(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0034419
(43) 공개일자 2025년03월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/65 (2017.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 47/65 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2025-7003325
(22) 출원일자(국제) 2023년07월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년02월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/069652
(87) 국제공개번호 WO 2024/011135
국제공개일자 2024년01월11일
(30) 우선권주장
63/367,783 2022년07월06일 미국(US)
63/477,160 2022년12월23일 미국(US)

(71) 출원인
다인 세라퓨틱스, 인크.
미국 02451 매사추세츠주 월섬 트라펠로 로드 1560
(72) 발명자
시아, 넬슨
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
위든, 티모시
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

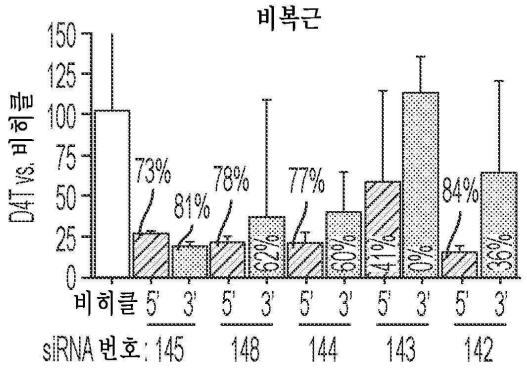
전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **근육 표적화 복합체 및 안면견갑상완 근육 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도**

(57) 요 약

본 개시내용의 측면은 DUX4 RNA를 표적화하도록 설계된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, RNAi 올리고뉴클레오티드, 예컨대 siRNA) 및 세포 (예를 들어, 근육 세포)에 올리고뉴클레오티드를 전달하기 위한 표적화 복합체 및 그의 용도, 특히 질환 (예를 들어, FSHD)의 치료와 관련된 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도9b



(52) CPC특허분류
A61K 47/6807 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
C07K 16/2881 (2013.01)
C12N 15/113 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2320/32 (2013.01)

(72) 발명자
자노티, 스테파노
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
베스크로브나야, 옥사나
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
데케르트, 요헨
독일 95444 바이로이트 한스-작스-스트라쎄 34체
포른을로허, 한스-페터
독일 95326 쿨름바흐 프리츠-호른슈흐-스트라쎄9 악솔랍스 게엠베하 내
서브라마니안, 로메쉬, 알.
미국 01701 매사추세츠 프레밍햄 앨런 스트리트 9
카타나니, 모하메드, 티.
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
데자르댕, 코디, 에이.
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
퀸, 브렌단
미국 02118 매사추세츠 보스턴 이스트 뉴턴 스트리트 45 #320
나짐, 존
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
호스바흐, 마르쿠스
독일 95326 쿨름바흐 독토르 마틴 루터 스트라쎄 15
홀치, 카트린
독일 95326 쿨름바흐 프리츠-호른슈흐-스트라쎄9 악솔랍스 게엠베하 내
치우, 치펑
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560
힐더브랜드, 스콧
미국 02451 매사추세츠 월섬 트라펠로 로드 1560

명 세 서

청구범위

청구항 1

이중 호메오박스 4 (DUX4) RNA를 표적화하는 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오티드는 18-25개 뉴클레오티드 길이의 안티센스 가닥을 포함하고, 서열식별번호: 200, 191, 189, 186, 190, 174-185, 187, 188, 192-199 및 201-235에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하고, 여기서 상보성 영역은 적어도 16개의 연속 뉴클레오시드 길이인 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 근육-표적화제가 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체인 복합체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 RNAi 올리고뉴클레오티드인 복합체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥이 서열식별번호: 262, 253, 251, 262, 248, 252, 236-247, 249, 250, 254-261, 263-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 안티센스 가닥에 대해 상보적인 적어도 18개의 연속 뉴클레오시드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함하고, 임의로 여기서 센스 가닥이 안티센스 가닥에 대해 상보적인 21개의 연속 뉴클레오시드를 포함하는 것인 복합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 센스 가닥이 서열식별번호: 231, 222, 220, 217, 221, 205-216, 218, 219, 223, 230, 232-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 근육-표적화제가 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된 것인 복합체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥이 5'-(E)-비닐포스포네이트를 추가로 포함하는 것인 복합체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 것인 복합체.

청구항 10

제9항에 있어서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드가 2' 변형된 뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드가 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE), 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로부터 선택된 것인 복합체.

청구항 11

제10항에 있어서, 각각의 2' 변형된 뉴클레오티드가 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 또는 2'-플루오로 (2'-F)인 복합체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하는 것인 복합체.

청구항 13

제12항에 있어서, 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥 상에 존재하고, 임의로 여기서 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이고/거나 안티센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결인 복합체.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥 상에 존재하고, 임의로 여기서 센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이고/거나 센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결인 복합체.

청구항 15

제6항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥이 표 8에 열거된 서열식별번호: 236-266의 변형된 버전 (예를 들어, MAS1-MAS4)으로부터 선택되고/거나 센스 가닥이 표 8에 열거된 서열식별번호: 205-235의 변형된 버전 (예를 들어, MS1-MS6)으로부터 선택된 것인 복합체.

청구항 16

제6항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥이 표 9에 열거된 서열식별번호: 262, 253, 251, 248 및 252의 변형된 버전 (예를 들어, VP-MAS5, VP-MAS6 및 VP-MAS7)으로부터 선택되고/거나 센스 가닥이 표 9에 열거된 서열식별번호: 231, 222, 220, 217 및 221의 변형된 버전 (예를 들어, MS7-MS9)으로부터 선택된 것인 복합체.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 표 8에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA 분자인 복합체.

청구항 18

제1항 내지 제14항 및 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 표 9에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA 분자인 복합체.

청구항 19

제2항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 표 2에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2), 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3)을 포함하는 것인 복합체.

청구항 20

제2항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 표 3에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인 복합체.

청구항 21

제2항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab이고, 임의로 여기서 Fab가 표 5에 열거된 항-

TfR1 Fab 중 어느 것의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 것인 복합체.

청구항 22

제2항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항-TfR1 항체가

(i) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3;

(ii) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3; 또는

(ii) 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

을 포함하는 것인 복합체.

청구항 23

제22항에 있어서, 항-TfR1 항체가 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 것인 복합체.

청구항 24

제23항에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab이고, 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 복합체.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 근육 표적화제 및 안티센스 올리고뉴클레오티드가 링커를 통해 공유 연결되고, 임의로 여기서 링커가 발린-시트룰린 서열을 포함하는 것인 복합체.

청구항 26

근육 세포에서 DUX4 발현을 감소시키는 방법으로서, 근육 세포를 근육 세포에 대한 올리고뉴클레오티드의 내재화를 촉진하기 위한 유효량의 제1항 내지 제25항 중 어느 한 항의 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, DUX4 발현을 감소시키는 것이 DUX4 단백질 및/또는 mRNA 수준을 감소시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 28

안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD)을 치료하는 방법으로서, 그를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제25항 중 어느 한 항의 복합체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 DUX4 단백질의 이상 생산을 갖는 것인 방법.

청구항 29

표 8에 열거된 siRNA 올리고뉴클레오티드로부터 선택된 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

청구항 30

표 9에 열거된 siRNA 올리고뉴클레오티드로부터 선택된 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

청구항 31

올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체를 생산하는 방법으로서,

(i) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계이며, 여기서 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함하고, 임의로 여기서 siRNA 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA를 표적화하는 것인 단계;

(ii) siRNA 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥을 센스 가닥에 어닐링시키는 단계;

(iii) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물과 반응시켜 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계; 및

(iv) 항-TfR1 항체를 근육 표적화제와 함께 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결시켜 화학식 (E)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계

를 포함하며,

임의로 여기서 단계 (ii)의 어닐링을 30℃에서 수행하고,

추가로 임의로 여기서 방법은 단계 (iii) 후에 및 단계 (iv) 전에 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 단리하는 것을 추가로 포함하고;

추가로 임의로 여기서 항-TfR1 항체는 DUX4 RNA를 표적화하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 것인

방법.

청구항 32

올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체를 생산하는 방법으로서,

(i) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계이며, 여기서 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함하고, 임의로 여기서 siRNA 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA를 표적화하는 것인 단계;

(ii) siRNA 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥을 센스 가닥에 어닐링시키는 단계;

(iii) 항-TfR1 항체를 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결시켜 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계; 및

(iv) 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 반응시켜 화학식 (E)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계

를 포함하며,

임의로 여기서 단계 (ii)의 어닐링을 30℃에서 수행하고,

추가로 임의로 여기서 항-TfR1 항체는 DUX4 RNA를 표적화하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 것인

방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2022년 7월 6일에 출원된 미국 가출원 번호 63/367,783 (발명의 명칭: "근육 표적화 복합체 및 안면견갑상완 근육 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도") 및 2022년 12월 23일에 출원된 미국 가출원 번호 63/477,160 (발명의 명칭: "근육 표적화 복합체 및 안면견갑상완 근육 이영양증을 치료하기 위한 그의 용도")을 35 U.S.C. § 119(e) 하에 우선권 주장하며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 출원은 DUX4 RNA를 표적화하도록 설계된 올리고뉴클레오티드 및 세포에 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)를 전달하기 위한 표적화 복합체 및 그의 용도, 특히 질환의 치료와 관련된 용도에 관한 것이다.

[0005] 전자 서열 목록에 대한 참조

[0006] 전자 서열 목록의 내용 (D082470078WO00-SEQ-CBD.xml; 크기: 339,190 바이트; 및 생성일: 2023년 6월 30일)은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0007] 근육 이영양증 (MD)은 진행성 약화 및 근육 질량 손실을 특징으로 하는 질환 군이다. 이들 질환은 건강한 근육 조직에 필요한 단백질을 코딩하는 유전자 내의 돌연변이에 의해 유발된다. 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD)은 주로 안면, 견갑골 및 상완의 근육에 영향을 미치는 우성 유전성 유형의 MD이다. FSHD의 다른 증상은 복부 근육 약화, 망막 이상, 청각 상실 및 관절 통증 및 염증을 포함한다. FSHD는 8,300명 중 약 1명의 전세계적 발생률로, 성인 및 소아 둘 다에 영향을 미치는 9가지 유형의 MD 중 가장 보편적인 것이다. FSHD는 유전자 발현을 조절하는 단백질인 이중 호메오박스 4 (DUX4)의 이상 생산에 의해 유발된다. DUX4 단백질을 코딩하는 DUX4 유전자는 염색체 4 상의 D4Z4 반복 영역에 위치하고, 전형적으로 성인 고환 및 흉선에서 및 2-세포 단계 배아에서 발현되며, 이 후에 DUX4 유전자를 둘러싸고 치밀화하는 D4Z4 반복부의 과메틸화에 의해 억제된다. 2가지 유형의 FSHD 1형 및 2형이 기재되었다. 사례의 약 95%를 차지하는 1형은 염색체 4의 서브텔로미어 영역에서의 D4Z4 반복부의 결실과 연관된다. 이환되지 않은 개체는 일반적으로 염색체 4의 서브텔로미어 영역에 10개 초과의 반복부가 배열되어 있는 반면, 가장 흔한 형태의 FSHD (FSHD1)는 상기 배열의 10개 미만의 반복부로의 수축에 의해 유발되며, 이는 골격근에서의 DUX4의 감소된 후성적 억제 및 다양한 발현과 연관된다. 염색체 4q의 2개의 대립유전자 변이체 (4qA 및 4qB)는 D4Z4 반복부의 가장 먼 단위에 존재한다. 4qA는 기능적 폴리아데닐화 컨센서스 부위와 시스로 존재한다. 4qA 대립유전자 상의 수축은 DUX4 전사체가 폴리아데닐화되고 안정하기 때문에 병원성이다. 사례의 약 5%를 차지하는 2형 FSHD는 염색체 18 상의 SMCHD1 유전자의 돌연변이와 연관된다. 2형 FSHD는 또한 DNMT3B 유전자 또는 LRIF1 유전자와 연관될 수 있다. 이 질환의 증상을 해결하기 위한 지지적 관리 및 치료 이외에, FSHD에 대한 효과적인 요법은 없다.

발명의 내용

[0008] 본 개시내용의 일부 측면은 DUX4 RNA를 표적화하도록 설계된 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 DUX4 RNA 및/또는 단백질의 수준을 감소시키는 데 유용한, DUX4 RNA와 상보적인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 DUX4 RNA의 수준을 감소시키는 데 유용한, DUX4 RNA의 엑손 3과 상보적인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA의 RNAi 매개된 분해를 지시하도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA의 분해를 위해 RNA-유도된 침묵 복합체 (RISC)에 효율적으로 결속할 뿐만 아니라 감소된 오프-타겟 효과를 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 생체이용률 및/또는 혈청-안정성 특성을 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 결합 친화도 특성을 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 독성 및/또는 면역원성 프로파일을 갖도록 설계된다. 근육에서의 DUX4 RNA 및/또는 단백질의 이상 (예를 들어, 증가된) 발현은 근육 위축, 염증 및 감소된 분화 잠재력 및 산화성 스트레스를 포함한, 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD) 병리상태의 특색과 연관된다. 일부 실시양태에서, DUX4 RNA 및/또는 단백질 수준을 감소시키는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 FSHD를 치료하는 데 효과적이다.

[0009] 일부 측면에 따르면, 본 개시내용은 근육 세포 (예를 들어, 1차 근모세포)에 분자 페이로드 (예를 들어, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드)를 전달하기 위한 목적으로 상기 세포를 표적화하는 복합체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는, 예를 들어 FSHD를 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에서 DUX4의 발현 또는 활성을 억제하는 분자 페이로드를 전달하는 데 특히 유용하다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 제공된

복합체는 근육 세포에 분자 페이로드를 전달하려는 목적을 위한, 근육 세포의 표면 상의 수용체에 특이적으로 결합하는 근육-표적화제 (예를 들어, 근육 표적화 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 수용체 매개된 내재화를 통해 세포 내로 흡수되고, 이 후 분자 페이로드가 방출되어 세포 내부에서 기능을 수행할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드를 전달하도록 조작된 복합체는 올리고뉴클레오티드가 근육 세포에서 DUX4 유전자 발현을 억제할 수 있도록 올리고뉴클레오티드를 방출할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 복합체의 근육-표적화제와 올리고뉴클레오티드를 연결하는 공유 링커의 엔도솜 절단에 의해 방출된다.

[0010] 본 개시내용의 일부 측면은 이중 호메오박스 4 (DUX4) RNA (예를 들어, mRNA)를 표적화하는 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오티드는 18-25개 뉴클레오티드 길이의 안티센스 가닥을 포함하고, 서열식별번호(SEQ ID NO): 174-235에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하고, 여기서 상보성 영역은 적어도 16개의 연속 뉴클레오시드 길이인 복합체를 제공한다.

[0011] 본 개시내용의 일부 측면은 이중 호메오박스 4 (DUX4) RNA (예를 들어, mRNA)를 표적화하는 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오티드는 18-25개 뉴클레오티드 길이의 안티센스 가닥을 포함하고, 서열식별번호: 200, 191, 189, 186, 190, 174-185, 187, 188, 192-199 및 201-235에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하고, 여기서 상보성 영역은 적어도 16개의 연속 뉴클레오시드 길이인 복합체를 제공한다.

[0012] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체이다.

[0013] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 RNAi 올리고뉴클레오티드이다.

[0014] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0015] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 서열식별번호: 262, 253, 251, 248, 252, 236-247, 249, 250, 254-261, 263-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0016] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 대해 상보적인 적어도 18개의 연속 뉴클레오시드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0017] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 안티센스 가닥에 대해 상보적인 21개의 연속 뉴클레오시드를 포함한다.

[0018] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0019] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 서열식별번호: 231, 222, 220, 217, 221, 205-216, 218, 219, 223, 230, 232-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0020] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다.

[0021] 일부 실시양태에서, RNAi 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 5'-(E)-비닐포스포네이트를 추가로 포함한다.

[0022] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0023] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드는 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE), 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로부터 선택된다.

[0024] 일부 실시양태에서, 각각의 2' 변형된 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 또는 2'-플루오로 (2'-F)이다. 일부 실시양태에서, 2' 변형된 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 (2'-O-Me)이다. 일부 실시양태에서, 2' 변형된 뉴클레오티드는 2'-플루오로 (2'-F)이다.

[0025] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다.

[0026] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥 상에 존재한다.

[0027] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결 및 안티센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간

연결이다.

[0028] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥 상에 존재한다.

[0029] 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결 및 센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다.

[0030] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 1개 이상의 시티딘은 2'-변형된 5-메틸-시티딘이고, 임의로 여기서 2'-변형된 5-메틸-시티딘은 2'-O-Me 변형된 5-메틸-시티딘 또는 2'-F 변형된 5-메틸-시티딘이다.

[0031] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 서열식별번호: 236-266의 변형된 버전 (예를 들어, MAS1-MAS4)으로부터 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 MAS1-236, MAS1-237, MAS1-238, MAS2-236, MAS2-237, MAS2-238, MAS2-239, MAS2-240, MAS2-241, MAS2-242, MAS2-243, MAS2-244, MAS2-245, MAS2-246, MAS2-247, MAS2-248, MAS2-249, MAS2-250, MAS2-251, MAS2-252, MAS2-253, MAS2-254, MAS2-255, MAS2-256, MAS2-257, MAS3-236, MAS3-237, MAS3-238, MAS3-239, MAS3-240, MAS3-241, MAS3-242, MAS3-243, MAS3-244, MAS3-245, MAS3-246, MAS3-247, MAS3-248, MAS3-249, MAS3-250, MAS3-251, MAS3-252, MAS3-253, MAS3-254, MAS3-255, MAS3-256, MAS3-257, MAS3-258, MAS3-259, MAS3-260, MAS3-261, MAS3-262, MAS3-263, MAS3-264, MAS3-265, MAS3-266, MAS4-236, MAS4-237, MAS4-238, MAS4-239, MAS4-240, MAS4-241, MAS4-242, MAS4-243, MAS4-244, MAS4-245, MAS4-246, MAS4-247, MAS4-248, MAS4-249, MAS4-250, MAS4-251, MAS4-252, MAS4-253, MAS4-254, MAS4-255, MAS4-256 및 MAS4-257로부터 선택된다.

[0032] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 표 8에 열거된 서열식별번호: 205-235의 변형된 버전 (예를 들어, MS1-MS6)으로부터 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 MS1-205, MS1-206, MS1-207, MS2-208, MS2-209, MS2-210, MS2-211, MS2-212, MS2-213, MS2-214, MS2-215, MS2-216, MS2-217, MS2-218, MS2-219, MS2-220, MS2-221, MS2-222, MS2-223, MS2-224, MS2-225, MS2-226, MS3-205, MS3-206, MS3-207, MS3-208, MS3-209, MS3-210, MS3-211, MS3-212, MS3-213, MS3-214, MS3-215, MS3-216, MS3-217, MS3-218, MS3-219, MS3-220, MS3-221, MS3-222, MS3-223, MS3-224, MS3-225, MS3-226, MS3-227, MS3-228, MS3-229, MS3-230, MS3-231, MS3-232, MS3-233, MS3-234, MS3-235, MS4-205, MS4-206, MS4-207, MS4-208, MS4-209, MS4-210, MS4-211, MS4-212, MS4-213, MS4-214, MS4-215, MS4-216, MS4-217, MS4-218, MS4-219, MS4-220, MS4-221, MS4-222, MS4-223, MS4-224, MS4-225, MS4-226, MS5-205, MS5-206, MS5-207, MS5-208, MS5-209, MS5-210, MS5-211, MS5-212, MS5-213, MS5-214, MS5-215, MS5-216, MS5-217, MS5-218, MS5-219, MS5-220, MS5-221, MS5-222, MS5-223, MS5-224, MS5-225, MS5-226, MS6-205, MS6-206, MS6-207, MS6-208, MS6-209, MS6-210, MS6-211, MS6-212, MS6-213, MS6-214, MS6-215, MS6-216, MS6-217, MS6-218, MS6-219, MS6-220, MS6-221, MS6-222, MS6-223, MS6-224, MS6-225 및 MS6-226으로부터 선택된다.

[0033] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 서열식별번호: 262, 253, 251, 248 및 252의 변형된 버전 (예를 들어, VP-MAS5, VP-MAS6 및 VP-MAS7)으로부터 선택되고/거나 센스 가닥은 표 9에 열거된 서열식별번호: 231, 222, 220, 217 및 221의 변형된 버전 (예를 들어, MS7-MS9)으로부터 선택된다.

[0034] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표 8에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA 분자이다.

[0035] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표 9에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA 분자이다.

[0036] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 표 2에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2), 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3)을 포함한다.

[0037] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.

[0038] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 Fab이고, 임의로 여기서 Fab는 표 5에 열거된 항-TfR1 Fab 중 어느 것의 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

[0039] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기를 포함한다:

[0040] (i) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3;

[0041] (ii) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3; 또는

[0042] (ii) 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3.

[0043] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0044] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 Fab이고, 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0045] 일부 실시양태에서, 근육 표적화제 및 안티센스 올리고뉴클레오티드는 링커를 통해 공유 연결되고, 임의로 여기서 링커는 발린-시트룰린 서열을 포함한다.

[0046] 근육 세포에서 DUX4 발현을 감소시키는 방법으로서, 근육 세포를 근육 세포에 대한 올리고뉴클레오티드의 내재화를 촉진하기 위한 유효량의 본원에 기재된 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는 방법이 본원에 추가로 제공된다. 일부 실시양태에서, DUX4 발현을 감소시키는 것은 DUX4 단백질 및/또는 mRNA 수준을 감소시키는 것을 포함한다.

[0047] 추가로, 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD)을 치료하는 방법으로서, 그를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본원에 제공된 복합체를 투여하는 것을 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 DUX4 단백질의 이상 생산을 갖는다.

[0048] 본 개시내용의 다른 측면은 표 8에 열거된 siRNA 올리고뉴클레오티드로부터 선택된 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다.

[0049] 본 개시내용의 다른 측면은 표 9에 열거된 siRNA 올리고뉴클레오티드로부터 선택된 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다.

[0050] 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체를 생산하는 방법으로서, (i) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계이며, 여기서 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함하고, 임의로 여기서 siRNA 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA를 표적화하는 것인 단계; (ii) siRNA 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥을 센스 가닥에 어닐링하는 단계; (iii) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물과 반응시켜 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계; 및 (iv) 항-TfR1 항체를 근육 표적화제와 함께 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결시켜 화학식 (E)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계를 포함하며, 임의로 여기서 단계 (ii)의 어닐링을 30℃에서 수행하고, 추가로 임의로 여기서 방법은 단계 (iii) 후에 및 단계 (iv) 전에 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 단리하는 것을 추가로 포함하고; 추가로 임의로 여기서 항-TfR1 항체는 DUX4 RNA를 표적화하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 것인 방법이 본원에 추가로 제공된다.

[0051] 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체를 생산하는 방법으로서, (i) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계이며, 여기서 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함하고, 임의로 여기서 siRNA 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA를 표적화하는 것인 단계; (ii) siRNA 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥을 센스 가닥에 어닐링하는 단계; (iii) 항-TfR1 항체를 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결시켜 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계; 및 (iv) 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 반응시켜 화학

식 (E)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계를 포함하며, 임의로 여기서 단계 (ii)의 어닐링을 30℃에서 수행하고, 추가로 임의로 여기서 항-TfR1 항체는 DUX4 RNA를 표적화하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 것인 방법이 본원에 추가로 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0052] 도 1은 세포를 siRNA로 형질감염시키는 효과를 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. 그래프는 HPRT mRNA 수준에 대한 siRNA의 효과를 보여준다.

도 2는 siRNA를 포함하는 근육 표적화 복합체의 활성을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. 복합체의 시험관내 활성을 배양된 근육 세포에서 HPRT mRNA 수준에 대해 측정하였다. 복합체는 근육 표적화 항체에 연결된 siRNA를 포함한다.

도 3a-3b는 비히클-처리된 대조군에 비해 생체내 마우스 근육 조직 (비복근 및 심장)의 활성을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. (N=4마리 C57BL/6 WT 마우스) 복합체의 생체내 활성을 측정하였다. 복합체는 근육 표적화 항체에 연결된 siRNA를 포함한다.

도 4a-4e는 siRNA를 포함하는 근육 표적화 복합체의 조직 선택성을 보여주는 비제한적 개략도를 도시한다. 복합체는 근육 표적화 항체에 연결된 siRNA를 포함한다.

도 5는 siRNA-A, siRNA-B 또는 siRNA-C에 공유 연결된 항-TfR Fab 3M12 VH4/Vκ3을 함유하는 siRNA 접합체와 함께 인큐베이션한 후, AB1080 불멸화 FSHD 환자-유래 근관에서의 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 (MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4)의 mRNA 수준의 복합 점수를 보여준다. 항-TfR Fab는 링커를 통해 각각의 siRNA의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결되고, 상응하는 안티센스 가닥은 센스 가닥에 어닐링되었다.

도 6은 0.2 nM 또는 20 nM의 농도의 siRNA 7, 49, 50, 53, 54, 136, 19, 114, 137, 138, 32, 35, 33, 36, 73, 74, 77, 76, 75, 78, 83, 68, 103, 104, 107, 106, 105, 108, 85, 86, 89, 88, 87, 90, 133, 135, 140, 97, 128, 132, 134, 47, 91, 92, 95, 94, 93 및 96으로부터 선택된 siRNA를 사용한 형질감염 후, FSHD 환자-유래 C6 근관에서의 DUX4 트랜스크립톰 마커 MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4의 mRNA 수준의 복합 점수를 보여준다. siRNA 번호는 표 8에서의 siRNA 번호에 상응한다.

도 7a-7c는 siRNA 7, 136, 137, 74, 77, 78, 104, 107, 106, 86, 89, 133, 97, 128, 92, 95 및 94에 대해 생성된 용량 반응 곡선을 보여준다. siRNA 번호는 표 8에서의 siRNA 번호에 상응한다. 소정 범위의 농도 (2 pM 내지 40 nM)의 나타낸 siRNA로 처리한 세포에서 DUX4 트랜스크립톰 마커 MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4의 복합 점수를 사용하여 용량 반응 곡선을 생성하였다.

도 8은 10 nM, 100 nM 또는 1000 nM 농도의 siRNA-항체 복합체를 사용한 처리 후, FSHD 환자-유래 C6 근관에서의 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 (MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4)의 mRNA 수준의 복합 점수를 보여준다. siRNA-항체 복합체는 DUX4-표적화 siRNA에 공유 연결된 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 함유하였다. 시험된 siRNA는 siRNA 142-148이었다. siRNA 번호는 표 9에서의 siRNA 번호에 상응한다. 엑손 1 표적화 siRNA를 양성 대조군으로서 사용하였다.

도 9a-9b는 비히클-처리된 대조군에 비해 마우스 근육 사두근 (도 9a) 및 비복근 (도 9b) 근육에서 3종의 DUX4 마우스 트랜스크립톰 마커 (Wfdc3, Sord, Serpinb6c)의 mRNA 수준의 복합 점수를 보여준다. 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3에 공유 연결된 DUX4-표적화 siRNA 복합체를 10 mg/kg의 siRNA의 용량으로 단일 정맥내 주사한지 4주 후에 조직을 수집하였다. 시험된 siRNA는 siRNA145, siRNA148, siRNA144, siRNA143 및 siRNA142였다. siRNA 번호는 표 9에서의 siRNA 번호에 상응한다.

도 10은 본원에 기재된 항-TfR1-siRNA 복합체를 제조하는 방법을 예시하는 개략도의 예를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0053] 본 개시내용의 일부 측면은 DUX4 RNA를 표적화하도록 설계된 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 DUX4 RNA 및/또는 단백질의 수준을 감소시키는 데 유용한, DUX4 RNA와 상보적인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA의 RNAi 매개된 분해를 지시하도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA의 분해를 위해 RNA-유도된 침묵 복합체 (RISC)에 효율적으로 결속할 뿐만 아니라 감소된 오프-타겟 효과를 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 생체이용률 및/또는 혈청-안정성 특성을 갖도록 설계된다. 일부 실시양태

에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 결합 친화도 특성을 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 독성 및/또는 면역원성 프로파일을 갖도록 설계된다. 근육에서의 DUX4 RNA 및/또는 단백질의 이상 (예를 들어, 증가된) 발현은 근육 위축, 염증 및 감소된 분화 잠재력 및 산화성 스트레스를 포함한, 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD) 병리상태의 특색과 연관된다. 일부 실시양태에서, DUX4 RNA 및/또는 단백질 수준을 감소시키는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 FSHD를 치료하는 데 효과적이다.

[0054] 일부 측면에서, 본 개시내용은 올리고뉴클레오티드의 근육 세포로의 효과적인 전달을 위해 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 복합체는, 예를 들어 희귀 근육 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에서의 근육 세포에 표적 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 분자 페이로드를 전달하는 데 특히 유용하다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, FSHD를 갖는 대상체를 치료하기 위한 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, FSHD1을 갖는 대상체를 치료하기 위한 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, FSHD2를 갖는 대상체를 치료하기 위한 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, FSHD를 갖는 대상체를 치료하기 위한 DUX4를 표적화하는 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는 염색체 4 상의 1개 이상의 D4Z4 반복부 결실을 갖는 대상체에서 DUX4의 발현을 억제하는 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 복합체는 SMCHD1 또는 또 다른 DUX4 조절 유전자에 돌연변이를 갖는 대상체에서 DUX4의 발현을 억제하는 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0055] 정의된 용어의 설명을 포함한 본 개시내용의 추가 측면이 하기에 제공된다.

[0056] I. 정의

[0057] 투여: 본원에 사용된 용어 "투여하는" 또는 "투여"는 생리학상 및/또는 (예를 들어, 및) 약리학상 유용한 (예를 들어, 대상체에서 상태를 치료하기 위한) 방식으로 대상체에게 복합체를 제공하는 것을 의미한다.

[0058] 대략: 본원에 사용된 용어 "대략" 또는 "약"은 1개 이상의 관심 값에 적용되는 경우에 언급된 참조 값에 유사한 값을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 달리 언급되지 않거나 또는 달리 문맥으로부터 명백하지 않는 한 언급된 참조 값의 어느 방향으로 (초과 또는 미만) 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 미만 내에 속하는 값의 범위를 지칭한다 (이러한 수가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우는 제외함).

[0059] 항체: 본원에 사용된 용어 "항체"는 적어도 1개의 이뮤노글로불린 가변 도메인 또는 적어도 1개의 항원 결정기, 예를 들어 항원에 특이적으로 결합하는 파라토프를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 키메라 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 그러나, 일부 실시양태에서, 항체는 Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편 또는 scFv 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체는 낙타류 항체로부터 유래된 나노바디 또는 상어 항체로부터 유래된 나노바디이다. 일부 실시양태에서, 항체는 디아바디이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 배선 서열을 갖는 프레임워크를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 IgG, IgG1, IgG2, IgG2A, IgG2B, IgG2C, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgM 및 IgE 불변 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 중쇄 (H) 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 (L) 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 불변 도메인, 예를 들어 Fc 영역을 포함한다. 이뮤노글로불린 불변 도메인은 중쇄 또는 경쇄 불변 도메인을 지칭한다. 인간 IgG 중쇄 및 경쇄 불변 도메인 아미노산 서열 및 그의 기능적 변이는 공지되어 있다. 중쇄와 관련하여, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 중쇄는 알파 (α), 델타 (Δ), 엡실론 (ε), 감마 (ɣ) 또는 뮤 (μ) 중쇄일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 중쇄는 인간 알파 (α), 델타 (Δ), 엡실론 (ε), 감마 (ɣ) 또는 뮤 (μ) 중쇄를 포함할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 감마 1 CH1, CH2 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH 도메인의 아미노산 서열은 인간 감마 (ɣ) 중쇄 불변 영역, 예컨대 관련 기술분야에 공지된 임의의 것의 아미노산 서열을 포함한다. 인간 불변 영역 서열의 비제한적 예는 관련 기술분야에 기재되었으며, 예를 들어 미국 특허 번호 5,693,780 및 상기 문헌 [Kabat E A et al., (1991)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, VH 도메인은 본원에 제공된 임의의 가변 쇄 불변 영역에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자(들)에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당

또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 링커 폴리펩티드 또는 이뮤노글로불린 불변 도메인에 연결된 본 개시내용의 1개 이상의 항원 결합 단편을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 구축물이다. 링커 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산 잔기를 포함하고, 1개 이상의 항원 결합 부분을 연결하는 데 사용된다. 링커 폴리펩티드의 예가 보고되었다 (예를 들어, 문헌 [Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123] 참조). 추가로, 항체는 항체 또는 항체 부분과 1종 이상의 다른 단백질 또는 펩티드와의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된 보다 큰 면역부착 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역부착 분자의 예는 사량체 scFv 분자를 제조하기 위한 스트렙타비딘 코어 영역의 사용 (Kipriyanov, S. M., et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101) 및 2가 및 비오티닐화 scFv 분자를 제조하기 위한 시스테인 잔기, 마커 펩티드 및 C-말단 폴리히스티딘 태그의 사용 (Kipriyanov, S. M., et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058)을 포함한다.

[0060] CDR: 본원에 사용된 용어 "CDR"은 항체 가변 서열 내의 상보성 결정 영역을 지칭한다. 전형적인 항체 분자는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하며, 이는 통상적으로 항원 결합에 수반된다. VH 및 VL 영역은 "프레임워크 영역" ("FR")으로 공지된 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, "상보성 결정 영역" ("CDR")으로도 또한 공지된 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 전형적으로 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 프레임워크 영역 및 CDR의 정도는 관련 기술분야에 공지된 방법론을 사용하여, 예를 들어 카바트 정의, IMGT 정의, 코티아 정의, AbM 정의 및/또는 (예를 들어, 및) 접촉 정의에 의해 정확하게 확인될 수 있으며, 이들 모두는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system® www.imgt.org, Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999); Ruiz, M. et al., Nucleic Acids Res., 28:219-221 (2000); Lefranc, M.-P., Nucleic Acids Res., 29:207-209 (2001); Lefranc, M.-P., Nucleic Acids Res., 31:307-310 (2003); Lefranc, M.-P. et al., In Silico Biol., 5, 0006 (2004) [Epub], 5:45-60 (2005); Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 33:D593-597 (2005); Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 37:D1006-1012 (2009); Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 43:D413-422 (2015); Chothia et al., (1989) Nature 342:877; Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917, Al-lazikani et al. (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948; 및 Almagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004)]을 참조한다. 또한 hgmp.mrc.ac.uk 및 bioinf.org.uk/abs를 참조한다. 본원에 사용된 CDR은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다. 동일한 CDR을 갖는 2종의 항체는 2종의 항체가 동일한 방법, 예를 들어 IMGT 정의에 의해 결정 시 그 CDR과 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 것을 의미한다.

[0061] 중쇄 및 경쇄의 각각의 가변 영역에 3개의 CDR이 존재하며, 이는 각각의 가변 영역에 대해 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 지정된다. 본원에 사용된 용어 "CDR 세트"는 항원에 결합할 수 있는 단일 가변 영역에서 발생하는 3개의 CDR의 군을 지칭한다. 이들 CDR의 정확한 경계는 상이한 시스템에 따라 상이하게 정의되었다. 카바트에 의해 기재된 시스템 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991))은 항체의 임의의 가변 영역에 적용가능한 명백한 잔기 넘버링 시스템을 제공할 뿐만 아니라, 3개의 CDR을 정의하는 정확한 잔기 경계를 제공한다. 이들 CDR은 카바트 CDR로 지칭될 수 있다. CDR의 하위-부분은 L1, L2 및 L3 또는 H1, H2 및 H3으로 지정될 수 있으며, 여기서 "L" 및 "H"는 각각 경쇄 및 중쇄 영역을 지정한다. 이들 영역은 코티아 CDR로 지칭될 수 있으며, 이는 카바트 CDR과 중첩되는 경계를 갖는다. 카바트 CDR과 중첩되는 CDR을 정의하는 다른 경계는 문헌 [Padlan (FASEB J. 9:133-139 (1995)) 및 MacCallum (J Mol Biol 262(5):732-45 (1996))]에 기재되었다. 또 다른 CDR 경계 정의는 상기 시스템 중 하나를 엄격히 따르지 않을 수 있으나 그럼에도 불구하고 카바트 CDR과 중첩될 것이며, 다만 특정한 잔기 또는 잔기의 군 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 유의하게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견에 비추어 단축되거나 연장될 수 있다. 본원에 사용된 방법은 임의의 이들 시스템에 따라 정의된 CDR을 이용할 수 있다. CDR 정의 시스템의 예가 표 1에 제공된다.

[0062] 표 1. CDR 정의

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

[0063]

[0064] [1] IMGT®, 국제 이뮤노제네틱스 정보 시스템(international ImMunoGeneTics information system)®, imgt.org, Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)

[0065] [2] 문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]

[0066] [3] 문헌 [Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)]

[0067] CDR-그라프트된 항체: 용어 "CDR-그라프트된 항체"는 하나의 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하나, VH 및/또는 (예를 들어, 및) VL의 CDR 영역 중 1개 이상의 서열이 또 다른 종의 CDR 서열로 대체된 항체, 예컨대 뮤린 CDR 중 1개 이상 (예를 들어, CDR3)이 인간 CDR 서열로 대체된 뮤린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다.

[0068] 키메라 항체: 용어 "키메라 항체"는 하나의 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열 및 또 다른 종으로부터의 불변 영역 서열을 포함하는 항체, 예컨대 인간 불변 영역에 연결된 뮤린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다.

[0069] 상보적: 본원에 사용된 용어 "상보적"은 2개의 뉴클레오시드 또는 2개 세트의 뉴클레오시드 사이의 정확한 쌍형성 능력을 지칭한다. 특히, 상보적은 2개의 뉴클레오시드 또는 2개의 뉴클레오시드 세트 사이의 결합을 가져오는 수소 결합 쌍형성의 정도를 특징화하는 용어이다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드의 한 위치에서의 염기가 표적 핵산 (예를 들어, mRNA)의 상응하는 위치에서의 염기와 수소 결합할 수 있으면, 염기들이 그 위치에서 서로에 대해 상보적인 것으로 간주된다. 염기 쌍형성은 정규 왓슨-크릭 염기 쌍형성 및 비-왓슨-크릭 염기 쌍형성 (예를 들어, 워블 염기 쌍형성 및 후그스틴 염기 쌍형성) 둘 다를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 상보적 염기 쌍형성의 경우, 아데노신-유형 염기 (A)는 티미딘-유형 염기 (T) 또는 우라실-유형 염기 (U)에 대해 상보적이고, 시토신-유형 염기 (C)는 구아노신-유형 염기 (G)에 대해 상보적이고, 범용 염기, 예컨대 3-니트로피롤 또는 5-니트로인돌은 임의의 A, C, U 또는 T에 혼성화할 수 있고 그에 대해 상보적인 것으로 간주된다. 이노신 (I)은 또한 관련 기술분야에서 범용 염기인 것으로 간주되어 왔고, 임의의 A, C, U 또는 T에 대해 상보적인 것으로 간주된다.

[0070] 보존적 아미노산 치환: 본원에 사용된 "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 치환이 이루어지는 단백질의 상대 전하 또는 크기 특징을 변경시키지 않는 아미노산 치환을 지칭한다. 변이체는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 폴리펩티드 서열을 변경시키는 방법에 따라 제조될 수 있으며, 예컨대 이러한 방법을 편집해 놓은 참고문헌, 예를 들어 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2012, 또는 Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New York]에서 발견된다. 아미노산의 보존적 치환은 하기 군 내의 아미노산들 사이에 이루어진 치환을 포함한다: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; 및 (g) E, D.

[0071] 공유 연결된: 본원에 사용된 용어 "공유 연결된"은 2개 이상의 분자가 적어도 1개의 공유 결합을 통해 함께 연결된 특징을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2개의 분자는 분자들 사이의 링커로서의 역할을 하는 단일 결합, 예를 들어 디술피드 결합 또는 디술피드 가교에 의해 함께 공유 연결될 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 2개 이상의 분자는 다수의 공유 결합을 통해 2개 이상의 분자를 함께 연결하는 링커로서의 역할을 하는 분자를 통해 함께 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 절단가능한 링커일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 비-절단가능한 링커일 수 있다.

[0072] 교차-반응성: 본원에서 표적화제 (예를 들어, 항체)와 관련하여 사용된 용어 "교차-반응성"은 유사한 친화도 또는 결합력으로 유사한 유형 또는 부류의 1종 초과의 항원 (예를 들어, 다수의 상동체, 파라로그 또는 오르토로

그의 항원)에 특이적으로 결합할 수 있는 작용제의 특성을 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 유사한 유형 또는 부류의 인간 및 비-인간 영장류 항원 (예를 들어, 인간 트랜스페린 수용체 및 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체)에 대해 교차-반응성인 항체는 유사한 친화도 또는 결합력으로 인간 항원 및 비-인간 영장류 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 인간 항원 및 설치류 항원에 대해 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 설치류 항원 및 비-인간 영장류 항원에 대해 교차-반응성이다. 일부 실시양태에서, 항체는 유사한 유형 또는 부류의 인간 항원, 비-인간 영장류 항원 및 설치류 항원에 대해 교차-반응성이다.

[0073] DUX4: 본원에 사용된 용어 "DUX4"는 일반적으로 태아 발생 동안 및 성인 남성의 고환에서 발현되는 단백질인 이중 호메오박스 4를 코딩하는 유전자를 지칭한다. 일부 실시양태에서, DUX4는 인간 (진(Gene) ID: 100288687), 비-인간 영장류 (예를 들어, 진 ID: 750891, 진 ID: 100405864) 또는 설치류 유전자 (예를 들어, 진 ID: 306226)일 수 있다. 인간에서, 태아 발생 및 고환 외부의 DUX4 유전자의 발현은 안면견갑상완 근육 이영양증과 연관된다. 추가로, 상이한 단백질 이소형을 코딩하는 다수의 인간 전사체 변이체 (예를 들어, 진뱅크(GenBank) RefSeq 수탁 번호: NM_001293798.2, NM_001306068.3, NM_001363820.1 하에 주석달린 바와 같음)가 특징화되었다.

