾患関連反復、例としてCTGトリヌクレオチド反復伸長を任意に含有していてもよい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の反復単位、約2~50の反復単位、約2~100の反復単位、約50~1,000の反復単位、約50~500の反復単位、約50~250の反復単位、約50~100の反復単位、約500~10,000の反復単位、約500~5,000の反復単位、約500~2,500の反復単位、約500~1,000の反復単位、または約1,000~10,000の反復単位を含む、伸長した疾患関連反復をもつDMPK対立遺伝子を有していてもよい。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いてもよい。いくつかの態様において、対象は、DM1の症状、例として、筋萎縮、筋喪失、日中の過剰な眠気、または遅知恵を患っている。いくつかの態様において、対象は、DM1の症状を患っていない。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。

20

【0163】

本開示の一側面は、本明細書に記載のとおり複合体(単数または複数)の有効量を含む製剤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、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド(例として、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、本明細書に記載の抗体(例として、Fab)を含む複合体(単数または複数)を含む医薬組成物の有効量が、処置を必要とする対象へ投与され得る。いくつかの態様において、本明細書に記載のとおり複合体(単数または複数)を含む医薬組成物は、例としてボラスとしてのまたはある期間にわたる連続注入による、静脈内投与を包含してもよい好適なルートによって投与されてもよい。いくつかの態様において、投与は、静脈内、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、または髄腔内のルートによって実施されてもよい。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、水性形態または液体形態は、噴霧されても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、水性溶液または液体溶液で再構成されてもよい。

30

40

【0164】

いくつかの態様において、提供されるのは、有効量の複合体(単数または複数)を含む本明細書に記載の製剤を対象へ投与することを含む、DMPK対立遺伝子を有する対象を処置するための方法および/または使用であって、前記対立遺伝子は任意に、疾患関連反復を含有していてもよい。いくつかの態様において、提供されるのは、細胞(例として、筋細胞)におけるDMPKの発現または活性を低減させる(例として、突然変異体もしくは野生型のDMPK RNAのレベル、またはDMPK遺伝子産物の活性を低減させる)ための方法および/または使用であって、方法は、細胞を、本明細書に記載の複合体(単数または複数)

50

の有効量を含む本明細書に記載の製剤と接触させることを含む。いくつかの態様において、方法は、本明細書に記載の製剤から凍結乾燥形態(例として、凍結乾燥粉末)を施すこと(administering)、製剤の凍結乾燥形態を水性溶液中で再構成すること、および製剤の水性溶液をこれを必要とする対象へ投与すること(administering)を含む。例えば、いくつかの態様において、製剤の凍結乾燥形態は、凍結乾燥形態で出荷および/または保管され、製剤の水性溶液を投与するための場所(例として、ヘルスケア提供者の場所)にて再構成され、および再構成形態で(例として、水性溶液として)注射によって、または静脈内に、例として注入によって、投与される。

【0165】

いくつかの態様において、医薬組成物は、部位特異的または局所の送達技法を介して投与される。これらの技法の例は、複合体の埋め込み型デポ供給源、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。

【0166】

いくつかの態様において、分子ペイロード(例として、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(例として、fab)を含む複合体を含む医薬組成物は、治療効果を対象に対して授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るとおり、疾患の重症度、処置されている対象の特有な特徴、例として、年齢(age)、体調、健康状態、または重量、処置期間(the duration of the treatment)、いずれの併用療法の性質、投与ルート、および関連因子に依存して変動する。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得る。いくつかの態様において、有効濃度は、ペイシェントにとって安全であるとみ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。

【0167】

経験的考察、例として、対象における複合体(単数または複数)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。投与の頻度は、処置の効き目を最大化するために経験的に決定および調整されてもよい。処置の効き目は、いずれかの好適な方法を使用して査定されてもよい。いくつかの態様において、処置の効き目は、筋緊張性ジストロフィーに関連する症状(例として、筋萎縮もしくは筋力低下)の評価または観察によって、対象の自己報告の転帰、例として、可動性、セルフケア、日常活動能力、疼痛/不快感、および不安/抑鬱の尺度を通して、または生活の質の指標、例として寿命によって、査定されてもよい。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、標的遺伝子の活性または発現を、対照(例として、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、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%までモジュレートするのに十分な有効濃度にて、対象へ投与される。

【0168】

例

例1. DM1マウスモデルにおけるDMPK標的化オリゴヌクレオチドへ抱合された抗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)へ抱合された抗TfR1 Fabを含む抱合体を、ヒトTfR1と、伸長したCUG反復を担持するヒトDMPK突然変異体との両方を発現するマウスモデルにおいて試験した。使用された抗TfR1 Fabは、表2に提供されるVH/VL配列を有する。Fabを、バリン-シトルリン配列を含むリンカーを介し、配列番号21の核酸塩基配列を含むDMPK標的化オリゴヌクレオチドへ(リシン抱合を通して)共有結合的に連結させた。抱合体は、式(1d):

10

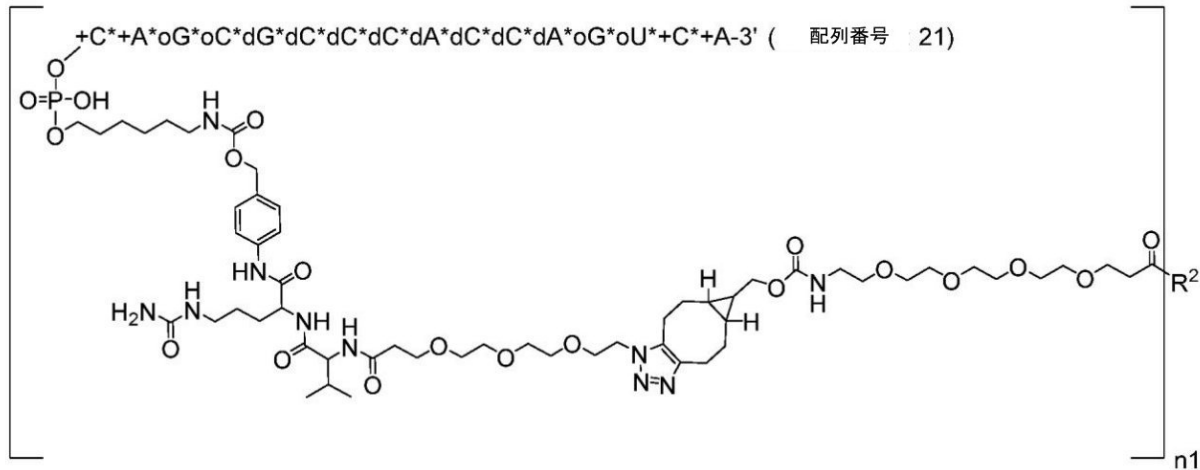
20

30

40

50

【化 1 6】



10

20

30

40

50

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、CAGCGCCACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含み、およびその式中R²は、表2に提供される抗TfR1 Fabであり、および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。

【0169】

抱合体を、第0日および第7日にてマウスへ毎回、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)によって試験し、組織中のASOのレベルをグラフ化した。図1A、図1B、図1C、および図1Dは夫々、1回目の注射から2週間後の心臓、横隔膜、腓腹筋、または前脛骨筋におけるASOの量を示す。これらの結果は、抗TfR1抗体(例として、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組織へオリゴヌクレオチド(例として、DMPK標的化ASO)を送達することが可能なことを実証する。

【0170】

例2. 抗TfR1 Fab-ASO抱合体の反復投薬から4週後での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された抗TfR1 Fabを含む、例1に記載のとおり抱合体(この例において「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識)を、ヒトTfR1と、伸長したCUG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子との両方を発現するマウスモデル(hTfR1/DMSXLマウス)において試験した。第0日および7日にて、ビヒクル対照(PBS)または10mg/kg ASO相当用量の抗TfR1 Fab-ASO抱合体のどちらかをマウスに投与した。マウスを第28日(初回用量の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の投与後4週)にてサクリファイスし、組織を収集した。RNAを抽出し、選択された組織試料を固定してパラフィン包埋、切片化し、次いでin situハイブリダイゼーションへ供した。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)を実施した。DMPK発現を、幾何平均+/-標準偏差(n=6~9)として図2A~2Dに示す。有意性を、スチューデントt検定によって査定した(**** P<0.0001)。

【0171】

図2Aは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、心臓におけるDMPK発現を、PBS処置マウスと

比べて49%までノックダウンしたことを示す。図2Bは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、横隔膜におけるDMPK発現を、PBS処置マウスと比べて40%までノックダウンしたことを示す。図2Cは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、前脛骨筋におけるDMPK発現を、PBS処置マウスと比べて49%までノックダウンしたことを示す。図2Dは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、腓腹筋におけるDMPK発現を、PBS処置マウスと比べて44%までノックダウンしたことを示す。

【0172】

図3Aおよび3Bは、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、筋線維の核内のDMPKフォーサイを低減させたことを示す。図3Aは、*in situ*ハイブリダイゼーションによる低減されたDMPKフォーサイを示し、図3Bは、蛍光顕微鏡画像におけるDMPKフォーサイの定量化を示し、これにより抱合体はフォーサイ面積を49%まで低減させたことが実証される。データを平均 $\pm$ 標準偏差($n=7$)として提示する。有意性をt検定によって査定した(* $P<0.05$)。

【0173】

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の堅固で持続的なノックダウンへ繋がることを実証する。

【0174】

例3. 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修正

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を含有する、例2に記載のとおり抱合体(この例において「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識)を、ヒトTfR1と、伸長したCUG反復を担持する2コピーの突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子との両方を発現するマウスモデル(「hTfR1/DMSXL」)において試験した。これらのマウスは、DM1を患っているペイシェントにおいて観察されるスプライシング欠陥と一致した欠陥を表示する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 ASO相当用量の抗TfR1 Fab-ASO抱合体(「hTfR1/DMSXL-抱合体」)のどちらかを第0日および7日に投与した。突然変異体ヒトDMPK導入遺伝子は発現しないが、ヒトTfR1のみを発現するマウス(hTfR1マウス)、およびPBSで処置されたマウス(「hTfR1-PBS」)を、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、かつスプライシングに対する抱合体の効果の大きさを査定するための別の対照として使用した。マウスを第28日(初回用量の抗TfR1 Fab-ASO抱合体の投与後4週)にてサクリファイスし、組織を収集してRNAを抽出した。逆転写-定量的ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)を実施することで、ヒトおよびマウスにおいてDM1進行最中にミススプライシングされることが知られている一連のRNA中のエキ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)。エキ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(percent spliced in)(PSI)として算出し、複合スプライシングインデックス(composite splicing indices)を、心臓(図4)、横隔膜(図5)、前脛骨筋(図6)、および腓腹筋(図7)におけるスプライシングマーカーからの正規化PSI値を使用して算出した。複合スプライシングインデックスを、先に記載のとおり算出し(Tanner MK, et al.(2021)Nucleic Acids Res.49:2240-2254)、平均 $\pm$ 標準偏差として示す。

【0175】

図4は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、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とおり、hTfR1/DMSXLマウスの心臓組織においてスプライシングを修正したことを示す。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た正規化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いて、Mbnl2エキソン6(E6)およびNfix E7のスプライシングの修正を示したが、Ldb3 E11スプライシングの修正は示さなかった。図4に示される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のスプライシングデータに基づくものであった;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hTfR1/DMSXLマウスにおいてhTfR1マウスと比べ変化しなかったため、包含されなかった。

【0176】

図5は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、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たとおり、hTfR1/DMSXLマウスの横隔膜組織においてスプライシングを修正したことを示す。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いて、Bin1 E11、Insr E11、Ldb3 E11、およびNfix E7のスプライシングの修正を示した。図7に示される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のスプライシングデータに基づくものであった;Dtna E12、Mbnl2 E5、Mbnl2 E6、およびTtn E313は、横隔膜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hTfR1/DMSXLマウスにおいてhTfR1マウスと比べ変化しなかったため、包含されなかった。