[0074] 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD): 본원에 사용된 용어 "안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD)"은 주로 안면, 견갑골 및 상완의 근육에서의 근육 질량 손실 및 근육 위축을 특징으로 하는 DUX4 유전자, SMCHD1 유전자, DNMT3B 유전자 또는 LRIF1 유전자 내의 돌연변이에 의해 유발된 유전 질환을 지칭한다. 2가지 유형의 질환 1형 및 2형이 기재되었다. 1형은 DUX4 유전자를 함유하는 염색체 4 상의 D4Z4 반복 영역 내의 결실과 연관된다. 일부 실시양태에서, 1형은 DUX4 유전자를 함유하는 염색체 4 대립유전자 변이체 4qA 상의 D4Z4 반복 영역 내의 결실과 연관된다. 2형은 SMCHD1 유전자, DNMT3B 유전자 또는 LRIF1 유전자 내의 돌연변이와 연관된다 (예를 들어, 문헌 [Jia et al., "Facioscapulohumeral muscular dystrophy type 2: an update on the clinical, genetic, and molecular findings" Neuromuscul Disord. (2021), 31(11): 1101-1112] 참조). 1형 및 2형 FSHD 둘 다는 태아 발생 후 고환 외부에서 DUX4 단백질의 이상 생산을 특징으로 한다. 안면견갑상완 이영양증, 이 질환에 대한 유전적 기초 및 관련 증상은 관련 기술분야에 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Campbell, A.E., et al., "Facioscapulohumeral dystrophy: Activating an early embryonic transcriptional program in human skeletal muscle" Human Mol Genet. (2018); 및 Tawil, R. "Facioscapulohumeral muscular dystrophy" Handbook Clin. Neurol. (2018), 148: 541-548.] 참조) FSHD 1형은 온라인 인간 멘델 유전 (OMIM) 엔트리 # 158900과 연관된다. FSHD 2형은 OMIM 엔트리 # 158901과 연관된다.

[0075] 프레임워크: 본원에 사용된 용어 "프레임워크" 또는 "프레임워크 서열"은 CDR을 제외한 가변 영역의 나머지 서열을 지칭한다. CDR 서열의 정확한 정의는 상이한 시스템에 의해 결정될 수 있기 때문에, 프레임워크 서열의 의미는 상응하는 상이한 해석에 따른다. 6개의 CDR (경쇄의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 및 중쇄의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 또한 경쇄 및 중쇄 상의 프레임워크 영역을 각각의 쇄 상에서 4개의 하위-영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4)으로 분류하며, 여기서 CDR1은 FR1과 FR2 사이에, CDR2는 FR2와 FR3 사이에, CDR3은 FR3과 FR4 사이에 위치한다. 특정한 하위-영역을 FR1, FR2, FR3 또는 FR4로서 명시하지 않으면서, 다른 것으로 지칭되는 프레임워크 영역은, 단일의 자연 발생 이뮤노글로불린 쇄의 가변 영역 내의 조합 FR을 나타낸다. 본원에 사용된 FR은 4개의 하위-영역 중 1개를 나타내고, FR들은 프레임워크 영역을 구성하는 4개의 하위-영역 중 2개 이상을 나타낸다. 인간 중쇄 및 경쇄 수용자 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 관련 기술분야에 공지된 수용자 서열은 본원에 개시된 항체에 사용될 수 있다.

[0076] 인간 항체: 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 본 개시내용의 인간 항체는, 예를 들어 CDR, 특히 CDR3 내에, 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프트된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0077] 인간화 항체: 용어 "인간화 항체"는 비-인간 종 (예를 들어, 마우스)으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하지만, VH 및/또는 (예를 들어, 및) VL 서열의 적어도 한 부분이 보다 "인간-유사"하도록, 즉 인간 배선 가변 서열과 보다 유사하도록 변경된 항체를 지칭한다. 인간화 항체의 한 유형은 인간 CDR 서열이 비-인간 VH 및 VL 서열 내로 도입되어 상응하는 비-인간 CDR 서열을 대체하는 CDR-그라프트된 항체이다. 한 실시양태에서, 인간화 항-TfR1 항체 및 항원 결합 부분이 제공된다. 이러한 항체는 전통적인 하이브리도마 기술을 사용하여

뮤린 항-TfR1 모노클로날 항체를 수득하고, 이어서 시험관내 유전자 조작, 예컨대 PCT 공개 번호 WO 2005/123126 A2 (Kasaian et al.)에 개시된 것을 사용하여 인간화함으로써 생성될 수 있다.

[0078] 내재화 세포 표면 수용체: 본원에 사용된 용어 "내재화 세포 표면 수용체"는, 예를 들어 외부 자극, 예를 들어 수용체에 대한 리간드 결합 시 세포에 의해 내재화되는 세포 표면 수용체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 세포내이입에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 클라트린-매개 세포내이입에 의해 내재화된다. 그러나, 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 클라트린-비의존성 경로, 예컨대, 예를 들어 식세포작용, 거대음세포작용, 카베올라- 및 라프트-매개 흡수 또는 구성적 클라트린-비의존성 세포내이입에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 세포내 도메인, 막횡단 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) 세포외 도메인을 포함하고, 이는 임의로 리간드-결합 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 수용체는 리간드 결합 후 세포에 의해 내재화된다. 일부 실시양태에서, 리간드는 근육-표적화제 또는 근육-표적화 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 내재화 세포 표면 수용체는 트랜스페린 수용체이다.

[0079] 단리된 항체: 본원에 사용된 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다 (예를 들어, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 트랜스페린 수용체 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, 트랜스페린 수용체 복합체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 다른 종으로부터의 트랜스페린 수용체 분자에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 (예를 들어, 및) 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0080] 카바트 넘버링: 용어 "카바트 넘버링", "카바트 정의" 및 "카바트 라벨링"은 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 관련 기술분야에서 인식되는 이들 용어는 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내의 다른 아미노산 잔기보다 더 가변적인 (즉, 초가변적인) 아미노산 잔기를 넘버링하는 시스템을 지칭한다 (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad, Sci. 190:382-391 및 Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). 중쇄 가변 영역에서, 초가변 영역은 CDR1의 경우 아미노산 위치 31 내지 35, CDR2의 경우 아미노산 위치 50 내지 65 및 CDR3의 경우 아미노산 위치 95 내지 102의 범위이다. 경쇄 가변 영역에서, 초가변 영역은 CDR1의 경우 아미노산 위치 24 내지 34, CDR2의 경우 아미노산 위치 50 내지 56 및 CDR3의 경우 아미노산 위치 89 내지 97의 범위이다.

[0081] 분자 페이로드: 본원에 사용된 용어 "분자 페이로드"는 생물학적 결과를 조정하는 기능을 하는 분자 또는 종을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육-표적화제에 연결되거나 또는 달리 그와 회합된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 소분자, 단백질, 펩티드, 핵산 또는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DNA 서열의 전사를 조정하거나, 단백질의 발현을 조정하거나 또는 단백질의 활성을 조정하는 기능을 한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 표적 유전자에 대한 상보성 영역을 갖는 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이다.

[0082] 근육-표적화제: 본원에 사용된 용어 "근육-표적화제"는 근육 세포 상에서 발현된 항원에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 근육 세포 내의 또는 상의 항원은 막 단백질, 예를 들어 내재성 막 단백질 또는 말초 막 단백질일 수 있다. 전형적으로, 근육-표적화제는 근육-표적화제 (및 임의의 회합된 분자 페이로드)의 근육 세포 내로의 내재화를 용이하게 하는 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 상의 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합하고, 수용체 매개된 내재화를 통해 근육 세포 내로 내재화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 소분자, 단백질, 펩티드, 핵산 (예를 들어, 압타머) 또는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 연결된다.

[0083] 근육-표적화 항체: 본원에 사용된 용어 "근육-표적화 항체"는 근육 세포 내에서 또는 상에서 발견된 항원에 특이적으로 결합하는 항체인 근육-표적화제를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근육-표적화 항체 (및 임의의 회합된 분자 페이로드)의 근육 세포 내로의 내재화를 용이하게 하는 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근육 세포 상에 존재하는 내재화 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체이다.

[0084] 올리고뉴클레오티드: 본원에 사용된 용어 "올리고뉴클레오티드"는 200개 이하의 뉴클레오티드 길이의 올리고머 핵산 화합물을 지칭한다. 올리고뉴클레오티드의 예는 RNAi 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, siRNA, shRNA), 마

이크로RNA, 갭머, 믹스머, 포스포로디아미데이트 모르폴리노, 펩티드 핵산, 압타머, 가이드 핵산 (예를 들어, Cas9 가이드 RNA) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 올리고뉴클레오티드는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-O-메틸 당 변형, 퓨린 또는 피리미딘 변형)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 Rp 또는 Sp 입체화학적 입체형태일 수 있는 1개 이상의 포스포로티오에이트 연결을 포함할 수 있다.

[0085] 재조합 항체: 본원에 사용된 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 숙주 세포 내로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체 (본 개시내용에 보다 상세히 기재됨), 재조합 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 (문헌 [Hoogenboom H. R., (1997) TIB Tech. 15:62-70; Azzazy H., and Highsmith W. E., (2002) Clin. Biochem. 35:425-445; Gavilondo J. V., and Larrick J. W. (2002) BioTechniques 29:128-145; Hoogenboom H., and Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378]), 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉인 동물 (예를 들어, 마우스)로부터 단리된 항체 (예를 들어, 문헌 [Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295; Kellermann S-A., and Green L. L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597; Little M. et al. (2000) Immunology Today 21:364-370] 참조) 또는 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열의 다른 DNA 서열로의 스플라이싱을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 이러한 재조합 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는다. 그러나, 특정 실시양태에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발 (또는 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물이 사용되는 경우에, 생체내 체세포 돌연변이유발)에 적용되고, 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 배선 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 그와 관련되지만 생체내 인간 항체 배선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재할 수 없는 서열이다. 본 개시내용의 한 실시양태는 인간 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 완전 인간 항체를 제공하며, 이는 관련 기술분야에 널리 공지된 기술을 사용하여, 예컨대 비제한적으로 인간 Ig 파지 라이브러리, 예컨대 PCT 공개 번호 WO 2005/007699 A2 (Jermutus et al.)에 개시된 것을 사용하여 생성될 수 있다.

[0086] 상보성 영역: 본원에 사용된 용어 "상보성 영역"은 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 동족 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해, 2개의 뉴클레오티드 서열이 생리학적 조건 하에 (예를 들어, 세포에서) 서로에 대해 어닐링될 수 있도록 하는 데 충분히 상보적인 것을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해 완전히 상보적이다. 그러나, 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열에 대해 부분적으로 상보적이다 (예를 들어, 적어도 80%, 90%, 95% 또는 99% 상보성). 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 동족 뉴클레오티드 서열과 비교하여 1, 2, 3 또는 4개의 미스매치를 함유한다.

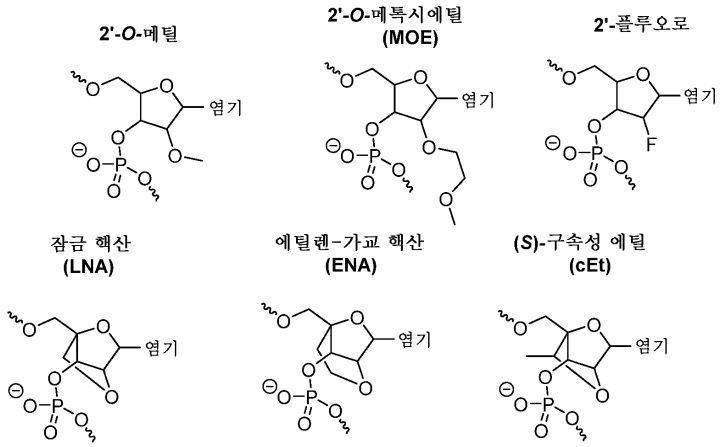
[0087] 특이적으로 결합한다: 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합한다"는 분자가 결합 검정 또는 다른 결합 상황에서 결합 파트너를 적절한 대조군과 구별하는 데 사용될 수 있게 하는 친화도 또는 결합력의 정도로 분자가 결합 파트너에 결합하는 능력을 지칭한다. 항체와 관련하여, 용어 "특이적으로 결합한다"는 적절한 참조 항원 또는 항원들과 비교하여, 항체가 특이적 항원을 다른 것과 구별하는 데, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 항원에 대한 결합을 통해 특정 세포, 예를 들어 근육 세포에 대한 우선적 표적화를 허용하는 정도로 사용될 수 있게 하는 친화도 또는 결합력의 정도로 항체가 특이적 항원에 결합하는 능력을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체의 표적에의 결합에 대한 K_D가 적어도 약 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만인 경우에 항체는 표적에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 트랜스페린 수용체, 예를 들어 트랜스페린 수용체의 정단 도메인의 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0088] 대상체: 본원에 사용된 용어 "대상체"는 포유동물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 비-인간 영장류 또는 설치류이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 환자, 예를 들어 질환을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 FSHD를 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다.

[0089] 트랜스페린 수용체: 본원에 사용된 용어 "트랜스페린 수용체" (TFRC, CD71, p90, TFR1로도 또한 공지됨)는 트랜스페린에 결합하여 세포내이입에 의한 철 흡수를 용이하게 하는 내재화 세포 표면 수용체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체는 인간 (NCBI 진 ID 7037), 비-인간 영장류 (예를 들어, NCBI 진 ID 711568 또는 NCBI 진 ID 102136007) 또는 설치류 (예를 들어, NCBI 진 ID 22042) 기원의 것일 수 있다. 추가로, 수용체

의 상이한 이소형을 코딩하는 다수의 인간 전사체 변이체 (예를 들어, 진뱅크 RefSeq 수탁 번호: NP_001121620.1, NP_003225.2, NP_001300894.1 및 NP_001300895.1 하에 주석달린 바와 같음)가 특징화되었다.

[0090] 2'-변형된 뉴클레오시드: 본원에 사용된 용어 "2'-변형된 뉴클레오시드" 및 "2'-변형된 리보뉴클레오시드"는 상호교환가능하게 사용되고, 2' 위치에서 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 당의 2' 및 4' 위치가 (예를 들어, 메틸렌, 에틸렌 또는 (S)-구속성 에틸 가교를 통해) 가교된 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는, 예를 들어 당 모이어티의 2' 위치가 치환된 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 2'-변형된 뉴클레오시드의 비제한적 예는 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE), 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA), 잠금 핵산 (LNA, 메틸렌-가교 핵산), 에틸렌-가교 핵산 (ENA) 및 (S)-구속성 에틸-가교 핵산 (cEt)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 2'-변형된 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이고, 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 비변형된 올리고뉴클레오티드에 비해 표적 서열에 대해 증가된 친화도를 갖는다. 2'-변형된 뉴클레오시드의 구조의 예가 하기에 제공된다:

[0091] 

[0092] 이들 예는 포스페이트 기로 제시되지만, 2'-변형된 뉴클레오시드 사이에 임의의 뉴클레오시드간 연결이 고려된다.

[0093] II. 복합체

[0094] 분자 페이로드에 공유 연결된 표적화제, 예를 들어 항체를 포함하는 복합체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화 항체를 포함한다. 복합체는 단일 항원 부위에 특이적으로 결합하거나 또는 동일하거나 상이한 항원 상에 존재할 수 있는 적어도 2개의 항원 부위에 결합하는 항체를 포함할 수 있다.

[0095] 복합체는 적어도 1종의 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 활성 또는 기능을 조정하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체에 존재하는 분자 페이로드는 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 조정을 담당한다. 분자 페이로드는 소분자, 단백질, 핵산, 올리고뉴클레오티드, 또는 세포 내의 유전자, 단백질 및/또는 (예를 들어, 및) 핵산의 활성 또는 기능을 조정할 수 있는 임의의 분자 개체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 근육 세포에서 DUX4를 표적화하는 올리고뉴클레오티드이다.

[0096] 일부 실시양태에서, 복합체는 분자 페이로드, 예를 들어 DUX4를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제, 예를 들어 항-트랜스페린 수용체 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 분자 페이로드, 예를 들어 DUX4를 표적화하는 siRNA에 공유 연결된 근육-표적화제, 예를 들어 항-트랜스페린 수용체 항체를 포함한다.

[0097] A. 근육-표적화제

[0098] 본 개시내용의 일부 측면은, 예를 들어 근육 세포에 분자 페이로드를 전달하기 위한 근육-표적화제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 이러한 근육-표적화제는, 예를 들어 근육 세포 상의 항원에 특이적으로 결합함으로써 근육 세포에 결합하고, 회합된 분자 페이로드를 근육 세포에 전달할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는

근육 표적화제에 결합 (예를 들어, 공유 결합)되고, 근육 세포 상의 항원에 대한 근육 표적화제의 결합 시, 예를 들어 세포내이입을 통해 근육 세포 내로 내재화된다. 다양한 유형의 근육-표적화제가 본 개시내용에 따라 사용될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 예를 들어, 근육-표적화제는 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 펩티드 (예를 들어, 항체), 지질 (예를 들어, 미세소포) 또는 당 모이어티 (예를 들어, 폴리사카라이드)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 예시적인 근육-표적화제는 본원에 추가로 상세히 기재되어 있지만, 본원에 제공된 예시적인 근육-표적화제는 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 것이 인지될 것이다.

[0099] 본 개시내용의 일부 측면은 근육, 예컨대 골격근, 평활근 또는 심장 근육 상의 항원에 특이적으로 결합하는 근육-표적화제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 근육-표적화제는 골격근 세포, 평활근 세포 및/또는 (예를 들어, 및) 심장 근육 세포 상의 항원에 결합한다 (예를 들어, 특이적으로 결합함).

[0100] 근육-특이적 세포 표면 인식 요소 (예를 들어, 세포 막 단백질)와 상호작용함으로써, 조직 국재화 및 근육 세포 내로의 선택적 흡수 둘 다가 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육 흡수 수송체에 대한 기질인 분자는 분자 페이로드를 근육 조직 내로 전달하는 데 유용하다. 근육 표면 인식 요소에 대한 결합에 이은 세포내이입은 심지어 대형 분자, 예컨대 항체도 근육 세포에 진입하게 할 수 있다. 또 다른 예로서 트랜스페린 또는 항-TfR1 항체에 접합된 분자 페이로드는 트랜스페린 수용체에 대한 결합을 통해 근육 세포에 의해 흡수될 수 있고, 이는 이어서, 예를 들어 클라트린-매개 세포내이입을 통해 세포내이입될 수 있다.

[0101] 근육-표적화제의 사용은 다른 조직에서 효과와 연관된 독성을 감소시키면서 근육에서 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)를 농축시키는 데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 결합된 분자 페이로드를 대상체 내의 또 다른 세포 유형과 비교하여 근육 세포에 농축시킨다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 결합된 분자 페이로드를 비-근육 세포 (예를 들어, 간, 뉴런, 혈액 또는 지방 세포)에서의 양보다 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100배 더 큰 양으로 근육 세포 (예를 들어, 골격, 평활근 또는 심장 근육 세포)에 농축시킨다. 일부 실시양태에서, 대상체에서의 분자 페이로드의 독성은 그것이 근육-표적화제에 결합된 경우에 대상체에게 전달되었을 때 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90% 또는 95%만큼 감소된다.

[0102] 일부 실시양태에서, 근육 선택성을 달성하기 위해, 근육 인식 요소 (예를 들어, 근육 세포 항원)가 요구될 수 있다. 한 예로서, 근육-표적화제는 근육-특이적 흡수 수송체에 대한 기질인 소분자일 수 있다. 또 다른 예로서, 근육-표적화제는 수송체-매개 세포내이입을 통해 근육 세포에 진입하는 항체일 수 있다. 또 다른 예로서, 근육 표적화제는 근육 세포 상의 세포 표면 수용체에 결합하는 리간드일 수 있다. 수송체-기반 접근법이 세포 진입을 위한 직접 경로를 제공하지만, 수용체-기반 표적화는 목적하는 작용 부위에 도달하도록 자극된 세포내이입을 수반할 수 있다는 것이 인지될 것이다.

[0103] i. 근육-표적화 항체

[0104] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항체이다. 일반적으로, 표적 항원에 대한 항체의 높은 특이성은 근육 세포 (예를 들어, 골격근, 평활근 및/또는 (예를 들어, 및) 심장 근육 세포)를 선택적으로 표적화하는 잠재력을 제공한다. 이러한 특이성은 또한 오프-타겟 독성을 제한할 수 있다. 근육 세포의 표면 항원을 표적화할 수 있는 항체의 예는 보고되었고, 본 개시내용의 범주 내에 있다. 예를 들어, 근육 세포의 표면을 표적화하는 항체는 문헌 [Arahata K., et al. "Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide" Nature 1988; 333: 861-3; Song K.S., et al. "Expression of caveolin-3 in skeletal, cardiac, and smooth muscle cells. Caveolin-3 is a component of the sarcolemma and co-fractionates with dystrophin and dystrophin-associated glycoproteins" J Biol Chem 1996; 271: 15160-5; 및 Weisbart R.H. et al., "Cell type specific targeted intracellular delivery into muscle of a monoclonal antibody that binds myosin IIb" Mol Immunol. 2003 Mar, 39(13):78309]에 기재되어 있으며; 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0105] a. 항-트랜스페린 수용체 (TfR) 항체

[0106] 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합하는 작용제, 예를 들어 항-트랜스페린-수용체 항체가 근육 세포를 표적화할 수 있다는 인식에 기초한다. 트랜스페린 수용체는 세포 막을 가로질러 트랜스페린을 수송하고 세포내 철 수준의 조절 및 항상성에 참여하는 내재화 세포 표면 수용체이다. 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 트랜스페린 수용체 결합 단백질을 제공한다. 따라서, 본 개시내용의 측면

은 트랜스페린 수용체에 결합하는 결합 단백질 (예를 들어, 항체)을 제공한다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체에 결합하는 결합 단백질은 임의의 결합된 분자 페이로드와 함께 근육 세포 내로 내재화된다. 본원에 사용된 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체 항체, 항-트랜스페린 수용체 항체 또는 항-TfR1 항체로서 상호교환가능하게 지칭될 수 있다. 트랜스페린 수용체에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체에 결합 시, 예를 들어 수용체-매개 세포내이입을 통해 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0107] 항-TfR1 항체가 여러 공지된 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이를 사용하는 라이브러리 설계를 사용하여 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Diez, P. et al. "High-throughput phage-display screening in array format", Enzyme and microbial technology, 2015, 79, 34-41.; Christoph M. H. and Stanley, J.R. "Antibody Phage Display: Technique and Applications" J Invest Dermatol. 2014, 134:2.; Engleman, Edgar (Ed.) "Human Hybridomas and Monoclonal Antibodies." 1985, Springer.). 다른 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 이전에 특징화되거나 개시되었다. 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,364,934, 출원일 12/4/1979, "인간 초기 흉선세포 항원에 대한 모노클로날 항체 및 그의 제조 방법"); 미국 특허 번호 8,409,573, 출원일 6/14/2006, "항-CD71 모노클로날 항체 및 악성 종양 세포를 치료하기 위한 그의 용도"; 미국 특허 번호 9,708,406, 출원일 5/20/2014, "항-트랜스페린 수용체 항체 및 사용 방법"; US 9,611,323, 출원일 12/19/2014, "저친화도 혈액 뇌 장벽 수용체 항체 및 그의 용도"; WO 2015/098989, 출원일 12/24/2014, "혈액-뇌 장벽을 통과하는 신규 항-트랜스페린 수용체 항체"; 문헌 [Schneider C. et al. "Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9." J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.; Lee et al. "Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse" 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052.] 참조).

[0108] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체에 높은 특이성 및 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체의 임의의 세포외 에피토프 또는 항체에 노출되게 되는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR1 항체는 인간, 비-인간 영장류, 마우스, 래트 등으로부터의 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-TfR1 항체는 인간 트랜스페린 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105-108에 제공된 바와 같은 인간 또는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체의 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체의 정단 도메인에 존재하지 않는, 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 트랜스페린 수용체의 아미노산 90-96에 상응하는 아미노산 절편에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 인간화 항-TfR1 항체는 TfR1에 결합하지만 TfR2에는 결합하지 않는다.

[0109] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 항-TfR 클론 8)는 TfR1 내의 에피토프에 결합하며, 여기서 에피토프는 서열식별번호: 105의 아미노산 214-241 및/또는 아미노산 354-381의 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105의 아미노산 214-241 및 아미노산 354-381의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 Y222, T227, K231, H234, T367, S368, S370, T376 및 S378 중 1개 이상을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 Y222, T227, K231, H234, T367, S368, S370, T376 및 S378을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0110] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 TfR1 내의 에피토프에 결합하며, 여기서 에피토프는 서열식별번호: 105의 아미노산 258-291 및/또는 아미노산 358-381의 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 서열식별번호: 105의 아미노산 258-291 및 아미노산 358-381의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 K261, S273, Y282, T362, S368, S370 및 K371 중 1개 이상을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 하기 표 2에서의 3M12 및 그의 변이체)는 서열식별번호: 105에 제시된 바와 같은 인간 TfR1의 잔기 K261, S273, Y282, T362, S368, S370 및 K371을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0111] NCBI 서열 NP_003225.2 (트랜스페린 수용체 단백질 1 이소형 1, 호모 사피엔스(homo sapiens))에 상응하는 인

간 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAVDEEENADNNTKANV
TKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDF
PAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQF
REFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTG
KLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKF
PIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGN
MEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVG
AQRDAWGPGAAKSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVG
ATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQ
FLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIE
RIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEM
GLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSP
KESPFRHVFWGSGSHTLPALLENLKLRKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANAL
SGDVWDIDNEF (SEQ ID NO: 105).

[0112]

[0113] NCBI 서열 NP_001244232.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 마카카 물라타(Macaca mulatta))에 상응하는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDEEENTDNNTKPNG
TKPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFP
AAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFRE
FKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGK
LVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPI
VKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNM
EGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGA
QRDAWGPGAAKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGAT
EWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSL
YQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERI
PELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGL
SLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKE
SPFRHVFWGSGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGD
VWDIDNEF (SEQ ID NO: 106).

[0114]

[0115] NCBI 서열 XP_005545315.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 마카카 파시쿨라리스(Macaca fascicularis))에 상응하는 비-인간 영장류 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDEEENTDNNTKANG
TKPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFP
AAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFRE
FKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGK
LVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPI
VKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNM
EGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGA
QRDAWGPGAAKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGAT
EWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSL
YQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERI
PELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGL
SLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKE
SPFRHVFWGSGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGD
VWDIDNEF (SEQ ID NO: 107).

[0116]

[0117] NCBI 서열 NP_001344227.1 (트랜스페린 수용체 단백질 1, 무스 무스쿨루스(Mus musculus))에 상응하는 마우스 트랜스페린 수용체 아미노산 서열의 예는 하기와 같다:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAADEEENADNNMKASV
RKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLGYCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMET
EDVPTSSRLYWADLKTLLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQ
FHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVSG
KLVHANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKF
PVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFG
KMEGSCPARWNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVV
GAQRDALGAGVAAKSSVGTGLLLKLAQVFSDMISKDGFRPSRSIIFASWTAGDFGAVG
ATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVLGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDG
KSLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALT
QKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIIKLTHDVELNLDYEMYNSKLLSFMKDLNQFKTDIRD
MGLSLQWLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRFVMREINDRIMKVEYHFLSPYVS
PRESPFRHIFWGSGSHTLSALVENLKLRQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALS
GDIWNIDNEF (SEQ ID NO: 108).

[0118]

[0119] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 하기와 같은 수용체의 아미노산 절편에 결합하고:

FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDF
EDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAH
LGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDS
TCRMVTSESKNVKLTVSNVLKE (SEQ ID NO: 109)

[0120] , 트랜스페린 수용체와 트랜스페린 및/또는 (예를 들어, 및) 인간 혈색소증 단백질 (HFE로도 또한 공지됨) 사이의 결합 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 109 내의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0121] 적절한 방법론을 사용하여, 예를 들어 재조합 DNA 프로토콜의 사용을 통해 항체, 항체 단편 또는 항원-결합제를 수득하고/거나 (예를 들어, 수득하고) 생산할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 또한 하이브리도마의 생성을 통해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kohler, G and Milstein, C. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity" Nature, 1975, 256: 495-497] 참조). 관심 항원은 임의의 형태 또는 개체, 예를 들어 재조합 또는 자연 발생 형태 또는 개체의 면역원으로서 사용될 수 있다. 특정한 항원을 표적화하는 항체를 생산하는 적어도 1종의 하이브리도마를 찾아내기 위해 표준 방법, 예를 들어 ELISA 스크리닝을 사용하여 하이브리도마가 스크리닝된다. 항체는 또한 항체를 발현하는 단백질 발현 라이브러리, 예를 들어 파지 디스플레이 라이브러리의 스크리닝을 통해 생산될 수 있다. 일부 실시양태에서, 파지 디스플레이 라

이브러리 설계가 또한 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,223,409, 출원일 3/1/1991, "신규 결합 단백질의 방향적 진화"; WO 1992/18619, 출원일 4/10/1992, "파지미드를 사용하는 이종이량체 수용체 라이브러리"; WO 1991/17271, 출원일 5/1/1991, "재조합 라이브러리 스크리닝 방법"; WO 1992/20791, 출원일 5/15/1992, "특이적 결합 쌍의 구성원의 생산 방법"; 및 WO 1992/15679, 출원일 2/28/1992, "개선된 에피토프 디스플레잉 파지" 참조). 일부 실시양태에서, 관심 항원이 비-인간 동물, 예를 들어 설치류 또는 염소를 면역화하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체가 이어서 비-인간 동물로부터 수득되고, 다수의 방법론을 사용하여, 예를 들어 재조합 DNA 기술을 사용하여 임의로 변형될 수 있다. 항체 생산 및 방법론의 추가의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Harlow et al. "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988.] 참조).

[0122] 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약 1-10, 약 1-5, 약 5-10, 약 1-4, 약 1-3 또는 약 2개의 당 분자가 존재한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화 항체는 완전히 또는 부분적으로 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 화학 반응 또는 효소적 수단에 의해 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 시험관내에서 또는 임의로 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소, 예를 들어 글리코실트랜스퍼라제가 결핍되어 있을 수 있는 세포 내부에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "변형된 항체, 항체-접합체 및 그의 제조 방법")에 기재된 바와 같이 당 또는 탄수화물 분자로 관능화된다.

[0123] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 2-7 중 어느 하나로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 VL 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) VH 도메인을 포함하고, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 이뮤노글로불린 분자, 임의의 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 임의의 하위부류 (예를 들어, IgG2a 및 IgG2b)의 이뮤노글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. 인간 불변 영역의 비제한적 예는 관련 기술분야에 기재되어 있으며, 예를 들어 상기 문헌 [Kabat E A et al., (1991)]을 참조한다.

[0124] 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체에 결합하는 작용제, 예를 들어 항-TfR1 항체는 근육 세포를 표적화할 수 있고/거나 (예를 들어, 있고) 혈액 뇌 장벽을 가로지르는 작용제의 수송을 매개할 수 있다. 트랜스페린 수용체는 세포 막을 가로질러 트랜스페린을 수송하고 세포내 철 수준의 조절 및 항상성에 참여하는 내재화 세포 표면 수용체이다. 본 개시내용의 일부 측면은 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있는 트랜스페린 수용체 결합 단백질을 제공한다. 트랜스페린 수용체에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 항체는 트랜스페린 수용체에 결합 시, 예를 들어 수용체-매개 세포내이입을 통해 세포 내로 내재화될 수 있다.

[0125] 일부 실시양태에서, 항-TFR1 항체는 TfR1 (예를 들어, 인간 또는 비-인간 영장류 TfR1)에 적어도 약 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 결합 친화도 (예를 들어, Kd에 의해 나타낸 바와 같음)로 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 TfR1에 서브-나노몰 범위의 KD로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 트랜스페린 수용체 1 (TfR1)에 선택적으로 결합하지만, 트랜스페린 수용체 2 (TfR2)에는 결합하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 인간 TfR1 및 시노 TfR1에 결합하지만 (예를 들어, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M 또는 그 미만의 Kd로), 마우스 TfR1에는 결합하지 않는다. 항-TfR1 항체의 친화도 및 결합 동역학은 바이오센서 기술 (예를 들어, 옥테트(OCTET) 또는 비아코어(BIACORE))을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 적합한 방법을 사용하여 시험될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 결합은 TfR1에 대한 트랜스페린 결합과 경쟁하지 않거나 또는 그를 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 결합은 TfR1에 대한 HFE-베타-2-마이크로글로불린 결합과 경쟁하지 않거나 또는 그를 억제하지 않는다.

[0126] 항-TfR1 항체의 비제한적 예가 표 2에 제공된다.

[0127] 표 2. 항-TfR1 항체의 예

Ab	넘버링 시스템	IMGT	카바트	코티아
3-A4	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	WIDPENGDTEYASKFQD (SEQ ID NO: 8)	ENG (SEQ ID NO: 13)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLHSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPEN GDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRGLDYWGQG TSVTVSS (SEQ ID NO: 17)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGYTYLFWFLQRPGQSPQLLIYRMSN LASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-A4 N54T*	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPETGDT (SEQ ID NO: 19)	WIDPETGDTEYASKFQD (SEQ ID NO: 20)	ETG (SEQ ID NO: 21)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLHSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPET GDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRGLDYWGQG TSVTVSS (SEQ ID NO: 22)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGYTYLFWFLQRPGQSPQLLIYRMSN LASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-A4 N54S*	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPESGDT (SEQ ID NO: 23)	WIDPESGDTEYASKFQD (SEQ ID NO: 24)	ESG (SEQ ID NO: 25)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)

[0128]

[0129]

	CDR-L1	KSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLHSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLHSNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPES GDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRGLDYWGQG TSVTVSS (SEQ ID NO: 26)		
	VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGYTYLFWFLQRPGQSPQLLIYRMSN LASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
3-M12	CDR-H1	GYSITSGYY (SEQ ID NO: 27)	SGYYWN (SEQ ID NO: 33)	GYSITSGY (SEQ ID NO: 38)
	CDR-H2	ITFDGAN (SEQ ID NO: 28)	YITFDGANNYNPSLKN (SEQ ID NO: 34)	FDG (SEQ ID NO: 39)
	CDR-H3	TRSSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 29)	SSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 35)	SYDYDVLD (SEQ ID NO: 40)
	CDR-L1	QDISNF (SEQ ID NO: 30)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 36)	SQDISNF (SEQ ID NO: 41)
	CDR-L2	YTS (SEQ ID NO: 31)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 37)	YTS (SEQ ID NO: 31)
	CDR-L3	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)	GHTLPY (SEQ ID NO: 42)
	VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYITFDG ANNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWGQG TTLTVSS (SEQ ID NO: 43)		
	VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSRLHSG VPSRFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 44)		
5-H12	CDR-H1	GYSFTDYC (SEQ ID NO: 45)	DYCIN (SEQ ID NO: 51)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGN TRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQ GTSVTVSS (SEQ ID NO: 61)		

	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASN LESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
5-H12 C33Y*	CDR-H1	GYSFTDYY (SEQ ID NO: 63)	DYYIN (SEQ ID NO: 64)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYYINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSG NTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWG QGTSVTVSS (SEQ ID NO: 65)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASN LESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
5-H12 C33D*	CDR-H1	GYSFTDYD (SEQ ID NO: 66)	DYDIN (SEQ ID NO: 67)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)	WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52)	GSG (SEQ ID NO: 57)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 49)	RASNLES (SEQ ID NO: 55)	RAS (SEQ ID NO: 49)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNT RYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGT SVTVSS (SEQ ID NO: 68)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASN LESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
항-TfR 클론 8	CDR-H1	GYSFTSYW (SEQ ID NO: 138)	SYWIG (SEQ ID NO: 144)	GYSFTSY (SEQ ID NO: 149)
	CDR-H2	IYPGDSDT (SEQ ID NO: 139)	IIYPGDSDTRYSPSFQGQ (SEQ ID NO: 145)	GDS (SEQ ID NO: 150)
	CDR-H3	ARFPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 140)	FPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 146)	PYDSSGYYSFD (SEQ ID NO: 151)
	CDR-L1	QSISSY (SEQ ID NO: 141)	RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 147)	SQSISSY (SEQ ID NO: 152)

[0130]

	CDR-L2	AAS (SEQ ID NO: 142)	AASSLQS (SEQ ID NO: 148)	AAS (SEQ ID NO: 142)
	CDR-L3	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 143)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 143)	SYSTPL (SEQ ID NO: 153)

[0131]

[0132] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0133] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 2에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 변이체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 2에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나에서의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 인간화 중쇄 가변 영역 및/또는 (예를 들어, 및) 인간화 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0134] 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 아미노산 서열의 예가 표 3에 제공된다.

[0135] 표 3. 항-TfR1 항체의 가변 영역

항체	가변 영역 아미노산 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	V_H: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WID PETGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGL DY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 69)
	V_L: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**R MSNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGT KVEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	V_H: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WID PESGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGL DY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 71)
	V_L: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**R MSNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGT KVEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 /Vκ4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WID PENGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGL DY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 72)
	VL: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**R MSNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGT KVEIK (SEQ ID NO: 70)
3M12 VH3/Vκ2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YIT FDGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVL DY**WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRL HS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH3/Vκ3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YIT FDGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVL DY**WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRL HS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
3M12 VH4/Vκ2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITF DGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLD Y**WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRL HS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH4/Vκ3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITF DGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLD Y**WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRL HS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)

[0136]

항체	가변 영역 아미노산 서열**
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WI YPGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPY HGMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 77)
	VL: DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**R ASNLES**GVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTK LEIK (SEQ ID NO: 78)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYDIN**WVRQAPGQGLEWMG**WI YPGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPY HGMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 79)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF **RASNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGT KLEIK (SEQ ID NO: 80)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WI YPGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPY HGMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 77)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF **RASNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGT KLEIK (SEQ ID NO: 80)
항-TfR 클론 8	VH: QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWIG**WVRQMPGKGLEWMG**IIY PGDSDTRYSPSFQGQ**VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**FPYDSSG YYSFDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 154)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIY**AASSL QS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYSTPLT**FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 155)

[0137]

[0138] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0139] ** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이다.

[0140] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VH와 비교하여 프레임워크 영역에 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 아미노산 변이를 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VL과 비교하여 프레임워크 영역에 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 아미노산 변이를 포함하는 VL을 포함한다.

[0141] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VH와 비교하여 프레임워크 영역에서 적어도 70% (예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 3에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 표 3에 제공된 각각의 VL과 비교하여 프레임워크 영역에서 적어도 70% (예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0142] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0143] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0144] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0145] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0146] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0147] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식

별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0148] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0149] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0150] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0151] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0152] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 154의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0153] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 전장 IgG이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 항-TfR1 항체의 중쇄는 중쇄 불변 영역 (CH) 또는 그의 부분 (예를 들어, CH1, CH2, CH3 또는 그의 조합)을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어 인간, 마우스, 래트 또는 토끼의 것일 수 있다. 하나의 구체적 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG (감마 중쇄), 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 것이다. 인간 IgG1 불변 영역의 예가 하기에 주어진다:

[0154] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81).

[0155] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 항-TfR1 항체의 중쇄는 돌연변이 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 인간 IgG1의 CH2 도메인에 LALA 돌연변이 (하부 힌지 잔기 Leu234 Leu235를 Ala234 및 Ala235로 대체하도록 돌연변이된 mAb b12로부터 유래된 돌연변이)의 도입은 Fcɣ 수용체 결합을 감소시키는 것으로 공지되어 있다 (Bruhns, P., et al. (2009) 및 Xu, D. et al. (2000)). 돌연변이 인간 IgG1 불변 영역이 하기에 제공된다 (돌연변이는 볼드체 및 밑줄표시됨):

[0156] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**A**
AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82).

[0157] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 항-TfR1 항체의 경쇄는 관련 기술분야에 공지된 임의의 CL일 수 있는 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 일부 실시양태에서, CL은 카파 경쇄이며, 이의 서열은 하기에 제공된다:

[0158] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:
83).

[0159] 다른 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 IMGT 데이터베이스 (www.imgt.org) 또는 www.vbase2.org/vbstat.php.에 제공되어 있으며, 이들 둘 다는 본원에 참조로 포함된다.

[0160] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81 또는 서열식별번호: 82에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%

또는 적어도 99% 동일한 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81 또는 서열식별번호: 82와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 81에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 82에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0161] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0162] 기재된 항-TfR1 항체의 IgG 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기 표 4에 제공된다.

[0163] 표 4. 항-TfR1 IgG의 예의 중쇄 및 경쇄 서열

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPET** **GDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**WGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPES** **GDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**WGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 86)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 /Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDPEN** **GDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY**WGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 87)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RMS** **NLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 88)

[0164]

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS**G VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 88)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS**G VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 91)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS**G VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDG** **ANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 91)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS**G VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYPG** **SGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGMDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 92)

[0165]

항체	IgG 중쇄/경쇄 서열**
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RAS NLES**GVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYDIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYPG SGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGMDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 94)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RAS NLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYPG SGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGMDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 92)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RAS NLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
항-TfR 클론 8	중쇄 (야생형 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWIG**WVRQMPGKGLEWMG**IIYPGD SDTRYSPSFQGQ**VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**FPYDSSGYYSFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 156)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIY**AASSLQS**G VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYSTPLT**FGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)

[0166]

[0167] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0168] ** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이고; VH/VL 서열은 밑줄표시된다.

[0169] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92, 94 및 156 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

[0170] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92, 94 및 156 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 86, 87, 88, 91, 92, 94 및 156 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89,

90, 93, 95 및 157 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0171] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0172] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0173] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0174] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0175] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0176] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0177] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0178] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0179] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0180] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0181] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0182] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 무손상 항체 (전장 항체)의 Fab 단편, Fab' 단편 또는 $F(ab')_2$ 단편이다. 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편은 상용 방법을 통해 (예를 들어, 재조합적으로 또는 전장 IgG의 중쇄 불변 영역을 효소, 예컨대 파파인을 사용하여 소화시킴으로써) 제조될 수 있다. 예를 들어, $F(ab')_2$ 단편은 항체 분자의 펩신 또는 파파인 소화에 의해 생산될 수 있고, Fab 단편은 $F(ab')_2$ 단편의 디술피드 가교를 환원시킴으로써 생성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 Fab' 단편 내의 중쇄 불변 영역은 하기의 아미노산 서열을 포함한다:

[0183] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 96).

[0184] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VH 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 96에 제시된 바와 같은 중쇄 불변 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0185] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열식별번호: 83과 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3,

2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 바와 같은 VL 중 어느 하나 또는 그의 임의의 변이체 및 서열 식별번호: 83에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0186] 기재된 항-TfR1 항체의 Fab 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열의 예가 하기 표 5에 제공된다.

[0187] 표 5. 항-TfR1 Fab의 예의 중쇄 및 경쇄 서열

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDP ETGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLD Y**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 97)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RM SNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDP ESGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHT (SEQ ID NO: 98)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RM SNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 /Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIK**DDYMY**WVRQPPGKGLEWIG**WIDP ENGDTEYASKFQD**RVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTL**WLRRGLD Y**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 99)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGYTYLF**WFQQRPGQSPRLLIY**RM SNLAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPFT**FGGGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITF DGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY** WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHT (SEQ ID NO: 100)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLH S**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWMG**YITF DGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY** WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHT (SEQ ID NO: 100)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLH S**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVA

[0188]

[0189]

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
	APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 101)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSIT**SGYYWN**WIRQPPGKGLEWIG**YITFDGANNYNPSLKN**RVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR**SSYDYDVLDY**WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 101)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNFLN**WYQQKPGQPVKLLIY**YTSRLHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGHTLPYT**FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYPGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGMDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RASNLES**GVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYDIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYPGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGMDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 103)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RASNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**DYYIN**WVRQAPGQGLEWMG**WIYPGSGNTRYSERFKG**RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EDYYPYHGMDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐):

항체	Fab 중쇄/경쇄 서열**
	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RASESVDGYDNSFMH**WYQQKPGQPPKLLIF**RASNLES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQSSEDPWT**FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
항-TfR 클론 8 버전 1	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWIG**WVRQMPGKGLEWMG**IIYPGDSDTRYSPSFQGQ**VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**FPYDSSGYYSFDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 158)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIY**AASSLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYSTPLT**FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)
항-TfR 클론 8 버전 2	중쇄 (부분 인간 IgG1 불변 영역을 가짐): QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWIG**WVRQMPGKGLEWMG**IIYPGDSDTRYSPSFQGQ**VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**FPYDSSGYYSFDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 159)
	경쇄 (카파 경쇄 불변 영역을 가짐): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIY**AASSLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYSTPLT**FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)

[0190]

[0191] * 돌연변이 위치는 돌연변이를 함유하는 각각의 VH 서열의 카바트 넘버링에 따른다.

[0192] ** 카바트 넘버링 시스템에 따른 CDR은 볼드체이고; VH/VL 서열은 밑줄표시된다.

[0193] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97-103, 158 및 159 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 중쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 경쇄와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 경쇄를 포함한다.

[0194] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97-103, 158 및 159 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나에 대해 적어도 75% (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97-103, 158 및 159 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 85, 89, 90, 93, 95 및 157 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0195] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0196] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0197] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0198] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0199] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0200] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서

열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0201] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0202] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0203] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0204] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0205] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 158의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0206] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0207] 다른 공지된 항-TfR1 항체

[0208] 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 적절한 항-TfR1 항체가 본원에 개시된 복합체에서 근육-표적화제로서 사용될 수 있다. 공지된 항-TfR1 항체의 예가 연관된 참고문헌 및 결합 에피토프를 포함하여 표 6에 열거된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 제공된 항-TfR1 항체, 예를 들어 표 6에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 상보성 결정 영역 (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)을 포함한다.

[0209] 표 6 - 항-TfR1 항체 클론의 목록, 이와 연관된 참고문헌 및 결합 에피토프 정보.

항체 클론 명칭	참고문헌(들)	에피토프 / 설명
OKT9	미국 특허 번호 4,364,934, 출원일 12/4/1979, 발명의 명칭 "MONOCLONAL ANTIBODY TO A HUMAN EARLY THYMOCYTE ANTIGEN AND METHODS FOR PREPARING SAME" Schneider C. et al. "Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9." J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.	TfR1의 정단 도메인 (진뱅크에서 입수가능한 인간 TfR1 서열 XM_052730.3의 잔기 305-366)
(JCR로부터) 클론 M11 클론 M23 클론 M27 클론 B84	• WO 2015/098989, 출원일 12/24/2014, "Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier" • 미국 특허 번호 9,994,641, 출원일 12/24/2014, "Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier"	정단 도메인 (TfR1의 잔기 230-244 및 326-347) 및 프로테아제-유사 도메인 (잔기 461-473)
(제넨테크로부터) 7A4, 8A2, 15D2, 10D11, 7B10, 15G11, 16G5, 13C3, 16G4, 16F6, 7G7, 4C2, 1B12, 및 13D4	• WO 2016/081643, 출원일 5/26/2016, 발명의 명칭 "ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE" • 미국 특허 번호 9,708,406, 출원일 5/20/2014, "Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use"	정단 도메인 및 비-정단 영역
(아마젠으로부터) 8D3	• Lee et al. "Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse" 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052. • 미국 특허 출원 2010/077498, 출원일 9/11/2008, 발명의 명칭 "COMPOSITIONS AND METHODS FOR BLOOD-BRAIN BARRIER DELIVERY IN THE MOUSE"	
OX26	• Haobam, B. et al. 2014. Rab17-mediated recycling endosomes contribute to autophagosome formation in response to Group A Streptococcus invasion. Cellular microbiology. 16: 1806-21.	
DF1513	• Ortiz-Zapater E et al. Trafficking of the human transferrin receptor in plant cells: effects of tyrphostin A23 and brefeldin A. Plant J 48:757-70 (2006).	
1A1B2, 66IG10, MEM-189, JF0956, 29806, 1A1B2,	• 상업적으로 입수가능한 항-트랜스페린 수용체 항체.	노부스 바이올로지칼스,

[0210]

TFRC/1818, 1E6, 66Ig10, TFRC/1059, Q1/71, 23D10, 13E4, TFRC/1149, ER-MP21, YTA74.4, BU54, 2B6, RI7 217		미국 80120 콜로라도주 리틀톤 A-8 사우스파크 웨이 8100
(INSERM으로부터) BA120g	• 미국 특허 출원 2011/0311544A1, 출원일 6/15/2005, 발명의 명칭 "ANTI-CD71 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF FOR TREATING MALIGNANT TUMOR CELLS"	OKT9와 경쟁하지 않음
LUCA31	• 미국 특허 번호 7,572,895, 출원일 6/7/2004, 발명의 명칭 "TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES"	"LUCA31 에피토프"
(솔크 연구소) B3/25 T58/30	• Trowbridge, I.S. et al. "Anti-transferrin receptor monoclonal antibody and toxin–antibody conjugates affect growth of human tumour cells." Nature, 1981, volume 294, pages 171–173	
R17 217.1.3, 5E9C11, OKT9 (BE0023 클론)	• 상업적으로 입수가능한 항-트랜스페린 수용체 항체.	바이오엑스셀, 미국 03784-1671 뉴햄프셔주 웨스트 레바논 스위트 2B 테크놀로지 드라이브 10
BK19.9, B3/25, T56/14 및 T58/1	• Gatter, K.C. et al. "Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance." J Clin Pathol. 1983 May;36(5):539-45.	

[0211]

[0212] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나로부터의 CDR-H (예를 들어, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3) 아미노산 서열 중 1개 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나에 대해 제공된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다.

[0213] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 도메인 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인을 포함하는 임의의 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 및 경쇄 가변 쌍을 포함하는 임의의 항체를 포함한다.

[0214] 본 개시내용의 측면은 본원에 기재된 것들 중 어느 것에 상동인 중쇄 가변 (VH) 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 (VL) 도메인 아미노산 서열을 갖는 항-TfR1 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 중쇄 가변 서열 및/또는 임의의 경쇄 가변 서열에 대해 적어도 75% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%) 동일한 중쇄 가변 서열 또는 경쇄 가변 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상동 중쇄 가변 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 아미노산 서열은 본원에 제공된 임의의 CDR 서열 내에서 달라지지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 소정 정도의 서열 변이 (예를 들어, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%)는 본원에 제공된 임의의 CDR 서열을 제외한 중쇄 가변 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 서열 내에서 발생할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-TfR1 항체는 임의의 항-TfR1 항체, 예컨대 표 6으로부터 선택된 항-TfR1 항체 중 어느 하나의 프레임워크 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 프레임워크 서열을 포함하는 중쇄 가변 서열 및 경쇄 가변 서열을 포함한다.

[0215] 본 개시내용에 따라 사용될 수 있는 트랜스페린 수용체 항체의 예는 국제 출원 공개 WO 2016/081643 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다. 이 항체의 아미노산 서열이 표 7에 제공된다.

[0216] 표 7. 공지된 항-TfR1 항체의 예의 중쇄 및 경쇄 CDR

서열 유형	카바트	코티아	접촉
CDR-H1	SYWMH (SEQ ID NO: 110)	GYTFTSY (SEQ ID NO: 116)	TSYWMH (SEQ ID NO: 118)
CDR-H2	EINPTNGRTNYIEKFKS (SEQ ID NO: 111)	NPTNGR (SEQ ID NO: 117)	WIGEINPTNGRTN (SEQ ID NO: 119)
CDR-H3	GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)	GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)	ARGTRA (SEQ ID NO: 120)
CDR-L1	RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)	RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)	YSNLAWY (SEQ ID NO: 121)
CDR-L2	DATNLAD (SEQ ID NO: 114)	DATNLAD (SEQ ID NO: 114)	LLVYDATNLA (SEQ ID NO: 122)
CDR-L3	QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)	QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)	QHFWGTPL (SEQ ID NO: 123)
뮤린 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 124)		
뮤린 VL	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQGKSPQLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 125)		
인간화 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 128)		
인간화 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 129)		
키메라 전장 IgG1의 HC	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 132)		
키메라 전장 IgG1의 LC	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQGKSPQLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 133)		
완전 인간 전장 IgG1의 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)		
완전 인간 전장 IgG1의 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 135)		

[0217]

키메라 Fab의 HC	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 136)
완전 인간 Fab의 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 137)

[0218]

[0219] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과 동일한 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3과 동일한 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다.

[0220] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L3과 비교하여 3개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 CDR-L3과 비교하여 1개의 아미노산 변이를 함유하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 QHFAGTPLT (서열식별번호: 126) (카바트 및 코티아 정의 시스템에 따름) 또는 QHFAGTPL (서열식별번호: 127) (접촉 정의 시스템에 따름)의 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3과

동일한 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1 및 CDR-L2를 포함하고, QHFAGTPLT (서열식별번호: 126) (카바트 및 코티아 정의 시스템에 따름) 또는 QHFAGTPL (서열식별번호: 127) (접촉 정의 시스템에 따름)의 CDR-L3을 포함한다.

[0221] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 중쇄 CDR에 대해 집합적으로 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 중쇄 CDR을 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 표 7에 제시된 바와 같은 경쇄 CDR에 대해 집합적으로 적어도 80% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 경쇄 CDR을 포함한다.

[0222] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0223] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0224] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 128에 제시된 바와 같은 VH와 비교하여 25개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VH를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 129에 제시된 바와 같은 VL과 비교하여 15개 이하의 아미노산 변이 (예를 들어, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 변이)를 함유하는 VL을 포함한다.

[0225] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항-TfR1 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 전장 IgG1 항체이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 항-TfR1 항체의 중쇄는 중쇄 불변 영역 (CH) 또는 그의 부분 (예를 들어, CH1, CH2, CH3 또는 그의 조합)을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어 인간, 마우스, 래트 또는 토끼의 것일 수 있다. 하나의 구체적 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG (감마 중쇄), 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 것이다. 인간 IgG1 불변 영역의 예가 하기에 주어진다:

[0226] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

[0227] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 항-TfR1 항체의 경쇄는 관련 기술분야에 공지된 임의의 CL일 수 있는 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 일부 실시양태에서, CL은 카파 경쇄이며, 이의 서열은 하기에 제공된다:

[0228] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:
83)

[0229] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 키메라 항체이다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0230] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 완전 인간 항체이다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0231] 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 무손상 항체 (전장 항체)의 항원 결합 단편 (Fab)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.

대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로 (예를 들어, 추가로), 본원에 기재된 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0232] 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 무손상 (즉, 전장) 항체, 그의 항원-결합 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')2, Fv), 단일 쇄 항체, 이중특이적 항체 또는 나노바디를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 항체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 scFv이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 scFv-Fab (예를 들어, 불변 영역의 부분에 융합된 scFv)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 불변 영역 (예를 들어, 서열식별번호: 81에 제시된 바와 같은 인간 IgG1 불변 영역)에 융합된 scFv이다.

[0233] 일부 실시양태에서, 보존적 돌연변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 표적 항원 (예를 들어, 트랜스페린 수용체)과 상호작용하는 데 수반될 가능성이 없는 위치에서 항체 서열 (예를 들어, CDR 또는 프레임워크 서열) 내로 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시킨다.

[0234] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가, 예를 들어 미국 특허 번호 5,677,425에 기재된 바와 같이 Fc 영역의 힌지 영역 (CH1 도메인) 내로 도입되어 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경되어, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키거나 또는 링커 접합을 용이하게 할 수 있다.

[0235] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체 (예를 들어, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시킨다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역 내의 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 그의 단편 내로 이러한 돌연변이를 도입하는 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변경시키도록 제조될 수 있는 항체의 Fc 수용체 내의 돌연변이의 예는, 예를 들어 문헌 [Smith P et al., (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 번호 6,737,056 및 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631에 기재되어 있으며, 이들은 본원에 참조로 포함된다.

[0236] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-TfR1 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킨다. 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예에 대해서는, 예를 들어 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 5,869,046; 6,121,022; 6,277,375; 및 6,165,745를 참조한다.

[0237] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-TfR1 항체의 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 제2 불변 (CH2) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 불변 (CH3) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447)에 1개 이상의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환)를 가질 수 있으며, 여기서 넘버링은 카바트에서의 EU 인덱스에 따른다 (Kabat E A et al., (1991) 상기 문헌). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 IgG1의 불변 영역은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 위치 252에서의 메티오닌 (M)에서 티로신 (Y)으로의 치환, 위치 254에서의 세린 (S)에서 트레오닌 (T)으로의 치환, 및 위치 256에서의 트레오닌 (T)에서 글루탐산 (E)으로의 치환을 포함한다.

미국 특허 번호 7,658,921을 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. "YTE 돌연변이체"로 지칭되는 이러한 유형의 돌연변이 IgG는 동일한 항체의 야생형 버전과 비교하여 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 일부 실시양태에서, 항체는 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 위치 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 및 428-436에서의 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 또는 그 초과의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.

[0238] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 치환이 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입되어 항-TfR1 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시킨다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 종양 국재화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 불활성화시켜 종양 국재화를 증가시키는 돌연변이의 기재에 대해서는 미국 특허 번호 5,585,097 및 8,591,886을 참조한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환이 본원에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거할 수 있으며, 이는 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조).

[0239] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 불변 영역 내의 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체되어 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기가 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역이 변형되어 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 (예를 들어, 증가시키고) Fcγ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다.

[0240] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인(들) 서열(들)은, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 인간 항체 또는 항원-결합 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에 제공된 임의의 항체로부터 유래된 임의의 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 유용할 수 있고, 이러한 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 그가 유래한 원래 항체에 비해 트랜스페린 수용체에 대한 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과의 결합을 갖도록, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0241] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 바람직한 특성을 항체에 부여하는 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 천연 IgG4 mAb에 의해 발생하는 것으로 공지된 Fab-아암 교환으로 인한 잠재적 합병증을 피하기 위해, 본원에 제공된 항체는 세린 228 (EU 넘버링; 카바트 넘버링의 잔기 241)이 프롤린으로 전환되어 IgG1-유사 힌지 서열을 생성하는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993). 따라서, 임의의 항체는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0242] 일부 실시양태에서, 항체는 변형되고, 예를 들어 글리코실화, 인산화, SUMO화 및/또는 (예를 들어, 및) 메틸화를 통해 변형된다. 일부 실시양태에서, 항체는 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자에 접합된 글리코실화 항체이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 N-글리코실화, O-글리코실화, C-글리코실화, GPI화 (GPI 앵커 부착) 및/또는 (예를 들어, 및) 포스포글리코실화를 통해 항체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 모노사카라이드, 디사카라이드, 올리고사카라이드 또는 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 분지형 올리고사카라이드 또는 분지형 글리칸이다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 당 또는 탄수화물 분자는 만노스 단위, 글루코스 단위, N-아세틸글루코사민 단위, N-아세틸갈락토사민 단위, 갈락토스 단위, 푸코스 단위 또는 인지질 단위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약 1-10, 약 1-5, 약 5-10, 약 1-4, 약 1-3 또는 약 2개의 당 분자가 존재한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화 항체는 완전히 또는 부분적으로 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 화학 반응 또는 효소적 수단에 의해 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 시험관내에서 또는 임의로 N- 또는 O-글리코실화 경로 내의 효소, 예를 들어 글리코실트랜스퍼라제가 결핍되어 있을 수 있는 세포 내부에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "변형된 항체, 항체-접합체

및 그의 제조 방법")에 기재된 바와 같이 당 또는 탄수화물 분자로 관능화된다.

[0243] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나는 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 서열에 신호 펩티드 (예를 들어, N-말단 신호 펩티드)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 VH 및 VL 서열 중 어느 하나, IgG 중쇄 및 경쇄 서열 중 어느 하나 또는 F(ab') 중쇄 및 경쇄 서열 중 어느 하나를 포함하고, 신호 펩티드 (예를 들어, N-말단 신호 펩티드)를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드는 MGWSCIILFLVATATGVHS (서열식별번호: 104)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0244] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 1종 이상의 번역후 변형을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성 (피로-Glu)으로도 또한 불리는 N-말단 고리화는 생산 동안 항체에서 N-말단 글루타메이트 (Glu) 및/또는 글루타민 (Gln) 잔기에서 발생할 수 있다. 따라서, N-말단 글루타메이트 또는 글루타민 잔기를 포함하는 서열을 갖는 것으로 명시된 항체는 번역후 변형으로부터 생성된 피로글루타메이트 형성을 겪은 항체를 포괄한다는 것이 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성은 중쇄 서열에서 발생한다. 일부 실시양태에서, 피로글루타메이트 형성은 경쇄 서열에서 발생한다.

[0245] b. 다른 근육-표적화 항체

[0246] 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 헤모쥬벨린, 카베올린-3, 뒤시엔느 근육 이영양증 펩티드, 미오신 IIb 또는 CD63에 특이적으로 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 근원성 전구체 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 근원성 전구체 단백질은 비제한적으로 ABCG2, M-카드헤린/카드헤린-15, 카베올린-1, CD34, FoxK1, 인테그린 알파 7, 인테그린 알파 7 베타 1, MYF-5, MyoD, 미오게닌, NCAM-1/CD56, Pax3, Pax7 및 Pax9를 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 골격근 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 골격근 단백질은 비제한적으로 알파-사르코글리칸, 베타-사르코글리칸, 칼파인 억제제, 크레아틴 키나제 MM/CKMM, eIF5A, 엔올라제 2/뉴런-특이적 엔올라제, 엡실론-사르코글리칸, FABP3/H-FABP, GDF-8/미오스타틴, GDF-11/GDF-8, 인테그린 알파 7, 인테그린 알파 7 베타 1, 인테그린 베타 1/CD29, MCAM/CD146, MyoD, 미오게닌, 미오신 경쇄 키나제 억제제, NCAM-1/CD56 및 트로포닌 I을 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 항체는 평활근 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 예시적인 평활근 단백질은 비제한적으로 알파-평활근 액틴, VE-카드헤린, 칼데스몬/CALD1, 칼포닌 1, 데스민, 히스타민 H2 R, 모틸린 R/GPR38, 트랜스겔린/TAGLN 및 비멘틴을 포함한다. 그러나, 추가의 표적에 대한 항체는 본 개시내용의 범주 내에 있고, 본원에 제공된 표적의 예시적인 목록은 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 것이 인지될 것이다.

[0247] c. 항체 특색/변경

[0248] 일부 실시양태에서, 보존적 돌연변이는, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정된 바와 같이, 잔기가 표적 항원 (예를 들어, 트랜스페린 수용체)과 상호작용하는 데 수반될 가능성이 없는 위치에서 항체 서열 (예를 들어, CDR 또는 프레임워크 서열) 내로 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시킨다.

[0249] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가, 예를 들어 미국 특허 번호 5,677,425에 기재된 바와 같이 Fc 영역의 힌지 영역 (CH1 도메인) 내로 도입되어 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경되어, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변경 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키거나 또는 링커 접합을 용이하게 할 수 있다.

[0250] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 돌연변이 (예를 들어, 아미노산 치환)가 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 Fc 영역 내로 (예를 들어, CH2 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) CH3 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447) 및/또는 (예를 들어, 및) 힌지 영역에 (여기서 넘버링은 카바트 넘버링 시스템 (예를 들어, 카바트에서의 EU 인덱스)에 따름)) 도입되어 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체 (예를 들어, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시킨다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역 내의 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 그의 단편 내로 이러한 돌연변이를 도입하는 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변경시키도록 제조

될 수 있는 항체의 Fc 수용체 내의 돌연변이의 예는, 예를 들어 문헌 [Smith P et al., (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 번호 6,737,056 및 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631에 기재되어 있으며, 이들은 본원에 참조로 포함된다.

[0251] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킨다. 생체내 항체의 반감기를 변경 (예를 들어, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예에 대해서는, 예를 들어 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 5,869,046; 6,121,022; 6,277,375; 및 6,165,745를 참조한다.

[0252] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항-트랜스페린 수용체 항체의 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인 또는 그의 FcRn-결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입되어 생체내 항체의 반감기를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 제2 불변 (CH2) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 231-340) 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 불변 (CH3) 도메인 (인간 IgG1의 잔기 341-447)에 1개 이상의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환)를 가질 수 있으며, 여기서 넘버링은 카바트에서의 EU 인덱스에 따른다 (Kabat E A et al., (1991) 상기 문헌). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 IgG1의 불변 영역은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 위치 252에서의 메티오닌 (M)에서 티로신 (Y)으로의 치환, 위치 254에서의 세린 (S)에서 트레오닌 (T)으로의 치환, 및 위치 256에서의 트레오닌 (T)에서 글루탐산 (E)으로의 치환을 포함한다. 미국 특허 번호 7,658,921을 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. "YTE 돌연변이체"로 지칭되는 이러한 유형의 돌연변이 IgG는 동일한 항체의 야생형 버전과 비교하여 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 일부 실시양태에서, 항체는 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 위치 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 및 428-436에서의 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 또는 그 초과의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.

[0253] 일부 실시양태에서, 1, 2개 또는 그 초과의 아미노산 치환이 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입되어 항-트랜스페린 수용체 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시킨다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 종양 국재화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 불활성화시켜 종양 국재화를 증가시키는 돌연변이의 기재에 대해서는 미국 특허 번호 5,585,097 및 8,591,886을 참조한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환이 본원에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거할 수 있으며, 이는 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조).

[0254] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 근육-표적화 항체의 불변 영역 내의 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체되어 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 (예를 들어, 및) 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세히 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기가 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역이 변형되어 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 (예를 들어, 증가시키고) Fcγ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다.

[0255] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 중쇄 및/또는 (예를 들어, 및) 경쇄 가변 도메인(들) 서열(들)은, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 인간 항체 또는 항원-결합 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에 제공된 임의의 항체로부터 유래된 임의의 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 유용할 수 있고, 이러한 변이체, CDR-그라프트된, 키메라, 인간화 또는 복합 항체는 그가 유래한 원래 항체에 비해 트랜스페린 수용체에 대한 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과의 결합을 갖도록, 트랜스페린 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 유지할

것이다.

[0256] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 바람직한 특성을 항체에 부여하는 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 천연 IgG4 mAb에 의해 발생하는 것으로 공지된 Fab-아암 교환으로 인한 잠재적 합병증을 피하기 위해, 본원에 제공된 항체는 세린 228 (EU 넘버링; 카바트 넘버링의 잔기 241)이 프롤린으로 전환되어 IgG1-유사 힌지 서열을 생성하는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993). 따라서, 임의의 항체는 안정화 'Adair' 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0257] 본원에 제공된 바와 같이, 본 개시내용의 항체는 임의로 불변 영역 또는 그의 일부를 포함할 수 있다. 예를 들어, VL 도메인은 그의 C-말단 단부에서 경쇄 불변 도메인, 예컨대 Cκ 또는 Cλ에 부착될 수 있다. 유사하게, VH 도메인 또는 그의 부분은 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 및 임의의 이소형 하위부류와 같은 중쇄의 모두 또는 일부에 부착될 수 있다. 항체는 적합한 불변 영역을 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md. (1991)] 참조). 따라서, 본 개시내용의 범주 내의 항체는 임의의 적합한 불변 영역과 조합된 VH 및 VL 도메인 또는 그의 항원 결합 부분을 포함할 수 있다.

[0258] ii. 근육-표적화 펩티드

[0259] 본 개시내용의 일부 측면은 근육-표적화제로서의 근육-표적화 펩티드를 제공한다. 특이적 세포 유형에 결합하는 짧은 펩티드 서열 (예를 들어, 5-20개의 아미노산 길이의 펩티드 서열)이 기재되었다. 예를 들어, 세포-표적화 펩티드는 문헌 [Vines e., et al., A. "Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery" Biochim Biophys Acta 2008, 1786: 126-38; Jarver P., et al., "In vivo biodistribution and efficacy of peptide mediated delivery" Trends Pharmacol Sci 2010; 31: 528-35; Samoylova T.I., et al., "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening" Muscle Nerve 1999; 22: 460-6]; 2001년 12월 11일에 허여된 미국 특허 번호 6,329,501 (발명의 명칭: "화합물을 근육에 표적화하기 위한 방법 및 조성물"); 및 [Samoylov A.M., et al., "Recognition of cell-specific binding of phage display derived peptides using an acoustic wave sensor." Biomol Eng 2002; 18: 269-72]에 기재되었으며; 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 특이적 세포 표면 항원 (예를 들어, 수용체)과 상호작용하는 펩티드를 설계함으로써, 목적하는 조직, 예를 들어 근육에 대한 선택성이 달성될 수 있다. 골격근-표적화가 연구되었고, 다양한 분자 페이로드가 전달될 수 있다. 이들 접근법은 대형 항체 또는 바이러스 입자의 많은 실제 단점 없이 근육 조직에 대한 높은 선택성을 가질 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 4 내지 50개의 아미노산 길이인 근육-표적화 펩티드이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 아미노산 길이이다. 근육-표적화 펩티드는 임의의 여러 방법, 예컨대 파지 디스플레이를 사용하여 생성될 수 있다.

[0260] 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 특정 다른 세포와 비교하여 근육 세포에서 과다발현되거나 비교적 고도로 발현되는 내재화 세포 표면 수용체, 예를 들어 트랜스페린 수용체에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 트랜스페린 수용체를 표적화할 수 있고, 예를 들어 그에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 자연 발생 리간드의 절편, 예를 들어 트랜스페린을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 미국 특허 번호 6,743,893, 출원일 11/30/2000, "인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 펩티드의 수용체-매개 흡수"에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 문헌 [Kawamoto, M. et al., "A novel transferrin receptor-targeted hybrid peptide disintegrates cancer cell membrane to induce rapid killing of cancer cells." BMC Cancer. 2011 Aug 18;11:359]에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 트랜스페린 수용체를 표적화하는 펩티드는 미국 특허 번호 8,399,653, 출원일 5/20/2011, "트랜스페린/트랜스페린 수용체-매개 SIRNA 전달"에 기재된 바와 같다.

[0261] 상기 논의된 바와 같이, 근육 표적화 펩티드의 예가 보고되었다. 예를 들어, 표면 헵타펩티드를 제시하는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 근육-특이적 펩티드가 확인되었다. 한 예로서, 아미노산 서열 ASSLNIA (서열식별번호: 167)를 갖는 펩티드는 시험관내에서 C2C12 뮤린 근관에 결합하고, 생체내에서 마우스 근육 조직에 결합하였다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 아미노산 서열 ASSLNIA (서열식별번호: 167)를 포함한다. 이러한 펩티드는 간, 신장 및 뇌에 대한 결합이 감소된 마우스에서 정맥내 주사 후 심장 및 골격근 조직

에 대한 결합에 대해 개선된 특이성을 나타냈다. 추가의 근육-특이적 펩티드는 파지 디스플레이를 사용하여 확인되었다. 예를 들어, DMD에 대한 치료와 관련하여 근육 표적화를 위한 파지 디스플레이 라이브러리에 의해 12개 아미노산의 펩티드가 확인되었다. 문헌 [Yoshida D., et al., "Targeting of salicylate to skin and muscle following topical injections in rats." Int J Pharm 2002; 231: 177-84]을 참조하며; 이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 여기서 서열 SKTFNTHPQSTP (서열식별번호: 168)를 갖는 12개 아미노산 펩티드가 확인되었고, 이러한 근육-표적화 펩티드는 ASSLNIA (서열식별번호: 167) 펩티드에 비해 C2C12 세포에 대한 개선된 결합을 나타냈다.

[0262] 다른 세포 유형에 비해 근육 (예를 들어, 골격근)에 대해 선택적인 펩티드를 확인하기 위한 추가의 방법은 문헌 [Ghosh D., et al., "Selection of muscle-binding peptides from context-specific peptide-presenting phage libraries for adenoviral vector targeting" J Virol 2005; 79: 13667-72] (이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 시험관내 선택을 포함한다. 무작위 12량체 펩티드 파지 디스플레이 라이브러리를 비-근육 세포 유형의 혼합물과 함께 사전-인큐베이션함으로써, 비-특이적 세포 결합제를 선택하였다. 선택 라운드 후, 12개 아미노산 펩티드 TARGEHKEEELI (서열식별번호: 169)가 가장 빈번하게 출현하였다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 아미노산 서열 TARGEHKEEELI (서열식별번호: 169)를 포함한다.

[0263] 근육-표적화제는 아미노산-함유 분자 또는 펩티드일 수 있다. 근육-표적화 펩티드는 근육 세포에서 발견된 단백질 수용체에 우선적으로 결합하는 단백질의 서열에 상응할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 높은 경향의 소수성 아미노산, 예를 들어 발린을 함유하여, 펩티드가 근육 세포를 우선적으로 표적화하도록 한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 이전에 특징화되거나 개시되지 않았다. 이들 펩티드는 임의의 여러 방법론, 예를 들어 파지 디스플레이된 펩티드 라이브러리, 1-비드 1-화합물 펩티드 라이브러리, 또는 위치 스캐닝 합성 펩티드 조합 라이브러리를 사용하여 고안, 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Gray, B.P. and Brown, K.C. "Combinatorial Peptide Libraries: Mining for Cell-Binding Peptides" Chem Rev. 2014, 114:2, 1020-1081.; Samoylova, T.I. and Smith, B.F. "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening." Muscle Nerve, 1999, 22:4. 460-6.). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 이전에 개시되었다 (예를 들어, 문헌 [Writer M.J. et al. "Targeted gene delivery to human airway epithelial cells with synthetic vectors incorporating novel targeting peptides selected by phage display." J. Drug Targeting. 2004;12:185; Cai, D. "BDNF-mediated enhancement of inflammation and injury in the aging heart." Physiol Genomics. 2006, 24:3, 191-7.; Zhang, L. "Molecular profiling of heart endothelial cells." Circulation, 2005, 112:11, 1601-11.; McGuire, M.J. et al. "In vitro selection of a peptide with high selectivity for cardiomyocytes in vivo." J Mol Biol. 2004, 342:1, 171-82.] 참조). 예시적인 근육-표적화 펩티드는 하기 군의 아미노산 서열을 포함한다: CQAQGQLVC (서열식별번호: 170), CSERSMNFC (서열식별번호: 171), CPKTRRVPC (서열식별번호: 130), WLSEAGPVVTVRALRGTGSW (서열식별번호: 172), ASSLNIA (서열식별번호: 167), CMQHSMRVC (서열식별번호: 173) 및 DDTRHWG (서열식별번호: 131). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 약 2-25개의 아미노산, 약 2-20개의 아미노산, 약 2-15개의 아미노산, 약 2-10개의 아미노산 또는 약 2-5개의 아미노산을 포함할 수 있다. 근육-표적화 펩티드는 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β-아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 선형일 수 있고; 다른 실시양태에서, 근육-표적화 펩티드는 시클릭, 예를 들어 비시클릭일 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Silvana, M.G. et al. Mol. Therapy, 2018, 26:1, 132-147.] 참조).

[0264] iii. 근육-표적화 수용체 리간드

[0265] 근육-표적화제는 리간드, 예를 들어 수용체 단백질에 결합하는 리간드일 수 있다. 근육-표적화 리간드는 근육 세포에 의해 발현되는 내재화 세포 표면 수용체에 결합하는 단백질, 예를 들어 트랜스페린일 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 트랜스페린 수용체에 결합하는 트랜스페린 또는 그의 유도체이다. 근육-표적화 리간드는 대안적으로 다른 세포 유형에 비해 근육 세포를 우선적으로 표적화하는 소분자, 예를 들어 친지성 소분자일 수 있다. 근육 세포를 표적화할 수 있는 예시적인 친지성 소분자는 콜레스테롤, 콜레스테릴, 스테아르산, 팔미트산, 올레산, 올레일, 리놀렌, 리놀레산, 미리스트산, 스테롤, 디히드로테스토스테론, 테스토스테론 유도체, 글리세린, 알킬 쇄, 트리틸 기 및 알콕시산을 포함하는 화합물을 포함한다.

[0266] iv. 근육-표적화 압타머

[0267] 근육-표적화제는 다른 세포 유형에 비해 근육 세포를 우선적으로 표적화하는 압타머, 예를 들어 RNA 압타머일 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화 압타머는 이전에 특징화되거나 개시되지 않았다. 이들 압타머는 임의의 여러 방법론, 예를 들어 지수적 풍부화에 의한 리간드의 체계적 진화를 사용하여 고안, 생산, 합성 및/또는 (예를 들어, 및) 유도체화될 수 있다. 예시적인 방법론은 관련 기술분야에서 특징화되었으며, 참조로 포함된다 (Yan, A.C. and Levy, M. "Aptamers and aptamer targeted delivery" RNA biology, 2009, 6:3, 316-20.; Germer, K. et al. "RNA aptamers and their therapeutic and diagnostic applications." Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2013; 4: 27-40.). 일부 실시양태에서, 근육-표적화 압타머는 이전에 개시되었다 (예를 들어, 문헌 [Phillippou, S. et al. "Selection and Identification of Skeletal-Muscle-Targeted RNA Aptamers." Mol Ther Nucleic Acids. 2018, 10:199-214.; Thiel, W.H. et al. "Smooth Muscle Cell-targeted RNA Aptamer Inhibits Neointimal Formation." Mol Ther. 2016, 24:4, 779-87.] 참조). 예시적인 근육-표적화 압타머는 A01B RNA 압타머 및 RNA Apt 14를 포함한다. 일부 실시양태에서, 압타머는 핵산-기반 압타머, 올리고뉴클레오티드 압타머 또는 펩티드 압타머이다. 일부 실시양태에서, 압타머는 약 5-15 kDa, 약 5-10 kDa, 약 10-15 kDa, 약 1-5 Da, 약 1-3 kDa 또는 그 미만일 수 있다.

[0268] v. 다른 근육-표적화제

[0269] 근육 세포 (예를 들어, 골격근 세포)를 표적화하기 위한 하나의 전략은 근육 수송체 단백질, 예컨대 근초 상에 발현된 수송체 단백질의 기질을 사용하는 것이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 근육 조직에 특이적인 유입 수송체의 기질이다. 일부 실시양태에서, 유입 수송체는 골격근 조직에 특이적이다. 다음 2종의 주요 부류의 수송체가 골격근 근초 상에서 발현된다: (1) 골격근 조직으로부터의 유출을 용이하게 하는 아데노신 트리포스페이트 (ATP) 결합 카세트 (ABC) 슈퍼패밀리 및 (2) 골격근 내로의 기질 유입을 용이하게 할 수 있는 용질 담체 (SLC) 슈퍼패밀리. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 ABC 슈퍼패밀리 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질이다. 일부 실시양태에서, ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질은 자연 발생 기질이다. 일부 실시양태에서, ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 기질은 비-자연 발생 기질, 예를 들어 ABC 또는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체에 결합하는 그의 합성 유도체이다.

[0270] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 수송체의 SLC 슈퍼패밀리를 표적화하는 본원에 기재된 임의의 근육 표적화제 (예를 들어, 항체, 핵산, 소분자, 펩티드, 압타머, 지질, 당 모이어티)이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 SLC 슈퍼패밀리의 수송체의 기질이다. SLC 수송체는 평형화 수송체이거나 또는 기질의 수송을 구동하기 위해 막을 가로질러 생성된 양성자 또는 나트륨 이온 구배를 사용한다. 높은 골격근 발현을 갖는 예시적인 SLC 수송체는 비제한적으로 SATT 수송체 (ASCT1; SLC1A4), GLUT4 수송체 (SLC2A4), GLUT7 수송체 (GLUT7; SLC2A7), ATRC2 수송체 (CAT-2; SLC7A2), LAT3 수송체 (KIAA0245; SLC7A6), PHT1 수송체 (PTR4; SLC15A4), OATP-J 수송체 (OATP5A1; SLC21A15), OCT3 수송체 (EMT; SLC22A3), OCTN2 수송체 (FLJ46769; SLC22A5), ENT 수송체 (ENT1; SLC29A1 및 ENT2; SLC29A2), PAT2 수송체 (SLC36A2) 및 SAT2 수송체 (KIAA1382; SLC38A2)를 포함한다. 이들 수송체는 골격근 내로의 기질의 유입을 용이하게 하여, 근육 표적화를 위한 기회를 제공할 수 있다.

[0271] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 평형화 뉴클레오시드 수송체 2 (ENT2) 수송체의 기질이다. 다른 수송체에 비해, ENT2는 골격근에서 가장 높은 mRNA 발현 중 하나를 갖는다. 인간 ENT2 (hENT2)는 대부분의 신체 기관, 예컨대 뇌, 심장, 태반, 흉선, 췌장, 전립선 및 신장에서 발현되지만, 골격근에서 특히 풍부하다. 인간 ENT2는 그의 기질의 흡수를 이들의 농도 구배에 따라 용이하게 한다. ENT2는 광범위한 퓨린 및 피리미딘 핵염기를 수송함으로써 뉴클레오시드 항상성을 유지하는 데 소정 역할을 한다. hENT2 수송체는 이노신을 제외한 모든 뉴클레오시드 (아데노신, 구아노신, 우리딘, 티미딘 및 시티딘)에 대해 저친화도를 갖는다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 ENT2 기질이다. 예시적인 ENT2 기질은 비제한적으로 이노신, 2',3'-디데옥시이노신 및 클로파라빈을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 근육-표적화제는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 페이로드)와 회합된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 분자 페이로드에 비-공유 연결된다.

[0272] 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 나트륨 이온-의존성, 고친화도 카르니틴 수송체인 유기 양이온/카르니틴 수송체 (OCTN2)의 기질이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 OCTN2에 결합하는 카르니틴, 밀드로네이트, 아세틸카르니틴 또는 그의 임의의 유도체이다. 일부 실시양태에서, 카르니틴, 밀드로네이트, 아세틸카르니틴 또는 그의 유도체는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 페이로드)에 공유 연결된다.

[0273] 근육-표적화제는 근육 세포를 표적화하는 적어도 1종의 가용성 형태로 존재하는 단백질인 단백질일 수 있다.

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

[0274] B. 분자 페이로드

[0275] 본 개시내용의 일부 측면은 DUX4의 발현 또는 활성을 조정하기 위해 DUX4 RNA를 표적화하도록 설계된 분자 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 근육 위축, 염증 및 감소된 분화 잠재력 및 산화성 스트레스를 포함한 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD) 병리상태의 특색과 연관된 DUX4 mRNA 및/또는 단백질의 수준을 감소시키는 데 유용한, DUX4 RNA와 상보적인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA의 RNAi 매개된 분해를 지시하도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA의 분해를 위해 RNA-유도된 침묵 복합체 (RISC)에 효율적으로 결속할 뿐만 아니라 감소된 오프-타겟 효과를 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 생체이용률 및/또는 혈청-안정성 특성을 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 결합 친화도 특성을 갖도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 바람직한 독성 및/또는 면역원성 프로파일을 갖도록 설계된다.

[0276] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA에 대한 상보성 영역을 갖는 가닥을 포함한다. 예시적인 올리고뉴클레오티드가 본원에 추가로 상세히 기재되어 있지만, 본원에 제공된 예시적인 올리고뉴클레오티드가 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 것이 인지될 것이다.

[0277] i. 올리고뉴클레오티드

[0278] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 DUX4 mRNA의 RNAi 매개된 분해를 유발하도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 DUX4 mRNA에 대해 상보적인 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, siRNA)를 형성하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나의 포맷의 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드)는 하나의 포맷에서 또 다른 포맷 (예를 들어, siRNA 올리고뉴클레오티드)으로 기능적 서열 (예를 들어, 안티센스 가닥 서열)을 혼입시킴으로써 다른 포맷에 적합하게 적합화될 수 있다는 것이 인지될 것이다.

[0279] 임의의 적합한 올리고뉴클레오티드가 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드로서 사용될 수 있다. DUX4를 표적화하는 데 유용한 올리고뉴클레오티드의 예는 2017년 2월 2일에 공개된 미국 특허 번호 9,988,628 (발명의 명칭: "안면견갑상완 근육 이영양증을 치료하는 데 유용한 작용제"); 2014년 10월 30일에 공개된 미국 특허 번호 9,469,851 (발명의 명칭: "DUX4의 발현을 억제하기 위한 재조합 바이러스 생성물 및 방법"); 2012년 9월 6일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20120225034 (발명의 명칭: "안면견갑상완 근육 이영양증을 치료하는 데 유용한 작용제"); 2013년 8월 15일에 공개된 PCT 특허 출원 공개 번호 WO 2013/120038 (발명의 명칭: "FSHD를 치료하기 위한 DUX4 표적화 모르폴리노"); 문헌 [Chen et al., "Morpholino-mediated Knockdown of DUX4 Toward Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Therapeutics," Molecular Therapy, 2016, 24:8, 1405-1411.; 및 Ansseau et al., "Antisense Oligonucleotides Used to Target the DUX4 mRNA as Therapeutic Approaches in Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy (FSHD)," Genes, 2017, 8, 93]에 제공되어 있으며; 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 포함된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, siRNA, shRNA, 또는 표적 DUX4 유전자 또는 mRNA와 혼성화하는 또 다른 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드이다.