10

【0177】

図6は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、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たとおり、hTfR1/DMSXLマウスの前脛骨筋組織においてスプライシングを修正したことを示す。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た正規化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いて、Bin1 E11、Ldb3 E11、およびNfix E7のスプライシングの修正を示したが、Mbnl2 E6スプライシングの修正は示さなかった。図6に示される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のスプライシングデータに基づくものであった;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hTfR1/DMSXLマウスにおいてhTfR1マウスと比べ変化しなかったため、包含されなかった。

20

【0178】

図7は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、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たとおり、hTfR1/DMSXLマウスの腓腹筋組織においてスプライシングを修正しなかったことを示す。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いて、Mbnl2 E6、Nfix E7、およびTtn E313のスプライシングの修正を示した。図7に示される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のスプライシングデータに基づくものであった;Bin1 E11、Dtna E12、Insr E11、Ldb3 E11、およびMbnl2 E5は、腓腹筋組織におけるそれらの正規化PSI値が、試験した実験条件下hTfR1/DMSXLマウスにおいてhTfR1マウスと比べ変化しなかったため、包含されなかった。

30

【0179】

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修正を容易にすることを実証する。

40

【0180】

例4. 霊長目の非ヒト動物およびDM1ペイシエント筋管における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された抗TfR1 Fabを含む、例1に記載のとおり抱合体(この例において「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識)を、ヒトDM1ペイシエント筋管(32F細胞)において、および霊長目の非ヒト動物(NHP)筋管において試験した。使用されたDM1ペイシエント筋管は、380のCUG反復を含む突然変異体DMPK mRNAと野生型DMPK mRNAとの両方を発現する。使用されたNHP筋管は、野生型DMPKのみを発現する。

【0181】

50

DM1パシエント細胞またはNHP細胞を、成長培地中の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、終夜回復させた。翌日、成長培地を低血清分化培地と交換し、細胞を抱合体で125nM、250nM、または500nM ASOに相当する濃度にて処置した。細胞を10日間インキュベートし、次いでcDNAを、全RNAの供給源として粗細胞ライセートとともにCells-to-Ctキットを使用して合成した。

【0182】

cDNAを、Taqman PCRを使用して総DMPKノックダウンを査定するために使用した。データをPPIB発現に対して正規化し、 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法を、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使用した。図8に示されるデータを、種が合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の反復試験)として提示する。

10

【0183】

結果は、抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、生理学的に適切な濃度にて処置されたとき(図8)、NHP細胞(野生型DMPK mRNAのみを発現する)と比較し、正常NHP筋管とDM1パシエント筋管との両方においてDMPK発現のノックダウンを達成し、DM1パシエント細胞(380のCUG反復を含有するDMPK mRNAと野生型DMPK mRNAとの両方を発現する)の方がDMPK発現のノックダウンがより大きかったことを示す。抱合体は125nMのASO相当濃度にて、NHP筋管においてビヒクルのみの対照と比べておよそ40%のDMPKノックダウンを達成し、DM1パシエント筋管においておよそ65%のDMPKノックダウンを達成した。抱合体は250nMのASO相当濃度にて、NHP筋管においてビヒクルのみの対照と比べておよそ45%のDMPKノックダウンを達成し、DM1パシエント筋管においておよそ80%のDMPKノックダウンを達成した。抱合体は500nMのASO相当濃度にて、NHP筋管においてビヒクルのみの対照と比べておよそ60%のDMPKノックダウンを達成し、DM1パシエント筋管においておよそ90%のDMPKノックダウンを達成した。

20

【0184】

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べ、野生型DMPK mRNAと突然変異体DMPK mRNAとの両方を発現するヒト筋管(CUG反復が伸長されている)において、DMPKのより大きなノックダウンを達成し得ることを指し示す。

30

【0185】

例5. 異なる例示製剤の熱安定性の比較

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、例1に記載のと通りの抱合体を含む製剤を調製した。抗TfR1 Fab-オリゴヌクレオチド抱合体の出発材料(SM)は、100mMリン酸ナトリウムと100mM塩化ナトリウムとをpH7.4にて含有する緩衝剤中33mg/mLの濃度であった。安定性試験のため、抗TfR1 Fab-オリゴヌクレオチド抱合体を、種々の緩衝剤中およそ40mg/mLの濃度にて製剤化した。4製剤の各々における緩衝剤条件は、以下のとおりであった:

製剤緩衝剤1: 25mMスクシナート、10%(w/v)スクロース、pH5.2。

製剤緩衝剤2: 25mMスクシナート、10%(w/v)スクロース、pH6.0。

製剤緩衝剤3: 25mMトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、10%(w/v)スクロース、pH7.5。

40

製剤緩衝剤4: 100mMリン酸ナトリウム、100mM塩化ナトリウム、pH7.4。

【0186】

製剤原体(本明細書に記載の抱合体での製剤)を、ビバスピ(Vivaspin)(登録商標)6遠心分離膜フィルター(30kDa分子量カットオフ)を使用し緩衝剤交換して、上に提供されたと通りの製剤緩衝剤1~4にした。緩衝剤交換後に抗TfR1 Fab-オリゴヌクレオチド抱合体を、およそ40mg/mLまで濃縮した。濃縮された試料の各々からおよそ150μLのアリコートを使用して、各製剤中の抱合体の熱安定性を研究した。試料を、ガラス製バイアル中-20℃、2~8℃、25℃、もしくは40℃にて1週間(「T1」)、2週間(「T2」)、4週間(「T4」)、または8週間(「T8」)インキュベートした。試験試料のいずれにおいて

50

も、試験されたいずれかの温度または時点にて、色も、外観も、pHも、何ら変化が観察されなかった。

【0187】

各製剤の熱安定性を最初に、T0(第0週)、T4、およびT8にて、かつ特定された温度にて、様々な試料中の抱合体の濃度を測定することによって試験した。標準的なBCA(ビシニコニン酸)分析を使用して濃度を測定した。BCAアッセイを、標準的な手順を使用して実行した。

1)ワーキング試薬(Working Reagent)(WR)を、20mLのBCA試薬Aを200μL BCA試薬Bと徹底的に混合することによって調製した。

2)試験試料用の標準曲線および希釈曲線を作成した(prepared)。試験試料を最初に1:4希釈し、次いで20μLの各試験試料または標準を200μLのWRと徹底的に混合し、60℃にて10分間インキュベートした。その結果得られた溶液を96ウェルプレートの最初の列へ加え、段階希釈した。6点の標準曲線を作成した。

3)480nmでの吸光度をプレートリーダー上で測定した。

4)標準曲線を使用して、各試験試料のタンパク質濃度を決定した。3)480nmでの吸光度をプレートリーダー上で測定した。

【0188】

熱安定性研究の濃度測定結果を下の表3に示す。

表3.

【表3】

時点	温度 (°C)	抱合体の測定された平均濃度 (mg/mL) [†]			
		製剤 1	製剤 2	製剤 3	製剤 4
T0	N/A	36.90	42.44	44.28	44.29
T4	-20	32.16	43.72	43.50	43.28
	2-8	31.70	42.62	39.31	40.42
	25	34.52	40.02	42.69	41.94
	40	41.00	41.40	42.60	42.03
T8	-20	32.43	42.15	42.01	42.67
	2-8	32.83	41.18	41.49	42.09
	25	34.23	43.80	42.16	43.15
	40	42.90	45.40	42.37	43.32

[†]示されている濃度は、各試験試料の5段階希釈の測定値の平均から算出した。

【0189】

表3の結果は、製剤2、3、および4中のFab-オリゴヌクレオチド抱合体の濃度が、T0、T4、およびT8にて一貫していることを示す。製剤1におけるT4およびT8でのFab-オリゴヌクレオチド抱合体の濃度は、T0測定と比較して、低減された濃度をより低い保管温度にて示した。

【0190】

Fab-オリゴヌクレオチド抱合体の熱安定性を、40mg/mLの濃度での凝集体形成の測定によってさらに研究した。1mg/mLまで希釈後、特定された様々な温度にてインキュベートされたT0、T1、T2、T4、およびT8の試料を、Waters ACQUITY UPLC Protein BEH SECカラム(125Å、1.7μm、4.6x150mm)を、0.2Mリン酸カリウム(pH6.8)、0.2M塩化カリウム均一濃度溶離、15%イソプロピルアルコールの移動相とともに使用する、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC-UV)によって分析した。カラム温度は30℃であり、10μg注入を使用した。流速は0.35mL/minであり、分析を280nmの波長にて行った。

【0191】

高分子量(HMW)分子種、Fab-オリゴヌクレオチド抱合単量体、および低分子量(LMW)分子種のパーセンテージを、各試料につきSEC熱安定性分析において測定した。結果

を下の表4に示す。出発材料(SM)の値は比較のため最上行に示す。

表4.

【表4-1】

時点	温度 (°C)	% HMW 種	% モノマー	% LMW 種
SM		10.0	89.9	0.2
製剤1				
T0	N/A	7.6	92.0	0.4
T1	-20	5.7	93.6	0.7
	2-8	4.4	94.8	0.8
	25	4.8	94.0	1.2
	40	4.4	94.0	1.6
T2	-20	7.5	91.8	0.7
	2-8	7.5	91.8	0.7
	25	7.5	90.5	2.0
	40	6.6	91.2	2.1
T4	-20	7.5	92.4	0.1
	2-8	8.1	91.5	0.5
	25	7.2	90.7	2.1
	40	6.6	88.3	5.1
T8	-20	8.8	90.7	0.5
	2-8	8.9	90.3	0.8
	25	8.6	89.2	2.2
	40	8.3	85.8	5.9
製剤2				
T0	N/A	10.0	89.7	0.2
T1	-20	9.8	90.0	0.2
	2-8	9.9	89.9	0.2
	25	9.3	90.2	0.6
	40	8.6	89.9	1.5
T2	-20	9.3	90.4	0.3
	2-8	9.4	90.2	0.4
	25	9.1	90.0	0.9
	40	8.4	89.2	2.3
T4	-20	9.1	90.8	0.1
	2-8	9.4	90.4	0.2
	25	8.3	90.6	1.1
	40	7.9	89.7	2.4
T8	-20	9.5	90.3	0.2

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

時点	温度 (°C)	% HMW 種	% モノマー	% LMW 種
	2-8	9.6	89.9	0.5
	25	8.7	89.4	1.9
	40	8.8	87.0	4.2
製剤3				
T0	N/A	9.8	89.8	0.5
T1	-20	10.1	89.6	0.3
	2-8	9.8	89.8	0.4
	25	9.2	89.8	1.0
	40	8.7	89.6	1.7
T2	-20	9.5	90.1	0.4
	2-8	9.3	90.1	0.6
	25	8.5	90.2	1.3
	40	8.8	89.2	2.0
T4	-20	8.7	91.1	0.2
	2-8	7.8	90.9	1.3
	25	7.9	90.8	1.3
	40	8.8	88.7	2.5
T8	-20	8.9	90.6	0.5
	2-8	8.5	90.7	0.8
	25	8.6	89.8	1.6
	40	11.0	86.0	3.0
製剤4				
T0	N/A	9.6	90.2	0.2
T1	-20	9.1	90.8	0.2
	2-8	9.7	90.1	0.2
	25	9.2	90.2	0.7
	40	9.2	88.9	1.9
T2	-20	9.5	90.2	0.3
	2-8	9.6	90.0	0.4
	25	9.6	89.3	1.2
	40	9.2	88.4	2.5
T4	-20	8.5	91.4	0.1
	2-8	8.7	91.0	0.2
	25	8.9	89.8	1.3
	40	9.0	87.4	3.6
T8	-20	9.7	90.0	0.3
	2-8	9.7	89.8	0.5
	25	9.9	88.3	1.8
	40	11.1	83.8	5.1

【0192】

結果は、温度上昇または経時的なパーセント単量体に何ら有意な変化を示さず、温度上昇に伴うLMW分子種のわずかな増加が経時的に観察された。

【0193】

概して、SEC分析は、製剤1、2、および3が、製剤4と比較し、8週の時点にて、%単量体に関しわずかに改善された安定性を提供したことを指し示した。製剤3は、%LMW分子種の変化に関し最良の安定性を示した。

【0194】

40mg/mLでのFab-オリゴヌクレオチド抱合体の熱安定性を、キャピラリー電気泳動(

10

20

30

40

50

CE-SDS)を使用する非還元タンパク質発現アッセイによってさらに研究した。この方法による分析につき、試料を1mg/mLまで希釈し、次いでPBS中10mM N-エチルマレイミドと1:1混合した。これら試料の各々の5 μ Lを次いで、96ウェルプレート中7 μ Lの試料緩衝剤(Protein Express Reagent Kit、Perkin Elmer CLS960008)へ加えた。試料を70℃にて10分間インキュベートし、次いで氷上で5分間冷やした。32 μ Lの水を各試料ウェルへ加え、分析に先立ちプレートを1200gにて2分間遠心分離した。試料を、HT Protein Express LabChip(Perkin Elmer 760499)上、LabChip GXII Touch HT(Perkin Elmer)を使用し、測定法HT High Sensitivity Antibody Analysis 200を使用して分析した。

【0195】

非還元CE-SDS分析の結果を下の表5に示す。比較のため、出発材料は62.4kDaのサイズを純度100.0%で示した。

表5.