[0280] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 하기와 같은 NCBI 서열 NM_001293798.2 (서열식별번호: 160) 또는 NCBI 서열 NM_001306068.3 (서열식별번호: 161)에 상응하는 인간 DUX4 및/또는 (예를 들어, 및) 하기와 같은 NCBI 서열 NM_001081954.1 (서열식별번호: 162)에 상응하는 마우스 DUX4로서 제시된 바와 같은 서열에 대한 상보성 영역을 갖는다. 다른 비제한적 예시적인 인간 DUX4 mRNA는 NCBI 서열: NM_033178, 진뱅크 수탁 번호 FJ439133, AF117653, HM101229, HM101230, HM101232, HM101233, HM101234,

HM101235, HM101240, HM101241, HM101242, HM101243, HM101244, HM101245, HM101246, HM101247, HM101248, HM101249, HM101250, HM101251 및 HM190160, HM190161, HM190162, HM190163, HM190164, HM190165, HM190166, HM190167, HM190168, HM190169, HM190170, HM190171, HM190172, HM190173, HM190174, HM190175, HM190176, HM190177, HM190178, HM190179, HM190180, HM190181, HM190182, HM190183, HM190184, HM190185, HM190186, HM190187, HM190188, HM190189, HM190190, HM190191, HM190192, HM190193, HM190194, HM190195, HM190196을 포함하며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 문헌 [Daxinger, et al., "Genetic and Epigenetic Contributors to FSHD," published in Curr Opin Genet Dev in 2015, Lim J-W, et al., DICER/AGO-dependent epigenetic silencing of D4Z4 repeats enhanced by exogenous siRNA suggests mechanisms and therapies for FSHD Hum Mol Genet. 2015 Sep 1; 24(17): 4817-4828] (이들 각각의 내용은 그 전문이 포함됨)에서와 같이, 저메틸화된 수축된 D4Z4 반복부에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다.

[0281] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 예시적인 인간 DUX4 유전자 서열 (NM_001293798.2) (서열식별번호: 160)인 하기와 같이 제시된 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다:

ATGGCCCTCCCGACACCCTCGGACAGCACCCTCCCCGCGGAAGCCCGGGGACGAG
GACGGCGACGGAGACTCGTTTGGACCCCGAGCCAAAGCGAGGCCCTGCGAGCCTG
CTTTGAGCGGAACCCGTACCCGGGCATCGCCACCAGAGAACGGCTGGCCCAGGCC
ATCGGCATTCCGGAGCCCAGGGTCCAGATTTGGTTTCAGAATGAGAGGTCACGCC
AGCTGAGGCAGCACCGGCGGGAATCTCGGCCCTGGCCCGGGAGACGCGGCCCGCC
AGAAGGCCGGCGAAAGCGGACCGCCGTCACCGGATCCCAGACCGCCCTGCTCCTC
CGAGCCTTTGAGAAGGATCGCTTTCCAGGCATCGCCGCCCGGGAGGAGCTGGCCA
GAGAGACGGGCCTCCCGGAGTCCAGGATTCAGATCTGGTTTCAGAATCGAAGGGC
CAGGCACCCGGGACAGGGTGGCAGGGCGCCCGCGCAGGCAGGCGGCCTGTGCAG
CGCGGCCCCCGGCGGGGGTCACCCTGCTCCCTCGTGGGTCGCCTTCGCCCACACCG
GCGCGTGGGGAACGGGGCTTCCCGCACCCCACGTGCCCTGCGCGCCTGGGGCTCT
CCCACAGGGGGCTTTCGTGAGCCAGGCAGCGAGGGCCGCCCCCGCGCTGCAGCCC
AGCCAGGCCGCGCCGGCAGAGGGGATCTCCCAACCTGCCCCGGCGCGCGGGGATT
TCGCCTACGCCGCCCCGGCTCCTCCGGACGGGGCGCTCTCCCACCCTCAGGCTCCT
CGCTGGCCTCCGCACCCGGGCAAAAGCCGGGAGGACCGGGACCCGCAGCGCGAC
GGCCTGCCGGGCCCCTGCGCGGTGGCACAGCCTGGGCCCGCTCAAGCGGGGCCGC
AGGGCCAAGGGGTGCTTGCGCCACCCACGTCCCAGGGGAGTCCGTGGTGGGGCTG
GGGCCGGGGTCCCCAGGTCGCCGGGGCGGCGTGGGAACCCCAAGCCGGGGCAGC
TCCACCTCCCCAGCCCGCGCCCCCGGACGCCTCCGCCTCCGCGCGGCAGGGGCAG
ATGCAAGGCATCCCGGCGCCCTCCCAGGCGCTCCAGGAGCCGGCGCCCTGGTCTG
CACTCCCCTGCGGCCTGCTGCTGGATGAGCTCCTGGCGAGCCCGGAGTTTCTGCAG
CAGGCGCAACCTCTCCTAGAAACGGAGGCCCCGGGGGAGCTGGAGGCCTCGGAA
GAGGCCGCCTCGCTGGAAGCACCCCTCAGCGAGGAAGAATACCGGGCTCTGCTGG
AGGAGCTTTAGGACGCGGGGTCTAGGCCCGGTGAGAGACTCCACACCGCGGAGAA
CTGCCATTCTTTCCTGGGCATCCCGGGGATCCCAGAGCCGGCCCAGGTACCAGCAG
ACCTGCGCGCAGTGCGCACCCCGGCTGACGTGCAAGGGAGCTCGCTGGCCTCTCT
GTGCCCTTGTTCTTCCGTGAAATTCTGGCTGAATGTCTCCCCCCACCTTCCGACGCT
GTCTAGGCAAACCTGGATTAGAGTTACATCTCCTGGATGATTAGTTCAGAGATATA
[0282] TTAAAATGCCCCCTCCCTGTGGATCCTATAG

[0283] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 예시적인 인간 DUX4 유전자 서열 (NM_001306068.3) (서열식별번호: 161)인 하기와 같이 제시된 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다:

ATGGCCCTCCCGACACCCTCGGACAGCACCCTCCCCGCGGAAGCCCGGGGACGAG
GACGGCGACGGAGACTCGTTTGGACCCCGAGCCAAAGCGAGGCCCTGCGAGCCTG
CTTTGAGCGGAACCCGTACCCGGGCATCGCCACCAGAGAACGGCTGGCCCAGGCC
ATCGGCATTCCGGAGCCCAGGGTCCAGATTTGGTTTCAGAATGAGAGGTCACGCC
AGCTGAGGCAGCACCGGCGGGAATCTCGGCCCTGGCCCGGGAGACGCGGCCCGCC
AGAAGGCCGGCGAAAGCGGACCGCCGTCACCGGATCCCAGACCGCCCTGCTCCTC
CGAGCCTTTGAGAAGGATCGCTTTCCAGGCATCGCCGCCCGGGAGGAGCTGGCCA
GAGAGACGGGCCTCCCGGAGTCCAGGATTCAGATCTGGTTTCAGAATCGAAGGGC
CAGGCACCCGGGACAGGGTGGCAGGGCGCCCGCGCAGGCAGGCGGCCTGTGCAG
CGCGGCCCCCGGCGGGGGTCACCCTGCTCCCTCGTGGGTCGCCTTCGCCCACACCG
GCGCGTGGGGAACGGGGCTTCCCGCACCCCACGTGCCCTGCGCGCCTGGGGCTCT
CCCACAGGGGGCTTTCGTGAGCCAGGCAGCGAGGGCCGCCCCCGCGCTGCAGCCC
AGCCAGGCCGCGCCGGCAGAGGGGATCTCCCAACCTGCCCCGGCGCGCGGGGATT
TCGCCTACGCCGCCCCGGCTCCTCCGGACGGGGCGCTCTCCCACCCTCAGGCTCCT
CGGTGGCCTCCGCACCCGGGCAAAAGCCGGGAGGACCGGGACCCGCAGCGCGAC
GGCCTGCCGGGCCCCTGCGCGGTGGCACAGCCTGGGCCCGCTCAAGCGGGGCCGC
AGGGCCAAGGGGTGCTTGCGCCACCCACGTCCCAGGGGAGTCCGTGGTGGGGCTG
GGGCCGGGGTCCCCAGGTCGCCGGGGCGGCGTGGGAACCCCAAGCCGGGGCAGC
TCCACCTCCCCAGCCCGCGCCCCCGGACGCCTCCGCCTCCGCGCGGCAGGGGCAG
ATGCAAGGCATCCCGGCGCCCTCCCAGGCGCTCCAGGAGCCGGCGCCCTGGTCTG
CACTCCCCTGCGGCCTGCTGCTGGATGAGCTCCTGGCGAGCCCGGAGTTTCTGCAG
CAGGCGCAACCTCTCCTAGAAACGGAGGCCCCGGGGGAGCTGGAGGCCTCGGAA
GAGGCCGCCTCGCTGGAAGCACCCCTCAGCGAGGAAGAATACCGGGCTCTGCTGG
AGGAGCTTTAGGACGCGGGGTTGGGACGGGGTCGGGTGGTTCGGGGCAGGGCGGT
GGCCTCTCTTTCGCGGGGAACACCTGGCTGGCTACGGAGGGGCGTGTCTCCGCCCC
GCCCCCTCCACCGGGCTGACCGGCCTGGGATTCCTGCCTTCTAGGTCTAGGCCCGG
TGAGAGACTCCACTCCGCGGAGAACTGCCTTTCTTTCCTGGGCATCCCGGGGATCC
CAGAGCCGGCCCAGGTACCAGCAGACCTGCGCGCAGTGCGCACCCCGGCTGACGT
GCAAGGGAGCTCGCTGGCCTCTCTGTGCCCTTGTTCTTCCGTGAAATTCTGGCTGA
ATGTCTCCCCCCACCTTCCGACGCTGTCTAGGCAAACCTGGATTAGAGTTACATCT
CCTGGATGATTAGTTCAGAGATATATTAAAATGCCCCCTCCCTGTGGATCCTATAG.

[0284]

[0285] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 예시적인 마우스 DUX4 유전자 서열 (서열식별번호: 162) (NM_001081954.1)인 하기와 같이 제시된 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다:

ATGGCAGAAGCTGGCAGCCCTGTTGGTGGCAGTGGTGTGGCACGGGAATCCCGGC
GGCGCAGGAAGACGGTTTGGCAGGCCTGGCAAGAGCAGGCCCTGCTATCAACTTT
CAAGAAGAAGAGATACCTGAGCTTCAAGGAGAGGAAGGAGCTGGCCAAGCGAAT
GGGGGTCTCAGATTGCCGCATCCGCGTGTGGTTTCAGAACCGCAGGAATCGCAGT
GGAGAGGAGGGGCATGCCTCAAAGAGGTCCATCAGAGGCTCCAGGCGGCTAGCCT
CGCCACAGCTCCAGGAAGAGCTTGGATCCAGGCCACAGGGTAGAGGCATGCGCTC
ATCTGGCAGAAGGCCTCGCACTCGACTCACCTCGCTACAGCTCAGGATCCTAGGG
CAAGCCTTTGAGAGGAACCCACGACCAGGCTTTGCTACCAGGGAGGAGCTGGCGC
GTGACACAGGGTTGCCCGAGGACACGATCCACATATGGTTTCAAAACCGAAGAGC
TCGGCGGCGCCACAGGAGGGGCAGGCCCACAGCTCAAGATCAAGACTTGCTGGCG
TCACAAGGGTCGGATGGGGCCCCTGCAGGTCCGGAAGGCAGAGAGCGTGAAGGT
GCCCAGGAGAACTTGTTGCCACAGGAAGAAGCAGGAAGTACGGGCATGGATACCT
CGAGCCCTAGCGACTTGCCCTCCTTCTGCGGAGAGTCCCAGCCTTTCCAAGTGGCA
CAGCCCCGTGGAGCAGGCCAACAAGAGGCCCCCACTCGAGCAGGCAACGCAGGC
TCTCTGGAACCCCTCCTTGATCAGCTGCTGGATGAAGTCCAAGTAGAAGAGCCTGC
TCCAGCCCCTCTGAATTTGGATGGAGACCCTGGTGGCAGGGTGCATGAAGGTTCCC
AGGAGAGCTTTTGGCCACAGGAAGAAGCAGGAAGTACAGGCATGGATACTTCTAG
CCCCAGCGACTCAAACTCCTTCTGCAGAGAGTCCCAGCCTTCCCAAGTGGCACAGC
CCTGTGGAGCGGGCCAAGAAGATGCCCGCACTCAAGCAGACAGCACAGGCCCTCT
GGAACTCCTCCTCCTTGATCAACTGCTGGACGAAGTCCAAAAGGAAGAGCATGTG
CCAGTCCCACTGGATTGGGGTAGAAATCCTGGCAGCAGGGAGCATGAAGGTTCCC
AGGACAGCTTACTGCCCCTGGAGGAAGCAGTAAATTCGGGCATGGATACCTCGAT
CCCTAGCATCTGGCCAACCTTCTGCAGAGAATCCCAGCCTCCCCAAGTGGCACAGC
CCTCTGGACCAGGCCAAGCACAGGCCCCCACTCAAGGTGGGAACACGGACCCCCT
GGAGCTCTTCCTCTATCAACTGTTGGATGAAGTCCAAGTAGAAGAGCATGCTCCAG

[0286]

CCCCTCTGAATTGGGATGTAGATCCTGGTGGCAGGGTGCATGAAGGTTCGTGGGA
GAGCTTTTGGCCACAGGAAGAAGCAGGAAGTACAGGCCTGGATACTTCAAGCCCC
AGCGACTCAAACTCCTTCTTCAGAGAGTCCAAGCCTTCCCAAGTGGCACAGCGCC
GTGGAGCGGGCCAAGAAGATGCCCGCACTCAAGCAGACAGCACAGGCCCTCTGG
AACTCCTCCTCTTTGATCAACTGCTGGACGAAGTCCAAAAGGAAGAGCATGTGCC
AGCCCCACTGGATTGGGGTAGAAATCCTGGCAGCATGGAGCATGAAGGTTCCCAG
GACAGCTTACTGCCCCTGGAGGAAGCAGCAAATTCGGGCAGGGATACCTCGATCC
CTAGCATCTGGCCAGCCTTCTGCAGAAAATCCCAGCCTCCCCAAGTGGCACAGCCC
TCTGGACCAGGCCAAGCACAGGCCCCCATTCAAGGTGGGAACACGGACCCCCTGG
AGCTCTTCCTTGATCAACTGCTGACCGAAGTCCAACTTGAGGAGCAGGGGCCTGCC
CCTGTGAATGTGGAGGAAACATGGGAGCAAATGGACACAACACCTATCTGCCTCT
CACTTCAGAAGAATATCAGACTCTTCTAGATATGCTCTGA.

[0287]

[0288] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 인간, 마우스 및 비-인간 종으로부터 선택된 다수의 종의 DUX4 유전자 서열에 대한 상보성 영역을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 비-인간 종은 시노몰구스 원숭이이다.

[0289] ii. 올리고뉴클레오티드 크기/서열

[0290] 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 포맷에 따라 다양한 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 75개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 8 내지 50개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지

23개의 뉴클레오티드 길이 등이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 8 내지 32개의 뉴클레오티드, 15 내지 29개의 뉴클레오티드, 15 내지 27개의 뉴클레오티드, 15 내지 20개의 뉴클레오티드, 20 내지 25개의 뉴클레오티드, 21 내지 27개의 뉴클레오티드, 23 내지 27개의 뉴클레오티드, 25 내지 30개의 뉴클레오티드 또는 25-32개의 뉴클레오티드 길이이다.

[0291] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 목적을 위한 올리고뉴클레오티드의 상보적 핵산 서열은 표적 분자 (예를 들어, mRNA)에 대한 서열의 결합이 표적 (예를 들어, mRNA)의 정상 기능을 방해하여 활성의 손실 (예를 들어, 번역을 억제함) 또는 발현의 손실 (예를 들어, 표적 mRNA를 분해함)을 유발하는 경우에 표적 핵산에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이고, 비-특이적 결합의 회피가 요망되는 조건 하에, 예를 들어 생체내 검정 또는 치유적 치료의 경우에는 생리학적 조건 하에, 및 시험관내 검정의 경우에는 검정이 적합한 엄격도 조건 하에 수행되는 조건 하에, 비-표적 서열에 대한 서열의 비-특이적 결합을 피하는 데 충분한 정도의 상보성이 존재한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 연속 뉴클레오티드에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상보적 뉴클레오티드 서열은 표적 핵산에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이 되기 위해 그의 표적의 서열에 대해 100% 상보적일 필요는 없다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 비해 1개 이상의 미스매치된 핵염기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적과 관련된 활성은 이러한 미스매치에 의해 감소되지만, 비-표적과 관련된 활성은 더 많은 양으로 감소된다 (즉, 표적 핵산에 대한 선택성은 증가되고, 오프-타겟 효과는 감소됨). 일부 실시양태에서, 표적 핵산은 프리-mRNA 분자 또는 mRNA 분자이다.

[0292] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 8 내지 15, 8 내지 30, 8 내지 40, 또는 10 내지 50, 또는 5 내지 50, 또는 5 내지 40개 범위의 뉴클레오티드 길이인 표적 핵산에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 8-32, 15-29, 15-27, 21-27, 23-27개 범위의 뉴클레오티드 길이인 표적 핵산에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 15-29, 15-27, 15 내지 20, 20 내지 25, 21-27, 23-27, 25-27 또는 25-32개 범위의 뉴클레오티드 길이인 표적 핵산에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 핵산에 대한 올리고뉴클레오티드의 상보성 영역은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 적어도 8개의 연속 뉴클레오티드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 적어도 12개의 연속 뉴클레오티드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 표적 핵산의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 연속 뉴클레오티드의 부분과 비교하여 1, 2 또는 3개의 염기 미스매치를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 15개 염기에 걸쳐 3개 이하의 미스매치 또는 10개 염기에 걸쳐 2개 이하의 미스매치를 가질 수 있다.

[0293] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나를 포함하는 서열의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 연속 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나를 포함하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 적어도 12 또는 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 97% 서열 동일성을 공유하는 서열을 포함한다.

[0294] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 174-235 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 174-235 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 서열의 적어도 12 또는 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 100% 상보적인 상보성 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 19 또는 적어도 20개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 8 내지 20, 10 내지 20 또는 15 내지 20개 범위의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 그의 표적 서열의 모두 또는 부분과 완전히 상보적이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 1, 2, 3개 또는 그 초과의 미스매치를 포함한다.

[0295] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는

100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드에 대해 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드에 대해 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나를 포함하는 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 서열식별번호: 248, 251-253 및 262 중 어느 하나를 포함하는 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 표적 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나를 포함하는 올리고뉴클레오티드)에 대해 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 이러한 표적 서열은 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 서열식별번호: 248, 251-253 및 262 중 어느 하나를 포함하는 올리고뉴클레오티드)에 대해 100% 상보적이다.

[0296] 일부 실시양태에서, C5 위치에서의 핵염기 우라실의 메틸화는 티민을 형성한다는 것이 인지될 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서, C5 메틸화 우라실 (또는 5-메틸-우라실)을 갖는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드는 동등하게 티민 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드로서 확인될 수 있다.

[0297] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나에서의 티민 염기 (T) 중 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)일 수 있고/거나, U 중 어느 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 T일 수 있다. 일부 실시양태에서, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나에서의 티민 염기 (T) 중 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)일 수 있고/거나, U 중 어느 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 T일 수 있다. 일부 실시양태에서, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드 중 어느 하나에서의 티민 염기 (T) 중 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 우라실 염기 (U)일 수 있고/거나, U 중 어느 1개 이상은 독립적으로 및 임의로 T일 수 있다.

[0298] b. 올리고뉴클레오티드 변형:

[0299] 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 변형될 수 있으며, 예를 들어 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오시드간 연결, 변형된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 그의 조합을 포함할 수 있다. 추가로, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하기 특성 중 1종 이상을 나타낼 수 있다: 대안적 스플라이싱을 매개하지 않음; 면역 자극성이 아님; 뉴클레아제 저항성임; 비변형된 올리고뉴클레오티드와 비교하여 개선된 세포 흡수를 가짐; 세포 또는 포유동물에 대해 독성이 아님; 세포 내부에 개선된 엔도솜 출구를 가짐; TLR 자극을 최소화함; 또는 패턴 인식 수용체를 피함. 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 올리고뉴클레오티드 내에 포함될 수 있다.

[0300] 일부 실시양태에서, 변형이 혼입되는 올리고뉴클레오티드를 천연 올리고데옥시뉴클레오티드 또는 올리고리보뉴클레오티드 분자보다 뉴클레아제 소화에 대해 더 저항성으로 만드는 이러한 특정 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 변형이 사용될 수 있고; 이들 변형된 올리고뉴클레오티드는 비변형된 올리고뉴클레오티드보다 더 긴 시간 동안 무손상으로 생존한다. 변형된 올리고뉴클레오티드의 구체적 예는 변형된 백본, 예를 들어 변형된 뉴클레오시드간 연결, 예컨대 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, 메틸 포스포네이트, 단쇄 알킬 또는 시클로알킬 당간 연결 또는 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로시클릭 당간 연결을 포함하는 것을 포함한다. 따라서, 본 개시내용의 올리고뉴클레오티드는, 예컨대 변형, 예를 들어 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 변형의 혼입에 의해 핵산 분해적 분해에 대해 안정화될 수 있다.

[0301] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드의 2 내지 10, 2 내지 15, 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 25, 2 내지 30, 2 내지 40, 2 내지 45개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오티드/뉴클레오시드인 50개 이하 또는 100개 이하의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드의 2 내지 10, 2 내지 15, 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 25, 2 내지 30개의 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오티드/뉴클레오시드인 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드의 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 2 내지 7, 2 내지 8, 2 내지 9, 2 내지 10, 2 내지 11, 2 내지 12, 2 내지 13, 2 내지 14개의 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드가 변형된 뉴클레오티드/뉴클레오시드인 8 내지 15개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 임의로, 올리고뉴클레오티드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오티드/뉴

클레오시드가 변형된 것을 제외하고는 모든 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드를 가질 수 있다. 올리고뉴클레오티드 변형은 본원에 추가로 기재된다.

[0302] c. 변형된 뉴클레오시드

[0303] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 당의 2' 위치에서 변형된 적어도 1개의 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 1개의 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 내의 모든 뉴클레오시드는 2'-변형된 뉴클레오시드이다.

[0304] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0305] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 적어도 4개의 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 적어도 6개의 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0306] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 리보스 고리가 고리 내의 2개의 원자를 연결하는, 예를 들어 메틸렌 (LNA) 가교, 에틸렌 (ENA) 가교 또는 (S)-구속성 에틸 (cEt) 가교를 통해 2'-O 원자를 4'-C 원자에 연결하는 가교 모이어티를 포함하는 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드를 포함한다. LNA의 예는 2008년 4월 17일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO/2008/043753 (발명의 명칭: "PCSK9의 조정을 위한 RNA 길항제 화합물")에 기재되어 있으며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. ENA의 예는 2005년 5월 12일에 공개된 국제 특허 공개 번호 WO 2005/042777 (발명의 명칭: "APP/ENA 안티센스"); 문헌 [Morita et al., Nucleic Acid Res., Suppl 1:241-242, 2001; Surono et al., Hum. Gene Ther., 15:749-757, 2004; Koizumi, Curr. Opin. Mol. Ther., 8:144-149, 2006 및 Horie et al., Nucleic Acids Symp. Ser (Oxf), 49:171-172, 2005]에 제공되어 있으며; 이들의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. cEt의 예는 미국 특허 7,101,993; 7,399,845 및 7,569,686에 제공되어 있으며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0307] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하기 미국 특허 또는 특허 출원 공개 중 하나에 개시된 변형된 뉴클레오시드를 포함한다: 2008년 7월 15일에 허여된 미국 특허 7,399,845 (발명의 명칭: "6-변형된 비시클릭 핵산 유사체"); 2010년 6월 22일에 허여된 미국 특허 7,741,457 (발명의 명칭: "6-변형된 비시클릭 핵산 유사체"); 2011년 9월 20일에 허여된 미국 특허 8,022,193 (발명의 명칭: "6-변형된 비시클릭 핵산 유사체"); 2009년 8월 4일에 허여된 미국 특허 7,569,686 (발명의 명칭: "비시클릭 핵산 유사체의 합성을 위한 화합물 및 방법"); 2008년 2월 26일에 허여된 미국 특허 7,335,765 (발명의 명칭: "신규 뉴클레오시드 및 올리고뉴클레오티드 유사체"); 2008년 1월 1일에 허여된 미국 특허 7,314,923 (발명의 명칭: "신규 뉴클레오시드 및 올리고뉴클레오티드 유사체"); 2010년 10월 19일에 허여된 미국 특허 7,816,333 (발명의 명칭: "올리고뉴클레오티드 유사체 및 그를 이용하는 방법") 및 2015년 2월 17일에 허여된 미국 공개 번호 2011/0009471, 현재 미국 특허 8,957,201 (발명의 명칭: "올리고뉴클레오티드 유사체 및 그를 이용하는 방법")에 제공되어 있으며; 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0308] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오시드를 갖지 않는 올리고뉴클레오티드와 비교하여 1℃, 2℃, 3℃, 4℃ 또는 5℃ 범위의 올리고뉴클레오티드 Tm의 증가를 유발하는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 올리고뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오시드를 갖지 않는 올리고뉴클레오티드와 비교하여 2℃, 3℃, 4℃, 5℃, 6℃, 7℃, 8℃, 9℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃, 35℃, 40℃, 45℃ 또는 그 초과의 범위의 올리고뉴클레오티드 Tm의 총 증가를 유발하는 복수의 변형된 뉴클레오시드를 가질 수 있다.

[0309] 올리고뉴클레오티드는 상이한 종류의 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드와 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드와 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드와 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 가교된 뉴클레오시드와 2'-플루오로 또는 2'-O-메틸 변

형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-O-MOE)와 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드와 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드와 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드의 혼합을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me)와 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)의 혼합을 포함할 수 있다.

[0310] 올리고뉴클레오티드는 상이한 종류의 교대되는 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 교대되는 2'-데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드 및 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대되는 데옥시리보뉴클레오시드 또는 리보뉴클레오시드 및 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대되는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드 및 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대되는 가교된 뉴클레오시드 및 2'-플루오로 또는 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대되는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-O-MOE) 및 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대되는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 및 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 교대되는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'-플루오로 또는 2'-O-Me) 및 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, ENA, cEt)를 포함할 수 있다.

[0311] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 5'-비닐포스포네이트 변형, 1개 이상의 무염기성 잔기 및/또는 1개 이상의 역전된 무염기성 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드이며, 여기서 안티센스 가닥 또는 센스 가닥은 5'-비닐포스포네이트 (예를 들어, 5'-(E)-비닐포스포네이트 변형)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드이며, 여기서 안티센스 가닥은 5'-비닐포스포네이트 (예를 들어, 5'-(E)-비닐포스포네이트) 변형을 포함한다.

[0312] d. 뉴클레오시드간 연결 / 백본

[0313] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오시드간 연결을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 모든 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다.

[0314] 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3' 알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455,233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563,253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050을 참조한다.

[0315] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 헤테로원자 백본, 예컨대 메틸렌(메틸이미노) 또는 MMI 백본; 아미드 백본 (문헌 [De Mesmaeker et al. Ace. Chem. Res. 1995, 28:366-374] 참조); 모르폴리노 백본 (미국 특허 번호 5,034,506 (Summerton and Weller) 참조); 또는 펩티드 핵산 (PNA) 백본 (여기서 올리고뉴클레오티드의 포스포디에스테르 백본은 폴리아미드 백본으로 대체되고, 뉴클레오티드는 폴리아미드 백본의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합됨, 문헌 [Nielsen et al., Science 1991, 254, 1497] 참조)을 가질 수 있다.

[0316] e. 입체특이적 올리고뉴클레오티드

[0317] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드간 인 원자는 키랄이고, 올리고뉴클레오티드의 특성은 키랄 인 원자의 배위에 기초하여 조정된다. 일부 실시양태에서, 적절한 방법을 사용하여 P-키랄 올리고뉴클레오티드 유사체를 입체제어된 방식으로 합성할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Oka N, Wada T, Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms. Chem Soc Rev. 2011 Dec;40(12):5829-43.]에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 실질적으로 모든 Sp 또는 실질적으로 모든 Rp 포스포로티오에이트 당간 연결에 의해 함께 연결된 뉴클레오시드 단위를 포함하는 포스포로티오에이트 함유 올리고뉴클레오티드가 제공된다. 일부 실시양태에서, 실질적으로 키랄 순수한 당간 연결을 갖는 이러한 포스포로티오에이트 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 1996년 12월 12일에 허여된 미국 특허 5,587,261 (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 효소적 또는 화학적 합성에 의해 제조된다. 일부 실시양태에서, 키랄 제어된 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 선택적 절단 패턴을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 키랄 제어된 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 2017년 2월 2일에 공개된 미국 특허 출원 공개 20170037399 A1 (발명의 명칭: "키랄 설계") (이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 핵산의 상보적 서열 내에 단일 부위 절단을 제공한다.

[0318] f. 모르폴리노

[0319] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 모르폴리노-기재 화합물일 수 있다. 모르폴리노-기재 올리고머 화합물은 문헌 [Dwaine A. Braasch and David R. Corey, Biochemistry, 2002, 41(14), 4503-4510); Genesis, volume 30, issue 3, 2001; Heasman, J., Dev. Biol., 2002, 243, 209-214; Nasevicius et al., Nat. Genet., 2000, 26, 216-220; Lacerra et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 97, 9591-9596]; 및 1991년 7월 23일에 허여된 미국 특허 번호 5,034,506에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 모르폴리노-기재 올리고머 화합물은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다 (예를 들어, 문헌 [Iverson, Curr. Opin. Mol. Ther., 3:235-238, 2001; 및 Wang et al., J. Gene Med., 12:354-364, 2010]에 기재된 바와 같고, 이의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0320] h. 갭머

[0321] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 갭머이다. 갭머 올리고뉴클레오티드는 일반적으로 식 5'-X-Y-Z-3'를 가지며, 여기서 X 및 Z는 갭 영역 Y 주위의 플랭킹 영역이다. 일부 실시양태에서, 식 5'-X-Y-Z-3'의 플랭킹 영역 X는 X 영역, 플랭킹 서열 X, 5' 윙 영역 X 또는 5' 윙 절편으로도 또한 지칭된다. 일부 실시양태에서, 식 5'-X-Y-Z-3'의 플랭킹 영역 Z는 Z 영역, 플랭킹 서열 Z, 3' 윙 영역 Z 또는 3' 윙 절편으로도 또한 지칭된다. 일부 실시양태에서, 식 5'-X-Y-Z-3'의 갭 영역 Y는 Y 영역, Y 절편 또는 갭-절편 Y로도 또한 지칭된다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이고, 5' 윙 영역 X도 3' 윙 영역 Z도 모두 임의의 2'-데옥시리보뉴클레오시드를 함유하지 않는다.

[0322] 일부 실시양태에서, Y 영역은 RNAse, 예컨대 RNAse H를 동원할 수 있는 뉴클레오티드의 인접 스트레치, 예를 들어 6개 이상의 DNA 뉴클레오티드의 영역이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 표적 핵산에 결합하고, 이 지점에 RNAse가 동원된 다음, 표적 핵산을 절단할 수 있다. 일부 실시양태에서, Y 영역은 고친화도 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 1 내지 6개의 고친화도의 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 영역 X 및 Z가 5' 및 3' 둘 다에 플랭킹된다. 고친화도 변형된 뉴클레오시드의 예는 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE, 2'O-Me, 2'-F) 또는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, cEt, ENA)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 플랭킹 서열 X 및 Z는 1-20개의 뉴클레오티드, 1-8개의 뉴클레오티드 또는 1-5개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 플랭킹 서열 X 및 Z는 유사한 길이 또는 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭-절편 Y는 5-20개의 뉴클레오티드, 5-15개의 뉴클레오티드 또는 6-10개의 뉴클레오티드 길이의 뉴클레오티드 서열일 수 있다.

[0323] 일부 실시양태에서, 갭머 올리고뉴클레오티드의 갭 영역은 DNA 뉴클레오티드에 추가로 효율적인 Rnase H 작용에 허용되는 것으로 공지된 변형된 뉴클레오티드, 예컨대 C4'-치환된 뉴클레오티드, 비-시클릭 뉴클레오티드 및 아라비노-구성된 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭 영역은 1개 이상의 비변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 또는 둘 다의 플랭킹 영역은 각각 독립적으로 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 사이에 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 또는 다른 연결)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 및 2개의 플랭킹 영역은 각각 독립적으로 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 사이에 변형된 뉴클레오시드간 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결

또는 다른 연결)을 포함한다.

[0324] 갭머는 적절한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 갭머의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허, 미국 특허 공개 및 PCT 공개는 미국 특허 번호 5,013,830; 5,149,797; 5,220,007; 5,256,775; 5,366,878; 5,403,711; 5,491,133; 5,565,350; 5,623,065; 5,652,355; 5,652,356; 5,700,922; 5,898,031; 7,015,315; 7,101,993; 7,399,845; 7,432,250; 7,569,686; 7,683,036; 7,750,131; 8,580,756; 9,045,754; 9,428,534; 9,695,418; 10,017,764; 10,260,069; 9,428,534; 8,580,756; 미국 특허 공개 번호 US20050074801, US20090221685; US20090286969, US20100197762 및 US20110112170; PCT 공개 번호 WO2004069991; WO2005023825; WO2008049085 및 WO2009090182; 및 EP 특허 번호 EP2,149,605를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 이들 각각은 그 전문이 본 원에 참조로 포함된다.

[0325] 일부 실시양태에서, 갭머는 10-40개의 뉴클레오시드 길이이다. 예를 들어, 갭머는 10-40, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-40, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-40, 20-35, 20-30, 20-25, 25-40, 25-35, 25-30, 30-40, 30-35 또는 35-40개의 뉴클레오시드 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭머는 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40개의 뉴클레오시드 길이이다.

[0326] 일부 실시양태에서, 갭머 내의 갭 영역 Y는 5-20개의 뉴클레오시드 길이이다. 예를 들어, 갭 영역 Y는 5-20, 5-15, 5-10, 10-20, 10-15 또는 15-20개의 뉴클레오시드 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오시드 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 모든 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 뉴클레오시드 중 1개 이상은 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 본원에 기재된 것)이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 1개 이상의 시토신은 임의로 5-메틸-시토신이다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 시토신은 5-메틸-시토신이다.

[0327] 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 독립적으로 1-20개의 뉴클레오시드 길이이다. 예를 들어, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 독립적으로 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 또는 15-20개의 뉴클레오시드 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오시드 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 동일한 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 상이한 길이이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)보다 더 길다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)보다 더 짧다.

[0328] 일부 실시양태에서, 갭머는 5-10-5, 4-12-4, 3-14-3, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 4-6-4, 3-6-3, 2-6-2, 4-7-4, 3-7-3, 2-7-2, 4-8-4, 3-8-3, 2-8-2, 1-8-1, 2-9-2, 1-9-1, 2-10-2, 1-10-1, 1-12-1, 1-16-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-14-3, 3-14-1, 2-14-2, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-3, 3-13-2, 1-12-5, 5-12-1, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 1-11-6, 6-11-1, 2-11-5, 5-11-2, 3-11-4, 4-11-3, 1-17-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-15-3, 3-15-1, 2-15-2, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-3, 3-14-2, 1-13-5, 5-13-1, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 1-12-6, 6-12-1, 2-12-5, 5-12-2, 3-12-4, 4-12-3, 1-11-7, 7-11-1, 2-11-6, 6-11-2, 3-11-5, 5-11-3, 4-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 1-16-3, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 5-14-1, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 3-16-1, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-19-1, 1-18-2, 2-18-1, 1-17-3, 3-17-1, 2-17-2, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-3, 3-16-2, 1-15-5, 2-15-4, 4-15-2, 3-15-3, 1-14-6, 6-14-1, 2-14-5, 5-14-2, 3-14-4, 4-14-3, 1-13-7, 7-13-1, 2-13-6, 6-13-2, 3-13-5, 5-13-3, 4-13-4, 1-12-8, 8-12-1, 2-12-7, 7-12-2, 3-12-6, 6-12-3, 4-12-5, 5-12-4, 2-11-8, 8-11-2, 3-11-7, 7-11-3, 4-11-6, 6-11-4, 5-11-5, 1-20-1, 1-19-2, 2-19-1, 1-18-3, 3-18-1, 2-18-2, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-3, 3-17-2, 1-16-5, 2-16-4, 4-16-2, 3-16-3, 1-15-6, 6-15-1, 2-15-5, 5-

15-2, 3-15-4, 4-15-3, 1-14-7, 7-14-1, 2-14-6, 6-14-2, 3-14-5, 5-14-3, 4-14-4, 1-13-8, 8-13-1, 2-13-7, 7-13-2, 3-13-6, 6-13-3, 4-13-5, 5-13-4, 2-12-8, 8-12-2, 3-12-7, 7-12-3, 4-12-6, 6-12-4, 5-12-5, 3-11-8, 8-11-3, 4-11-7, 7-11-4, 5-11-6, 6-11-5, 1-21-1, 1-20-2, 2-20-1, 1-20-3, 3-19-1, 2-19-2, 1-18-4, 4-18-1, 2-18-3, 3-18-2, 1-17-5, 2-17-4, 4-17-2, 3-17-3, 1-16-6, 6-16-1, 2-16-5, 5-16-2, 3-16-4, 4-16-3, 1-15-7, 7-15-1, 2-15-6, 6-15-2, 3-15-5, 5-15-3, 4-15-4, 1-14-8, 8-14-1, 2-14-7, 7-14-2, 3-14-6, 6-14-3, 4-14-5, 5-14-4, 2-13-8, 8-13-2, 3-13-7, 7-13-3, 4-13-6, 6-13-4, 5-13-5, 1-12-10, 10-12-1, 2-12-9, 9-12-2, 3-12-8, 8-12-3, 4-12-7, 7-12-4, 5-12-6, 6-12-5, 4-11-8, 8-11-4, 5-11-7, 7-11-5, 6-11-6, 1-22-1, 1-21-2, 2-21-1, 1-21-3, 3-20-1, 2-20-2, 1-19-4, 4-19-1, 2-19-3, 3-19-2, 1-18-5, 2-18-4, 4-18-2, 3-18-3, 1-17-6, 6-17-1, 2-17-5, 5-17-2, 3-17-4, 4-17-3, 1-16-7, 7-16-1, 2-16-6, 6-16-2, 3-16-5, 5-16-3, 4-16-4, 1-15-8, 8-15-1, 2-15-7, 7-15-2, 3-15-6, 6-15-3, 4-15-5, 5-15-4, 2-14-8, 8-14-2, 3-14-7, 7-14-3, 4-14-6, 6-14-4, 5-14-5, 3-13-8, 8-13-3, 4-13-7, 7-13-4, 5-13-6, 6-13-5, 4-12-8, 8-12-4, 5-12-7, 7-12-5, 6-12-6, 5-11-8, 8-11-5, 6-11-7 또는 7-11-6의 5'-X-Y-Z-3'를 포함한다. 숫자는 5'-X-Y-Z-3' 갭머 내의 X, Y 및 Z 영역 내의 뉴클레오시드의 개수를 나타낸다.

[0329] 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 또는 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 고친화도 변형된 뉴클레오시드)이다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 고친화도 변형된 뉴클레오시드)는 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 또는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 고친화도 변형된 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA, cEt 또는 ENA) 또는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA))이다.

[0330] 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이고, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 1개 이상의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이고, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 고친화도 변형된 뉴클레오시드이다.

[0331] 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)과 동일한 고친화도 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이다.

[0332] 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 및 Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)개의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10)개의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 및 Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-

Y-Z-3' 식에서 X)은 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)과 상이한 고친화도 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)를 포함할 수 있고, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)를 포함할 수 있고, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함할 수 있다.

[0333] 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)개의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10)개의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 1-7 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)개의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10)개의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, Z 내의 각각의 뉴클레오시드는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0334] 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me) 및 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z)은 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me) 및 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 둘 다는 1개 이상의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me) 및 1개 이상의 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)를 포함한다.