【表5】

時点	温度 (°C)	サイズ [†] および%純度			
		製剤1	製剤2	製剤3	製剤4
T0	N/A	65.0 (100.0)	63.5 (100.0)	63.3 (100.0)	62.6 (100.0)
T1	-20	66.0 (100.0)	64.3 (100.0)	65.1 (100.0)	64.2 (100.0)
	2-8	66.2 (100.0)	65.4 (100.0)	64.0 (100.0)	63.7 (100.0)
	25	66.3 (98.4)	64.1 (98.9)	64.1 (98.8)	63.3 (98.7)
	40	65.1 (97.4)	63.1 (97.8)	62.9 (97.9)	63.2 (96.8)
T2	-20	66.0 (100.0)	64.6 (100.0)	63.5 (100.0)	63.2 (100.0)
	2-8	66.4 (100.0)	64.6 (100.0)	63.0 (100.0)	63.3 (100.0)
	25	66.1 (97.7)	64.0 (98.8)	63.3 (98.8)	63.4 (98.5)
	40	66.3 (95.7)	64.3 (97.5)	63.3 (97.9)	63.5 (96.7)
T4	-20	66.6 (100.0)	63.7 (100.0)	63.5 (100.0)	64.9 (100.0)
	2-8	67.0 (100.0)	63.7 (100.0)	63.2 (100.0)	64.0 (100.0)
	25	66.2 (97.0)	63.5 (98.5)	63.8 (98.6)	64.7 (98.2)
	40	66.0 (84.1)	64.1 (96.6)	63.7 (97.1)	64.3 (95.9)
T8	-20	66.4 (100.0)	65.9 (100.0)	65.4 (100.0)	64.2 (100.0)
	2-8	66.7 (100.0)	65.9 (100.0)	65.7 (100.0)	64.2 (100.0)
	25	67.1 (96.9)	64.6 (98.8)	64.9 (98.2)	63.7 (97.7)
	40	67.4 (74.8)	65.9 (95.0)	64.7 (96.4)	64.1 (94.9)

[†] サイズはkDa単位で示す。丸括弧内の値はパーセント純度を表す。

【0196】

結果は、製剤1の抱合体のパーセント純度が、25℃および40℃にて、T1からT8まで徐々に減少し、新しい種の形成が観察されたことを示したが、このことは製剤1の抱合体が高温にて不安定になりやすいことを示唆する。また結果は、抱合体が、試験されたすべての温度および時点にて、製剤2、3、および4において良好なパーセント純度を有していたことも示した。高温での製剤3中の抱合体の高いパーセント純度は、他の製剤と比べて製剤3の安定性が改善していることを示唆する。

【0197】

40mg/mLでのFab-オリゴヌクレオチド抱合体の熱安定性を、キャピラリー電気泳動(CE-SDS)を使用する還元タンパク質発現アッセイによってさらに研究した。この方法による分析につき、試料をPBSで0.5mg/mLまで希釈した。次に、試料を変性溶液と混合した:24.5 μ Lの14.2M β -メルカプトエタノール(BME)を、700 μ LのProtein Express Sample Buffer(Protein Express Reagent Kit、Perkin Elmer CLS960008)へ加え、次いで希釈試料の各々の5 μ Lを、96ウェルプレート中7 μ Lの試料変性溶液へ加えた。試料を70℃にて10分間インキュベートし、次いで氷上で5分間冷やした。32 μ Lの水を各試料ウェルへ加え、分析に先立ちプレートを1200gにて2分間遠心分離した

。試料を、HT Protein Express LabChip(Perkin Elmer 760499)上、LabChip GXII Touch HT(Perkin Elmer)を使用し、測定法HT High Sensitivity Antibody Analysis 200を使用して分析した。

【 0 1 9 8 】

還元CE-SDS分析の結果を下の表6に示す。出発材料(SM)の値は比較のため最上行に示す。

表 6.

【表 6 - 1】

時点	温度 (°C)	LC フラグメント サイズ †	% LC フラグメント	Fab H/L フラグメント サイズ †	% Fab H/L フラグメント	他の フラグメント サイズ †	% 他の フラグメント
SM		28.4	3.0	34.9	87.3	41.7	9.7
製剤1							
T0	N/A	27.7	15.3	35.6	79.9	41.7	5.2
T1	-20	27.0	3.9	34.2	89.8	41.0	6.4
	2-8	26.9	3.9	33.8	89.9	40.7	6.3
	25	27.8	4.0	34.9	89.7	42.0	6.3
	40	27.8	4.4	34.9	89.0	42.1	6.6
T2	-20	27.6	3.9	34.4	44.9	42.4	5.6
	2-8	27.4	4.0	34.1	45.8	42.0	5.6
	25	27.5	4.3	34.0	46.7	42.1	5.3
	40	27.4	4.9	33.9	45.3	41.8	5.2
T4	-20	27.1	3.7	33.7	48.0	41.5	6.2
	2-8	27.2	3.8	33.8	46.9	41.9	6.1
	25	26.9	4.4	33.4	47.2	41.3	5.4
	40	27.3	5.6	33.7	50.0	41.6	4.5
T8	-20	27.3	3.1	34.3	48.1	41.8	5.0
	2-8	27.6	3.4	34.3	46.1	42.2	5.1
	25	27.3	3.8	34.0	47.1	41.7	4.8
	40	27.5	6.4	33.9	53.9	41.7	4.3
製剤2							
T0	N/A	28.2	3.0	34.8	87.5	41.4	9.4
T1	-20	27.3	3.8	33.8	87.0	40.9	9.2
	2-8	27.1	3.7	33.5	86.5	40.6	8.8

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

時点	温度 (°C)	LC フラグメント サイズ †	% LC フラグメント	Fab H/L フラグメント サイズ †	% Fab H/L フラグメント	他の フラグメント サイズ †	% 他の フラグメント
	25	27.6	4.0	34.4	87.5	41.8	8.4
	40	28.1	4.3	34.8	87.4	42.3	8.3
T2	-20	27.5	4.5	34.3	87.5	42.0	8.0
	2-8	27.4	4.2	34.1	88.2	41.8	7.6
	25	26.7	4.7	33.2	87.0	40.9	7.3
	40	26.8	5.3	33.3	87.7	40.9	7.0
T4	-20	27.1	4.3	33.8	87.7	41.3	8.0
	2-8	27.0	4.2	33.7	88.2	41.2	7.6
	25	27.4	4.7	34.1	86.9	41.8	7.2
	40	27.0	5.1	33.6	85.8	41.1	6.6
T8	-20	27.5	3.7	34.3	89.1	41.8	7.2
	2-8	27.2	3.8	34.0	89.3	41.5	6.9
	25	27.1	6.3	33.7	87.7	41.1	6.0
	40	27.2	4.6	34.0	88.7	41.4	6.7
製剤3							
T0	N/A	28.3	3.1	34.8	87.6	41.4	9.4
T1	-20	27.2	3.8	33.7	87.0	41.1	9.2
	2-8	27.3	4.0	33.8	86.9	41.1	9.2
	25	28.0	4.1	34.7	87.0	42.2	8.8
	40	28.0	4.5	34.7	87.3	42.0	8.2
T2	-20	26.8	4.6	33.4	87.5	40.9	8.0
	2-8	27.2	4.6	33.8	87.5	41.4	7.9
	25	26.6	5.1	33.2	86.3	40.6	7.7
	40	26.8	5.5	33.2	82.4	40.6	6.1
T4	-20	26.9	4.4	33.5	87.5	41.0	8.1
	2-8	26.8	4.9	33.4	86.8	40.9	8.3
	25	27.2	4.9	33.8	86.7	41.4	7.4
	40	27.3	6.0	33.9	84.6	41.5	6.8
T8	-20	26.9	4.2	33.5	88.0	41.0	7.8
	2-8	27.0	4.3	33.6	88.4	41.0	7.3
	25	27.0	5.1	33.7	88.5	41.1	7.0
	40	27.2	6.3	33.8	84.3	41.3	5.7
製剤4							
T0	N/A	28.0	3.0	34.5	87.6	41.1	9.4
T1	-20	27.1	3.7	33.6	87.6	40.9	8.7
	2-8	27.1	3.8	33.7	87.4	40.9	8.8
	25	27.6	3.9	34.2	87.4	41.6	8.7
	40	27.4	4.9	34.1	87.0	41.5	8.1
T2	-20	27.0	4.3	33.6	87.3	41.2	8.1
	2-8	27.4	4.4	33.9	87.6	41.4	8.0
	25	27.0	4.7	33.7	87.8	41.2	7.5
	40	26.8	5.9	33.5	86.9	40.8	7.2
T4	-20	27.2	3.8	33.8	89.1	41.4	7.1
	2-8	26.7	4.3	33.8	88.0	40.6	7.7
	25	27.1	4.9	33.7	87.8	41.3	7.3
	40	27.2	6.3	33.8	86.8	41.4	6.7

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

時点	温度 (°C)	LC フラグメント サイズ †	% LC フラグメント	Fab H/L フラグメント サイズ †	% Fab H/L フラグメント	他の フラグメント サイズ †	% 他の フラグメント
T8	-20	26.9	4.2	33.5	87.7	40.9	8.1
	2-8	26.8	4.1	33.5	88.6	40.8	7.3
	25	26.7	5.1	33.4	88.0	40.7	5.4
	40	26.8	6.8	33.4	87.7	40.7	5.4

†サイズはkDa単位で示す。

10

【0199】

製剤1には、T2、T4、およびT8にてすべての試料において観察された1つの追加のHCピークを包含する、2つの追加のピークがあり、このことはこの製剤中の抱合体が不安定であることを指し示す。還元CE-SDSによって観察された製剤2、3、および4中の抱合体の全体的な安定性において何ら有意差はなかった。

【0200】

概して、本明細書に提示された様々な熱安定性試験の結果は、製剤3が、Fab-オリゴヌクレオチド抱合体に対し最良の安定性を提供したことを示唆する。

【0201】

例6．異なる例示製剤の凍結/融解安定性の比較

20

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、例1に記載のと通りの抱合体を含む製剤を調製した。抗TfR1 Fab-オリゴヌクレオチド抱合体の出発材料(SM)は、100mMリン酸ナトリウムと100mM塩化ナトリウムとをpH7.4にて含有する緩衝剤中33mg/mLの濃度であった。凍結/解凍安定性試験のため、抗TfR1 Fab-オリゴヌクレオチド抱合体を、種々の緩衝剤中およそ40mg/mLの濃度にて製剤化した。4製剤の各々における緩衝剤条件は、以下のとおりであった：