[0335] 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 2-7개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 (가장 5'의 위치는 위치 1임) 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개)는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, 여기서 X 및 Z 둘 다 내의 나머지 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, 여기서 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 2-7개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 Z 내의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 (가장 5'의 위치는 위치 1임) 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개)는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, 여기서 X 및 Z 둘 다 내의 나머지 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, 여기서 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'데옥시리보뉴클레오시드이다. 일부 실시양태에서, 갭머는 5'-X-Y-Z-3' 구성을 포함하며, 여기서 X 및 Z는 독립적으로 2-7개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개)의 뉴클레오시드 길이이고, Y는 6-10개 (예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 뉴클레오시드 길이이고, 여기서 X 내의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 중 모두는 아니지만 적어도 1개 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개) 및 Z 내의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 중 모두는 아니지만 적어도 1개의 위치 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개) (예를 들어, 가장 5'의 위치는 위치 1임)는 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)이고, 여기서 X 및 Z 둘 다 내의 나머지 뉴클레오시드는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)이고, 여기서 Y 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0336] 갭머의 5' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 X) 및/또는 갭머의 3' 윙 영역 (5'-X-Y-Z-3' 식에서 Z) 내의 비-비시클릭 2'-변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-MOE 또는 2'-O-Me)와 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드 (예를 들어, LNA 또는 cEt)의 혼합을 갖는 갭머 구성의 비제한적 예는 하기를 포함한다: BBB-(D)n-BBBAA; KKK-(D)n-KKKAA; LLL-(D)n-LLLAA; BBB-(D)n-BBBEE; KKK-(D)n-KKKEE; LLL-(D)n-LLLEE; BBB-(D)n-BBBAA; KKK-(D)n-KKKAA; LLL-(D)n-LLLAA; BBB-(D)n-BBBEE; KKK-(D)n-KKKEE; LLL-(D)n-LLLEE; BBB-(D)n-BBBAAA; KKK-(D)n-KKKAAA; LLL-(D)n-LLLAAA; BBB-(D)n-BBBEEE; KKK-(D)n-KKKEEE; LLL-(D)n-LLLEEE; BBB-(D)n-BBBAAA; KKK-(D)n-KKKAAA; LLL-

(D)n-LLLAAA; BBB-(D)n-BBBEEE; KKK-(D)n-KKKEEE; LLL-(D)n-LLLEEE; BABA-(D)n-ABAB; KAKA-(D)n-AKAK; LALA-(D)n-ALAL; BEBE-(D)n-EBEB; KEKE-(D)n-EKEK; LELE-(D)n-ELEL; BABA-(D)n-ABAB; KAKA-(D)n-AKAK; LALA-(D)n-ALAL; BEBE-(D)n-EBEB; KEKE-(D)n-EKEK; LELE-(D)n-ELEL; ABAB-(D)n-ABAB; AKAK-(D)n-AKAK; ALAL-(D)n-ALAL; EBEB-(D)n-EBEB; EKEK-(D)n-EKEK; ELEL-(D)n-ELEL; ABAB-(D)n-ABAB; AKAK-(D)n-AKAK; ALAL-(D)n-ALAL; EBEB-(D)n-EBEB; EKEK-(D)n-EKEK; ELEL-(D)n-ELEL; AABB-(D)n-BBAA; BBAA-(D)n-AABB; AAKK-(D)n-KKAA; AALL-(D)n-LLAA; EEBB-(D)n-BBEE; EEKK-(D)n-KKEE; EELL-(D)n-LLEE; AABB-(D)n-BBAA; AAKK-(D)n-KKAA; AALL-(D)n-LLAA; EEBB-(D)n-BBEE; EEKK-(D)n-KKEE; EELL-(D)n-LLEE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBAA; AKKK-(D)n-KKKAA; ALLL-(D)n-LLLAA; EBBB-(D)n-BBBEE; EKKK-(D)n-KKKEE; ELLL-(D)n-LLLEE; ABBB-(D)n-BBBAA; AKKK-(D)n-KKKAA; ALLL-(D)n-LLLAA; EBBB-(D)n-BBBEE; EKKK-(D)n-KKKEE; ELLL-(D)n-LLLEE; AABBB-(D)n-BBB; AAKKK-(D)n-KKK; AALLL-(D)n-LLL; EEBBB-(D)n-BBB; EEKKK-(D)n-KKK; EELLL-(D)n-LLL; AABBB-(D)n-BBB; AAKKK-(D)n-KKK; AALLL-(D)n-LLL; EEBBB-(D)n-BBB; EEKKK-(D)n-KKK; EELLL-(D)n-LLL; AABBB-(D)n-BBBA; AAKKK-(D)n-KKKA; AALLL-(D)n-LLLA; EEBBB-(D)n-BBBE; EEKKK-(D)n-KKKE; EELLL-(D)n-LLLE; AABBB-(D)n-BBBA; AAKKK-(D)n-KKKA; AALLL-(D)n-LLLA; EEBBB-(D)n-BBBE; EEKKK-(D)n-KKKE; EELLL-(D)n-LLLE; ABBAABB-(D)n-BB; AKKAAKK-(D)n-KK; ALLAALLL-(D)n-LL; EBBEEBB-(D)n-BB; EKKEEKK-(D)n-KK; ELLEELL-(D)n-LL; ABBAABB-(D)n-BB; AKKAAKK-(D)n-KK; ALLAALL-(D)n-LL; EBBEEBB-(D)n-BB; EKKEEKK-(D)n-KK; ELLEELL-(D)n-LL; ABBABB-(D)n-BBB; AKKAKK-(D)n-KKK; ALLALLL-(D)n-LLL; EBBEBB-(D)n-BBB; EKKEKK-(D)n-KKK; ELLELL-(D)n-LLL; ABBABB-(D)n-BBB; AKKAKK-(D)n-KKK; ALLALL-(D)n-LLL; EBBEBB-(D)n-BBB; EKKEKK-(D)n-KKK; ELLELL-(D)n-LLL; EEEK-(D)n-EEEEEEEE; EEK-(D)n-EEEEEEEEE; EK-(D)n-EEEEEEEEEE; EK-(D)n-EEEKK; K-(D)n-EEEKEKE; K-(D)n-EEEKEKEE; K-(D)n-EEKEK; EK-(D)n-EEEEKEKE; EK-(D)n-EEEKEK; EEK-(D)n-KEEKE; EK-(D)n-EEKEK; EK-(D)n-KEEK; EEK-(D)n-EEEKEK; EK-(D)n-KEEEKEE; EK-(D)n-EEKEKE; EK-(D)n-EEEKEKE; 및 EK-(D)n-EEEEKEK. "A" 뉴클레오시드는 2'-변형된 뉴클레오시드를 포함하고; "B"는 2'-4' 비시클릭 뉴클레오시드를 나타내고; "K"는 구속성 에틸 뉴클레오시드 (cEt)를 나타내고; "L"은 LNA 뉴클레오시드를 나타내고; "E"는 2'-MOE 변형된 리보뉴클레오시드를 나타내고; "D"는 2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "n"은 갭 절편 (5'-X-Y-Z-3' 구성에서 Y)의 길이를 나타내고, 1-20의 정수이다.

[0337] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 갭머 중 어느 하나는 각각의 X, Y 및 Z 영역에 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트 연결)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 갭머 중 어느 하나 내의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 실시양태에서, 각각의 X, Y 및 Z 영역은 독립적으로 포스포로티오에이트 연결과 포스포디에스테르 연결의 혼합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 갭 영역 Y 내의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이고, 5' 윙 영역 X는 포스포로티오에이트 연결과 포스포디에스테르 연결의 혼합을 포함하고, 3' 윙 영역 Z는 포스포로티오에이트 연결과 포스포디에스테르 연결의 혼합을 포함한다.

[0338] i. RNA 간섭 (RNAi)

[0339] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드는 짧은 간섭 RNA 또는 침묵 RNA로도 또한 공지된 소형 간섭 RNA (siRNA)이다. SiRNA는 세포 내의 RNA 간섭 (RNAi) 경로를 통한 분해를 위해 핵산 (예를 들어, mRNA)을 표적화하는, 전형적으로 약 20-25개의 염기 쌍 길이의 이중 가닥 RNA 분자의 부류이다. siRNA 분자의 특이성은 분자의 안티센스 가닥이 그의 표적 RNA에 결합하는 것에 의해 결정될 수 있다. 효과적인 siRNA 분자는 인터페론 반응을 통한 세포 내의 비-특이적 RNA 간섭 경로의 촉발을 방지하기 위해 일반적으로 30 내지 35개 미만의 염기 쌍 길이이며, 더 긴 siRNA도 또한 효과적일 수 있다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개 또는 그 초과의 염기 쌍 길이이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 8 내지 30개의 염기 쌍 길이, 10 내지 15개의 염기 쌍 길이, 10 내지 20개의 염기 쌍 길이, 15 내지 25개의 염기 쌍 길이, 19 내지 21개의 염기 쌍 길이, 21 내지 23개의 염기 쌍 길이이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 8 내지 32개의 염기 쌍 길이, 8 내지 29개의 염기 쌍 길이, 8 내지 27개의 염기 쌍 길이, 15 내지 32개의 염기 쌍 길이, 15 내지 29개의 염기 쌍 길이, 15 내지 27개의 염기 쌍 길이, 21 내지 31개의 염기 쌍 길이, 21 내지 29개의 염기 쌍 길이, 21 내지 27개의 염기 쌍 길이, 21 내지 23개의 염기 쌍 길이, 23 내지 32개의 염기 쌍 길이, 23 내지 29개의 염기 쌍 길이

또는 23 내지 27개의 염기 쌍 길이이다.

[0340] 적절한 표적 RNA 서열의 선택 후에, 표적 서열의 모두 또는 부분에 대해 상보적인 뉴클레오티드 서열, 즉 안티센스 서열을 포함하는 siRNA 분자가 적절한 방법을 사용하여 설계되고 제조될 수 있다 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2004/016735; 및 미국 특허 공개 번호 2004/0077574 및 2008/0081791 참조).

[0341] siRNA 분자는 이중 가닥 (즉, 안티센스 가닥 및 상보적 센스 가닥을 포함하는 dsRNA 분자) 또는 단일 가닥 (즉, 안티센스 가닥만을 포함하는 ssRNA 분자)일 수 있다. siRNA 분자는 자기-상보적 센스 및 안티센스 가닥을 갖는 듀플렉스, 비대칭 듀플렉스, 헤어핀 또는 비대칭 헤어핀 2차 구조를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA이다.

[0342] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 8 내지 50개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오티드 길이, 19 내지 21개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 8 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 29개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 27개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 29개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 27개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 31개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 29개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 27개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이, 23 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 23 내지 29개의 뉴클레오티드 길이 또는 23 내지 27개의 뉴클레오티드 길이이다.

[0343] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 8 내지 50개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 40개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 15개의 뉴클레오티드 길이, 10 내지 20개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 25개의 뉴클레오티드 길이, 19 내지 21개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 8 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 29개의 뉴클레오티드 길이, 8 내지 27개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 29개의 뉴클레오티드 길이, 15 내지 27개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 31개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 29개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 27개의 뉴클레오티드 길이, 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이, 23 내지 32개의 뉴클레오티드 길이, 23 내지 29개의 뉴클레오티드 길이 또는 23 내지 27개의 뉴클레오티드 길이이다.

[0344] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 DUX4 mRNA 내의 표적 영역에 대한 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 DUX4 mRNA 내의 표적 영역에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 표적 영역은 DUX4 mRNA 내의 연속 뉴클레오티드의 영역이다. 일부 실시양태에서, 상보적 뉴클레오티드 서열은 표적 RNA 서열에 특이적으로 혼성화가능하거나 특이적이기 위해 그의 표적의 서열에 대해 100% 상보적일 필요는 없다.

[0345] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 DUX4 mRNA 서열에 대한 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하고, 상보성 영역은 8 내지 15, 8 내지 30, 8 내지 40 또는 10 내지 50 또는 5 내지 50 또는 5 내지 40개 범위의 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 DUX4 mRNA 서열의 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25개 또는 그 초과의 연속 뉴클레오티드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 DUX4 mRNA 서열의 상보적 부분과 비교하여 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 염기 미스매치를 함유하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 15개의 염기에 걸쳐 3개 이하의 미스매치 또는 10개의 염기에 걸쳐 2개 이하의 미스매치를 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0346] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 서열식별번호: 174-235 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 RNA 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 서열식별번호: 186, 189-191 및 200 중 어느 하나에

제시된 바와 같은 표적 RNA 서열에 대해 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%) 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 18-25개의 뉴클레오티드 길이이고, 서열식별번호: 174-235 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 RNA 서열에 대한 적어도 15개의 뉴클레오티드 (예를 들어, 적어도 15개의 뉴클레오티드, 적어도 16개의 뉴클레오티드, 적어도 17개의 뉴클레오티드, 적어도 18개의 뉴클레오티드 또는 적어도 19개의 뉴클레오티드)의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 18-25개의 뉴클레오티드 길이이고, 서열식별번호: 186, 189-191 및 200 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 RNA 서열에 대한 적어도 15개의 뉴클레오티드 (예를 들어, 적어도 15개의 뉴클레오티드, 적어도 16개의 뉴클레오티드, 적어도 17개의 뉴클레오티드, 적어도 18개의 뉴클레오티드 또는 적어도 19개의 뉴클레오티드)의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0347] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 올리고뉴클레오티드에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 서열식별번호: 248, 251-253 및 262 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 올리고뉴클레오티드에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 18-25개의 뉴클레오티드 길이이고, 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 올리고뉴클레오티드의 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 18-25개의 뉴클레오티드 길이이고, 서열식별번호: 248, 251-253 및 262 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 올리고뉴클레오티드의 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0348] 이중 가닥 siRNA는 동일한 길이 또는 상이한 길이인 센스 및 안티센스 RNA 가닥을 포함할 수 있다. 이중 가닥 siRNA 분자는 또한 스템-루프 구조의 단일 올리고뉴클레오티드로부터 조립될 수 있으며, 여기서 siRNA 분자의 자기-상보적 센스 및 안티센스 영역은 핵산 기반 또는 비-핵산-기반 링커(들)에 의해 연결될 뿐만 아니라 2개 이상의 루프 구조 및 자기-상보적 센스 및 안티센스 가닥을 포함하는 스템을 갖는 원형 단일 가닥 RNA로부터 조립될 수 있으며, 여기서 원형 RNA는 생체내 또는 시험관내에서 프로세싱되어 RNAi를 매개할 수 있는 활성 siRNA 분자를 생성할 수 있다. 따라서, 소형 헤어핀 RNA (shRNA) 분자가 또한 본원에서 고려된다. 이들 분자는 전형적으로 스페이서 또는 루프 서열에 의해 분리되어 있는, 역 상보체 (센스) 서열에 추가로 특이적 안티센스 서열을 포함한다. 스페이서 또는 루프의 절단은 단일 가닥 RNA 분자 및 그의 역 상보체를 제공하여, 이들이 어닐링되어 dsRNA 분자를 형성할 수 있다 (임의로 어느 한쪽 또는 양쪽 가닥의 3' 단부 및/또는 (예를 들어, 및) 5' 단부로부터 1, 2, 3개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 부가 또는 제거를 유발할 수 있는 추가의 프로세싱 단계가 존재함). 스페이서는 안티센스 및 센스 서열이 스페이서의 절단 (및 임의로, 어느 한쪽 또는 양쪽 가닥의 3' 단부 및/또는 (예를 들어, 및) 5' 단부로부터 1, 2, 3, 4개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 부가 또는 제거를 유발할 수 있는 후속 프로세싱 단계) 전에 어닐링되어 이중 가닥 구조 (또는 스템)를 형성하도록 허용하는 데 충분한 길이일 수 있다. 스페이서 서열은 이중 가닥 핵산으로 어닐링되는 경우 shRNA에 포함되는 2개의 상보적 뉴클레오티드 서열 영역 사이에 위치하는 비관련 뉴클레오티드 서열일 수 있다.

[0349] siRNA 분자의 전체 길이는 설계되는 siRNA 분자의 유형에 따라 약 14 내지 약 100개의 뉴클레오티드로 달라질 수 있다. 일반적으로, 이들 뉴클레오티드 중 약 14 내지 약 50개는 RNA 표적 서열에 대해 상보적이며, 즉 siRNA 분자의 특이적 안티센스 서열을 구성한다. 예를 들어, siRNA가 이중- 또는 단일 가닥 siRNA인 경우에, 길이는 약 14 내지 약 50개의 뉴클레오티드로 달라질 수 있는 반면, siRNA가 shRNA 또는 원형 분자인 경우에, 길이는 약 40개의 뉴클레오티드 내지 약 100개의 뉴클레오티드로 달라질 수 있다.

[0350] siRNA 분자는 분자의 한쪽 단부에 3' 오버행을 포함할 수 있다. 다른 단부는 평활-단부일 수 있거나 또는 오버행 (5' 또는 3')을 또한 가질 수 있다. siRNA 분자가 분자의 양쪽 단부에 오버행을 포함하는 경우에, 오버행의 길이는 동일하거나 상이할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 siRNA 분자는 분자의 양쪽 단부 상에 약 1 내지 약 3개 (예를 들어, 1, 2, 3개)의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 센스 가닥 상에 약 1 내지 약 3개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 안티센스 가닥 상에 약 1 내지 약 3개 (예를 들어, 1, 2, 3개)의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 센스 가닥 및 안티센스 가닥 둘 다 상에 약 1 내지 약 3개 (예를 들어, 1, 2, 3개)의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다.

[0351] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2'-O-메틸 및 2'-F 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오시드)이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 각각의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오시드)이다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 1개 이상의 2'-O-메틸 및 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0352] 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오티드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오시드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 적어도 2개의 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 모든 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 siRNA 분자의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 siRNA 분자의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오티드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, siRNA 분자는 siRNA 분자의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다.

[0353] 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3' 알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455,233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563,253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050을 참조한다.

[0354] 본원에 기재된 siRNA 분자의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 siRNA 분자 내에 포함될 수 있다.

[0355] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오티드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 및 2'-F 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오시드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오시드)이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 안티센스 가닥은 1개 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 안티센스 가닥은 적어도 2개의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 안티센스 가닥은 적어도 4개의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 안티센스 가닥은 적어도 6개의 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 안티센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 및 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0356] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오티드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오시드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 모든 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 siRNA 분자의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 siRNA 분자의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오티드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오티드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 siRNA 분자의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다.

[0357] 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시

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

[0358] 본원에 기재된 안티센스 가닥의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 안티센스 가닥 내에 포함될 수 있다.

[0359] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오티드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티 (예를 들어, 2' 변형된 뉴클레오시드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어 2'-데옥시, 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 각각의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오시드)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 포스포로디아미데이트 모르폴리노를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 및 2'-F 변형된 뉴클레오티드를 포함한다.

[0360] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 센스 가닥은 1개 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 센스 가닥은 적어도 2개의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 센스 가닥은 적어도 4개의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 센스 가닥은 적어도 6개의 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1개 이상의 2'-O-메틸 및 2'-F 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0361] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오티드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로티오에이트 또는 다른 변형된 뉴클레오시드간 연결을 함유한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 모든 뉴클레오시드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 센스 가닥의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및)

제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 모든 뉴클레오티드 사이에 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 센스 가닥의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오티드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 센스 가닥의 5' 또는 3' 단부에서의 제1, 제2 및/또는 (예를 들어, 및) 제3 뉴클레오시드간 연결에 변형된 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결은 인-함유 연결이다. 일부 실시양태에서, 사용될 수 있는 인-함유 연결은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3' 알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결 유사체, 및 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결된 역극성을 갖는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 미국 특허 번호 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455,233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563,253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050을 참조한다.

[0362] 본원에 기재된 센스 가닥의 임의의 변형된 화학 또는 포맷은 서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5종 또는 그 초과의 상이한 유형의 변형이 동일한 센스 가닥 내에 포함될 수 있다.

[0363] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 또는 센스 가닥은 RNA-유도 침묵 복합체 (RISC) 로딩을 증진 또는 감소시키는 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 RISC 로딩을 증진시키는 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 RISC 로딩을 감소시키고 오프-타겟 효과를 감소시키는 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE) 변형을 포함한다. 절단 부위에서의 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE) 기의 부가는 문헌 [Song et al., (2017) Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 변형된 가닥의 배향된 RNA-유도 침묵 복합체 (RISC) 로딩을 용이하게 함으로써 siRNA의 특이성 및 침묵 활성 둘 다를 개선시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 문헌 [Wu et al., (2014) Nat Commun 5:3459] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 2'-OMe-포스포로디티오에이트 변형을 포함하며, 이는 RISC 로딩을 증가시킨다.

[0364] 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Kumar et al., (2019) Chem Commun (Camb) 55(35):5139-5142] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 5'-모르폴리노를 포함하며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩을 감소시키고, 안티센스 가닥 선택 및 RNAi 활성을 개선시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Elman et al., (2005) Nucleic Acids Res. 33(1): 439-447] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 합성 RNA-유사 고친화도 뉴클레오티드 유사체인 잠금 핵산 (LNA)으로 변형되며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩을 감소시키고, RISC 내로의 안티센스 가닥 혼입을 추가로 증진시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Snead et al., (2013) Mol Ther Nucleic Acids 2(7):e103] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 5' 비잠금 핵산 (UNA) 변형을 포함하며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩을 감소시키고, 안티센스 가닥의 침묵 효력을 개선시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Zhang et al., (2012) Chembiochem 13(13):1940-1945] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 5-니트로인돌 변형을 포함하며, 이는 센스 가닥의 RNAi 효력을 감소시키고, 오프-타겟 효과를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 문헌 [Zheng et al., FASEB (2013) 27(10): 4017-4026] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형을 포함하며, 이는 센스 가닥의 RISC 로딩 및 오프-타겟 효과를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 센스 가닥은 문헌 [Kole et al., (2012) Nature reviews. Drug Discovery 11(2):125-140] (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 모르폴리노, 2'-MOE 또는 2'-O-Me 잔기로 완전히 치환되고, RISC에 의해 인식되지 않는다. 일부 실시양태에서, siRNA 분자의 안티센스 가닥은 2'-MOE 변형을 포함하고, 센스 가닥은 2'-O-Me 변형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Song et al., (2017) Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250] 참조). 일부 실시양태에서, 적어도 1개 (예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 10개)의 siRNA 분자가 근육-표적화제에 (예를 들어, 공유) 연결된다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 펩티드 (예를 들

어, 항체), 지질 (예를 들어, 미세소포) 또는 당 모이어티 (예를 들어, 폴리사카라이드)를 포함하거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항체이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 항-트랜스페린 수용체 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나)이다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥의 5' 단부에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥의 3' 단부에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥에 내부적으로 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 센스 가닥에 내부적으로 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥의 5' 단부에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥의 3' 단부에 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥에 내부적으로 연결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육-표적화제는 siRNA 분자의 안티센스 가닥에 내부적으로 공유 연결될 수 있다.

[0365] 본원에 기재된 siRNA의 비제한적 예가 표 8에 제공된다.

[0366] 표 8. siRNA의 비제한적 예[†‡]

siRNA 번호	표적 출발 위치 ^	표적 서열	센스 가닥 (5'-3')	SEQ ID NO	안티센스 가닥 (5'-3')	SEQ ID NO
1	192	GATTTGGTTTCAGAATGAGA (SEQ ID NO: 174)	비변형됨: GAUUUGGUUUCAGAAUGAGAA 변형됨 (MS3-205): mG*mA*mUmUfUmGmGmUfUfUfCmAmGfAmAmUmGmAfGmAmA	205	비변형됨: UUCUCAUUCUGAAACCAAAUCUG 변형됨 (MAS3-236): fU*fU*mCmUmCmAmUmUmCmUmGmAmAfAmCmCmAmAmAmUmC*mU*mG	236
2	192	GATTTGGTTTCAGAATGAGA (SEQ ID NO: 174)	비변형됨: GAUUUGGUUUCAGAAUGAGAA 변형됨 (MS4-205): mG*mA*mUmUmUmGfGmUfUfUfCmAmGmAmAmUmGmAmGmAmA	205	비변형됨: UUCUCAUUCUGAAACCAAAUCUG 변형됨 (MAS4-236): fU*fU*mCmUmCfAmUfUfCmUmGmAmAfAmCfCmAmAmAmUmC*mU*mG	236
3	192	GATTTGGTTTCAGAATGAGA (SEQ ID NO: 174)	비변형됨: GAUUUGGUUUCAGAAUGAGAA 변형됨 (MS6-205): mG*mA*mUmUmUmGfGmUfUfUfCmAmGmAmAfUmGmAfGmAmA	205	비변형됨: UUCUCAUUCUGAAACCAAAUCUG 변형됨 (MAS4-236): fU*fU*mCmUmCfAmUfUfCmUmGmAmAfAmCfCmAmAmAmUmC*mU*mG	236
4	192	GATTTGGTTTCAGAATGAGA (SEQ ID NO: 174)	비변형됨: GAUUUGGUUUCAGAAUGAGAA 변형됨 (MS5-205): mG*mA*mUmUmUmGfGmUfUfUfCmAmGmAmAfUfGmAmGmAmA	205	비변형됨: UUCUCAUUCUGAAACCAAAUCUG 변형됨 (MAS2-236): fU*fU*mCmUmCfAmUmUmCmUmGmAmAfAmCfCmAmAmAmUmC*mU*mG	236
5	192	GATTTGGTTTCAGAATGAGA (SEQ ID NO: 174)	비변형됨: GAUUUGGUUUCAGAAUGAGAA 변형됨 (MS4-205): mG*mA*mUmUmUmGfGmUfUfUfCmAmGmAmAmUmGmAmGmAmA	205	비변형됨: UUCUCAUUCUGAAACCAAAUCUG 변형됨 (MAS2-236): fU*fU*mCmUmCfAmUmUmCmUmGmAmAfAmCfCmAmAmAmUmC*mU*mG	236
6	192	GATTTGGTTTCAGAATGAGA (SEQ ID NO: 174)	비변형됨: GAUUUGGUUUCAGAAUGAGAA 변형됨 (MS1-205): mG*mA*fUmUfUmGfGmUfUmUfUfCmAfGmAfAmUfGmAfGmAfA	205	비변형됨: UUCUCAUUCUGAAACCAAAUCUG 변형됨 (MAS1-236): fU*fU*mCfUmCfAmUfUmCfUmGfAmAfAmCfCmAfAmAfUmC*fU*mG	236
7	337	TTTGAGAAGGATCGCTTTCC (SEQ ID NO: 175)	비변형됨: UUUGAGAAGGAUCGCUUUCCA 변형됨 (MS3-206): mU*mU*mUmGfAmGmAmAfGfGfAmUmCfGmCmUmUmUfCmCmA	206	비변형됨: UGGAAAGCGAUCCUUCUCAAAGG 변형됨 (MAS3-237): fU*fG*mGmAmAmAmGmCmGmAmUmCmCfUmUmCmUmCmAmAmA*mG*mG	237

[0367]

8	337	TTTGAGAAGGATCGCTTTCC (SEQ ID NO: 175)	비변형됨: UUUGAGAAGGAUCGCUUUCCA 변형됨 (MS4-206): mU*mU*mUmGmAmGfAmAfGfGfAmUmCmGmCmUmUmUmCmCmA	206	비변형됨: UGGAAAGCGAUCCUUCUCAAAGG 변형됨 (MAS4-237): fU*fG*mGmAmAfAmGfCfGmAmUmCmCfUmUfCmUmCmAmAmA*mG*mG	237
9	337	TTTGAGAAGGATCGCTTTCC (SEQ ID NO: 175)	비변형됨: UUUGAGAAGGAUCGCUUUCCA 변형됨 (MS6-206): mU*mU*mUmGmAmGfAmAfGfGfAmUmCmGmCfUmUmUfCmCmA	206	비변형됨: UGGAAAGCGAUCCUUCUCAAAGG 변형됨 (MAS4-237): fU*fG*mGmAmAfAmGfCfGmAmUmCmCfUmUfCmUmCmAmAmA*mG*mG	237
10	337	TTTGAGAAGGATCGCTTTCC (SEQ ID NO: 175)	비변형됨: UUUGAGAAGGAUCGCUUUCCA 변형됨 (MS5-206): mU*mU*mUmGmAmGfAmAfGfGfAmUmCmGmCfUfUmUmCmCmA	206	비변형됨: UGGAAAGCGAUCCUUCUCAAAGG 변형됨 (MAS2-237): fU*fG*mGmAmAfAmGmCmGmAmUmCmCfUmUfCmUmCmAmAmA*mG*mG	237
11	337	TTTGAGAAGGATCGCTTTCC (SEQ ID NO: 175)	비변형됨: UUUGAGAAGGAUCGCUUUCCA 변형됨 (MS4-206): mU*mU*mUmGmAmGfAmAfGfGfAmUmCmGmCmUmUmUmCmCmA	206	비변형됨: UGGAAAGCGAUCCUUCUCAAAGG 변형됨 (MAS2-237): fU*fG*mGmAmAfAmGmCmGmAmUmCmCfUmUfCmUmCmAmAmA*mG*mG	237
12	337	TTTGAGAAGGATCGCTTTCC (SEQ ID NO: 175)	비변형됨: UUUGAGAAGGAUCGCUUUCCA 변형됨 (MS1-206): mU*mU*fUmGfAmGfAmAfGmGfAmUfCmGfCmUfUmUfCmCfA	206	비변형됨: UGGAAAGCGAUCCUUCUCAAAGG 변형됨 (MAS1-237): fU*fG*mGfAmAfAmGfCmGfAmUfCmCfUmUfCmUfCmAfAmA*fG*mG	237
13	1234	CTCAGCGAGGAAGAATACCG (SEQ ID NO: 176)	비변형됨: CUCAGCGAGGAAGAAUACCGA 변형됨 (MS3-207): mC*mU*mCmAfGmCmGmAfGfGfAmAmGfAmAmUmAmCfCmGmA	207	비변형됨: UCGGUAUUCUUCCUCGCUGAGGG 변형됨 (MAS3-238): fU*fC*mGmGmUmAmUmUmCmUmUmCmCfUmCmGmCmUmGmAmG*mG*mG	238
14	1234	CTCAGCGAGGAAGAATACCG (SEQ ID NO: 176)	비변형됨: CUCAGCGAGGAAGAAUACCGA 변형됨 (MS4-207): mC*mU*mCmAmGmCfGmAfGfGfAmAmGmAmAmUmAmCmCmGmA	207	비변형됨: UCGGUAUUCUUCCUCGCUGAGGG 변형됨 (MAS4-238): fU*fC*mGmGmUfAmUfUfCmUmUmCmCfUmCfGmCmUmGmAmG*mG*mG	238
15	1234	CTCAGCGAGGAAGAATACCG (SEQ ID NO: 176)	비변형됨: CUCAGCGAGGAAGAAUACCGA 변형됨 (MS6-207): mC*mU*mCmAmGmCfGmAfGfGfAmAmGmAmAfUmAmCfCmGmA	207	비변형됨: UCGGUAUUCUUCCUCGCUGAGGG 변형됨 (MAS 4-238): fU*fC*mGmGmUfAmUfUfCmUmUmCmCfUmCfGmCmUmGmAmG*mG*mG	238

[0368]

16	1234	CTCAGCGAGGAAGAATACCG (SEQ ID NO: 176)	비변형됨: CUCAGCGAGGAAGAAUACCGA 변형됨 (MS5-207): mC*mU*mCmAmGmCfGmAfGfGfAmAmGmAmAfUfAmCmCmGmA	207	비변형됨: UCGGUAUUCUUCCUCGCUGAGGG 변형됨 (MAS2-238): fU*fC*mGmGmUfAmUmUmCmUmUmCmCfUmCfGmCmUmGmAmG*mG*mG	238
17	1234	CTCAGCGAGGAAGAATACCG (SEQ ID NO: 176)	비변형됨: CUCAGCGAGGAAGAAUACCGA 변형됨 (MS4-207): mC*mU*mCmAmGmCfGmAfGfGfAmAmGmAmAmUmAmCmCmGmA	207	비변형됨: UCGGUAUUCUUCCUCGCUGAGGG 변형됨 (MAS2-238): fU*fC*mGmGmUfAmUmUmCmUmUmCmCfUmCfGmCmUmGmAmG*mG*mG	238
18	1234	CTCAGCGAGGAAGAATACCG (SEQ ID NO: 176)	비변형됨: CUCAGCGAGGAAGAUACCGA 변형됨 (MS1-207): mC*mU*fCmAfGmCfGmAfGmGfAmAfGmAfAmUfAmCfCmGfA	207	비변형됨: UCGGUAUUCUUCCUCGCUGAGGG 변형됨 (MAS1-238): fU*fC*mGfGmUfAmUfUmCfUmUfCmCfUmCfGmCfUmGfAmG*fG*mG	238
19	1568	TGCCCTTGTTCTTCCGTGAA (SEQ ID NO: 177)	비변형됨: UGCCCUUGUUCUUCCGUGAAA 변형됨 (MS3-208): mU*mG*mCmCfCmUmUmGfUfUfCmUmUfCmCmGmUmGfAmAmA	208	비변형됨: UUUCACGGAAGAACAAGGGCACA 변형됨 (MAS3-239): fU*fU*mUmCmAmCmGmGmAmAmGmAmAfCmAmAmGmGmGmCmA*mC*mA	239
20	1568	TGCCCTTGTTCTTCCGTGAA (SEQ ID NO: 177)	비변형됨: UGCCCUUGUUCUUCCGUGAAA 변형됨 (MS4-208): mU*mG*mCmCmCmUfUmGfUfUfCmUmUmCmCmGmUmGmAmAmA	208	비변형됨: UUUCACGGAAGAACAAGGGCACA 변형됨 (MAS4-239): fU*fU*mUmCmAfCmGfGfAmAmGmAmAfCmAfAmGmGmGmCmA*mC*mA	239
21	1568	TGCCCTTGTTCTTCCGTGAA (SEQ ID NO: 177)	비변형됨: UGCCCUUGUUCUUCCGUGAAA 변형됨 (MS6-208): mU*mG*mCmCmCmUfUmGfUfUfCmUmUmCmCfGmUmGfAmAmA	208	비변형됨: UUUCACGGAAGAACAAGGGCACA 변형됨 (MAS4-239): fU*fU*mUmCmAfCmGfGfAmAmGmAmAfCmAfAmGmGmGmCmA*mC*mA	239
22	1568	TGCCCTTGTTCTTCCGTGAA (SEQ ID NO: 177)	비변형됨: UGCCCUUGUUCUUCCGUGAAA 변형됨 (MS5-208): mU*mG*mCmCmCmUfUmGfUfUfCmUmUmCmCfGfUmGmAmAmA	208	비변형됨: UUUCACGGAAGAACAAGGGCACA 변형됨 (MAS2-239): fU*fU*mUmCmAfCmGmGmAmAmGmAmAfCmAfAmGmGmGmCmA*mC*mA	239
23	1568	TGCCCTTGTTCTTCCGTGAA (SEQ ID NO: 177)	비변형됨: UGCCCUUGUUCUUCCGUGAAA 변형됨 (MS4-208):	208	비변형됨: UUUCACGGAAGAACAAGGGCACA 변형됨 (MAS2-239): fU*fU*mUmCmAfCmGmGmAmAmGmAmAfCmAf	239

[0369]

			mU*mG*mCmCmCmUfUmGfUfUfCmUmUmCmCmGmUmGmAmAmA		AmGmGmGmCmA*mC*mA	
24	1568	TGCCCTTGTTCTTCCGTGAA (SEQ ID NO: 177)	비변형됨: UGCCCUUGUUCUUCCGUGAAA 변형됨 (MS2-208): mU*mG*mCmCfCmUfUmGfUfUfCmUmUmCmCfGmUmGmAmAmA	208	비변형됨: UUUCACGGAAGAACAAGGGCACA 변형됨 (MAS4-239): fU*fU*mUmCmAfCmGfGfAmAmGmAmAfCmAfAmGmGmGmCmA*mC*mA	239
25	1654	TCCTGGATGATTAGTTCAGA (SEQ ID NO: 178)	비변형됨: UCCUGGAUGAUUAGUUCAGAA 변형됨 (MS3-209): mU*mC*mCmUfGmGmAmUfGfAfUmUmAfGmUmUmCmAfGmAmA	209	비변형됨: UUCUGAACUAAUCAUCCAGGAGA 변형됨 (MAS3-240): fU*fU*mCmUmGmAmAmCmUmAmAmUmCfAmUmCmCmAmGmGmA*mG*mA	240
26	1654	TCCTGGATGATTAGTTCAGA (SEQ ID NO: 178)	비변형됨: UCCUGGAUGAUUAGUUCAGAA 변형됨 (MS4-209): mU*mC*mCmUmGmGfAmUfGfAfUmUmAmGmUmUmCmAmGmAmA	209	비변형됨: UUCUGAACUAAUCAUCCAGGAGA 변형됨 (MAS4-240): fU*fU*mCmUmGfAmAfCfUmAmAmUmCfAmUfCmCmAmGmGmA*mG*mA	240
27	1654	TCCTGGATGATTAGTTCAGA (SEQ ID NO: 178)	비변형됨: UCCUGGAUGAUUAGUUCAGAA 변형됨 (MS6-209): mU*mC*mCmUmGmGfAmUfGfAfUmUmAmGmUfUmCmAfGmAmA	209	비변형됨: UUCUGAACUAAUCAUCCAGGAGA 변형됨 (MAS4-240): fU*fU*mCmUmGfAmAfCfUmAmAmUmCfAmUfCmCmAmGmGmA*mG*mA	240
28	1654	TCCTGGATGATTAGTTCAGA (SEQ ID NO: 178)	비변형됨: UCCUGGAUGAUUAGUUCAGAA 변형됨 (MS5-209): mU*mC*mCmUmGmGfAmUfGfAfUmUmAmGmUfUfCmAmGmAmA	209	비변형됨: UUCUGAACUAAUCAUCCAGGAGA 변형됨 (MAS2-240): fU*fU*mCmUmGfAmAmCmUmAmAmUmCfAmUfCmCmAmGmGmA*mG*mA	240
29	1654	TCCTGGATGATTAGTTCAGA (SEQ ID NO: 178)	비변형됨: UCCUGGAUGAUUAGUUCAGAA 변형됨 (MS4-209): mU*mC*mCmUmGmGfAmUfGfAfUmUmAmGmUmUmCmAmGmAmA	209	비변형됨: UUCUGAACUAAUCAUCCAGGAGA 변형됨 (MAS2-240): fU*fU*mCmUmGfAmAmCmUmAmAmUmCfAmUfCmCmAmGmGmA*mG*mA	240
30	1654	TCCTGGATGATTAGTTCAGA (SEQ ID NO: 178)	비변형됨: UCCUGGAUGAUUAGUUCAGAA 변형됨 (MS2-209): mU*mC*mCmUfGmGfAmUfGfAfUmUmAmGmUfUmCmAmGmAmA	209	비변형됨: UUCUGAACUAAUCAUCCAGGAGA 변형됨 (MAS4-240): fU*fU*mCmUmGfAmAfCfUmAmAmUmCfAmUfCmCmAmGmGmA*mG*mA	240
31	1624	GTCTAGGCAAACCTGGATTA (SEQ ID NO: 179)	비변형됨: GUCUAGGCAAACCUGGAUUAA 변형됨 (MS3-210):	210	비변형됨: UUAAUCCAGGUUUGCCUAGACAG 변형됨 (MAS3-241):	241

[0370]

			mG*mU*mCmUfAmGmGmCfAfAfAmCmCfUmGmGmAmUfUmAmA		fU*fU*mAmAmUmCmCmAmGmGmUmUmUfGmCmCmUmAmGmAmC*mA*mG	
32	1624	GTCTAGGCAAACCTGGATTA (SEQ ID NO: 179)	비변형됨: GUCUAGGCAAACCUGGAUUAA 변형됨 (MS4-210): mG*mU*mCmUmAmGfGmCfAfAfAmCmCmUmGmGmAmUmUmAmA	210	비변형됨: UUAAUCCAGGUUUGCCUAGACAG 변형됨 (MAS4-241): fU*fU*mAmAmUfCmCfAfGmGmUmUmUfGmCfCmUmAmGmAmC*mA*mG	241
33	1624	GTCTAGGCAAACCTGGATTA (SEQ ID NO: 179)	비변형됨: GUCUAGGCAAACCUGGAUUAA 변형됨 (MS6-210): mG*mU*mCmUmAmGfGmCfAfAfAmCmCmUmGfGmAmUfUmAmA	210	비변형됨: UUAAUCCAGGUUUGCCUAGACAG 변형됨 (MAS4-241): fU*fU*mAmAmUfCmCfAfGmGmUmUmUfGmCfCmUmAmGmAmC*mA*mG	241
34	1624	GTCTAGGCAAACCTGGATTA (SEQ ID NO: 179)	비변형됨: GUCUAGGCAAACCUGGAUUAA 변형됨 (MS5-210): mG*mU*mCmUmAmGfGmCfAfAfAmCmCmUmGfGfAmUmUmAmA	210	비변형됨: UUAAUCCAGGUUUGCCUAGACAG 변형됨 (MAS2-241): fU*fU*mAmAmUfCmCmAmGmGmUmUmUfGmCfCmUmAmGmAmC*mA*mG	241
35	1624	GTCTAGGCAAACCTGGATTA (SEQ ID NO: 179)	비변형됨: GUCUAGGCAAACCUGGAUUAA 변형됨 (MS4-210): mG*mU*mCmUmAmGfGmCfAfAfAmCmCmUmGmGmAmUmUmAmA	210	비변형됨: UUAAUCCAGGUUUGCCUAGACAG 변형됨 (MAS2-241): fU*fU*mAmAmUfCmCmAmGmGmUmUmUfGmCfCmUmAmGmAmC*mA*mG	241
36	1624	GTCTAGGCAAACCTGGATTA (SEQ ID NO: 179)	비변형됨: GUCUAGGCAAACCUGGAUUAA 변형됨 (MS2-210): mG*mU*mCmUfAmGfGmCfAfAfAmCmCmUmGfGmAmUmUmAmA	210	비변형됨: UUAAUCCAGGUUUGCCUAGACAG 변형됨 (MAS4-241): fU*fU*mAmAmUfCmCfAfGmGmUmUmUfGmCfCmUmAmGmAmC*mA*mG	241
37	1619	ACGCTGTCTAGGCAAACCTG (SEQ ID NO: 180)	비변형됨: ACGCUGUCUAGGCAAACCUGA 변형됨 (MS3-211): mA*mC*mGmCfUmGmUmCfUfAfGmGmCfAmAmAmCmCfUmGmA	211	비변형됨: UCAGGUUUGCCUAGACAGCGUCG 변형됨 (MAS3-242): fU*fC*mAmGmGmUmUmUmGmCmCmUmAfGmAmCmAmGmCmGmU*mC*mG	242
38	1619	ACGCTGTCTAGGCAAACCTG (SEQ ID NO: 180)	비변형됨: ACGCUGUCUAGGCAAACCUGA 변형됨 (MS4-211): mA*mC*mGmCmUmGfUmCfUfAfGmGmCmAmAmAmCmCmUmGmA	211	비변형됨: UCAGGUUUGCCUAGACAGCGUCG 변형됨 (MAS4-242): fU*fC*mAmGmGfUmUfUfGmCmCmUmAfGmAfCmAmGmCmGmU*mC*mG	242
39	1619	ACGCTGTCTAGGCAAAC	비변형됨: ACGCUGUCUAGGCAAACCUGA	211	비변형됨: UCAGGUUUGCCUAGACAGCGUCG	242

[0371]