製剤緩衝剤1：25mMスクシナート、10%(w/v)スクロース、pH5.2。

製剤緩衝剤2：25mMスクシナート、10%(w/v)スクロース、pH6.0。

製剤緩衝剤3：25mMトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、10%(w/v)スクロース、pH7.5。

30

製剤緩衝剤4：100mMリン酸ナトリウム、100mM塩化ナトリウム、pH7.4。

【0202】

各製剤中の抱合体の凍結/解凍安定性を試験するために、アリコート調製し、0、1、3、または5回の凍結/解凍サイクルへ供し、その時点後に視覚的外観、タンパク質濃度、および凝集体/フラグメント形成を査定した。

【0203】

製剤1、2、3、および4の各々につき、視覚的外観査定は、溶液が、透明、無色であって、0、1、3、および5回の凍結/解凍サイクル後に目に見える凝集体がないことを示した。

【0204】

40

例5に記載のとおりに行われた各製剤のBCA分析は、5回の凍結/解凍(「F/T」)サイクルにわたる複合体の濃度に何ら有意な変化がなかったことを示唆した。結果を下の表7に示す。出発材料(SM)の値は比較のため最上行に示す。

表7

50

【表 7】

F/T サイクル	濃度 (mg/mL)			
	製剤1	製剤2	製剤3	製剤4
0	34.4	42.4	40.6	44.2
1	35.5	42.3	41.9	44.7
3	35.4	42.1	43.3	43.2
5	36.4	42.5	42.9	44.1

【0205】

例5に記載のとおりに行われた各製剤のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)分析は、5回の凍結/解凍(「F/T」)サイクルにわたり、低分子量(LMW)種、単量体、および高分子量(HMW)種に関して4製剤間に何ら有意差がないことを示唆した。結果を下の表8に示す。出発材料(SM)の値は比較のため最上行に示す。

表 8

【表 8】

F/T サイクル	% HMW 種	% モノマー	% LMW 種
SM	9.48	89.70	0.83
製剤1			
0	8.15	89.99	1.86
1	7.68	91.20	1.11
3	7.62	90.83	1.55
5	7.68	91.08	1.25
製剤2			
0	9.50	89.66	0.84
1	9.45	89.71	0.84
3	9.49	89.68	0.82
5	9.55	89.67	0.78
製剤3			
0	8.61	90.03	1.36
1	8.73	89.81	1.46
3	8.76	89.74	1.50
5	8.77	89.77	1.46
製剤4			
0	9.73	89.24	1.03
1	9.63	89.46	0.92
3	9.56	89.45	1.00
5	9.48	89.52	0.99

【0206】

例7. 抱合体の凍結乾燥製剤の安定性の評価

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1に記載のとおり抱合体(この例において「抗TfR1 Fab-ASO抱合体」として標識)を調製し、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(25mM)、スクロース(10%(w/v))で、7.5のpHにて凍結乾燥し、安定性について試験した。再構成に先立ち、すべての時点および温度にてすべての試料が、白色ケーキとして視覚的に同定され、かつ形状は均一であった。加えて、試料は1分未満に再構成され、10個にも満たない粒子はあるが透明かつ無色になった。すべての試料は、再構成前および再構成後の目視分析によって、少なくとも8週間、最大でも40℃まで安定しているとみなされた。

【0207】

X線回折分析を実施して、凍結乾燥組成物の結晶構造を評価した。およそ20mgの凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体を、プラスチック製試料ホルダーに置き、スライドガラスで平坦化することで平面を確保した。この分析を実施したとき、Proto AXRD(登録商標)卓上パワーX線回折計を、高精度焦点Cu-陽極金属/セラミック構造の1500ワットX線管とともに使用した。

【0208】

回折パターンを測定し(図9)、幅広の「ハロー」(図9中丸で囲った)が同定され、これは材料が時間0(T0)にてアモルファスであることを指し示す。

【0209】

試料の吸光度を試験するために、凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体を、最初に水で再構成し、次いで製剤緩衝剤(25mMトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、10%(w/v)スクロース、pH7.5)を使用し、0.2mg/mLの濃度まで希釈した。吸光度を、DeNovix DS11+分光光度計を使用して260nmおよび280nmにて測定した。読み取りを三通りに実施して平均した。これらの結果を使用して、複数の時点での、濃度(Fab(mg/mLおよびμM)ならびにオリゴヌクレオチド(μM))、パーセント回収、および薬物抗体比(DAR)を算出した。すべてのタンパク質濃度、パーセント回収、およびDAR試験につき、ウシ血清アルブミン(BSA)を陽性対照として使用し、PBSをBSAのためのブランクおよび陰性対照として使用し、製剤緩衝剤を抱合体試料のためのブランクおよび陰性対照として使用した。

【0210】

2~8℃での、Fabのための反復試験の平均濃度(図10Aおよび図10B)は、4間(T4w)または8週(T8w)と比較したとき、時間0(T0)から何ら有意な変化を示さなかった。加えて、4週と8週との時点と比較したとき何ら有意な変化はなかった。2~8℃での、オリゴヌクレオチドのための反復試験の平均濃度(図10C)は、T0、T4w、およびT8wと比較したとき、何ら有意差を示さなかった。2~8℃での平均パーセント回収(図11A)は、すべての時点にてすべての試料つき100%に近かった。2~8℃での平均DAR(図11B)は、すべての時点にて1.0に近かった。

【0211】

25℃での、Fabのための反復試験の平均濃度(図12Aおよび図12B)は、2週(T2w)、4週(T4w)、または8週(T8w)と比較したとき、時間0(T0)から何ら有意な変化を示さず、T2w、T4w、およびT8wを互いに比較しても何ら有意な変化はなかった。25℃でのオリゴヌクレオチドの反復試験の平均濃度(図12C)は、経時的に有意な変化を示さなかった。25℃での平均パーセント回収(図13A)は、すべての時点にて100%に近かった。25℃での平均DAR(図13B)は、すべての時点にて1.0に近かった。

【0212】

40℃での、Fabのための反復試験の平均濃度(図14および図14B)は、T2w、T4w、またはT8wと比較したとき、T0から何ら有意な変化を示さなかった。40℃での、オリゴヌクレオチドのための反復試験の平均濃度(図10C)は、それら時点のいずれも、何ら有意差を示さなかった。40℃での平均パーセント回収(図15A)は、すべての時点にてすべての試料つき100%に近かった。40℃での平均DAR(図15B)は、すべての時点にて1.0に近かった。

【0213】

次に、抗TfR1 Fab-ASO抱合体を、サイズ排除クロマトグラフ(SEC)を使用して分析した。すべての試料を、分析に先立ち製剤緩衝剤(25mMトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、10%(w/v)スクロース、pH7.5)を使用し1.0mg/mLの濃度まで希釈した。クロマトグラフィー条件の移動相につき、リン酸カリウム(200mM)、塩化カリウム(200mM)、5%(v/v)イソプロパノール(IPA)を6.8のpHにて含有する、均一濃度の溶離液を、20分の稼働(run)時間を使用する0.250mL/minの流速にて使用した。測定のために使用された波長は280nmであった。使用された高速液体クロマトグラフィー系は、Waters BEH SECカラム(200A、300x4.6mm、1.7μm、P/N186005226)とのDio

nex Ultimate 3000 UPLC系であった。

【0214】

2～8℃での、1番目のピークと2番目(主)のピークとの相対面積の和(図16A)は、T0、T4w、およびT8wを比較すると、何ら有意差を示さない。さらに、3番目のピークと4番目(高分子量種(HMWS))のピークとの相対面積の和(図16B)もまた、T0、T4w、およびT8wを比較すると、何ら有意差を示さない。

【0215】

25℃での、1番目と2番目との(主)ピークの相対面積の和(図17A)は、T0、T2w、T4w、およびT8wを比較すると、何ら有意差を示さない。さらに、3番目のピークと4番目(HMWS)のピークとの相対面積の和(図17B)もまた、T0、T2w、T4w、およびT8wを比較すると、何ら有意差を示さない。

10

【0216】

40℃での、1番目のピークと2番目(主)のピークとの相対面積の和(図18A)は、T0、T2w、T4w、およびT8wを比較すると、何ら有意差を示さない。さらに、3番目のピークと4番目(HMWS)のピークとの相対面積の和(図18B)もまた、T0、T2w、T4w、およびT8wを比較すると、何ら有意差を示さない。

【0217】

非還元キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム(CE-SDS)分析を行うために、試料をリン酸塩緩衝生理食塩水(PBS)中1mg/mLまで希釈した。希釈試料を次いで、PBS中の10mM N-エチルマレイミド(NEM)でさらに1:1希釈した。その結果得られた溶液の5.0μlを次いで、7.0μL試料緩衝剤へ加えた。試料を次いで、70℃にて10分間インキュベートした。インキュベーション後、32μlの水を加え、試料を1200gにて2分間遠心分離した。試料を次いで、HT High Sensitivity Antibody Analysis 200を使用し、HT Protein Express LabChip(Perkin Elmer、760499)をProtein Express Reagent Kit(Perkin Elmer、CLS960008)とともに使用して分析した。分析はLab Chip GXII Touch HT(Perkin Elmer)上で実施した。

20

【0218】

2～8℃(図19)にて、主ピークの純度は、T0とT4wとT8wとの間で何ら有意な変化を示さなかった。25℃(図20)および40℃(図21)にて、主ピークの純度は、T0とT2wとT4wとT8wとの間で何ら有意な変化を示さなかった。

30

【0219】

還元CE-SDS分析を行うために、試料をPBS中0.5mg/mlまで希釈した。5.0μLの希釈試料を7.0μLの試料変性溶液へ加えた(700μL Protein Express Sample Bufferへ加えられた24.5μLの1Mジチオスレイトール(DTT))。試料を次いで、70℃にて10分間インキュベートした。インキュベーション後、32μlの水を加え、試料を1200gにて2分間遠心分離した。試料を次いで、HT High Sensitivity Antibody Analysis 200を使用し、HT Protein Express LabChip(Perkin Elmer、760499)をProtein Express Reagent Kit(Perkin Elmer、CLS960008)とともに使用して分析した。分析はLabChip GXII Touch HT(Perkin Elmer)上で実施した。

【0220】

2～8℃(表9)にて、ピーク1、2、3、および4の純度は、T0とT4wとT8wとの間で何ら有意な変化を示さなかった。25℃(表10)および40℃(表11)にて、ピーク1、2、3、および4の純度は、T0とT2wとT4wとT8wとの間で何ら有意な変化を示さなかった。

40

【0221】

概して、これらの結果は、凍結乾燥抗TfR1 Fab-ASO抱合体が、試験されたすべての温度および時点にて安定であることを実証する。

表9. 2～8℃にて(還元された)キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム(CE-SDS)の結果

50

【表 9】

時点	ピーク 1 (%)	ピーク 2 (%)	ピーク 3 (%)	合計 (%)
T0	3.05	89.97	6.09	99.11
T4w	2.87	88.40	8.42	99.69
T8w	4.12	85.15	8.41	97.68

表 10. 25℃にて(低減された)キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム(CE-SDS)の結果

【表 10】

時点	ピーク 1 (%)	ピーク 2 (%)	ピーク 3 (%)	合計 (%)
T0	3.05	89.97	6.09	99.11
T2w	3.21	88.94	7.31	99.46
T4w	2.87	87.62	9.09	99.58
T8w	4.12	85.22	8.38	97.72

表 11. 40℃にて(低減された)キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム(CE-SDS)の結果

【表 11】

時点	ピーク 1 (%)	ピーク 2 (%)	ピーク 3 (%)	合計 (%)
T0	3.05	89.97	6.09	99.11
T2w	3.21	88.80	7.34	99.35
T4w	2.91	87.80	8.75	99.46
T8w	4.14	85.20	8.41	97.75