		CTG (SEQ ID NO: 180)	변형됨 (MS6-211): mA*mC*mGmCmUmGf UmCfUfAfGmGmCmA mAfAmCmCfUmGmA		변형됨 (MAS4-242): fU*fC*mAmGmGfUmUfUf GmCmCmUmAfGmAfCm AmGmCmGmU*mC*mG	
40	1619	ACGCTGTCT AGGCAAAC CTG (SEQ ID NO: 180)	비변형됨: ACGCUGUCUAGGCA AACCUGA 변형됨 (MS5-211): mA*mC*mGmCmUmGf UmCfUfAfGmGmCmA mAfAfCmCmUmGmA	211	비변형됨: UCAGGUUUGCCUAGAC AGCGUCG 변형됨 (MAS2-242): fU*fC*mAmGmGfUmUm UmGmCmCmUmAfGmAf CmAmGmCmGmU*mC*m G	242
41	1619	ACGCTGTCT AGGCAAAC CTG (SEQ ID NO: 180)	비변형됨: ACGCUGUCUAGGCA AACCUGA 변형됨 (MS4-211): mA*mC*mGmCmUmGf UmCfUfAfGmGmCmA mAmAmCmCmUmGmA	211	비변형됨: UCAGGUUUGCCUAGAC AGCGUCG 변형됨 (MAS2-242): fU*fC*mAmGmGfUmUm UmGmCmCmUmAfGmAf CmAmGmCmGmU*mC*m G	242
42	1619	ACGCTGTCT AGGCAAAC CTG (SEQ ID NO: 180)	비변형됨: ACGCUGUCUAGGCA AACCUGA 변형됨 (MS2-211): mA*mC*mGmCfUmGfU mCfUfAfGmGmCmAm AfAmCmCmUmGmA	211	비변형됨: UCAGGUUUGCCUAGAC AGCGUCG 변형됨 (MAS4-242): fU*fC*mAmGmGfUmUfUf GmCmCmUmAfGmAfCm AmGmCmGmU*mC*mG	242
43	1651	ATCTCCTGG ATGATTAGT TC (SEQ ID NO: 181)	비변형됨: AUCUCCUGGAUGAU UAGUUCA 변형됨 (MS3-212): mA*mU*mCmUfCmCm UmGfGfAfUmGmAfUm UmAmGmUfUmCmA	212	비변형됨: UGAACUAAUCAUCCAG GAGAUGU 변형됨 (MAS3-243): fU*fG*mAmAmCmUmAm AmUmCmAmUmCfCmAm GmGmAmGmAmU*mG*m U	243
44	1651	ATCTCCTGG ATGATTAGT TC (SEQ ID NO: 181)	비변형됨: AUCUCCUGGAUGAU UAGUUCA 변형됨 (MS4-212): mA*mU*mCmUmCmCf UmGfGfAfUmGmAmU mUmAmGmUmUmCmA	212	비변형됨: UGAACUAAUCAUCCAG GAGAUGU 변형됨 (MAS4-243): fU*fG*mAmAmCfUmAfAf UmCmAmUmCfCmAfGm GmAmGmAmU*mG*mU	243
45	1651	ATCTCCTGG ATGATTAGT TC (SEQ ID NO: 181)	비변형됨: AUCUCCUGGAUGAU UAGUUCA 변형됨 (MS6-212): mA*mU*mCmUmCmCf UmGfGfAfUmGmAmU mUfAmGmUfUmCmA	212	비변형됨: UGAACUAAUCAUCCAG GAGAUGU 변형됨 (MAS4-243): fU*fG*mAmAmCfUmAfAf UmCmAmUmCfCmAfGm GmAmGmAmU*mG*mU	243
46	1651	ATCTCCTGG ATGATTAGT TC (SEQ ID NO: 181)	비변형됨: AUCUCCUGGAUGAU UAGUUCA 변형됨 (MS5-212): mA*mU*mCmUmCmCf UmGfGfAfUmGmAmU mUfAfGmUmUmCmA	212	비변형됨: UGAACUAAUCAUCCAG GAGAUGU 변형됨 (MAS2-243): fU*fG*mAmAmCfUmAm AmUmCmAmUmCfCmAf GmGmAmGmAmU*mG*m U	243
47	1651		비변형됨:	212	비변형됨:	243

[0372]

		ATCTCCTGGATGATTAGTTC (SEQ ID NO: 181)	AUCUCCUGGAUGAUUAGUUCA 변형됨 (MS4-212): mA*mU*mCmUmCmCfUmGfGfAfUmGmAmUmUmAmGmUmUmCmA		UGAACUAAUCAUCCAGGAGAUGU 변형됨 (MAS2-243): fU*fG*mAmAmCfUmAmAmUmCmAmUmCfCmAfGmGmAmGmAmU*mG*mU	
48	1651	ATCTCCTGGATGATTAGTTC (SEQ ID NO: 181)	비변형됨: AUCUCCUGGAUGAUUAGUUCA 변형됨 (MS2-212): mA*mU*mCmUfCmCfUmGfGfAfUmGmAmUmUfAmGmUmUmCmA	212	비변형됨: UGAACUAAUCAUCCAGGAGAUGU 변형됨 (MAS4-243): fU*fG*mAmAmCfUmAfAfUmCmAmUmCfCmAfGmGmAmGmAmU*mG*mU	243
49	1565	CTGTGCCCTTGTTCTTCCGT (SEQ ID NO: 182)	비변형됨: CUGUGCCCUUGUUCUUCCGUA 변형됨 (MS3-213): mC*mU*mGmUfGmCmCmCfUfUfGmUmUfCmUmUmCmCfGmUmA	213	비변형됨: UACGGAAGAACAAGGGCACAGAG 변형됨 (MAS3-244): fU*fA*mCmGmGmAmAmGmAmAmCmAmAfGmGmGmCmAmCmAmG*mA*mG	244
50	1565	CTGTGCCCTTGTTCTTCCGT (SEQ ID NO: 182)	비변형됨: CUGUGCCCUUGUUCUUCCGUA 변형됨 (MS4-213): mC*mU*mGmUmGmCfCmCfUfUfGmUmUmCmUmUmCmCmGmUmA	213	비변형됨: UACGGAAGAACAAGGGCACAGAG 변형됨 (MAS4-244): fU*fA*mCmGmGfAmAfGfAmAmCmAmAfGmGfGmCmAmCmAmG*mA*mG	244
51	1565	CTGTGCCCTTGTTCTTCCGT (SEQ ID NO: 182)	비변형됨: CUGUGCCCUUGUUCUUCCGUA 변형됨 (MS6-213): mC*mU*mGmUmGmCfCmCfUfUfGmUmUmCmUfUmCmCfGmUmA	213	비변형됨: UACGGAAGAACAAGGGCACAGAG 변형됨 (MAS4-244): fU*fA*mCmGmGfAmAfGfAmAmCmAmAfGmGfGmCmAmCmAmG*mA*mG	244
52	1565	CTGTGCCCTTGTTCTTCCGT (SEQ ID NO: 182)	비변형됨: CUGUGCCCUUGUUCUUCCGUA 변형됨 (MS5-213): mC*mU*mGmUmGmCfCmCfUfUfGmUmUmCmUfUfCmCmGmUmA	213	비변형됨: UACGGAAGAACAAGGGCACAGAG 변형됨 (MAS2-244): fU*fA*mCmGmGfAmAmGmAmAmCmAmAfGmGfGmCmAmCmAmG*mA*mG	244
53	1565	CTGTGCCCTTGTTCTTCCGT (SEQ ID NO: 182)	비변형됨: CUGUGCCCUUGUUCUUCCGUA 변형됨 (MS4-213): mC*mU*mGmUmGmCfCmCfUfUfGmUmUmCmUmUmCmCmGmUmA	213	비변형됨: UACGGAAGAACAAGGGCACAGAG 변형됨 (MAS2-244): fU*fA*mCmGmGfAmAmGmAmAmCmAmAfGmGfGmCmAmCmAmG*mA*mG	244
54	1565	CTGTGCCCTTGTTCTTCCGT (SEQ ID NO: 182)	비변형됨: CUGUGCCCUUGUUCUUCCGUA 변형됨 (MS2-213): mC*mU*mGmUfGmCfCmCfUfUfGmUmUmCmUfUmCmCmGmUmA	213	비변형됨: UACGGAAGAACAAGGGCACAGAG 변형됨 (MAS4-244): fU*fA*mCmGmGfAmAfGfAmAmCmAmAfGmGfGmCmAmCmAmG*mA*mG	244

[0373]

55	1656	CTGGATGATTAGTTCAGAGA (SEQ ID NO: 183)	비변형됨: CUGGAUGAUUAGUUCAGAGAA 변형됨 (MS3-214): mC*mU*mGmGfAmUmGmAfUfUfAmGmUfUmCmAmGmAfGmAmA	214	비변형됨: UUCUCUGAACUAAUCAUCCAGGA 변형됨 (MAS3-245): fU*fU*mCmUmCmUmGmAmAmCmUmAmAfUmCmAmUmCmCmAmG*mG*mA	245
56	1656	CTGGATGATTAGTTCAGAGA (SEQ ID NO: 183)	비변형됨: CUGGAUGAUUAGUUCAGAGAA 변형됨 (MS4-214): mC*mU*mGmGmAmUfGmAfUfUfAmGmUmUmCmAmGmAmGmAmA	214	비변형됨: UUCUCUGAACUAAUCAUCCAGGA 변형됨 (MAS4-245): fU*fU*mCmUmCfUmGfAfAmCmUmAmAfUmCfAmUmCmCmAmG*mG*mA	245
57	1656	CTGGATGATTAGTTCAGAGA (SEQ ID NO: 183)	비변형됨: CUGGAUGAUUAGUUCAGAGAA 변형됨 (MS6-214): mC*mU*mGmGmAmUfGmAfUfUfAmGmUmUmCfAmGmAfGmAmA	214	비변형됨: UUCUCUGAACUAAUCAUCCAGGA 변형됨 (MAS4-245): fU*fU*mCmUmCfUmGfAfAmCmUmAmAfUmCfAmUmCmCmAmG*mG*mA	245
58	1656	CTGGATGATTAGTTCAGAGA (SEQ ID NO: 183)	비변형됨: CUGGAUGAUUAGUUCAGAGAA 변형됨 (MS5-214): mC*mU*mGmGmAmUfGmAfUfUfAmGmUmUmCfAfGmAmGmAmA	214	비변형됨: UUCUCUGAACUAAUCAUCCAGGA 변형됨 (MAS2-245): fU*fU*mCmUmCfUmGmAmAmCmUmAmAfUmCfAmUmCmCmAmG*mG*mA	245
59	1656	CTGGATGATTAGTTCAGAGA (SEQ ID NO: 183)	비변형됨: CUGGAUGAUUAGUUCAGAGAA 변형됨 (MS4-214): mC*mU*mGmGmAmUfGmAfUfUfAmGmUmUmCmAmGmAmGmAmA	214	비변형됨: UUCUCUGAACUAAUCAUCCAGGA 변형됨 (MAS2-245): fU*fU*mCmUmCfUmGmAmAmCmUmAmAfUmCfAmUmCmCmAmG*mG*mA	245
60	1656	CTGGATGATTAGTTCAGAGA (SEQ ID NO: 183)	비변형됨: CUGGAUGAUUAGUUCAGAGAA 변형됨 (MS2-214): mC*mU*mGmGfAmUfGmAfUfUfAmGmUmUmCfAmGmAmGmAmA	214	비변형됨: UUCUCUGAACUAAUCAUCCAGGA 변형됨 (MAS4-245): fU*fU*mCmUmCfUmGfAfAmCmUmAmAfUmCfAmUmCmCmAmG*mG*mA	245
61	1570	CCCTTGTTCTTCCGTGAAAT (SEQ ID NO: 184)	비변형됨: CCCUUGUUCUUCCGUGAAAUA 변형됨 (MS3-215): mC*mC*mCmUfUmGmUmUfCfUfUmCmCfGmUmGmAmAfAmUmA	215	비변형됨: UAUUUCACGGAAGAACAAGGGCA 변형됨 (MAS3-246): fU*fA*mUmUmUmCmAmCmGmGmAmAmGfAmAmCmAmAmGmGmG*mC*mA	246
62	1570	CCCTTGTTCTTCCGTGAAAT (SEQ ID NO: 184)	비변형됨: CCCUUGUUCUUCCGUGAAAUA 변형됨 (MS4-215):	215	비변형됨: UAUUUCACGGAAGAACAAGGGCA 변형됨 (MAS4-246):	246

[0374]

			mC*mC*mCmUmUmGfUmUfCfUfUmCmCmGmUmGmAmAmAmUmA		fU*fA*mUmUmUfCmAfCfGmGmAmAmGfAmAfCmAmAmGmGmG*mC*mA	
63	1570	CCCTTGTTCTTCCGTGAAAT (SEQ ID NO: 184)	비변형됨: CCCUUGUUCUUCCGUGAAAUA 변형됨 (MS6-215): mC*mC*mCmUmUmGfUmUfCfUfUmCmCmGmUfGmAmAfAmUmA	215	비변형됨: UAUUUCACGGAAGAACAAGGGCA 변형됨 (MAS4-246): fU*fA*mUmUmUfCmAfCfGmGmAmAmGfAmAfCmAmAmGmGmG*mC*mA	246
64	1570	CCCTTGTTCTTCCGTGAAAT (SEQ ID NO: 184)	비변형됨: CCCUUGUUCUUCCGUGAAAUA 변형됨 (MS5-215): mC*mC*mCmUmUmGfUmUfCfUfUmCmCmGmUfGfAmAmAmUmA	215	비변형됨: UAUUUCACGGAAGAACAAGGGCA 변형됨 (MAS2-246): fU*fA*mUmUmUfCmAmCmGmGmAmAmGfAmAfCmAmAmGmGmG*mC*mA	246
65	1570	CCCTTGTTCTTCCGTGAAAT (SEQ ID NO: 184)	비변형됨: CCCUUGUUCUUCCGUGAAAUA 변형됨 (MS4-215): mC*mC*mCmUmUmGfUmUfCfUfUmCmCmGmUmGmAmAmAmUmA	215	비변형됨: UAUUUCACGGAAGAACAAGGGCA 변형됨 (MAS2-246): fU*fA*mUmUmUfCmAmCmGmGmAmAmGfAmAfCmAmAmGmGmG*mC*mA	246
66	1570	CCCTTGTTCTTCCGTGAAAT (SEQ ID NO: 184)	비변형됨: CCCUUGUUCUUCCGUGAAAUA 변형됨: (MS2-215) mC*mC*mCmUfUmGfUmUfCfUfUmCmCmGmUfGmAmAmAmUmA	215	비변형됨: UAUUUCACGGAAGAACAAGGGCA 변형됨 (MAS4-246): fU*fA*mUmUmUfCmAfCfGmGmAmAmGfAmAfCmAmAmGmGmG*mC*mA	246
67	1629	GGCAAACCTGGATTAGAGTT (SEQ ID NO: 185)	비변형됨: GGCAAACCUGGAUUAGAGUUA 변형됨 (MS3-216): mG*mG*mCmAfAmAmCmCfUfGfGmAmUfUmAmGmAmGfUmUmA	216	비변형됨: UAACUCUAAUCCAGGUUUGCCUA 변형됨 (MAS3-247): fU*fA*mAmCmUmCmUmAmAmUmCmCmAfGmGmUmUmUmGmCmC*mU*mA	247
68	1629	GGCAAACCTGGATTAGAGTT (SEQ ID NO: 185)	비변형됨: GGCAAACCUGGAUUAGAGUUA 변형됨 (MS4-216): mG*mG*mCmAmAmAfCmCfUfGfGmAmUmUmAmGmAmGmUmUmA	216	비변형됨: UAACUCUAAUCCAGGUUUGCCUA 변형됨 (MAS4-247): fU*fA*mAmCmUfCmUfAfAmUmCmCmAfGmGfUmUmUmGmCmC*mU*mA	247
69	1629	GGCAAACCTGGATTAGAGTT (SEQ ID NO: 185)	비변형됨: GGCAAACCUGGAUUAGAGUUA 변형됨 (MS6-216): mG*mG*mCmAmAmAfCmCfUfGfGmAmUmUmAfGmAmGfUmUmA	216	비변형됨: UAACUCUAAUCCAGGUUUGCCUA 변형됨 (MAS4-247): fU*fA*mAmCmUfCmUfAfAmUmCmCmAfGmGfUmUmUmGmCmC*mU*mA	247
70	1629	GGCAAACCTGGATTAGAGTT (SEQ ID NO: 185)	비변형됨: GGCAAACCUGGAUUAGAGUUA 변형됨 (MS5-216):	216	비변형됨: UAACUCUAAUCCAGGUUUGCCUA 변형됨 (MAS2-247):	247

[0375]

			mG*mG*mCmAmAmAfCmCfUfGfGmAmUmUmAfGfAmGmUmUmA		fU*fA*mAmCmUfCmUmAmAmUmCmCmAfGmGfUmUmUmGmCmC*mU*mA	
71	1629	GGCAAACCTGGATTAGAGTT (SEQ ID NO: 185)	비변형됨: GGCAAACCUGGAUUAGAGUUA 변형됨 (MS4-216): mG*mG*mCmAmAmAfCmCfUfGfGmAmUmUmAmGmAmGmUmUmA	216	비변형됨: UAACUCUAAUCCAGGUUUGCCUA 변형됨 (MAS2-247): fU*fA*mAmCmUfCmUmAmAmUmCmCmAfGmGfUmUmUmGmCmC*mU*mA	247
72	1629	GGCAAACCTGGATTAGAGTT (SEQ ID NO: 185)	비변형됨: GGCAAACCUGGAUUAGAGUUA 변형됨 (MS2-216): mG*mG*mCmAfAmAfCmCfUfGfGmAmUmUmAfGmAmGmUmUmA	216	비변형됨: UAACUCUAAUCCAGGUUUGCCUA 변형됨 (MAS4-247): fU*fA*mAmCmUfCmUfAfAmUmCmCmAfGmGfUmUmUmGmCmC*mU*mA	247
73	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨: (MS3-217) mU*mA*mGmGfCmAmAmAfCfCfUmGmGfAmUmUmAmGfAmGmA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (MAS3-248): fU*fC*mUmCmUmAmAmUmCmCmAmGmGfUmUmUmGmCmCmUmA*mG*mA	248
74	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS4-217): mU*mA*mGmGmCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUmUmAmGmAmGmA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (MAS4-248): fU*fC*mUmCmUfAmAfUfCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	248
75	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS6-217): mU*mA*mGmGmCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUfUmAmGfAmGmA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (MAS4-248): fU*fC*mUmCmUfAmAfUfCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	248
76	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS5-217): mU*mA*mGmGmCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUfUfAmGmAmGmA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (MAS2-248): fU*fC*mUmCmUfAmAmUmCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	248
77	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS4-217): mU*mA*mGmGmCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUmUmAmGmAmGmA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (MAS2-248): fU*fC*mUmCmUfAmAmUmCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	248
78	1627		비변형됨:	217	비변형됨:	248

[0376]

		TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS2-217): mU*mA*mGmGfCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUfUmAmGmAmGmA		UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (MAS4-248): fU*fC*mUmCmUfAmAfUfCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	
79	1628	AGGCAAACCTGGATTAGAGT (SEQ ID NO: 187)	비변형됨: AGGCAAACCUGGAUUAGAGUA 변형됨 (MS3-218): mA*mG*mGmCfAmAmAmCfCfUfGmGmAfUmUmAmGmAfGmUmA	218	비변형됨: UACUCUAAUCCAGGUUUGCCUAG 변형됨 (MAS3-249): fU*fA*mCmUmCmUmAmAmUmCmCmAmGfGmUmUmUmGmCmCmU*mA*mG	249
80	1628	AGGCAAACCTGGATTAGAGT (SEQ ID NO: 187)	비변형됨: AGGCAAACCUGGAUUAGAGUA 변형됨 (MS4-218): mA*mG*mGmCmAmAfAmCfCfUfGmGmAmUmUmAmGmAmGmUmA	218	비변형됨: UACUCUAAUCCAGGUUUGCCUAG 변형됨 (MAS4-249): fU*fA*mCmUmCfUmAfAfUmCmCmAmGfGmUfUmUmGmCmCmU*mA*mG	249
81	1628	AGGCAAACCTGGATTAGAGT (SEQ ID NO: 187)	비변형됨: AGGCAAACCUGGAUUAGAGUA 변형됨 (MS6-218): mA*mG*mGmCmAmAfAmCfCfUfGmGmAmUmUfAmGmAfGmUmA	218	비변형됨: UACUCUAAUCCAGGUUUGCCUAG 변형됨 (MAS4-249): fU*fA*mCmUmCfUmAfAfUmCmCmAmGfGmUfUmUmGmCmCmU*mA*mG	249
82	1628	AGGCAAACCTGGATTAGAGT (SEQ ID NO: 187)	비변형됨: AGGCAAACCUGGAUUAGAGUA 변형됨 (MS5-218): mA*mG*mGmCmAmAfAmCfCfUfGmGmAmUmUfAfGmAmGmUmA	218	비변형됨: UACUCUAAUCCAGGUUUGCCUAG 변형됨 (MAS2-249): fU*fA*mCmUmCfUmAmAmUmCmCmAmGfGmUfUmUmGmCmCmU*mA*mG	249
83	1628	AGGCAAACCTGGATTAGAGT (SEQ ID NO: 187)	비변형됨: AGGCAAACCUGGAUUAGAGUA 변형됨 (MS4-218): mA*mG*mGmCmAmAfAmCfCfUfGmGmAmUmUmAmGmAmGmUmA	218	비변형됨: UACUCUAAUCCAGGUUUGCCUAG 변형됨 (MAS2-249): fU*fA*mCmUmCfUmAmAmUmCmCmAmGfGmUfUmUmGmCmCmU*mA*mG	249
84	1628	AGGCAAACCTGGATTAGAGT (SEQ ID NO: 187)	비변형됨: AGGCAAACCUGGAUUAGAGUA 변형됨 (MS2-218): mA*mG*mGmCfAmAfAmCfCfUfGmGmAmUmUfAmGmAmGmUmA	218	비변형됨: UACUCUAAUCCAGGUUUGCCUAG 변형됨 (MAS4-249): fU*fA*mCmUmCfUmAfAfUmCmCmAmGfGmUfUmUmGmCmCmU*mA*mG	249
85	1634	ACCTGGATTAGAGTTACATC (SEQ ID NO: 188)	비변형됨: ACCUGGAUUAGAGUUACAUCA 변형됨 (MS3-219): mA*mC*mCmUfGmGmAmUfUfAfGmAmGfUmUmAmCmAfUmCmA	219	비변형됨: UGAUGUAACUCUAAUCCAGGUUU 변형됨 (MAS3-250): fU*fG*mAmUmGmUmAmAmCmUmCmUmAfAmUmCmCmAmGmGmU*mU*mU	250

[0377]

86	1634	ACCTGGATTAGAGTTACATC (SEQ ID NO: 188)	비변형됨: ACCUGGAUUAGAGUUACAUCA 변형됨 (MS4-219): mA*mC*mCmUmGmGfAmUfUfAfGmAmGmUmUmAmCmAmUmCmA	219	비변형됨: UGAUGUAACUCUAAUCCAGGUUU 변형됨 (MAS4-250): fU*fG*mAmUmGfUmAfAfCmUmCmUmAfAmUfCmCmAmGmGmU*mU*mU	250
87	1634	ACCTGGATTAGAGTTACATC (SEQ ID NO: 188)	비변형됨: ACCUGGAUUAGAGUUACAUCA 변형됨 (MS6-219): mA*mC*mCmUmGmGfAmUfUfAfGmAmGmUmUfAmCmAfUmCmA	219	비변형됨: UGAUGUAACUCUAAUCCAGGUUU 변형됨 (MAS4-250): fU*fG*mAmUmGfUmAfAfCmUmCmUmAfAmUfCmCmAmGmGmU*mU*mU	250
88	1634	ACCTGGATTAGAGTTACATC (SEQ ID NO: 188)	비변형됨: ACCUGGAUUAGAGUUACAUCA 변형됨 (MS5-219): mA*mC*mCmUmGmGfAmUfUfAfGmAmGmUmUfAfCmAmUmCmA	219	비변형됨: UGAUGUAACUCUAAUCCAGGUUU 변형됨 (MAS2-250): fU*fG*mAmUmGfUmAmAmCmUmCmUmAfAmUfCmCmAmGmGmU*mU*mU	250
89	1634	ACCTGGATTAGAGTTACATC (SEQ ID NO: 188)	비변형됨: ACCUGGAUUAGAGUUACAUCA 변형됨 (MS4-219): mA*mC*mCmUmGmGfAmUfUfAfGmAmGmUmUmAmCmAmUmCmA	219	비변형됨: UGAUGUAACUCUAAUCCAGGUUU 변형됨 (MAS2-250): fU*fG*mAmUmGfUmAmAmCmUmCmUmAfAmUfCmCmAmGmGmU*mU*mU	250
90	1634	ACCTGGATTAGAGTTACATC (SEQ ID NO: 188)	비변형됨: ACCUGGAUUAGAGUUACAUCA 변형됨 (MS2-219): mA*mC*mCmUfGmGfAmUfUfAfGmAmGmUmUfAmCmAmUmCmA	219	비변형됨: UGAUGUAACUCUAAUCCAGGUUU 변형됨 (MAS4-250): fU*fG*mAmUmGfUmAfAfCmUmCmUmAfAmUfCmCmAmGmGmU*mU*mU	250
91	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS3-220): mG*mA*mUmGfAmUmUmAfGfUfUmCmAfGmAmGmAmUfAmUmA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (MAS3-251): fU*fA*mUmAmUmCmUmCmUmGmAmAmCfUmAmAmUmCmAmUmC*mC*mA	251
92	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS4-220): mG*mA*mUmGmAmUfUmAfGfUfUmCmAmGmAmGmAmUmAmUmA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (MAS4-251): fU*fA*mUmAmUfCmUfCfUmGmAmAmCfUmAfAmUmCmAmUmC*mC*mA	251
93	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS6-220): mG*mA*mUmGmAmUfUmAfGfUfUmCmAmGmAfGmAmUfAmUmA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (MAS4-251): fU*fA*mUmAmUfCmUfCfUmGmAmAmCfUmAfAmUmCmAmUmC*mC*mA	251

[0378]

94	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS5-220): mG*mA*mUmGmAmUfUmAfGfUfUmCmAmGmAfGfAmUmAmUmA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (MAS2-251): fU*fA*mUmAmUfCmUmCmUmGmAmAmCfUmAfAmUmCmAmUmC*mC*mA	251
95	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS4-220): mG*mA*mUmGmAmUfUmAfGfUfUmCmAmGmAmGmAmUmAmUmA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (MAS2-251): fU*fA*mUmAmUfCmUmCmUmGmAmAmCfUmAfAmUmCmAmUmC*mC*mA	251
96	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS2-220): mG*mA*mUmGfAmUfUmAfGfUfUmCmAmGmAfGmAmUmAmUmA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (MAS4-251): fU*fA*mUmAmUfCmUfCfUmGmAmAmCfUmAfAmUmCmAmUmC*mC*mA	251
97	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS3-221): mU*mU*mAmGfAmGmUmUfAfCfAmUmCfUmCmCmUmGfGmAmA	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (MAS3-252): fU*fU*mCmCmAmGmGmAmGmAmUmGmUfAmAmCmUmCmUmAmA*mU*mC	252
98	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS4-221): mU*mU*mAmGmAmGfUmUfAfCfAmUmCmUmCmCmCmUmGmGmAmA	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (MAS4-252): fU*fU*mCmCmAfGmGfAfGmAmUmGmUfAmAfCmUmCmUmAmA*mU*mC	252
99	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS6-221): mU*mU*mAmGmAmGfUmUfAfCfAmUmCmUmCfCmUmGfGmAmA	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (MAS4-252): fU*fU*mCmCmAfGmGfAfGmAmUmGmUfAmAfCmUmCmUmAmA*mU*mC	252
100	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS5-221): mU*mU*mAmGmAmGfUmUfAfCfAmUmCmUmCfCfUmGmGmAmA	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (MAS2-252): fU*fU*mCmCmAfGmGmAmGmAmUmGmUfAmAfCmUmCmUmAmA*mU*mC	252
101	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS4-221):	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (MAS2-252): fU*fU*mCmCmAfGmGmAmGmAmUmGmUfAmAf	252

[0379]

			mU*mU*mAmGmAmGfUmUfAfCfAmUmCmUmCmCmUmGmGmAmA		CmUmCmUmAmA*mU*mC	
102	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS2-221): mU*mU*mAmGfAmGfUmUfAfCfAmUmCmUmCfCmUmGmGmAmA	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (MAS4-252): fU*fU*mCmCmAfGmGfAfGmAmUmGmUfAmAfCmUmCmUmAmA*mU*mC	252
103	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS3-222): mC*mA*mAmAfCmCmUmGfGfAfUmUmAfGmAmGmUmUfAmCmA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (MAS3-253): fU*fG*mUmAmAmCmUmCmUmAmAmUmCfCmAmGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
104	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS4-222): mC*mA*mAmAmCmCfUmGfGfAfUmUmAmGmAmGmUmUmAmCmA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (MAS4-253): fU*fG*mUmAmAfCmUfCfUmAmAmUmCfCmAfGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
105	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS6-222): mC*mA*mAmAmCmCfUmGfGfAfUmUmAmGmAfGmUmUfAmCmA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (MAS4-253): fU*fG*mUmAmAfCmUfCfUmAmAmUmCfCmAfGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
106	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS5-222): mC*mA*mAmAmCmCfUmGfGfAfUmUmAmGmAfGfUmUmAmCmA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (MAS2-253): fU*fG*mUmAmAfCmUmCmUmAmAmUmCfCmAfGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
107	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS4-222): mC*mA*mAmAmCmCfUmGfGfAfUmUmAmGmAmGmUmUmAmCmA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (MAS2-253): fU*fG*mUmAmAfCmUmCmUmAmAmUmCfCmAfGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
108	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS2-222): mC*mA*mAmAfCmCfUmGfGfAfUmUmAmGmAfGmUmUmAmCmA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (MAS4-253): fU*fG*mUmAmAfCmUfCfUmAmAmUmCfCmAfGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
109	1571	CCTTGTTCTTCCGTGAAATT (SEQ ID NO: 192)	비변형됨: CCUUGUUCUUCCGUGAAAUUA 변형됨 (MS3-223):	223	비변형됨: UAAUUUCACGGAAGAACAAGGGC 변형됨 (MAS3-254):	254

[0380]

			mC*mC*mUmUfGmUmUmCfUfUfCmCmGfUmGmAmAmAfUmUmA		fU*fA*mAmUmUmUmCmAmCmGmGmAmAfGmAmAmCmAmAmGmG*mG*mC	
110	1571	CCTTGTTCTTCCGTGAAATT (SEQ ID NO: 192)	비변형됨: CCUUGUUCUUCCGUGAAAUUA 변형됨 (MS4-223): mC*mC*mUmUmGmUfUmCfUfUfCmCmGmUmGmAmAmAmUmUmA	223	비변형됨: UAAUUUCACGGAAGAACAAGGGC 변형됨 (MAS4-254): fU*fA*mAmUmUfUmCfAfCmGmGmAmAfGmAfAmCmAmAmGmG*mG*mC	254
111	1571	CCTTGTTCTTCCGTGAAATT (SEQ ID NO: 192)	비변형됨: CCUUGUUCUUCCGUGAAAUUA 변형됨 (MS6-223): mC*mC*mUmUmGmUfUmCfUfUfCmCmGmUmGfAmAmAfUmUmA	223	비변형됨: UAAUUUCACGGAAGAACAAGGGC 변형됨 (MAS4-254): fU*fA*mAmUmUfUmCfAfCmGmGmAmAfGmAfAmCmAmAmGmG*mG*mC	254
112	1571	CCTTGTTCTTCCGTGAAATT (SEQ ID NO: 192)	비변형됨: CCUUGUUCUUCCGUGAAAUUA 변형됨 (MS5-223): mC*mC*mUmUmGmUfUmCfUfUfCmCmGmUmGfAfAmAmUmUmA	223	비변형됨: UAAUUUCACGGAAGAACAAGGGC 변형됨 (MAS2-254): fU*fA*mAmUmUfUmCmAmCmGmGmAmAfGmAfAmCmAmAmGmG*mG*mC	254
113	1571	CCTTGTTCTTCCGTGAAATT (SEQ ID NO: 192)	비변형됨: CCUUGUUCUUCCGUGAAAUUA 변형됨 (MS4-223): mC*mC*mUmUmGmUfUmCfUfUfCmCmGmUmGmAmAmAmUmUmA	223	비변형됨: UAAUUUCACGGAAGAACAAGGGC 변형됨 (MAS2-254): fU*fA*mAmUmUfUmCmAmCmGmGmAmAfGmAfAmCmAmAmGmG*mG*mC	254
114	1571	CCTTGTTCTTCCGTGAAATT (SEQ ID NO: 192)	비변형됨: CCUUGUUCUUCCGUGAAAUUA 변형됨 (MS2-223): mC*mC*mUmUfGmUfUmCfUfUfCmCmGmUmGfAmAmAmUmUmA	223	비변형됨: UAAUUUCACGGAAGAACAAGGGC 변형됨 (MAS4-254): fU*fA*mAmUmUfUmCfAfCmGmGmAmAfGmAfAmCmAmAmGmG*mG*mC	254
115	1648	TACATCTCCTGGATGATTAG (SEQ ID NO: 193)	비변형됨: UACAUCUCCUGGAUGAUUAGA 변형됨 (MS3-224): mU*mA*mCmAfUmCmUmCfCfUfUfGmGmAfUmGmAmUmUfAmGmA	224	비변형됨: UCUAAUCAUCCAGGAGAUGUAAC 변형됨 (MAS3-255): fU*fC*mUmAmAmUmCmAmUmCmCmAmGfGmAmGmAmUmGmUmA*mA*mC	255
116	1648	TACATCTCCTGGATGATTAG (SEQ ID NO: 193)	비변형됨: UACAUCUCCUGGAUGAUUAGA 변형됨 (MS4-224): mU*mA*mCmAmUmCfUmCfCfUfUfGmGmAmUmGmAmUmUmAmGmA	224	비변형됨: UCUAAUCAUCCAGGAGAUGUAAC 변형됨 (MAS4-255): fU*fC*mUmAmAfUmCfAfUmCmCmAmGfGmAfGmAmUmGmUmA*mA*mC	255
117	1648	TACATCTCCTGGATGATT	비변형됨: UACAUCUCCUGGAUGAUUAGA	224	비변형됨: UCUAAUCAUCCAGGAGAUGUAAC	255

[0381]

		AG (SEQ ID NO: 193)	변형됨 (MS6-224): mU*mA*mCmAmUmCf UmCfCfUfGmGmAmU mGfAmUmUfAmGmA		변형됨 (MAS4-255): fU*fC*mUmAmAfUmCfAf UmCmCmAmGfGmAfGm AmUmGmUmA*mA*mC	
118	1648	TACATCTCC TGGATGATT AG (SEQ ID NO: 193)	비변형됨: UACAUCUCCUGGAU GAUUAGA 변형됨 (MS5-224): mU*mA*mCmAmUmCf UmCfCfUfGmGmAmU mGfAfUmUmAmGmA	224	비변형됨: UCUAAUCAUCCAGGAG AUGUAAC 변형됨 (MAS2-255): fU*fC*mUmAmAfUmCm AmUmCmCmAmGfGmAf GmAmUmGmUmA*mA*m C	255
119	1648	TACATCTCC TGGATGATT AG (SEQ ID NO: 193)	비변형됨: UACAUCUCCUGGAU GAUUAGA 변형됨 (MS4-224): mU*mA*mCmAmUmCf UmCfCfUfGmGmAmU mGmAmUmUmAmGmA	224	비변형됨: UCUAAUCAUCCAGGAG AUGUAAC 변형됨 (MAS2-255): fU*fC*mUmAmAfUmCm AmUmCmCmAmGfGmAf GmAmUmGmUmA*mA*m C	255
120	1648	TACATCTCC TGGATGATT AG (SEQ ID NO: 193)	비변형됨: UACAUCUCCUGGAU GAUUAGA 변형됨 (MS2-224): mU*mA*mCmAfUmCfU mCfCfUfGmGmAmUm GfAmUmUmAmGmA	224	비변형됨: UCUAAUCAUCCAGGAG AUGUAAC 변형됨 (MAS4-255): fU*fC*mUmAmAfUmCfAf UmCmCmAmGfGmAfGm AmUmGmUmA*mA*mC	255
121	1503	TACCAGCA GACCTGCG CGCA (SEQ ID NO: 194)	비변형됨: UACCAGCAGACCUGC GCGCAA 변형됨 (MS3-225): mU*mA*mCmCfAmGm CmAfGfAfCmCmUfGm CmGmCmGfCmAmA	225	비변형됨: UUGCGCGCAGGUCUGC UGGUACC 변형됨 (MAS3-256): fU*fU*mGmCmGmCmGm CmAmGmGmUmCfUmGm CmUmGmGmUmA*mC*m C	256
122	1503	TACCAGCA GACCTGCG CGCA (SEQ ID NO: 194)	비변형됨: UACCAGCAGACCUGC GCGCAA 변형됨 (MS4-225): mU*mA*mCmCmAmGf CmAfGfAfCmCmUmGm CmGmCmGmCmAmA	225	비변형됨: UUGCGCGCAGGUCUGC UGGUACC 변형됨 (MAS4-256): fU*fU*mGmCmGfCmGfCf AmGmGmUmCfUmGfCm UmGmGmUmA*mC*mC	256
123	1503	TACCAGCA GACCTGCG CGCA (SEQ ID NO: 194)	비변형됨: UACCAGCAGACCUGC GCGCAA 변형됨 (MS6-225): mU*mA*mCmCmAmGf CmAfGfAfCmCmUmGm CfGmCmGfCmAmA	225	비변형됨: UUGCGCGCAGGUCUGC UGGUACC 변형됨 (MAS4-256): fU*fU*mGmCmGfCmGfCf AmGmGmUmCfUmGfCm UmGmGmUmA*mC*mC	256
124	1503	TACCAGCA GACCTGCG CGCA (SEQ ID NO: 194)	비변형됨: UACCAGCAGACCUGC GCGCAA 변형됨 (MS5-225): mU*mA*mCmCmAmGf CmAfGfAfCmCmUmGm CfGfCmGmCmAmA	225	비변형됨: UUGCGCGCAGGUCUGC UGGUACC 변형됨 (MAS2-256): fU*fU*mGmCmGfCmGmC mAmGmGmUmCfUmGfC mUmGmGmUmA*mC*mC	256
125	1503	TACCAGCA GACCTGCG	비변형됨: UACCAGCAGACCUGC GCGCAA	225	비변형됨: UUGCGCGCAGGUCUGC UGGUACC	256

[0382]

		CGCA (SEQ ID NO: 194)	변형됨 (MS4-225): mU*mA*mCmCmAmGfCmAfGfAfCmCmUmGmCmGmCmGmCmAmA		변형됨 (MAS2-256): fU*fU*mGmCmGfCmGmCmAmGmGmUmCfUmGfCmUmGmGmUmA*mC*mC	
126	1503	TACCAGCAGACCTGCGCGCA (SEQ ID NO: 194)	비변형됨: UACCAGCAGACCUGCGCGCAA 변형됨 (MS2-225): mU*mA*mCmCfAmGfCmAfGfAfCmCmUmGmCfGmCmGmCmAmA	225	비변형됨: UUGCGCGCAGGUCUGCUGGUACC 변형됨 (MAS4-256): fU*fU*mGmCmGfCmGfCfAmGmGmUmCfUmGfCmUmGmGmUmA*mC*mC	256
127	1643	AGAGTTACATCTCCTGGATG (SEQ ID NO: 195)	비변형됨: AGAGUUACAUCUCCUGGAUGA 변형됨 (MS3-226): mA*mG*mAmGfUmUmAmCfAfUfCmUmCfCmUmGmGmAfUmGmA	226	비변형됨: UCAUCCAGGAGAUGUAACUCUAA 변형됨 (MAS3-257): fU*fC*mAmUmCmCmAmGmGmAmGmAmUfGmUmAmAmCmUmCmU*mA*mA	257
128	1643	AGAGTTACATCTCCTGGATG (SEQ ID NO: 195)	비변형됨: AGAGUUACAUCUCCUGGAUGA 변형됨 (MS4-226): mA*mG*mAmGmUmUfAmCfAfUfCmUmCmCmUmGmGmAmUmGmA	226	비변형됨: UCAUCCAGGAGAUGUAACUCUAA 변형됨 (MAS4-257): fU*fC*mAmUmCfCmAfGfGmAmGmAmUfGmUfAmAmCmUmCmU*mA*mA	257
129	1643	AGAGTTACATCTCCTGGATG (SEQ ID NO: 195)	비변형됨: AGAGUUACAUCUCCUGGAUGA 변형됨 (MS6-226): mA*mG*mAmGmUmUfAmCfAfUfCmUmCmCmUfGmGmAfUmGmA	226	비변형됨: UCAUCCAGGAGAUGUAACUCUAA 변형됨 (MAS4-257): fU*fC*mAmUmCfCmAfGfGmAmGmAmUfGmUfAmAmCmUmCmU*mA*mA	257
130	1643	AGAGTTACATCTCCTGGATG (SEQ ID NO: 195)	비변형됨: AGAGUUACAUCUCCUGGAUGA 변형됨 (MS5-226): mA*mG*mAmGmUmUfAmCfAfUfCmUmCmCmUfGfGmAmUmGmA	226	비변형됨: UCAUCCAGGAGAUGUAACUCUAA 변형됨 (MAS2-257): fU*fC*mAmUmCfCmAmGmGmAmGmAmUfGmUfAmAmCmUmCmU*mA*mA	257
131	1643	AGAGTTACATCTCCTGGATG (SEQ ID NO: 195)	비변형됨: AGAGUUACAUCUCCUGGAUGA 변형됨 (MS4-226): mA*mG*mAmGmUmUfAmCfAfUfCmUmCmCmUmGmGmAmUmGmA	226	비변형됨: UCAUCCAGGAGAUGUAACUCUAA 변형됨 (MAS2-257): fU*fC*mAmUmCfCmAmGmGmAmGmAmUfGmUfAmAmCmUmCmU*mA*mA	257
132	1643	AGAGTTACATCTCCTGGATG (SEQ ID NO: 195)	비변형됨: AGAGUUACAUCUCCUGGAUGA 변형됨 (MS2-226): mA*mG*mAmGfUmUfAmCfAfUfCmUmCmCmUfGmGmAmUmGmA	226	비변형됨: UCAUCCAGGAGAUGUAACUCUAA 변형됨 (MAS4-257): fU*fC*mAmUmCfCmAfGfGmAmGmAmUfGmUfAmAmCmUmCmU*mA*mA	257
133	1635	CCTGGATTAGAGTTACATCT (SEQ ID NO: 196)	비변형됨: CCUGGAUUAGAGUUACAUCUA 변형됨 (MS3-227):	227	비변형됨: UAGAUGUAACUCUAAUCCAGGUU 변형됨 (MAS3-258):	258

[0383]

			mC*mC*mUmGfGmAmUmUfAfGfAmGmUfUmAmCmAmUfCmUmA		fU*fA*mGmAmUmGmUmAmAmCmUmCmUfAmAmUmCmCmAmGmG*mU*mU	
134	1650	CATCTCCTGGATGATTAGTT (SEQ ID NO: 197)	비변형됨: CAUCUCCUGGAUGAUUAGUUA 변형됨 (MS3-228): mC*mA*mUmCfUmCmCmUfGfGfAmUmGfAmUmUmAmGfUmUmA	228	비변형됨: UAACUAAUCAUCCAGGAGAUGUA 변형됨 (MAS3-259): fU*fA*mAmCmUmAmAmUmCmAmUmCmCfAmGmGmAmGmAmUmG*mU*mA	259
135	1638	GGATTAGAGTTACATCTCCT (SEQ ID NO: 198)	비변형됨: GGAUUAGAGUUACAUCUCCUA 변형됨 (MS3-229): mG*mG*mAmUfUmAmGmAfGfUfUmAmCfAmUmCmUmCfCmUmA	229	비변형됨: UAGGAGAUGUAACUCUAAUCCAG 변형됨 (MAS3-260): fU*fA*mGmGmAmGmAmUmGmUmAmAmCfUmCmUmAmAmUmCmC*mA*mG	260
136	1566	TGTGCCCTTGTTCTTCCGTG (SEQ ID NO: 199)	비변형됨: UGUGCCCUUGUUCUUCCGUGA 변형됨 (MS3-230): mU*mG*mUmGfCmCmCmUfUfGfUmUmCfUmUmCmCmGfUmGmA	230	비변형됨: UCACGGAAGAACAAGGGCACAGA 변형됨 (MAS3-261): fU*fC*mAmCmGmGmAmAmGmAmAmCmAfAmGmGmGmCmAmCmA*mG*mA	261
137	1576	TTCTTCCGTGAAATTCTGGC (SEQ ID NO: 200)	비변형됨: UUCUUCCGUGAAAUUCUGGCA 변형됨 (MS3-231): mU*mU*mCmUfUmCmCmGfUfGfAmAmAfUmUmCmUmGfGmCmA	231	비변형됨: UGCCAGAAUUUCACGGAAGAACA 변형됨 (MAS3-262): fU*fG*mCmCmAmGmAmAmUmUmUmCmAfCmGmGmAmAmGmAmA*mC*mA	262
138	1621	GCTGTCTAGGCAAACCTGGA (SEQ ID NO: 201)	비변형됨: GCUGUCUAGGCAAACCUGGAA 변형됨 (MS3-232): mG*mC*mUmGfUmCmUmAfGfGfCmAmAfAmCmCmUmGfGmAmA	232	비변형됨: UUCCAGGUUUGCCUAGACAGCGU 변형됨 (MAS3-263): fU*fU*mCmCmAmGmGmUmUmUmGmCmCfUmAmGmAmCmAmGmC*mG*mU	263
139	1649	ACATCTCCTGGATGATTAGT (SEQ ID NO: 202)	비변형됨: ACAUCUCCUGGAUGAUUAGUA 변형됨 (MS3-233): mA*mC*mAmUfCmUmCmCfUfGfGmAmUfGmAmUmUmAfGmUmA	233	비변형됨: UACUAAUCAUCCAGGAGAUGUAA 변형됨 (MAS3-264): fU*fA*mCmUmAmAmUmCmAmUmCmCmAfGmGmAmGmAmUmG*mA*mA	264
140	1639	GATTAGAGTTACATCTCCTG (SEQ ID NO: 203)	비변형됨: GAUUAGAGUUACAUCUCCUGA 변형됨 (MS3-234): mG*mA*mUmUfAmGmAmGfUfUfAmCmAfUmCmUmCmCfUmGmA	234	비변형됨: UCAGGAGAUGUAACUCUAAUCCA 변형됨 (MAS3-265): fU*fC*mAmGmGmAmGmAmUmGmUmAmAfCmUmCmUmAmAmUmCmC*mA	265

[0384]

141	1588	ATTCTGGCTGAATGTCTCCC (SEQ ID NO: 204)	비변형됨: AUUCUGGCUGAAUGUCUCCCA 변형됨 (MS3-235): mA*mU*mUmCfUmGmGmCfUfGfAmAmUfGmUmCmUmCfCmCmA	235	비변형됨: UGGGAGACAUUCAGCCAGAAUUU 변형됨 (MAS3-266): fU*fG*mGmGmAmGmAmCmAmUmUmCmAfGmCmCmAmGmAmAmU*mU*mU	266

[0385]

[0386] "m"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "f"는 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0387] † 표 8에 제공된 올리고뉴클레오티드 및/또는 표적 서열 중 어느 하나 내의 각각의 우라실 염기 (U)는 독립적으로 및 임의로 티민 염기 (T)로 대체될 수 있고/거나, 각각의 T는 독립적으로 및 임의로 U로 대체될 수 있다. 표 8에 열거된 표적 서열은 T를 함유하지만, RNA 및/또는 DNA에 대한 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 결합

이 고려된다.

[0388] ^ 표적 서열 시작 위치는 NM_001306068.3 (서열식별번호: 161)에 있다.

[0389] ‡ 서열식별번호로 표시된 것과 동일한 핵염기 서열을 갖는 센스 및 안티센스 가닥을 갖는 표 8에 제공된 siRNA 올리고뉴클레오티드는 상이한 변형 패턴을 가질 수 있다. 변형된 센스 및 안티센스 가닥은 각각 "MS#" 또는 "MAS#"로 표시된다. 표 8에 제공된 siRNA 올리고뉴클레오티드는 5'-(E)-비닐포스포네이트 변형이 없는 안티센스 가닥을 포함한다. 그러나, 5'-(E)-비닐포스포네이트 변형이 있는 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드가 또한 고려되고, 동일한 MAS#이되 MAS# 앞에 "VP"가 있도록 (즉, VP-MAS#) 본원에서 나타내어진다. 표 8에 제공된 siRNA 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥의 5' 또는 3' 뉴클레오시드에서 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물에 접합될 수 있다.

[0390] 표 9. siRNA의 추가의 비제한적 예[†‡]

siRNA 번호	표적 출발 위치 ^	표적 서열	센스 가닥 (5'-3')	SEQ ID NO	안티센스 가닥 (5'-3')	SEQ ID NO
142	1659	GATGATTAGTTCAGAGATAT (SEQ ID NO: 189)	비변형됨: GAUGAUUAGUUCAGAGAUAUA 변형됨 (MS7-220): mG*mA*mUmGmAmUfUmAfGfUfUmCmAmGmAmGmAmUmA*mU*mA	220	비변형됨: UAUAUCUCUGAACUAAUCAUCCA 변형됨 (VP-MAS6-251): VP-mU*fA*mUmAmUfCmUfCfUmGmAmAmCfUmAfAmUmCmAmUmC*mC*mA	251
143	1641	TTAGAGTTACATCTCCTGGA (SEQ ID NO: 190)	비변형됨: UUAGAGUUACAUCUCCUGGAA 변형됨 (MS8-221): mU*mU*mAmGfAmGmUmUfAfCfAmUmCfUmCmCmUmGfG*mA*mA	221	비변형됨: UUCCAGGAGAUGUAACUCUAAUC 변형됨 (VP-MAS7-252): VP-mU*fU*mCmCmAmGmGmAmGmAmUmGmUfAmAmCmUmCmUmAmA*mU*mC	252
144	1631	CAAACCTGGATTAGAGTTAC (SEQ ID NO: 191)	비변형됨: CAAACCUGGAUUAGAGUUACA 변형됨 (MS7-222): mC*mA*mAmAmCmCfUmGfGfAfUmUmAmGmAmGmUmUmA*mC*mA	222	비변형됨: UGUAACUCUAAUCCAGGUUUGCC 변형됨 (VP-MAS6-253): VP-mU*fG*mUmAmAfCmUfCfUmAmAmUmCfCmAfGmGmUmUmUmG*mC*mC	253
145	1576	TTCTTCCGTGAAATTCTGGC (SEQ ID NO: 200)	비변형됨: UUCUUCCGUGAAAUUCUGGCA 변형됨 (MS8-231): mU*mU*mCmUfUmCmCmGfUfGfAmAmAfUmUmCmUmGfG*mC*mA	231	비변형됨: UGCCAGAAUUUCACGGAAGAACA 변형됨 (VP-MAS7-262): VP-mU*fG*mCmCmAmGmAmAmUmUmUmCmAfCmGmGmAmAmGmAmA*mC*mA	262
146	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS9-217): mU*mA*mGmGfCmAfAmAfCfCfUmGmGmA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (VP-MAS6-248): VP-mU*fC*mUmCmUfAmAf	248

[0391]

			mUfUmAmGmA*mG*mA		UfCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	
147	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS7-217): mU*mA*mGmGmCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUmUmAmGmA*mG*mA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (VP-MAS6-248): VP-mU*fC*mUmCmUfAmAfUfCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	248
148	1627	TAGGCAAACCTGGATTAGAG (SEQ ID NO: 186)	비변형됨: UAGGCAAACCUGGAUUAGAGA 변형됨 (MS7-217): mU*mA*mGmGmCmAfAmAfCfCfUmGmGmAmUmUmAmGmA*mG*mA	217	비변형됨: UCUCUAAUCCAGGUUUGCCUAGA 변형됨 (VP-MAS5-248): VP-mU*fC*mUmCmUfAmAmUmCmCmAmGmGfUmUfUmGmCmCmUmA*mG*mA	248

[0392]

[0393] "m"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "f"는 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. "VP"는 5'-(E)-비닐포스포네이트를 나타낸다.

[0394] † 표 9에 제공된 올리고뉴클레오티드 및/또는 표적 서열 중 어느 하나 내의 각각의 우라실 염기 (U)는 독립적으로 및 임의로 티민 염기 (T)로 대체될 수 있고/거나, 각각의 T는 독립적으로 및 임의로 U로 대체될 수 있다. 표 9에 열거된 표적 서열은 T를 함유하지만, RNA 및/또는 DNA에 대한 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 결합이 고려된다.

[0395] ^ 표적 서열 시작 위치는 NM_001306068.3 (서열식별번호: 161)에 있다.

[0396] ‡ 서열식별번호로 표시된 것과 동일한 핵염기 서열을 갖는 센스 및 안티센스 가닥을 갖는 표 9에 제공된 siRNA 올리고뉴클레오티드는 상이한 변형 패턴을 가질 수 있다. 변형된 센스 및 안티센스 가닥은 각각 "MS#" 또는 "MAS#"로 표시된다. 표 9에 제공된 siRNA 올리고뉴클레오티드는 MAS# 앞의 "VP" (즉, VP-MAS#)로 나타내어지는, 5'-(E)-비닐포스포네이트 변형을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 5'-(E)-비닐포스포네이트 변형이 없는 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드가 또한 고려되고, "VP"가 없는 동일한 MAS#로 본원에서 나타내어진다. 표 9에 제공된 siRNA 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥의 5' 또는 3' (예를 들어, 5') 뉴클레오시드에서 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물에 접합될 수 있다.

[0397] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 18-25개 뉴클레오시드 (예를 들어, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개 뉴클레오시드) 길이이고, 서열식별번호: 174-235 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하며, 여기서 상보성 영역은 적어도 16개 뉴클레오티드 (예를 들어, 16, 17, 18 또는 19개 뉴클레오티드) 길이인 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 23개 뉴클레오티드 길이이고, 서열식별번호: 174-235 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하며, 여기서 상보성 영역은 20개 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 그의 표적 서열의 모두 또는 부분과 완전히 상보성이다. 일부 실시양태에서, 상보성 영역은 1, 2, 3개 또는 그 초과의 미스매치를 포함한다.

[0398] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열의 적어도 15개 (예를 들어, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19 또는 적어도 20개)의 연속 뉴클레오시드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열의 적어도 15개 (예를 들어, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19 또는 적어도 20개)의 연속 뉴클레오시드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0399] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0400] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 안티센스 가닥에 혼성화하고 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, siRNA)이며, 여기서 안티센스 가닥 및/또는 (예를 들어, 및)은 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드 (예를 들어, 2'-변형된 뉴클레오시드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드는 2'-O-Me 및 2'-F 변형된 뉴클레오시드로부터 선택된다.

[0401] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 안티센스 가닥에 혼성화하고 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, siRNA)이며, 여기서 안티센스 가닥 내의 각각의 뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 센스 가닥 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-O-Me 및 2'-F 변형된 뉴클레오시드로부터 선택된 2'-변형된 뉴클레오시드이다.

[0402] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 안티센스 가닥에 혼성화하고 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, siRNA)이며, 여기서 안티센스 가닥 내의 각각의 뉴클레오시드 및 센스 가닥 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-O-Me 및 2'-F 변형된 뉴클레오시드로부터 선택된 2'-변형된 뉴클레오시드이고, 여기서 안티센스 가닥 및/또는 (예를 들어, 및) 센스 가닥 각각은 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 어떠한 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결도 포함하지 않고 (센스 가닥 내의 모든 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결임), 안티센스 가닥은 1, 2 또는 3개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하고, 안티센스 가닥은 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하고, 안티센스 가닥은 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다.

[0403] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하고, 임의로 여기서 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이고, 안티센스 가닥 내의 나머지 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하고, 임의로 여기서 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결 및 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이고, 안티센스 가닥 내의 나머지 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하고, 임의로 여기서 센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이고, 센스 가닥 내의 나머지 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결 및 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이고, 센스 가닥 내의 나머지 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결이다.

[0404] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS1"로 지칭됨): fN*fN*mNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmN*fN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 안티센스 가닥 MAS1-236, MAS1-237 및 MAS1-238은 이 구조를 포함한다.

[0405] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS2"로 지칭됨): fN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 안티센스 가닥 MAS2-236, MAS2-237, MAS2-238, MAS2-239, MAS2-240, MAS2-241, MAS2-242, MAS2-243, MAS2-244, MAS2-245, MAS2-246, MAS2-247, MAS2-248, MAS2-249, MAS2-250, MAS2-251, MAS2-252, MAS2-253, MAS2-254, MAS2-255, MAS2-256 및 MAS2-257은 이 구조를

포함한다.

[0406] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS3"으로 지칭됨): fN*fN*mNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 안티센스 가닥 MAS3-236, MAS3-237, MAS3-238, MAS3-239, MAS3-240, MAS3-241, MAS3-242, MAS3-243, MAS3-244, MAS3-245, MAS3-246, MAS3-247, MAS3-248, MAS3-249, MAS3-250, MAS3-251, MAS3-252, MAS3-253, MAS3-254, MAS3-255, MAS3-256, MAS3-257, MAS3-258, MAS3-259, MAS3-260, MAS3-261, MAS3-262, MAS3-263, MAS3-264, MAS3-265 및 MAS3-266은 이 구조를 포함한다.

[0407] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS4"로 지칭됨): fN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 안티센스 가닥 MAS4-236, MAS4-237, MAS4-238, MAS4-239, MAS4-240, MAS4-241, MAS4-242, MAS4-243, MAS4-244, MAS4-245, MAS4-246, MAS4-247, MAS4-248, MAS4-249, MAS4-250, MAS4-251, MAS4-252, MAS4-253, MAS4-254, MAS4-255, MAS4-256 및 MAS4-257은 이 구조를 포함한다.

[0408] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS5"로 지칭됨): mN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0409] 일부 실시양태에서, MAS5 구조는 5' 비닐포스포네이트 (예를 들어, 5'-(E)-비닐포스포네이트) 변형 (5'에서 3'로; 본원에서 "VP-MAS5"로 지칭됨): VP- mN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN을 추가로 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; VP는 5'-(E)-비닐포스포네이트를 나타낸다. 예를 들어, 표 9에서, 안티센스 가닥 VP-MAS5-248은 이 구조를 포함한다.

[0410] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS6"으로 지칭됨): mN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0411] 일부 실시양태에서, MAS6 구조는 5' 비닐포스포네이트 (예를 들어, 5'-(E)-비닐포스포네이트) 변형 (5'에서 3'로; 본원에서 "VP-MAS6"으로 지칭됨): VP- mN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN을 추가로 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; VP는 5'-(E)-비닐포스포네이트를 나타낸다. 예를 들어, 표 9에서, 안티센스 가닥 VP-MAS6-251, VP-MAS6-253 및 VP-MAS6-248은 이 구조를 포함한다.

[0412] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MAS7"로 지칭됨): mN*fN*mNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0413] 일부 실시양태에서, MAS7 구조는 5' 비닐포스포네이트 (예를 들어, 5'-(E)-비닐포스포네이트) 변형 (5'에서 3'로; 본원에서 "VP-MAS7"로 지칭됨): VP-mN*fN*mNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN을 추가로 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된

뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; VP는 5'-(E)-비닐포스포네이트를 나타낸다. 예를 들어, 표 9에서, 안티센스 가닥 VP-MAS7-252 및 VP-MAS7-262는 이 구조를 포함한다.

[0414] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS1"로 지칭됨): mN*mN*fNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 센스 가닥 MS1-205, MS1-206 및 MS1-207은 이 구조를 포함한다.

[0415] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS2"로 지칭됨): mN*mN*mNmNfNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 센스 가닥 MS2-208, MS2-209, MS2-210, MS2-211, MS2-212, MS2-213, MS2-214, MS2-215, MS2-216, MS2-217, MS2-218, MS2-219, MS2-220, MS2-221, MS2-222, MS2-223, MS2-224, MS2-225 및 MS2-226은 이 구조를 포함한다.

[0416] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS3"으로 지칭됨): mN*mN*mNmNfNmNmNmNfNfNfNmNmNfNmNmNmNmNfNmNmN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 센스 가닥 MS3-205, MS3-206, MS3-207, MS3-208, MS3-209, MS3-210, MS3-211, MS3-212, MS3-213, MS3-214, MS3-215, MS3-216, MS3-217, MS3-218, MS3-219, MS3-220, MS3-221, MS3-222, MS3-223, MS3-224, MS3-225, MS3-226, MS3-227, MS3-228, MS3-229, MS3-230, MS3-231, MS3-232, MS3-233, MS3-234 및 MS3-235는 이 구조를 포함한다.

[0417] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS4"로 지칭됨): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 센스 가닥 MS4-205, MS4-206, MS4-207, MS4-208, MS4-209, MS4-210, MS4-211, MS4-212, MS4-213, MS4-214, MS4-215, MS4-216, MS4-217, MS4-218, MS4-219, MS4-220, MS4-221, MS4-222, MS4-223, MS4-224, MS4-225 및 MS4-226은 이 구조를 포함한다.

[0418] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS5"로 지칭됨): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNfNmNmNmNmN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 센스 가닥 MS5-205, MS5-206, MS5-207, MS5-208, MS5-209, MS5-210, MS5-211, MS5-212, MS5-213, MS5-214, MS5-215, MS5-216, MS5-217, MS5-218, MS5-219, MS5-220, MS5-221, MS5-222, MS5-223, MS5-224, MS5-225 및 MS5-226은 이 구조를 포함한다.

[0419] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS6"으로 지칭됨): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNfNmNmN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 8에서, 센스 가닥 MS6-205, MS6-206, MS6-207, MS6-208, MS6-209, MS6-210, MS6-211, MS6-212, MS6-213, MS6-214, MS6-215, MS6-216, MS6-217, MS6-218, MS6-219, MS6-220, MS6-221, MS6-222, MS6-223, MS6-224, MS6-225 및 MS6-226은 이 구조를 포함한다.

[0420] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS7"로 지칭됨): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스

포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 9에서, 센스 가닥 MS7-220, MS7-222 및 MS7-217은 이 구조를 포함한다.

[0421] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS8"로 지칭됨): mN*mN*mNmNfNmNmNmNfNfNfNmNmNfNmNmNmNmNfN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 9에서, 센스 가닥 MS8-221 및 MS8-231은 이 구조를 포함한다.

[0422] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 (5'에서 3'로; 본원에서 "MS9"로 지칭됨): mN*mN*mNmNfNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 예를 들어, 표 9에서, 센스 가닥 MS9-217은 이 구조를 포함한다.

[0423] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 서열식별번호: 236-266의 변형된 버전 (예를 들어, MAS1-MAS4)으로부터 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 MAS1-236, MAS1-237, MAS1-238, MAS2-236, MAS2-237, MAS2-238, MAS2-239, MAS2-240, MAS2-241, MAS2-242, MAS2-243, MAS2-244, MAS2-245, MAS2-246, MAS2-247, MAS2-248, MAS2-249, MAS2-250, MAS2-251, MAS2-252, MAS2-253, MAS2-254, MAS2-255, MAS2-256, MAS2-257, MAS3-236, MAS3-237, MAS3-238, MAS3-239, MAS3-240, MAS3-241, MAS3-242, MAS3-243, MAS3-244, MAS3-245, MAS3-246, MAS3-247, MAS3-248, MAS3-249, MAS3-250, MAS3-251, MAS3-252, MAS3-253, MAS3-254, MAS3-255, MAS3-256, MAS3-257, MAS3-258, MAS3-259, MAS3-260, MAS3-261, MAS3-262, MAS3-263, MAS3-264, MAS3-265, MAS3-266, MAS4-236, MAS4-237, MAS4-238, MAS4-239, MAS4-240, MAS4-241, MAS4-242, MAS4-243, MAS4-244, MAS4-245, MAS4-246, MAS4-247, MAS4-248, MAS4-249, MAS4-250, MAS4-251, MAS4-252, MAS4-253, MAS4-254, MAS4-255, MAS4-256 및 MAS4-257로부터 선택된다.

[0424] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 서열식별번호: 236-266의 변형된 버전 (예를 들어, MAS5-MAS7)으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 서열식별번호: 251, 253, 262, 248 및 252의 변형된 버전 (예를 들어, MAS5, MAS6, MAS7, VP-MAS5, VP-MAS6 및 VP-MAS7)으로부터 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 VP-MAS6-251, VP-MAS7-252, VP-MAS6-253, VP-MAS7-262, VP-MAS6-248 및 VP-MAS5-248로부터 선택된다.

[0425] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 표 8에 열거된 서열식별번호: 205-235의 변형된 버전 (예를 들어, MS1-MS6)으로부터 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 MS1-205, MS1-206, MS1-207, MS2-208, MS2-209, MS2-210, MS2-211, MS2-212, MS2-213, MS2-214, MS2-215, MS2-216, MS2-217, MS2-218, MS2-219, MS2-220, MS2-221, MS2-222, MS2-223, MS2-224, MS2-225, MS2-226, MS3-205, MS3-206, MS3-207, MS3-208, MS3-209, MS3-210, MS3-211, MS3-212, MS3-213, MS3-214, MS3-215, MS3-216, MS3-217, MS3-218, MS3-219, MS3-220, MS3-221, MS3-222, MS3-223, MS3-224, MS3-225, MS3-226, MS3-227, MS3-228, MS3-229, MS3-230, MS3-231, MS3-232, MS3-233, MS3-234, MS3-235, MS4-205, MS4-206, MS4-207, MS4-208, MS4-209, MS4-210, MS4-211, MS4-212, MS4-213, MS4-214, MS4-215, MS4-216, MS4-217, MS4-218, MS4-219, MS4-220, MS4-221, MS4-222, MS4-223, MS4-224, MS4-225, MS4-226, MS5-205, MS5-206, MS5-207, MS5-208, MS5-209, MS5-210, MS5-211, MS5-212, MS5-213, MS5-214, MS5-215, MS5-216, MS5-217, MS5-218, MS5-219, MS5-220, MS5-221, MS5-222, MS5-223, MS5-224, MS5-225, MS5-226, MS6-205, MS6-206, MS6-207, MS6-208, MS6-209, MS6-210, MS6-211, MS6-212, MS6-213, MS6-214, MS6-215, MS6-216, MS6-217, MS6-218, MS6-219, MS6-220, MS6-221, MS6-222, MS6-223, MS6-224, MS6-225 및 MS6-226으로부터 선택된다.

[0426] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 표 8에 열거된 서열식별번호: 205-235의 변형된 버전 (예를 들어, MS7-MS9)으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥은 표 9에 열거된 서열식별번호: 220, 222, 231, 217 및 221의 변형된 버전 (예를 들어, MS7-MS9)으로부터 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 MS7-220, MS8-221, MS7-222, MS8-231, MS9-217 및 MS7-217로부터 선택된다.

[0427] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 본원에 기재된 안티센스 가닥 구조 (예를 들어, MAS1-

MAS4, 그의 핵염기 서열과 무관하게) 중 어느 하나를 포함하는 안티센스 가닥 및 본원에 기재된 센스 가닥 구조 (예를 들어, MS1-MS6, 그의 핵염기 서열과 무관하게) 중 어느 하나를 포함하는 센스 가닥을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 본원에 기재된 안티센스 가닥 구조 (예를 들어, MAS5, MAS6, MAS7, VP-MAS5, VP-MAS6 및 VP-MAS7, 그의 핵염기 서열과 무관하게) 중 어느 하나를 포함하는 안티센스 가닥 및 본원에 기재된 센스 가닥 구조 (예를 들어, MS7-MS9, 그의 핵염기 서열과 무관하게) 중 어느 하나를 포함하는 센스 가닥을 포함할 수 있다.

[0428] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS3): fN*fN*mNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS3): mN*mN*mNmNfNmNmNmNfNfNfNmNmNfNmNmNmNmNfNmNmN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0429] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS4): fN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS4): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0430] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS4): fN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS6): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNfNmNmN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0431] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS2): fN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS5): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNfNmNmNmNmN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0432] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS2): fN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS4): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0433] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS1): fN*fN*mNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmN*fN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS1): mN*mN*fNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfNmNfN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0434] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS4): fN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS2): mN*mN*mNmNfNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0435] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS5): mN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS7): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0436] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS6): mN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS7): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0437] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS7): mN*fN*mNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS8): mN*mN*mNmNfNmNmNmNfNfNfNmNmNfNmNmNmNmNfN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0438] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; MAS6): mN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS9): mN*mN*mNmNfNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; VP-MAS5): VP-mN*fN*mNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS7): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0439] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; VP-MAS6): VP-mN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS7): mN*mN*mNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0440] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; VP-MAS7): VP-mN*fN*mNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS8): mN*mN*mNmNfNmNmNmNfNfNfNmNmNfNmNmNmNmNfN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다.

[0441] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 (5'에서 3'로; VP-MAS6): VP-mN*fN*mNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 안티센스 가닥 및 (5'에서 3'로; MS9): mN*mN*mNmNfNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNfNmNmNmN*mN*mN의 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 여기서 "mN"은 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "fN"은 2'-플루오로 (2'-F) 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "*"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 나타내고; 2개의 뉴클레오시드 사이의 "*"의 부재는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는 표 8에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드는

표 9에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA이다.

[0442] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에서의 siRNA로부터 선택된 siRNA) 중 어느 하나는 염 형태, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 마그네슘 염일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에서의 siRNA로부터 선택된 siRNA) 중 어느 하나는 염 형태, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 마그네슘 염일 수 있다.

[0443] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 임의로 스페이서를 통해 아민 기에 접합된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 임의로 스페이서를 통해 아민 기에 접합된다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 지방족 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 포스포디에스테르 연결은 스페이서와 올리고뉴클레오티드의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 사이에 존재한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, $-N(R^A)-$, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, $-C(=O)NR^A-$, $-NR^AC(=O)-$, $-NR^AC(=O)R^A-$, $-C(=O)R^A-$, $-NR^AC(=O)O-$, $-NR^AC(=O)N(R^A)-$, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, $-OC(=O)N(R^A)-$, $-S(O)_2NR^A-$, $-NR^AS(O)_2-$ 또는 그의 조합인 스페이서에 접합되고; 각각의 R^A는 독립적으로 수소 또는 치환 또는 비치환된 알킬이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 임의의 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 (예를 들어, 말단 뉴클레오시드)는 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, $-N(R^A)-$, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, $-C(=O)NR^A-$, $-NR^AC(=O)-$, $-NR^AC(=O)R^A-$, $-C(=O)R^A-$, $-NR^AC(=O)O-$, $-NR^AC(=O)N(R^A)-$, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, $-OC(=O)N(R^A)-$, $-S(O)_2NR^A-$, $-NR^AS(O)_2-$ 또는 그의 조합인 스페이서에 접합되고; 각각의 R^A는 독립적으로 수소 또는 치환 또는 비치환된 알킬이다.

[0444] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드, 센스 또는 안티센스 가닥) 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드는 화학식 $-NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물에 접합되고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드, 센스 또는 안티센스 가닥) 중 어느 하나의 5' 또는 3' 뉴클레오시드는 화학식 $-NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물에 접합되고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수이다. 일부 실시양태에서, n은 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다. 특정한 실시양태에서, n은 6이다. 일부 실시양태에서, 포스포디에스테르 연결은 화학식 $NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드, 센스 또는 안티센스 가닥)의 5' 또는 3' 뉴클레오시드 사이에 존재하고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수이다. 일부 실시양태에서, n은 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12이다. 특정한 실시양태에서, n은 6이다.

[0445] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 센스 가닥의 5' 뉴클레오시드는 화학식 $-NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물에 접합되고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수 (예를 들어, 6)이다.

[0446] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 센스 가닥의 5' 뉴클레오시드는 화학식 $-NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물에 접합되고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수 (예를 들어, 6)이다.

[0447] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어느 하나의 센스 가닥의 3' 뉴클레오시드는 화학식 $-NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물에 접합되고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수 (예를 들어, 6)이다.

[0448] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드) 중 어

느 하나의 센스 가닥의 3' 뉴클레오시드는 화학식 $-NH_2-(CH_2)_n-$의 화합물에 접합되고, 여기서 n은 1 내지 12의 정수 (예를 들어, 6)이다.

[0449] 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트 (예를 들어, 센스 또는 안티센스 가닥의 5' 포스페이트) 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 센스 가닥의 5' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 센스 가닥의 5' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 안티센스 가닥의 5' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 안티센스 가닥의 5' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드의 3' 포스페이트 (예를 들어, 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 포스페이트) 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 센스 가닥의 3' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 센스 가닥의 3' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 안티센스 가닥의 3' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 화학식 $NH_2-(CH_2)_6-$의 화합물은 6-아미노-1-헥산올 ($NH_2-(CH_2)_6-OH$)과 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)의 안티센스 가닥의 3' 포스페이트 사이의 반응을 통해 올리고뉴클레오티드에 접합된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적화제, 예를 들어 근육 표적화제, 예컨대 항-TfR1 항체에, 예를 들어 아민 기를 통해 접합된다.

[0450] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8 또는 표 9에 열거된 siRNA 분자)는, 예를 들어 다른 공지된 DUX4-표적화 siRNA와 비교하여 감소된 오프-타겟 효과를 갖는다.

[0451] C. 링커

[0452] 본원에 기재된 복합체는 일반적으로 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나를 분자 페이로드에 공유 연결하는 링커를 포함한다. 링커는 적어도 1개의 공유 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체를 분자 페이로드에 공유 연결하는 단일 결합, 예를 들어 디술피드 결합 또는 디술피드 가교일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 어느 하나를 다수의 공유 결합을 통해 분자 페이로드에 공유 연결할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 절단가능한 링커일 수 있다. 그러나, 일부 실시양태에서, 링커는 비-절단가능한 링커일 수 있다. 링커는 전형적으로 시험관내 및 생체내에서 안정하고, 특정 세포 환경에서 안정할 수 있다. 추가적으로, 전형적으로 링커는 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드의 기능적 특성에 부정적인 영향을 미치지 않는다. 링커의 합성의 예 및 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Kline, T. et al. "Methods to Make Homogenous Antibody Drug Conjugates." Pharmaceutical Research, 2015, 32:11, 3480-3493.; Jain, N. et al. "Current ADC Linker Chemistry" Pharm Res. 2015, 32:11, 3526-3540.; McCombs, J.R. and Owen, S.C. "Antibody Drug Conjugates: Design and Selection of Linker, Payload and Conjugation Chemistry" AAPS J. 2015, 17:2, 339-351.] 참조).

[0453] 링커는 전형적으로 항-TfR1 항체 및 분자 페이로드 둘 다에 대한 부착을 허용하는 2개의 상이한 반응성 종을 함유할 것이다. 일부 실시양태에서, 2종의 상이한 반응성 종은 친핵체 및/또는 친전자체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 2종의 상이한 친핵체 또는 친전자체에 특이적인 2종의 상이한 친전자체 또는 친핵체를 함유한다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체의 리신 잔기 또는 시스테인 잔기에 대한 접합을 통해 항-TfR1 항

체에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 말레이미드-함유 링커를 통해 항-TfR1 항체의 시스테인 잔기에 공유 연결되며, 여기서 임의로 말레이미드-함유 링커는 말레이미도카프로일 또는 말레이미도메틸 시클로헥산-1-카르복실레이트 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 3-아릴프로피오니트릴 관능기를 통해 항-TfR1 항체 또는 티올 관능화된 분자 페이로드의 시스테인 잔기에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체의 리신 잔기에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 독립적으로 아미드 결합, 카르바메이트 결합, 히드라지드, 트리아졸, 티오에테르 및/또는 디술피드 결합을 통해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다.

[0454] i. 절단가능한 링커

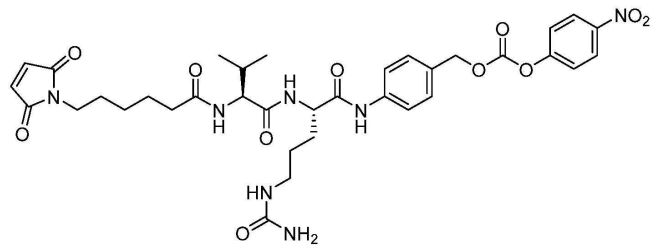
[0455] 절단가능한 링커는 프로테아제-감수성 링커, pH-감수성 링커 또는 글루타티온-감수성 링커일 수 있다. 이들 링커는 전형적으로 세포내에서만 절단가능하고, 바람직하게는 세포외 환경에서, 예를 들어 근육 세포에 대해 세포외에서 안정하다.

[0456] 프로테아제-감수성 링커는 프로테아제 효소적 활성에 의해 절단가능하다. 이들 링커는 전형적으로 펩티드 서열을 포함하고, 2-10개의 아미노산, 약 2-5개의 아미노산, 약 5-10개의 아미노산, 약 10개의 아미노산, 약 5개의 아미노산, 약 3개의 아미노산 또는 약 2개의 아미노산 길이일 수 있다. 일부 실시양태에서, 펩티드 서열은 자연 발생 아미노산, 예를 들어 시스테인, 알라닌, 또는 비-자연 발생 또는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 비-자연 발생 아미노산은 β-아미노산, 호모-아미노산, 프롤린 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 선형 코어 아미노산, N-메틸 아미노산 및 관련 기술분야에 공지된 다른 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 프로테아제-감수성 링커는 발린-시트룰린 또는 알라닌-시트룰린 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 프로테아제-감수성 링커는 리소좀 프로테아제, 예를 들어 카텝신 B 및/또는 (예를 들어, 및) 엔도좀 프로테아제에 의해 절단될 수 있다.

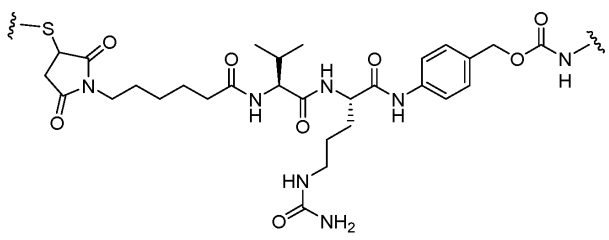
[0457] pH-감수성 링커는 높은 또는 낮은 pH 환경에서 용이하게 분해되는 공유 연결이다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 4 내지 6의 범위의 pH에서 절단될 수 있다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 히드라존 또는 시클릭 아세탈을 포함한다. 일부 실시양태에서, pH-감수성 링커는 엔도좀 또는 리소좀 내에서 절단된다.

[0458] 일부 실시양태에서, 글루타티온-감수성 링커는 디술피드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 글루타티온-감수성 링커는 세포 내부의 글루타티온 종과의 디술피드 교환 반응에 의해 절단된다. 일부 실시양태에서, 디술피드 모이어티는 적어도 1개의 아미노산, 예를 들어 시스테인 잔기를 추가로 포함한다.

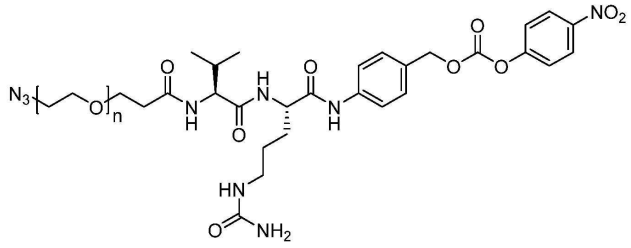
[0459] 일부 실시양태에서, 링커는 발린-시트룰린 서열을 포함한다 (예를 들어, 본원에 참조로 포함된 미국 특허 6,214,345에 기재된 바와 같음). 일부 실시양태에서, 접합 전에, 링커는 하기의 구조를 포함한다:

[0460] 

[0461] 일부 실시양태에서, 접합 후에, 링커는 하기의 구조를 포함한다:

[0462] 

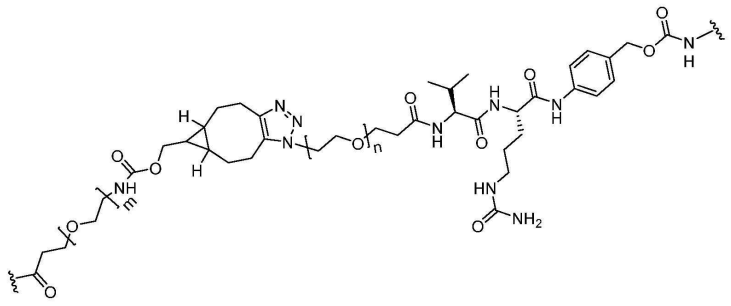
[0463] 일부 실시양태에서, 접합 전에, 링커는 화학식 (A)의 구조를 포함한다:



[0464] (A)

[0465] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이다.

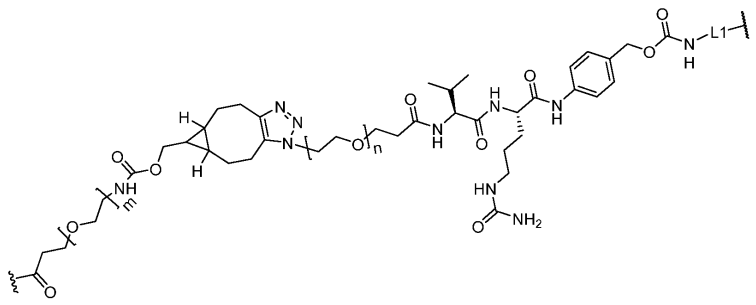
[0466] 일부 실시양태에서, 링커는 화학식 (H)의 구조를 포함한다:



[0467] (H)

[0468] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다.

[0469] 일부 실시양태에서, 링커는 화학식 (I)의 구조를 포함한다:



[0470] (I)

[0471] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다.

[0472] ii. 비-절단가능한 링커

[0473] 일부 실시양태에서, 비-절단가능한 링커가 사용될 수 있다. 일반적으로, 비-절단가능한 링커는 세포 또는 생리학적 환경에서 용이하게 분해될 수 없다. 일부 실시양태에서, 비-절단가능한 링커는 임의로 치환된 알킬 기를 포함하며, 여기서 치환은 할로겐, 히드록실 기, 산소 종 및 다른 통상의 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 임의로 치환된 알킬, 임의로 치환된 알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 헤테로아릴렌, 적어도 1개의 비-천연 아미노산을 포함하는 펩티드 서열, 말단절단된 글리칸, 효소적으로 분해될 수 없는 당 또는 당들, 아지드, 알킨-아지드, LPXT 서열을 포함하는 펩티드 서열, 티오에테르, 비오틴, 비페닐, 폴리에틸렌 글리콜의 반복 단위 또는 등가 화합물, 산 에스테르, 산 아미드, 술파미드 및/또는 알콕시-아민 링커를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 소르타제-매개 라이게이션은 LPXT 서열을 포함하는 항-TfR1 항체를 $(G)_n$ 서열을 포함하는 분자 페이로드에 공유 연결하는 데 이용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Proft T. Sortase-mediated protein ligation: an emerging biotechnology tool for protein modification and immobilization. Biotechnol Lett. 2010, 32(1):1-10.] 참조).

[0474] 일부 실시양태에서, 링커는 치환된 알킬렌, 임의로 치환된 알케닐렌, 임의로 치환된 알키닐렌, 임의로 치환된

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

[0475] iii. 링커 접합

[0476] 일부 실시양태에서, 링커는 포스페이트, 티오에테르, 에테르, 탄소-탄소, 카르바메이트 또는 아미드 결합을 통해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 올리고뉴클레오티드 백본의 포스페이트 또는 포스포로티오에이트 기, 예를 들어 말단 포스페이트를 통해 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체 상에 존재하는 리신 또는 시스테인 잔기를 통해 항-TfR1 항체에 공유 연결된다.

[0477] 일부 실시양태에서, 링커 또는 그의 부분은 아지드와 알킨 사이의 고리화첨가 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결되어 트리아졸을 형성하며, 여기서 아지드 또는 알킨은 항-TfR1 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 알킨은 시클릭 알킨, 예를 들어 시클로옥틴일 수 있다. 일부 실시양태에서, 알킨은 비시클로노닌 (비시클로[6.1.0]노닌 또는 BCN으로도 또한 공지됨) 또는 치환된 비시클로노닌일 수 있다. 일부 실시양태에서, 시클로옥틴은 2011년 11월 3일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2011136645 (발명의 명칭: "융합된 시클로옥틴 화합물 및 금속-무함유 클릭 반응에서의 그의 용도")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 아지드는 아지드를 포함하는 당 또는 탄수화물 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 아지드는 6-아지도-6-데옥시갈락토스 또는 6-아지도-N-아세틸갈락토사민일 수 있다. 일부 실시양태에서, 아지드를 포함하는 당 또는 탄수화물 분자는 2016년 10월 27일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2016170186 (발명의 명칭: "β(1,4)-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제이거나 또는 그로부터 유래된 글리코실트랜스퍼라제를 사용한 당단백질의 변형 방법")에 기재된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 아지드와 알킨 사이의 고리화첨가 반응으로 트리아졸을 형성하며, 여기서 아지드 또는 알킨이 항-TfR1 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다는 것은 2014년 5월 1일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2014065661 (발명의 명칭: "변형된 항체, 항체-접합체 및 그의 제조 방법"); 또는 2016년 10월 27일에 공개된 국제 특허 출원 공개 WO2016170186 (발명의 명칭: "β(1,4)-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제이거나 또는 그로부터 유래된 글리코실트랜스퍼라제를 사용한 당단백질의 변형 방법")에 기재된 바와 같다.