追加の態様

1. 抗トランスフェリン受容体1(TfR1)抗体へ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製剤であって、

ここで抗TfR1抗体は、次: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、かつ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

ここで複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されている。

2. 式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体を含む製剤であって、式中各 R^1 は、独立して、式(Ia):

10

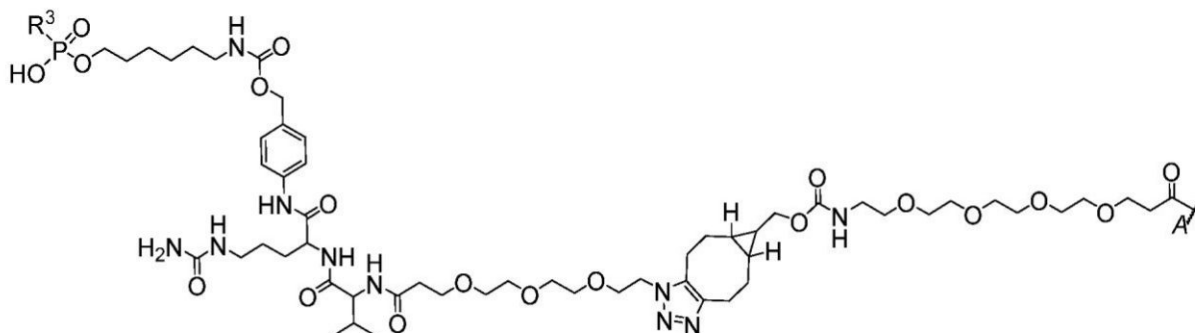
20

30

40

50

【化 1 7】



10

(Ia)

で表される基を含み、式中

R²は、抗体を含み、ならびに

R³は、5'-X-Y-Z-3'配置を含むオリゴヌクレオチドを含むが、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、かつ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る；

式中 R^1 は、 R^2 へ付着点 A にて共有結合的に連結されている；ならびに

式中 n_1 は、 R^1 の実例の数を表す整数であり、ここで R^1 の各実例は、抗体の異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各々の異なるアミノ酸残基は、リシンである；

ここで複合体は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよびスクロースとともに製剤化されており、

任意にここで抗体は、抗TfR1抗体である。

3. 熊様2の製剤であって、ここで抗体は、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。

4. 製剤は、凍結乾燥形態にある、態様1～3のいずれか1つの製剤。

5. 製剤は、凍結固体形態にある、態様1～3のいずれか1つの製剤。

6. 製剤は、水性溶液にある、態様1～3のいずれか1つの製剤。

7. トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水性溶液中5mM~50mMの範囲にある濃度にて存在する、態様6の製剤。

8. スクロースは、水性溶液中に体積当たり5重量%～15重量%(w/v%)の範囲にある濃度にて存在する、態様6または7の製剤。

9. 水性溶液は、6.5～8.5の範囲にあるpHを有する、態様6～8のいずれか1つの製剤。

10. トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは、水溶液中25mMの濃度にて存在するか、および/またはスクロースは、水溶液中10w/v%の濃度にて存在するか、および/または水性溶液は、7.5のpHにある、態様6～9のいずれか1つの製剤。

11. 抗体は、Fabフラグメント、完全長IgG、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである、態様1～10のいずれか1つの製剤。

12. 抗体は、Fabフラグメントである、態様11の製剤。

13. 抗体は、配列番号17と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)を含む;および/またはここで抗体は、配列番号18と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含み、

20

30

40

50

任意にここで抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVH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、態様1～12のいずれか1つの製剤。

14. 抗体は、配列番号19と少なくとも85%(同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む;および/またはここで抗体は、配列番号20と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、任意に抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、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、態様1～13のいずれか1つの製剤。

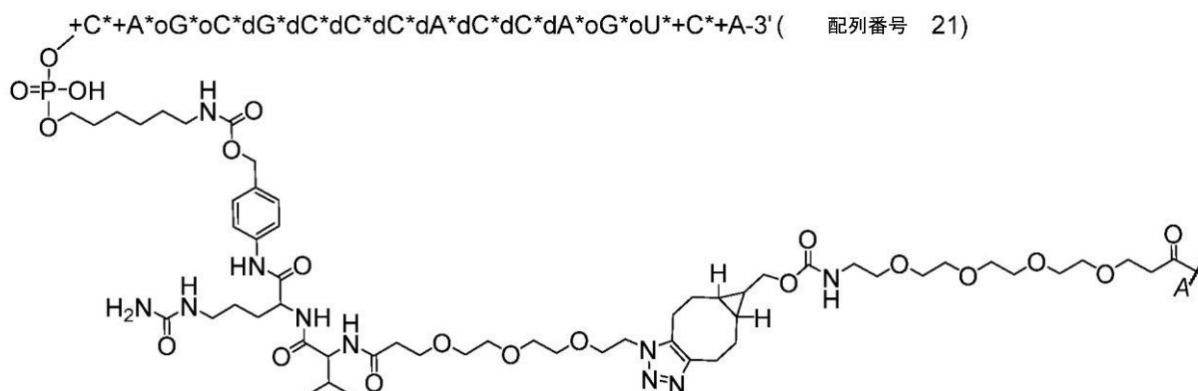
15. オリゴヌクレオチドは、長さが10～30ヌクレオチドである、態様1～14のいずれか1つの製剤。

16. オリゴヌクレオチドは、配列番号22に対し、長さが少なくとも8の連続した(continuous)ヌクレオチドの相補性の領域を有するヌクレオチド配列を含む、態様1～15のいずれか1つの製剤。

17. オリゴヌクレオチドは、配列番号21に記述されるとおりのヌクレオチド配列の少なくとも8の連続したヌクレオチドを含み、任意にオリゴヌクレオチドは、配列番号21の塩基配列を含む、態様1～16のいずれか1つの製剤。

18. 態様2～17のいずれか1つの製剤であって、ここで各 R^1 は、式(1b):

【化18】



(1b)

で表される基を含み、式中、オリゴヌクレオチドがCAGCGCCACACCAGUCA(配列番号21)の核酸塩基配列を含むように、+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す。

19. 態様2～17のいずれか1つの製剤であって、ここで各 R^1 は、式(1c):

10

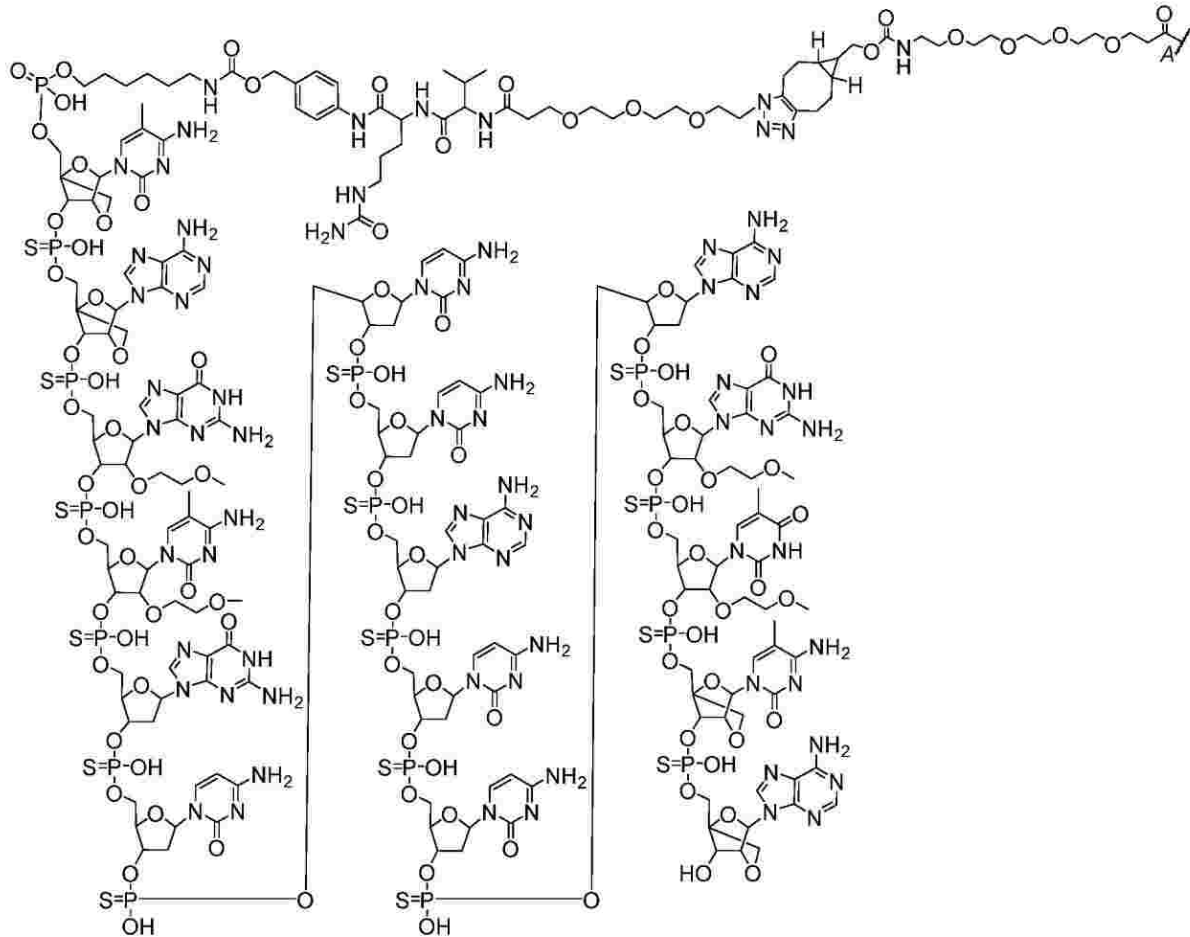
20

30

40

50

【化 19】



10

20

(Ic)

で表される基を含む。

20. 複合体は、製剤中10mg/mL～50mg/mLの範囲にある濃度にて存在する、態様1～19のいずれか1つの製剤。

30

21. 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1～20のいずれか1つの製剤。

22. 製剤中の複合体のn1の平均値は、0.5～5の範囲にある、態様21の製剤。

23. 対象におけるDMPK発現を低減させる方法であって、方法は、有効量の態様1～22のいずれか1つの製剤を対象へ投与することを含む。

24. 対象における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1～22のいずれか1つの製剤を対象へ投与することを含む。

25. 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反復の伸長を有する、態様23または態様24の方法。

40

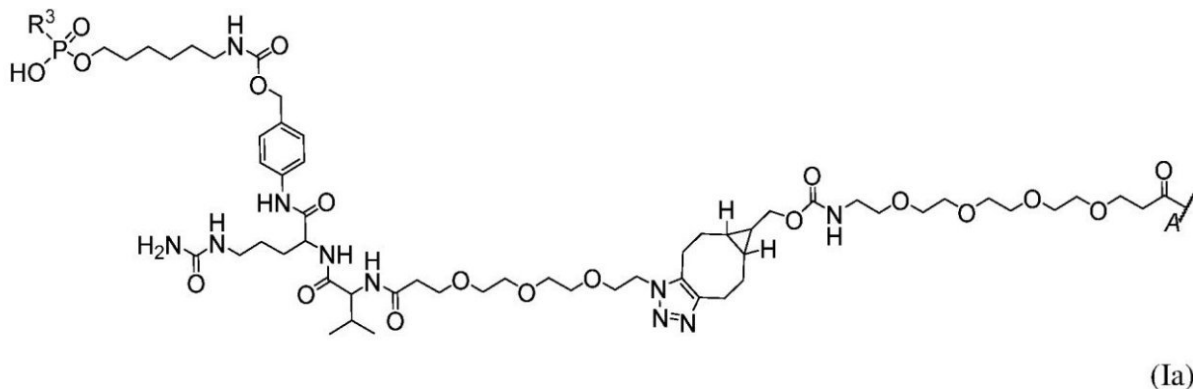
26. 疾患関連反復配列は、CTGトリヌクレオチド配列の反復単位を含む、態様25の方法。

27. 複合体は、対象におけるDMPK発現を低減させる、態様23～26のいずれか1つの方法。

28. 式(I): $[R^1]_{n1}-R^2$ で表される構造を含む複合体であって、式中各 R^1 は、式(Ia):

50

【化 2 0】



10

で表される基を含み、

R^3 は、 $+C^*+A^*oG^*oC^*dG^*dC^*dC^*dA^*dC^*dC^*dA^*oG^*oU^*+C^*+A$ (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-ウリジンを表し、および $*$ は、ホスホロチオアートヌクレオシド間連結を表す；

20

ここで R^2 は、Fabを含み、およびここでFab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を含み、

任意にここでFabは、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHおよび配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む；

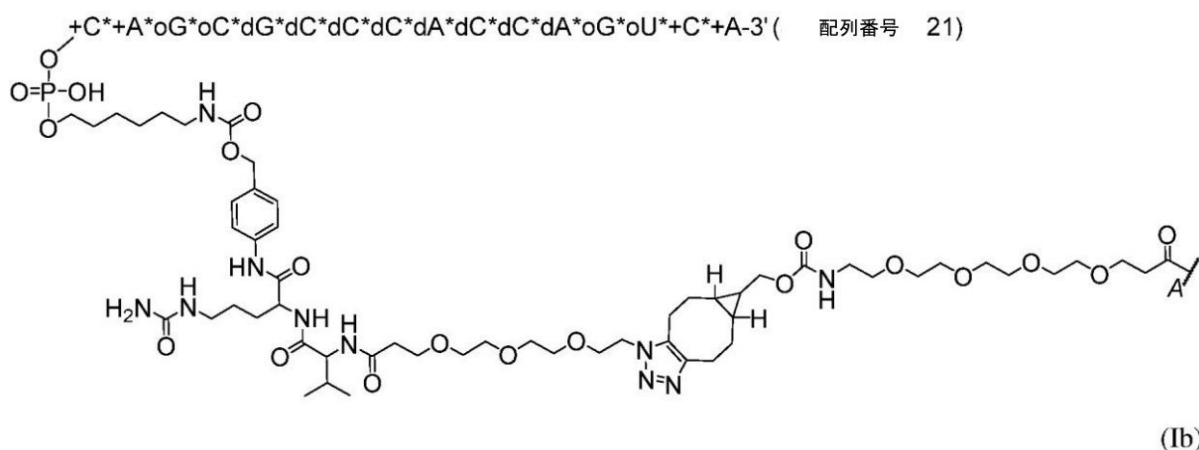
さらに任意にここでFabは、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む；

ここで R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて共有結合的に連結されている；およびここで $n1$ は、 R^1 の実例の数を表す整数であり、ここで R^1 の各実例は、Fabの異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各々の異なるアミノ酸残基は、リシンである。

30

29. 式(I): $[R^1]_{n1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複合体であって、式中各 R^1 は、式(Ib)：

【化 2 1】



40

で表される基を含み、式中、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むように、 $+N$ 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-

50

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；

ここで R^2 は、Fabを含み、およびここでFab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を含み、

任意にここでFabは、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHおよび配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む；

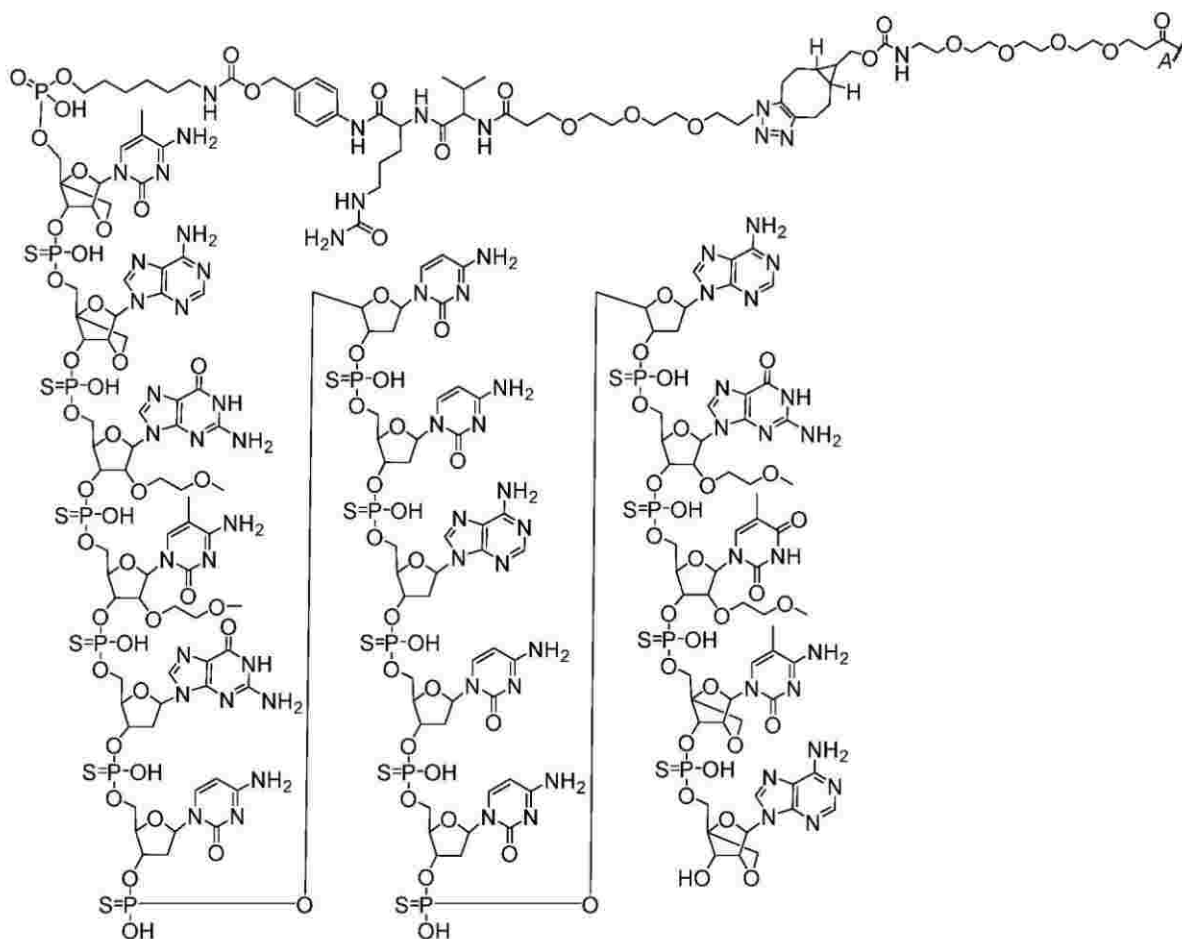
さらに任意にここでFabは、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む；

ここで R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて共有結合的に連結されている；およびここで n_1 は、 R^1 の実例の数を表す整数であり、ここで R^1 の各実例は、Fabの異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各々の異なるアミノ酸残基は、リシンである。

30. 式(I): $[R^1]_{n_1} \cdot R^2$ で表される構造を含む複合体であって、式中

R^1 は、式(Ic)：

【化22】



(Ic)

で表される基を含み、

式中 R^2 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Fabを含み、

任意に式中 R^2 は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHおよび配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含むFabを含み、

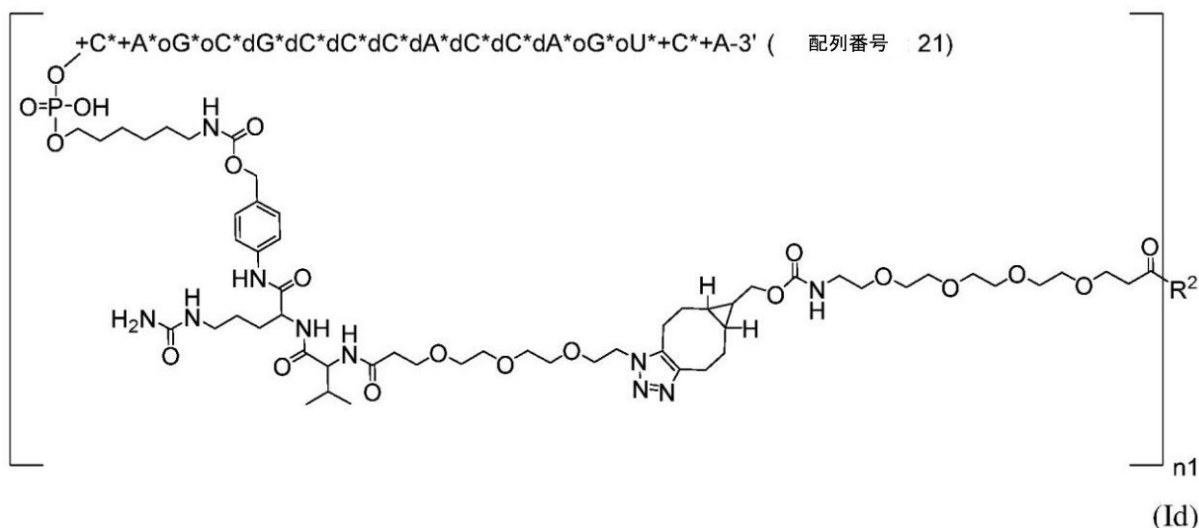
さらに任意に式中 R^2 は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むFabを含む；ここで R^1 は、 R^2 へ付着点Aにて共有結合的に連結されている；

式中 n_1 は、 R^1 の実例の数を表す整数であり、ここで R^1 の各実例は、Fabの異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各々の異なるアミノ酸残基は、リ

シンである。

31. 式 (Id):

【化 2 3】



で表される構造を含む複素体であって、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す；

式中R²は、Fabを含み、およびここでFab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を含み、

任意にここでFabは、配列番号17のアミノ酸配列を含むVHおよび配列番号18のアミノ酸配列を含むVLを含む；

さらに任意にここでFabは、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む；

式中n1は、角括弧によって囲まれた基の実例の数を表す整数であり、ここで角括弧によって囲まれた基の各実例は、Fabの異なるアミノ酸残基へ共有結合的に連結されており、任意にここで各々の異なるアミノ酸残基は、リシンである。

32. 態様28~31のいずれか1つの複数の複合体、5~50mMの濃度でのトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、および5w/v%~10w/v%の濃度でのスクロースを含む製剤であって、ここで製剤は、水性溶液であり、かつ6.5~8.5のpHであり、任意にここで複数の複合体は、10mg/mL~50mg/mLの濃度にある。

33. 態様32の、凍結乾燥形態の製剤。

34. 態様32の製剤を凍結乾燥することを含むプロセスによって産生される、産物。

35. 態様32の、凍結形態の製剤。

36. 態様32の製剤を凍結することを含むプロセスによって産生される、産物。

37. 態様28~31のいずれか1つの複数の複合体、5~50mMの濃度でのトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、および5w/v%~15w/v%の濃度でのスクロースを含む製剤であって、ここで製剤は、水性溶液であり、かつ6.5~8.5のpHであり、任意にここで複数の複合体は、10mg/mL~50mg/mLの濃度にある。

38. 態様28~31のいずれか1つの複数の複合体、25mMの濃度でのトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、および10w/v%の濃度でのスクロースを含む製剤であって、ここで製剤は、水性溶液であり、かつ7.5のpHであり、任意にここで複数の複合体は、10mg/mL~50mg/mLの濃度にある。

39. 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32、37、および38のいずれか1つの製剤。

40. 製剤中の複合体のn1の平均値は、0.5～5の範囲にある、態様39の製剤。

41. 態様37～40のいずれか1つの、凍結乾燥形態の製剤。

42. 態様28～31のいずれか1つの複数の複合体、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、およびスクロースを含む、凍結乾燥ケーキ。

43. 1gのケーキ当たり 4.02×10^{-2} mg～1.21mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン; 1gのケーキ当たり989mg～999mgスクロース; および/または1gのケーキ当たり0.666mg～9.90mg複合体を含む、態様42の凍結乾燥ケーキであって;

任意にここで凍結乾燥ケーキは、次を含む:

(i) 1gのケーキ当たり0.303mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、1gのケーキ当たり998.6mgスクロース、および/または1gのケーキ当たり0.999mg複合体;

(ii) 1gのケーキ当たり0.302mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、1gのケーキ当たり997.7mgスクロース、および/または1gのケーキ当たり1.995mg複合体;

(iii) 1gのケーキ当たり0.302mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、1gのケーキ当たり997.2mgスクロース、および/または1gのケーキ当たり2.49mg複合体;

(iv) 1gのケーキ当たり0.302mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、1gのケーキ当たり996.7mgスクロース、および/または1gのケーキ当たり2.99mg複合体;

(v) 1gのケーキ当たり0.302mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、1gのケーキ当たり995.7mgスクロース、および/または1gのケーキ当たり3.98mg複合体; あるいは

(vi) 1gのケーキ当たり0.301mgトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、1gのケーキ当たり994.7mgスクロース、および/または1gのケーキ当たり4.97mg複合体。

44. 約10gの凍結乾燥ケーキが水中で再構成されることで1mLの溶液が産生されるとき、溶液は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを5～50mMの濃度にて、スクロースを5w/v%～15w/v%の濃度にて、および複合体を10mg/mL～50mg/mLの濃度にて含み、任意にここでトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンは25mMの濃度であり、および/またはスクロースは10w/v%の濃度にある、態様42または態様43の凍結乾燥ケーキ。

【0222】

等価物および専門用語

本明細書に説明して記載される本開示は、本明細書に具体的には開示されていない、いずれかの要素(単数または複数)、限定(単数または複数)の不在下で好適に実践され得る。よって、例えば、本出願の各事例において、用語「含む」、「から本質的になる」、「および「からなる」のいずれかは、他の2つの用語のどちらかと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等価物またはそれらの部分を排除する意図はなく、種々の改変が本開示の範囲内で可能であることが認識される。よって、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色、改変、およびバリエーションが当業者によって頼られ得ることと、かかる改変およびバリエーション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はずである。

【0223】

加えて、本開示の特色または側面がマーカッシュ群または代替物の他の群分けとして記載されるところでは、当業者は、本開示がそれによってマーカッシュ群または他の群のいずれかの個々の構成員または構成員のサブグループとしてもまた記載されることを認識するであろう。

【0224】

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、配列表で提示される配列が参照されてもよいことは解されるはずである。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(例として、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(例として、および)1以上の修飾ヌクレオチドおよび/または(例として、および)1以上の修飾ヌクレオチド間連結および/または(例として、および)1以上の他の修飾を有してもよい。

【0225】

本発明を説明する文脈における(とくに以下のクレームの文脈における)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、別様に指摘されない限り、開放型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、こ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(例として、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の値の列挙が、指定された値がX～Yの範囲内にあることを示すことは理解されるはずである。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。

10

20

【0226】

本発明の態様が本明細書に記載されている。それらの態様のバリエーションは、上記記載を読むことによって当業者には明らかになり得る。

【0227】

本発明者は当業者がかかるバリエーション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等価物を包含する。その上、それらのすべての可能なバリエーションにおける上に記載された要素のいずれかの組み合わせは、本明細書に別様に指し示されないかまたは別様に文脈によって明瞭に否定されない限り、本発明によって包摂される。当業者は、本明細書に記載の本発明の具体的な態様の多くの等価物を認識するか、またはせいぜい定型的な実験作業によって確かめる能力があるであろう。かかる等価物は、以下のクレームによって網羅されることが意図される。

30

40

50

【図面】

【図 1】

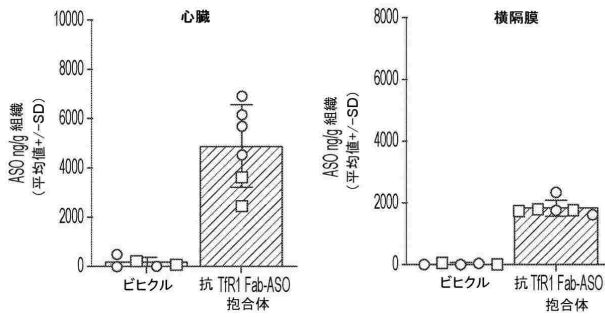


図 1A

図 1B

【図 2】

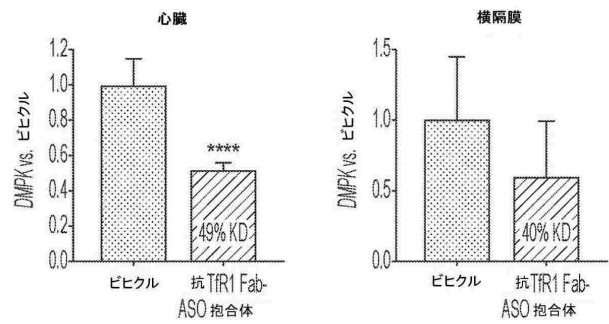


図 2A

図 2B

10

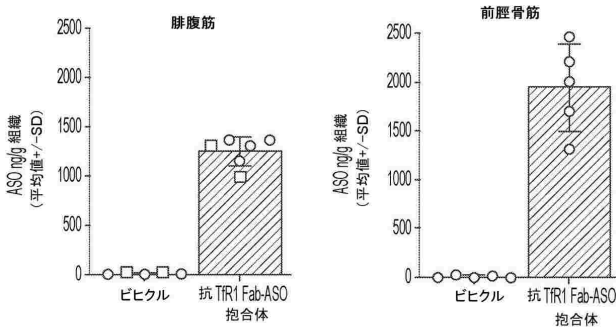


図 1C

図 1D

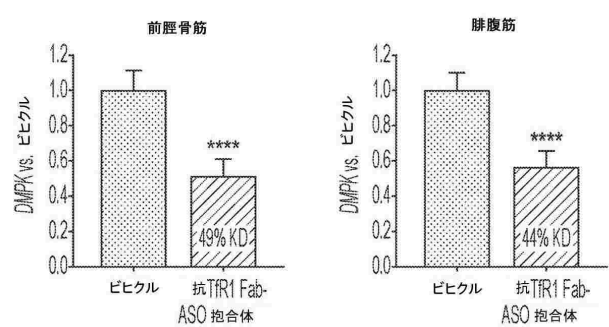
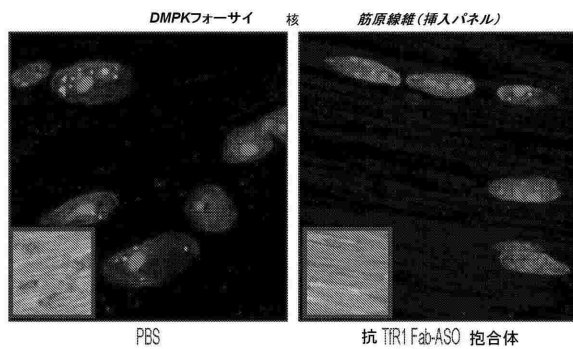


図 2C

図 2D

20

【図 3】



PBS

抗 TIR1 Fab-ASO 抱合体

図 3A

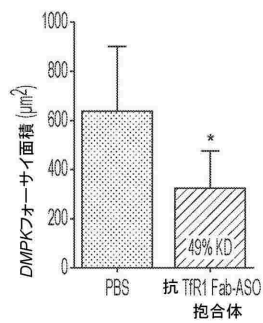


図 3B

【図 4】

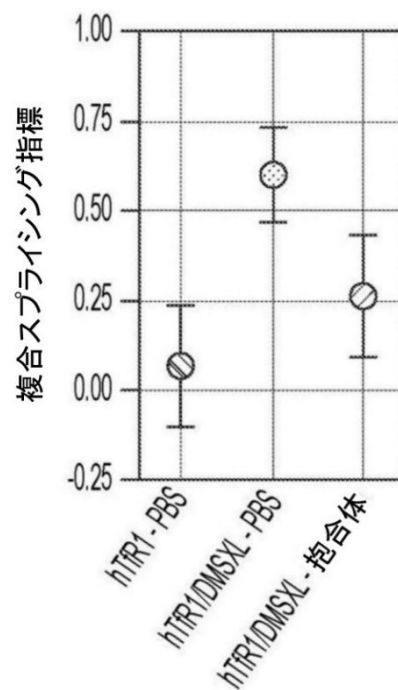


図 4

30

40

50

【 図 5 】

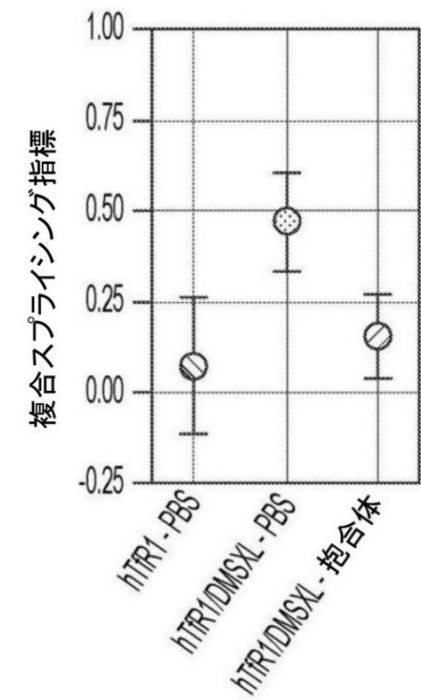


図 5

【 図 6 】

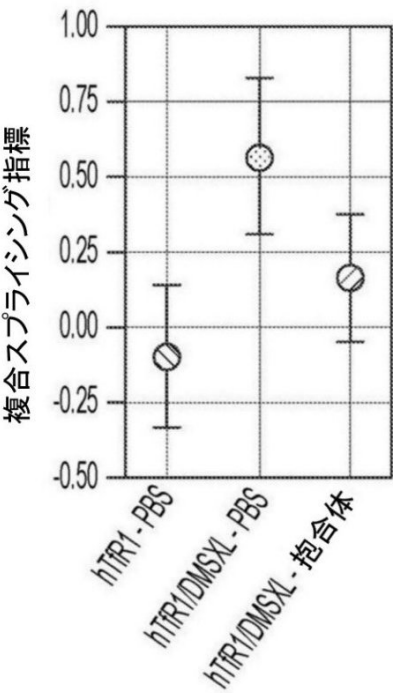


図 6

【 図 7 】

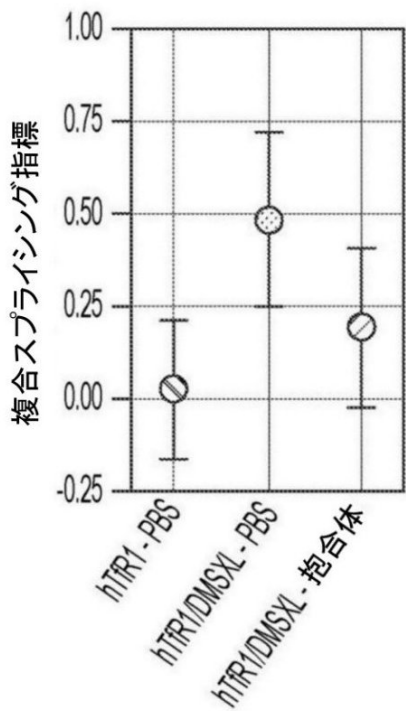


図 7

【 図 8 】

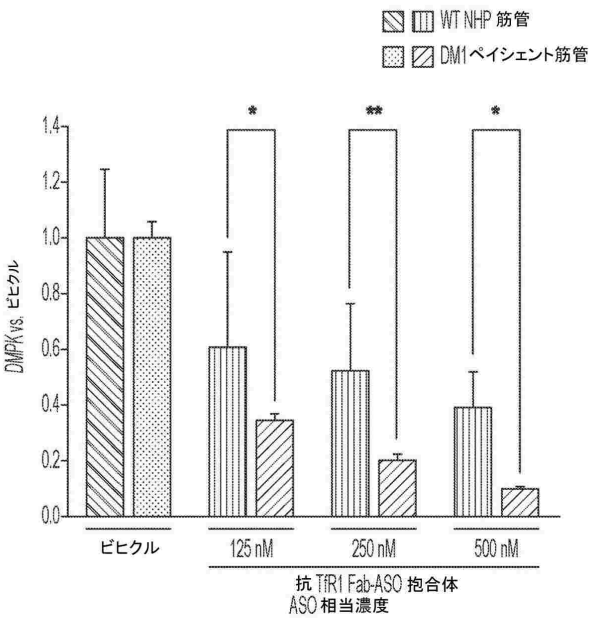


図 8

10

20

30

40

50

【図 9】

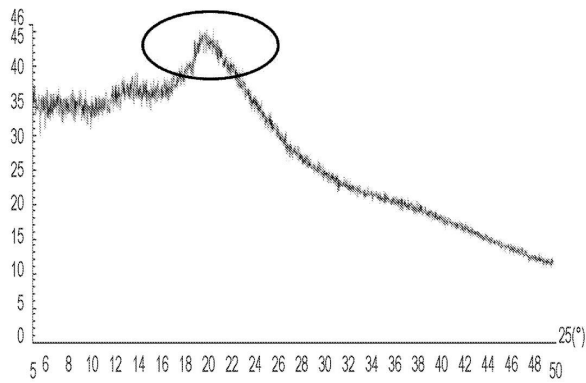


図 9

【図 10 - 1】

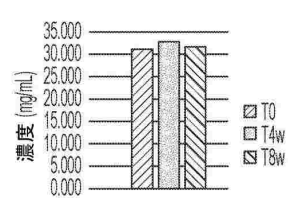


図 10A

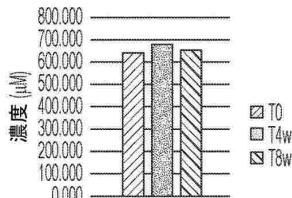


図 10B

10

【図 10 - 2】

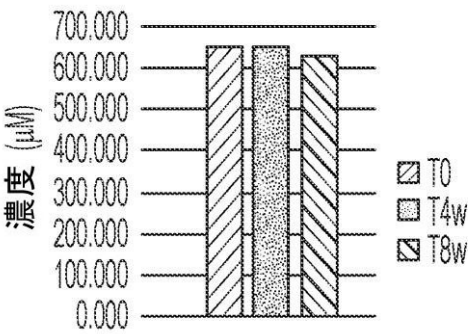


図 10C

【図 11】

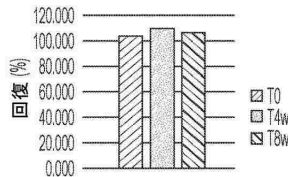


図 11A

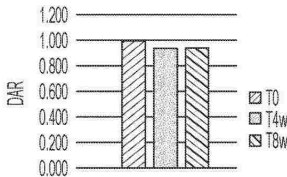


図 11B

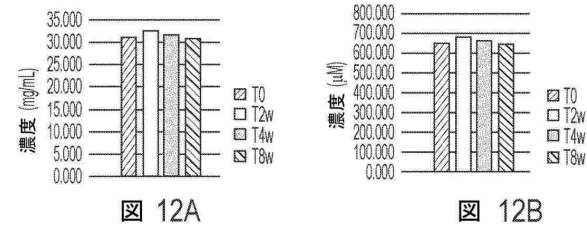
20

30

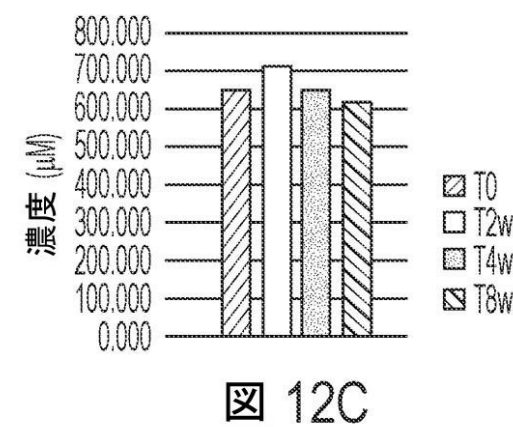
40

50

【図 1 2 - 1】

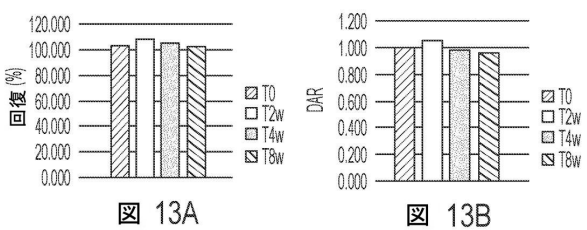


【図 1 2 - 2】

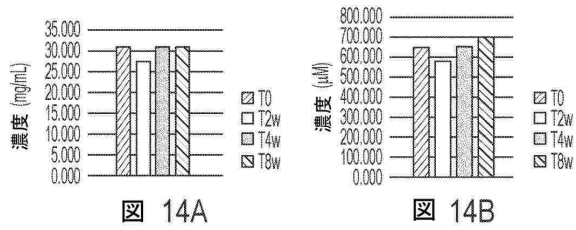


10

【図 1 3】

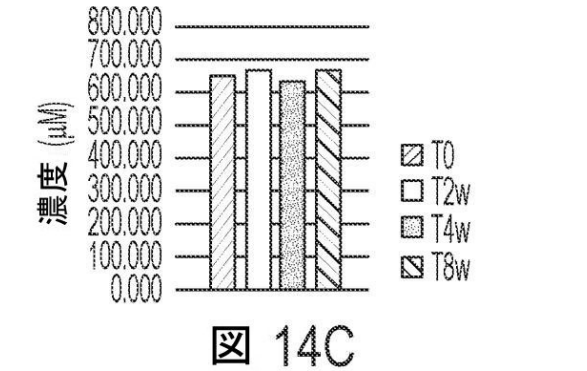


【図 1 4 - 1】

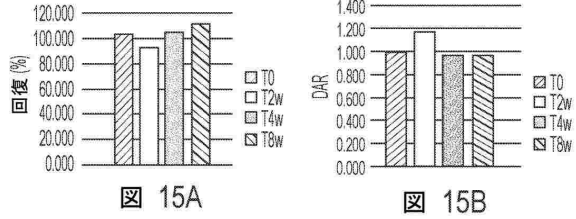


20

【図 1 4 - 2】



【図 1 5】

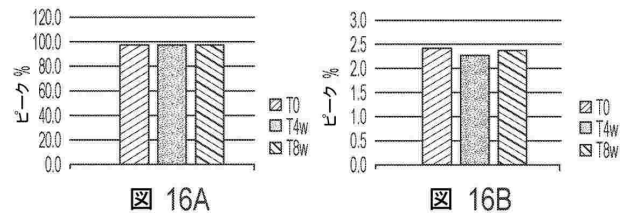


30

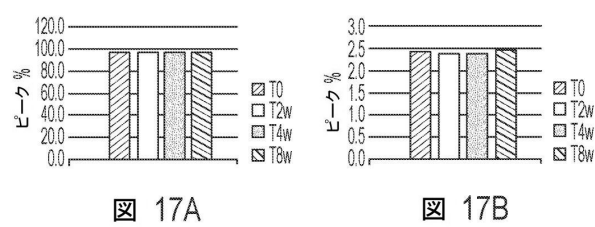
40

50

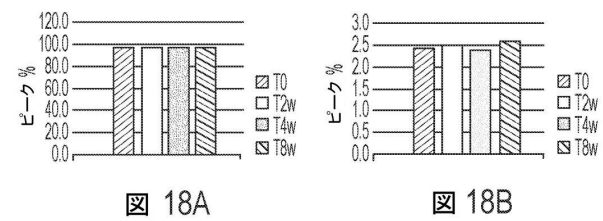
【図 16】



【図 17】



【図 18】



【図 19】

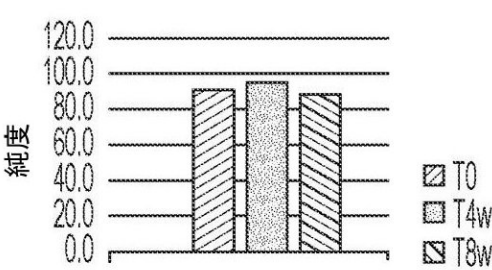


図 19

【図 20】

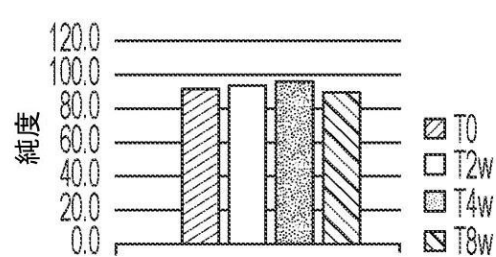


図 20

【図 21】

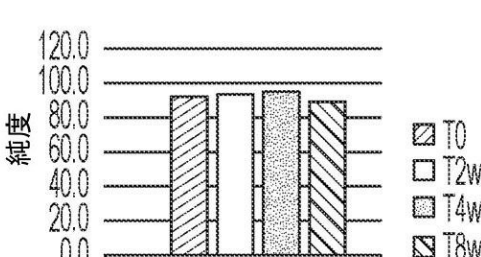


図 21

【配列表】

2025512464000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/65753

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. C07K 16/28, A61K 47/66, A61K 47/68, C12N 15/113 (2023.01)
ADD. A61K 45/06, C12N 5/10 (2023.01)
CPC - INV. C07K 16/2881, A61K 47/6807, A61K 47/6849, C12N 15/113
ADD. A61K 45/06, C07K 2317/565, C12N 15/1135

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 2021/142227 A1 (DYNE THERAPEUTICS, INC.) 15 July 2021 (15.07.2021) para [00085], [000106], [000627], [000628], [000710], [000719], [000722], [000723], [000760], [000763], Claim 1, Claim 3	1-6
Y	US 2019/0336615 A1 (SILVERBACK THERAPEUTICS, INC.) 07 November 2019 (07.11.2019) para [0578], [0582], Claim 1, Claim 54	1-6

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

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

05 July 2023 (05.07.2023)

Date of mailing of the international search report

AUG 01 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 23/65753

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item I.e 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 23/65753

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.: 7-23
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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.:

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.

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/18 (2017.01)	A 6 1 K 47/18	
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 31/7115(2006.01)	A 6 1 K 31/7115	
A 6 1 K 31/712(2006.01)	A 6 1 K 31/712	
A 6 1 K 31/7125(2006.01)	A 6 1 K 31/7125	
,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,CO,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,IR,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		
(72)発明者	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 ウィーデン、ティモシー	
(72)発明者	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 ナジム、ジョン	
(72)発明者	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 ザノッティ、ステファノ	
(72)発明者	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 サブラマニアン、ロメシュ、アール.	
(72)発明者	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 カタナニ、モハマド、ティー.	
(72)発明者	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 デジャルダン、コディ、エー.	
(72)発明者	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 タン、キム	
(72)発明者	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 クイン、ブレンダン	
F ターム (参考)	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 4C076 AA95 BB11 CC09 CC41 DD17 DD67 EE41 EE59 FF31 FF68 4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA05 NA13 NA14 ZA94 ZC02 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA54 CA40 DA75 DA76 EA20 FA74	