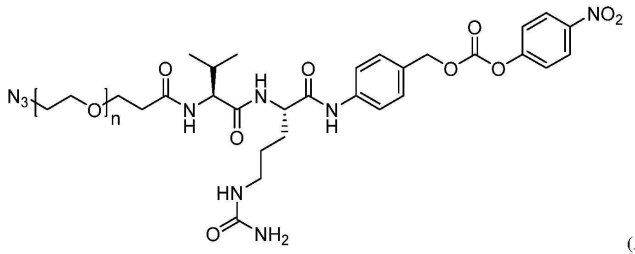
[0478] 일부 실시양태에서, 링커는 스페이서, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 스페이서 또는 아실/카르보모일 술파미드 스페이서, 예를 들어 히드라스페이스(HydraSpace)™ 스페이서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 스페이서는 문헌 [Verkade, J.M.M. et al., "A Polar Sulfamide Spacer Significantly Enhances the Manufacturability, Stability, and Therapeutic Index of Antibody-Drug Conjugates", Antibodies, 2018, 7, 12]에 기재된 바와 같다.

[0479] 일부 실시양태에서, 링커는 친디엔체와 디엔/헤테로-디엔 사이의 딜스-알더 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결되며, 여기서 친디엔체 및 디엔/헤테로-디엔은 항-TfR1 항체, 분자 페이로드 또는 링커 상에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 다른 페리시클릭 반응, 예컨대 엔 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 아미드, 티오아미드 또는 술폰아미드 결합 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 축합 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결되어 링커와 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드 사이에 존재하는 옥심, 히드라존 또는 세미카르바지드 기를 형성한다.

[0480] 일부 실시양태에서, 링커는 친핵체, 예를 들어 아민 또는 히드록실 기와 친전자체, 예를 들어 카르복실산, 카르보네이트 또는 알데히드 사이의 공액 첨가 반응에 의해 항-TfR1 항체 및/또는 (예를 들어, 및) 분자 페이로드에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커와 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 사이의 반응 전에, 친핵체는 링커 상에 존재할 수 있고, 친전자체는 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 상에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커와 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 사이의 반응 전에, 친전자체는 링커 상에 존재할 수 있고, 친핵체는 항-TfR1 항체 또는 분자 페이로드 상에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친전자체는 아지드, 펜타플루오로페닐, 규소 중심, 카르보닐, 카르복실산, 무수물, 이소시아네이트, 티오이소시아네이트, 숙신이미딜 에스테

르, 술포숙신이미딜 에스테르, 말레이미드, 알킬 할라이드, 알킬 슈도할라이드, 에폭시드, 에피술피드, 아지리딘, 아릴, 활성화된 인 중심 및/또는 활성화된 황 중심일 수 있다. 일부 실시양태에서, 친핵체는 임의로 치환된 알켄, 임의로 치환된 알킨, 임의로 치환된 아릴, 임의로 치환된 헤테로시클릴, 히드록실 기, 아미노 기, 알킬아미노 기, 아닐리도 기 및/또는 티올 기일 수 있다.

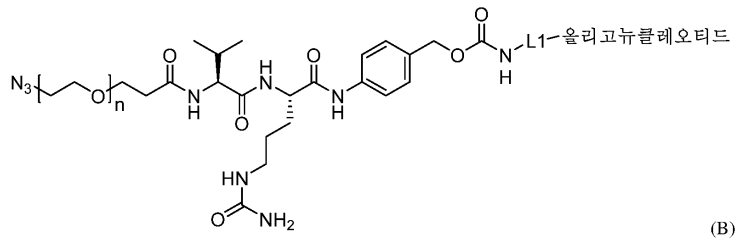
[0481] 일부 실시양태에서, 링커는 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학을 위한 아지드 모이어티 또는 BCN 모이어티)에 공유 연결된 발린-시트룰린 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 반응성 화학적 모이어티 (예를 들어, 클릭 화학을 위한 아지드 모이어티)에 공유 연결된 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커는 화학식 (A)의 구조를 포함한다:



[0482] (A)

[0483] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이다.

[0484] 일부 실시양태에서, 화학식 (A)의 구조를 포함하는 링커는 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 (예를 들어, 임의로 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 이중 가닥 siRNA 올리고뉴클레오티드이고, 화학식 (A)의 구조를 포함하는 링커는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥 (예를 들어, 5' 단부에서)에 (예를 들어, 임의로 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 이중 가닥 siRNA 올리고뉴클레오티드이고, 화학식 (A)의 구조를 포함하는 링커는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥 (예를 들어, 3' 단부에서)에 (예를 들어, 임의로 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (A)의 구조를 포함하는 링커는, 예를 들어 카르바메이트 결합을 형성하는 아민-L1-올리고뉴클레오티드로의 친핵성 치환을 통해 올리고뉴클레오티드에 공유 연결되어, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 생성한다:

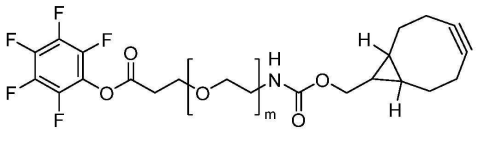


[0485] (B)

[0486] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이다. 일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물의 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥에 (예를 들어, 25-105℃의 어닐링 온도에서) 어닐링된다. 일부 실시양태에서, 어닐링 단계는 25℃-150℃ (예를 들어, 25℃-150℃, 25℃-100℃, 25℃-75℃, 25℃-50℃, 25℃-40℃, 25℃-30℃, 30℃-150℃, 30℃-100℃, 30℃-75℃, 30℃-50℃, 30℃-40℃, 75℃-150℃, 75℃-125℃ 또는 75℃-100℃)의 어닐링 온도에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 어닐링 단계는 100℃의 어닐링 온도에서 수행된다. 예를 들어, 어닐링 반응 혼합물을 100℃에서 (예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10분 또는 그 초과 동안) 인큐베이션하고, 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 어닐링되도록 실온에서 냉각시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 어닐링 단계는 20℃, 21℃, 22℃, 23℃, 24℃, 25℃, 26℃, 27℃, 28℃, 29℃, 30℃, 31℃, 32℃, 33℃, 34℃, 35℃, 36℃, 37℃, 38℃, 39℃, 40℃의 어닐링 온도에서 수행된다. 일부 실시양태에서, 어닐링 단계는 30℃의 어닐링 온도에서 수행된다. 예를 들어, 어닐링 반응 혼합물을 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 어닐링되도록 30℃에서 (예를 들어, 1-24시간, 예컨대 1-24, 5-20, 5-15, 5-10, 1-5, 10-24, 10-20, 10-15, 15-24, 15-20 또는 20-24시간 동안 또는 밤새) 인큐베이션할 수 있다. 일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 5' 단부는 L1에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 3' 단

부는 L1에 공유 연결된다.

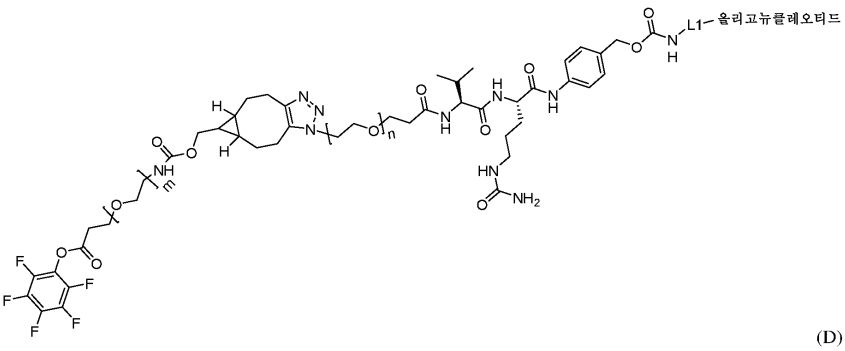
[0487] 일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 화합물은 트리아졸을 통해 추가의 모이어티에 추가로 공유 연결되며, 여기서 트리아졸은 화학식 (A) 또는 화학식 (B)의 아지드와 비시클로노닌 상에 제공된 알킨 사이의 클릭 반응에 의해 형성된다. 일부 실시양태에서, 비시클로노닌을 포함하는 화합물은 화학식 (C)의 구조를 포함한다:

[0488] 

(C)

[0489] 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, m은 4이다. 일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물 사이의 클릭 반응에서, 화학식 (C)의 화합물은 몰 과량으로 (예를 들어, 3:1 또는 4:1의 (C) 대 (B)의 몰비로) 존재한다. 일부 실시양태에서, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물 사이의 클릭 반응에서, 화학식 (B)의 화합물은 몰 과량으로 (예를 들어, 0.9:1 또는 0.85:1의 (C) 대 (B)의 몰비로) 존재한다.

[0490] 일부 실시양태에서, 구조 (B)의 화합물의 아지드는 구조 (C)의 화합물의 알킨과의 클릭 반응을 통해 트리아졸을 형성하여, 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 형성한다:

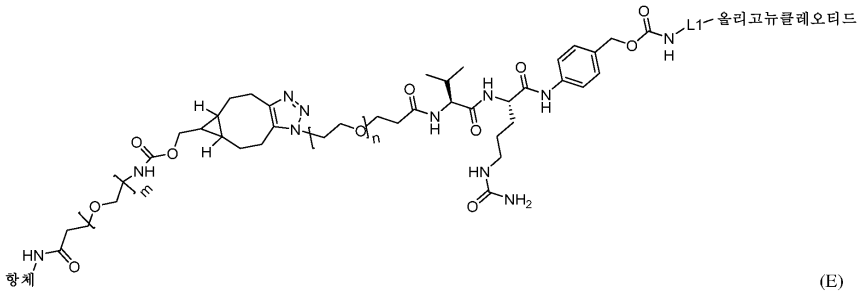
[0491] 

(D)

[0492] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고, m은 4이다. 일부 실시양태에서, 화학식 (D)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 5' 단부는 L1에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (D)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 3' 단부는 L1에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물은 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되기 전에 단리된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물이 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되기 전에 단리되는 경우에, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물 사이의 클릭 반응에서, 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물과 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물 사이의 몰비는 1 초과, 예를 들어 3:1 또는 4:1이다.

[0493] 일부 실시양태에서, 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물은 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되기 전에 단리되지 않는다. 일부 실시양태에서, 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물이 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되기 전에 단리되지 않는 경우에, 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물 사이의 클릭 반응에서, 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물과 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물 사이의 몰비는 1 미만, 예를 들어 0.9:1 또는 0.85:1이다.

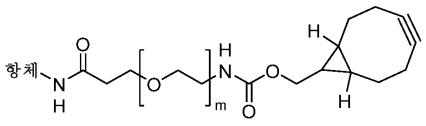
[0494] 일부 실시양태에서, 구조 (D)의 화합물은 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되어, 화학식 (E)의 구조를 포함하는 복합체를 형성한다:

[0495] 

(E)

[0496] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 화학식 (E)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 5' 단부는 L1에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (E)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 3' 단부는 L1에 공유 연결된다.

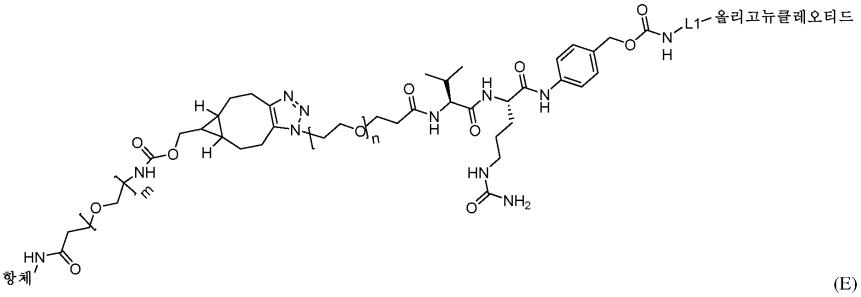
[0497] 일부 실시양태에서, 화학식 (C)의 화합물은 항-TfR1 항체의 리신에 추가로 공유 연결되어, 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 형성한다:

[0498] 

(F)

[0499] 여기서 m은 0-15 (예를 들어, 4)이다. 화학식 (F)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

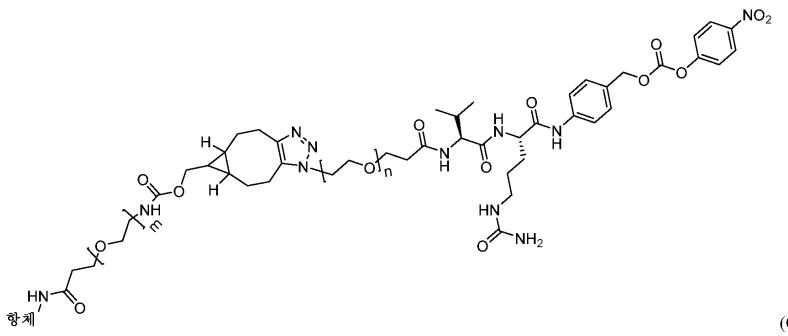
[0500] 일부 실시양태에서, 구조 (B)의 화합물의 아지드는 구조 (F)의 화합물의 알킨과의 클릭 반응을 통해 트리아졸을 형성하여, 화학식 (E)의 구조를 포함하는 복합체를 형성한다:

[0501] 

(E)

[0502] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 화학식 (E)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 5' 단부는 L1에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (E)의 올리고뉴클레오티드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 센스 가닥의 3' 단부는 L1에 공유 연결된다.

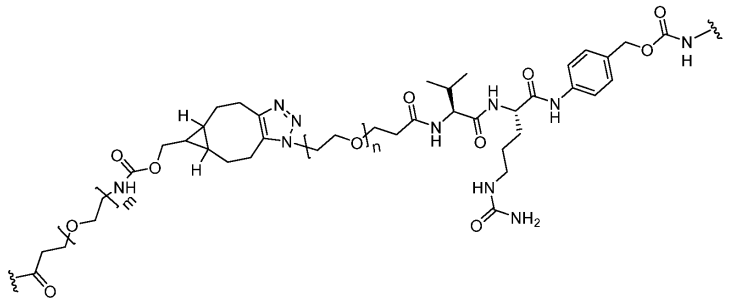
[0503] 일부 실시양태에서, 구조 (A)의 화합물의 아지드는 구조 (F)의 화합물의 알킨과의 클릭 반응을 통해 트리아졸을 형성하여, 화학식 (G)의 구조를 포함하는 화합물을 형성한다:



[0504] (G)

[0505] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화학식 (G)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결되어, 화학식 (E)의 구조를 포함하는 복합체를 형성한다. 화학식 (G)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

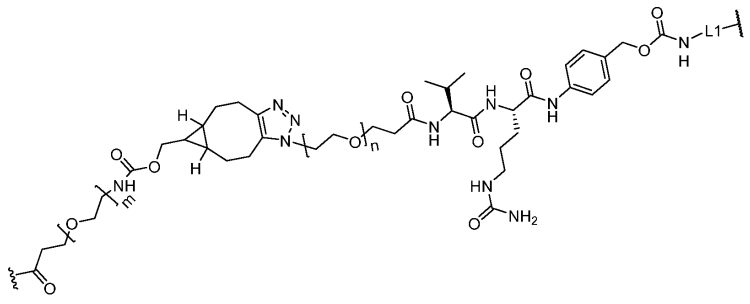
[0506] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나에서, 항-TfR1 항체는 화학식 (H)의 구조를 포함하는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 항-TfR1 항체의 리신을 통해 공유 연결된다:



[0507] (H)

[0508] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다.

[0509] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나에서, 항-TfR1 항체는 화학식 (I)의 구조를 포함하는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 항-TfR1 항체의 리신을 통해 공유 연결된다:

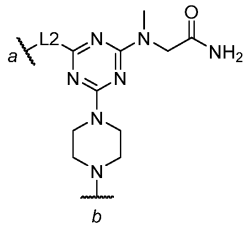


[0510] (I)

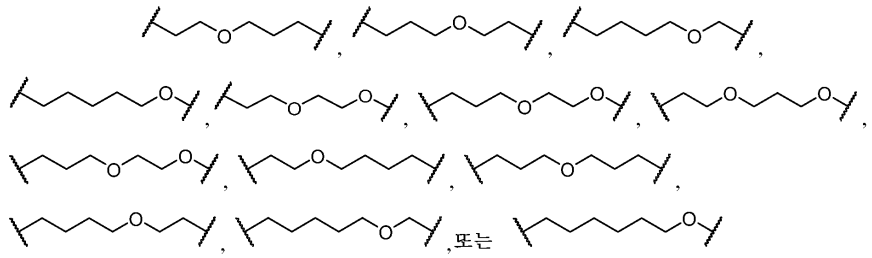
[0511] 여기서 n은 0-10의 임의의 수이고, 여기서 m은 0-10의 임의의 수이다. 일부 실시양태에서, n은 3이고/거나 (예를 들어, 이고), m은 4이다.

[0512] 일부 실시양태에서, 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)에서, L1은 치환 또는 비치환된 지방족, 치환 또는 비치환된 헤테로지방족, 치환 또는 비치환된 카르보시클릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴렌, 치환 또는 비치환된 아릴렌, 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌, -O-, -N(R^A)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^AC(=O)R^A-, -C(=O)R^A-, -NR^AC(=O)O-, -NR^AC(=O)N(R^A)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)N(R^A)-, -S(O)$_2$NR^A-, -NR^AS(O)$_2$- 또는 그의 조합인 스페이서이고, 여기서 각각의 R^A는 독립적으로 수소 또는 치환 또는 비치환된 알킬

이다. 일부 실시양태에서, L1은 하기이다:

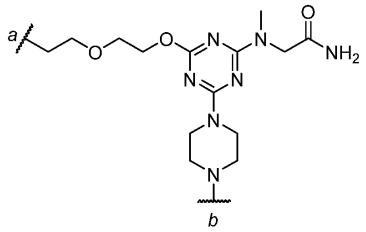
[0513] 

[0514] 여기서 L2는

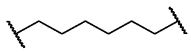
[0515] 

이고; 여기서 a는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결되는 부위를 라벨링하고; b는 올리고뉴클레오티드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결되는 부위를 라벨링한다.

[0516] 일부 실시양태에서, L1은 하기이다:

[0517] 

[0518] 여기서 a는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결되는 부위를 라벨링하고; b는 올리고뉴클레오티드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결되는 부위를 라벨링한다.

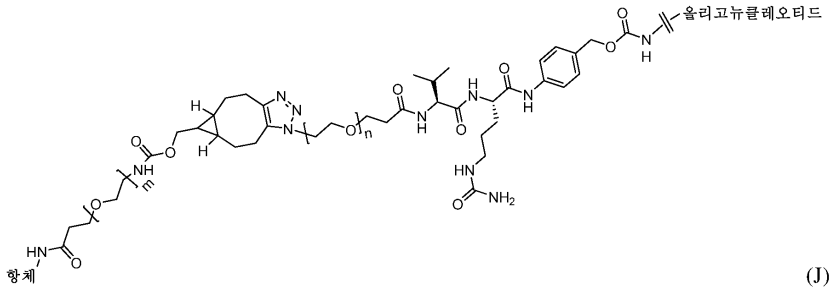
[0519] 일부 실시양태에서, L1은  이다.

[0520] 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트에 대한 L1의 연결은 L1과 올리고뉴클레오티드 사이에 포스포디에스테르 결합을 형성한다.

[0521] 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오티드의 3' 포스페이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 3' 포스페이트에 대한 L1의 연결은 L1과 올리고뉴클레오티드 사이에 포스포디에스테르 결합을 형성한다.

[0522] 일부 실시양태에서, L1은 임의적이다 (예를 들어, 반드시 존재할 필요는 없음).

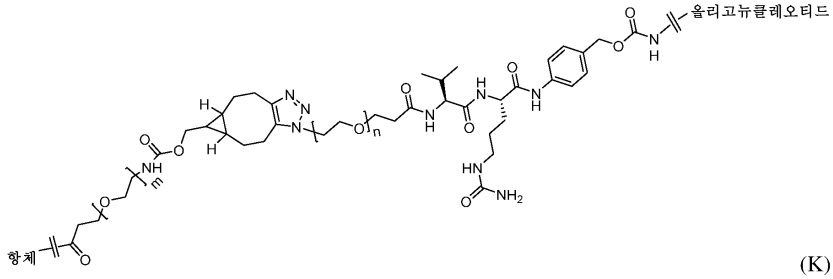
[0523] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나는 화학식 (J)의 구조를 갖는다:



[0524] (J)

[0525] 여기서 n은 0-15 (예를 들어, 3)이고, m은 0-15 (예를 들어, 4)이다. 화학식 (J)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0526] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체 중 어느 하나는 화학식 (K)의 구조를 갖는다:



[0527] (K)

[0528] 여기서 n은 0-15 (예를 들어, 3)이고, m은 0-15 (예를 들어, 4)이다.

[0529] 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물, 예를 들어 화학식 (A) 또는 화학식 (G)의 화합물에 연결되기 전에 아민 기를 5' 단부, 3' 단부 또는 내부에 (예를 들어, 아민 관능화된 핵염기로서) 포함하도록 변형된다.

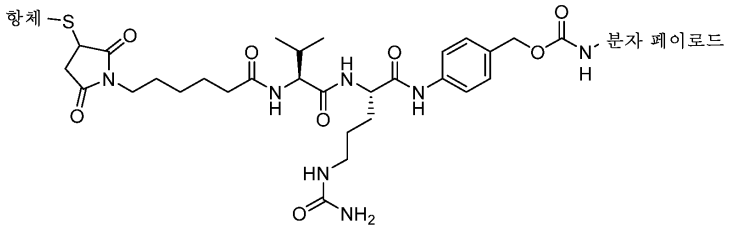
[0530] 링커 접합이 항-TfR1 항체 및 올리고뉴클레오티드 분자 페이로드와 관련하여 기재되지만, 다른 근육-표적화제, 예컨대 다른 근육-표적화 항체 및/또는 다른 분자 페이로드 상에서의 이러한 링커 접합의 사용이 고려된다는 것이 이해될 것이다.

[0531] D. 항체-분자 페이로드 복합체의 예

[0532] 본원에 기재된 임의의 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된 본원에 기재된 어느 하나의 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체의 비제한적 예가 본원에 추가로 제공된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나)는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열의 적어도 12개 (예를 들어, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개)의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나)는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드, 예컨대 표 8에 제공된 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항-TfR1 항체 중 어느 하나)는 링커를 통해 분자 페이로드 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드, 예컨대 표 9에 제공된 올리고뉴클레오티드)에 공유 연결된다. 본원에 기재된 임의의 링커가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드가 올리고뉴클레오티드인 경우에, 링커는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 5' 단부, 3' 단부 또는 내부에 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 siRNA이고, 링커는 센스 가닥의 5' 단부에 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 siRNA이고, 링커는 센스 가닥의 3' 단부에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항-TfR1 항체에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항-TfR1 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR1 항체)에 아민 기를 통해 (예를 들어, 항체 내의 리신을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 분자 페

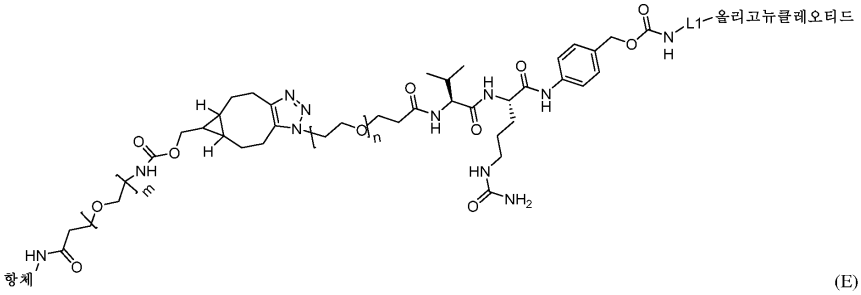
이로드는 siRNA의 센스 가닥이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 siRNA의 안티센스 가닥이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 siRNA이다.

[0533] 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체의 구조의 예가 하기에 제공된다:

[0534] 

[0535] 여기서 링커는 항체에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열의 적어도 12개 (예를 들어, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개)의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0536] 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하는 복합체의 구조의 또 다른 예가 하기에 제공된다:

[0537] 

(E)

[0538] 여기서 n은 0-10의 수이고, 여기서 m은 0-10의 수이고, 여기서 링커는 항체에 (예를 들어, 리신 잔기 상의) 아민 기를 통해 연결되고/거나 (예를 들어, 연결되고), 여기서 링커는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥에 (예를 들어, 5' 단부, 3' 단부 또는 내부에) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 센스 가닥의 5' 단부에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 센스 가닥의 3' 단부에 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커는 항체에 리신을 통해 연결되고, 링커는 올리고뉴클레오티드에 5' 단부에 연결되고, n은 3이고, m은 4이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열의 적어도 12개 (예를 들어, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개)의 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서

열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, L1은 본원에 기재된 스페이서 중 어느 하나이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다.

[0539] 항체는 분자 페이로드에, 약물 대 항체 비 (DAR) (여기서 "약물"은 분자 페이로드임)로 지칭될 수 있는 특성인 상이한 화학량론으로 연결될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 1개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 1). 일부 실시양태에서, 2개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 2). 일부 실시양태에서, 3개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 3). 일부 실시양태에서, 4개의 분자 페이로드가 항체에 연결된다 (DAR = 4). 일부 실시양태에서, 각각 상이한 DAR을 갖는 상이한 복합체의 혼합물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 이러한 혼합물 중 복합체의 평균 DAR은 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5 또는 그 초과의 범위일 수 있다. DAR은 분자 페이로드를 항체 상의 상이한 부위에 접합시킴으로써 및/또는 (예를 들어, 및) 다량체를 항체 상의 1개 이상의 부위에 접합시킴으로써 증가될 수 있다. 예를 들어, DAR 2는 단일 분자 페이로드를 항체 상의 2개의 상이한 부위에 접합시킴으로써 또는 이량체 분자 페이로드를 항체의 단일 부위에 접합시킴으로써 달성될 수 있다.

[0540] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된 본원에 기재된 항-TfR1 항체 (예를 들어, 표 2-7에 제공된 항체)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR1 항체)에 티올-반응성 연결을 통해 (예를 들어, 항체 내의 시스테인을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 링커 (예를 들어, 발린-시트룰린 서열을 포함하는 링커)는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-TfR1 항체)에 아민 기를 통해 (예를 들어, 항체 내의 리신을 통해) 연결된다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열의 적어도 12개 (예를 들어, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개)의 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 서열식별번호: 174-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0541] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 2에 열거된 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0542] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 69, 서열식별번호: 71 또는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티

센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0543] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73 또는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0544] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 73 또는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0545] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0546] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 77 또는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성

화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0547] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 154의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0548] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)이다.

[0549] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 84, 서열식별번호: 86 또는 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0550] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 88 또는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0551] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 88 또는 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0552] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항

-TfR1 항체는 서열식별번호: 92 또는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0553] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0554] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0555] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98 또는 서열식별번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0556] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100 또는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스

가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0557] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 100 또는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

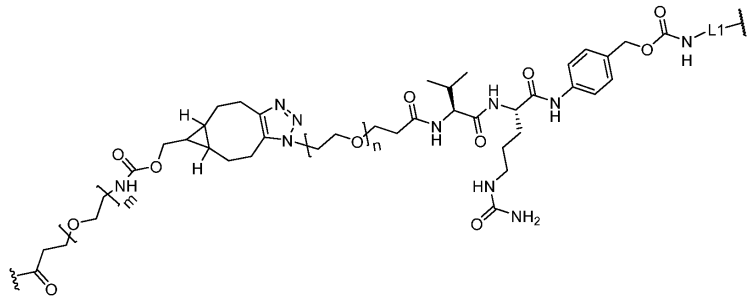
[0558] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0559] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 102 또는 서열식별번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0560] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 분자 페이로드에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 158 또는 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 8에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 DUX4 mRNA 내의 표적 서열 (예를 들어, 표 9에 열거된 표적 서열)에 대한 적어도 16개의 뉴클레오티드의 상보성 영역을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 올리고뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 안티센스 가닥은 표 9에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, 임의로 여기서 올리고뉴클레오티드는 안티센스 가닥에 혼성화하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0561] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드)이다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드는 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드)이다.

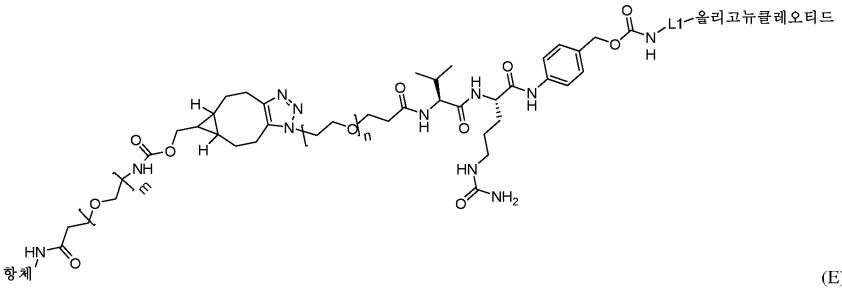
[0562] 본원에 기재된 임의의 예시적인 복합체에서, 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 화학식 (I)의 구조를 포함하는 링커를 통해 분자 페이로드에 공유 연결된다:

[0563] 

(I)

[0564] 여기서 n은 3이고, m은 4이다.

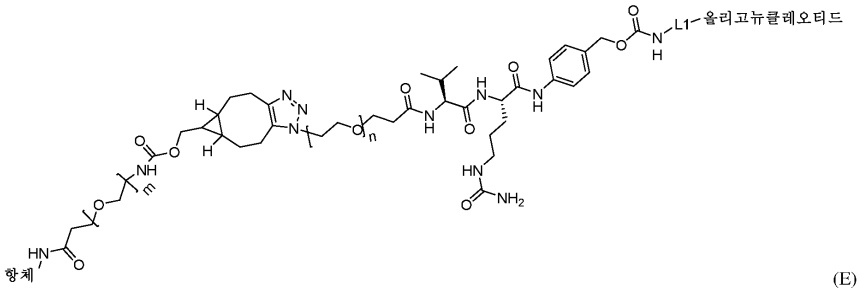
[0565] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 2에 열거된 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0566] 

(E)

[0567] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

[0568] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 2에 열거된 항체 중 어느 하나의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

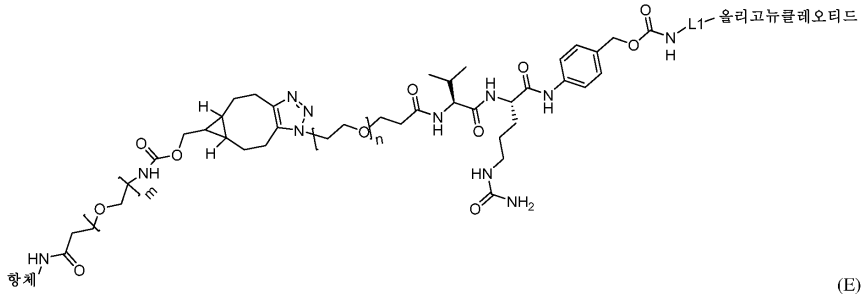
[0569] 

(E)

[0570] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유

연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

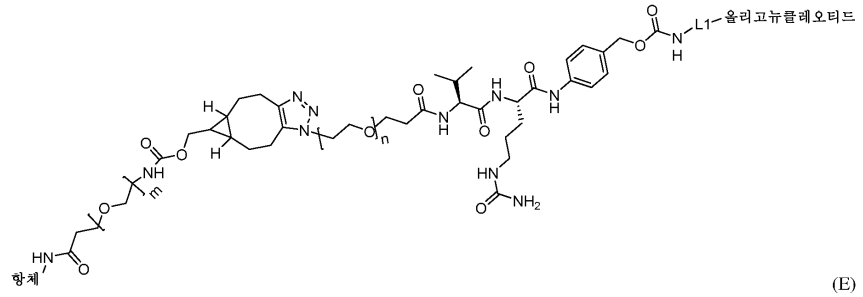
[0571] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 항체 중 어느 하나의 VH 및 VL을 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0572] 

(E)

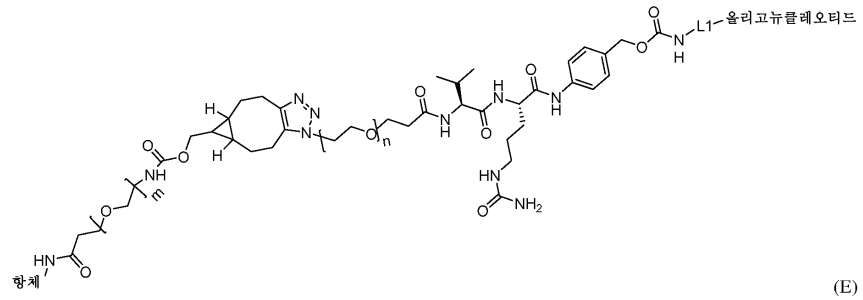
[0573] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

[0574] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 3에 열거된 항체 중 어느 하나의 VH 및 VL을 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0575] 

(E)

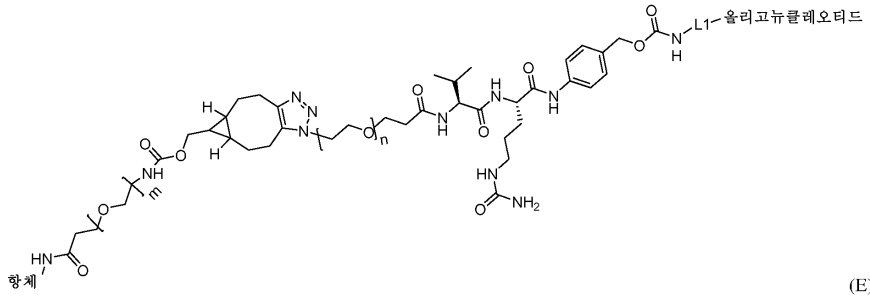
[0576] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 4에 열거된 항체 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0577] 

(E)

[0578] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

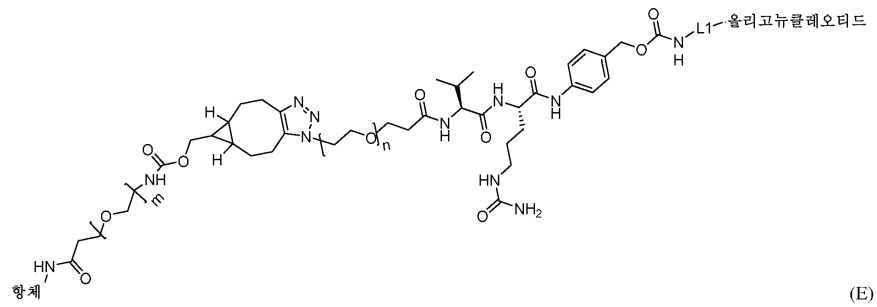
[0579] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 표 4에 열거된 항체 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0580] 

(E)

[0581] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

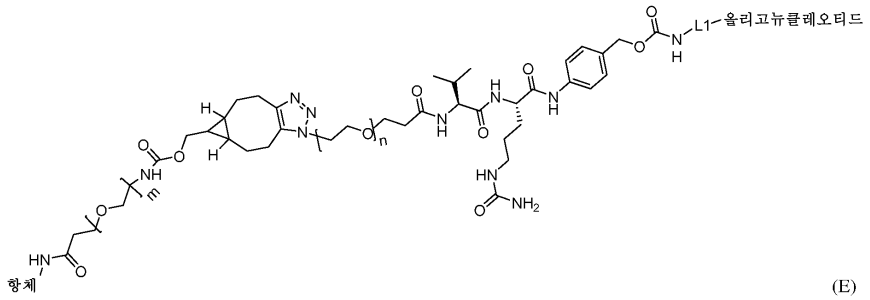
[0582] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 Fab 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 Fab인 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 Fab는 표 5에 열거된 항체 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0583] 

(E)

[0584] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

[0585] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 Fab 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드(예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 Fab인 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 Fab는 표 5에 열거된 항체 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0586] 

(E)

[0587] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

[0588] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드(예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는

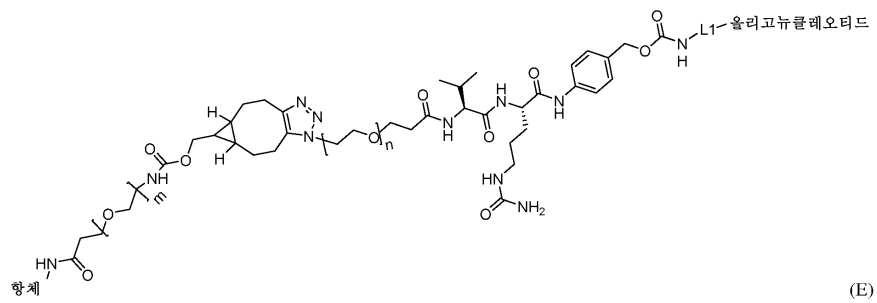
[0589] (i) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3;

[0590] (ii) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3; 또는

[0591] (ii) 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

[0592] 을 포함하고,

[0593] 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0594] 

(E)

[0595] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시

양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

[0596] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드(예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는

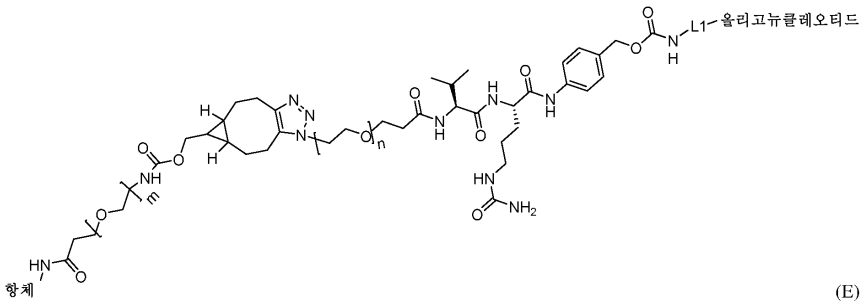
[0597] (i) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3;

[0598] (ii) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3; 또는

[0599] (ii) 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

[0600] 을 포함하고,

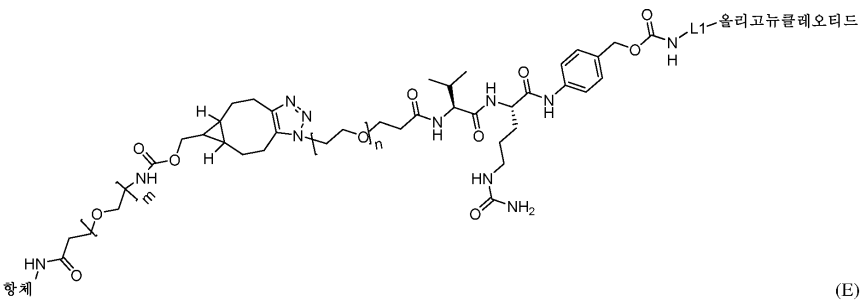
[0601] 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0602] 

(E)

[0603] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

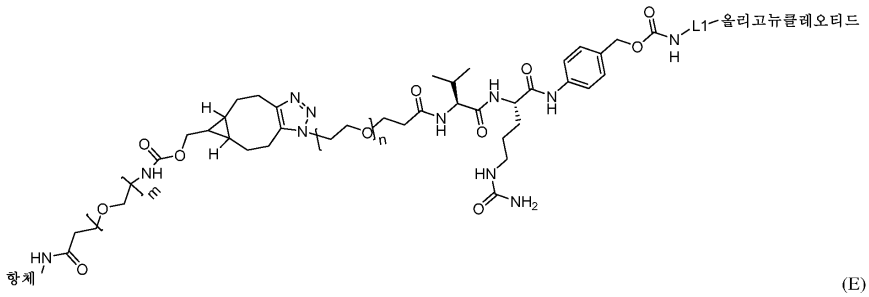
[0604] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드(예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0605] 

(E)

[0606] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

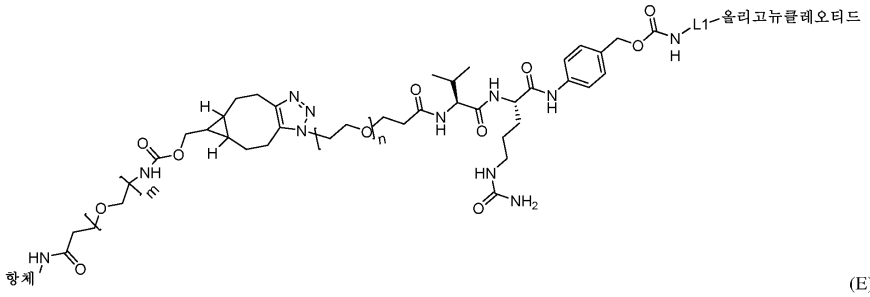
[0607] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 항체 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 항체는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0608] 

(E)

[0609] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

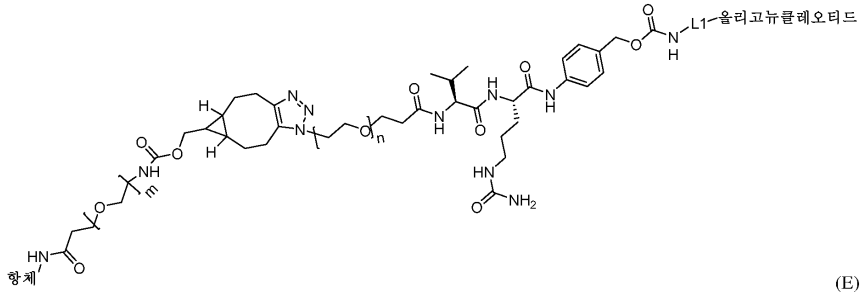
[0610] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 Fab 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 8에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 Fab인 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0611] 

(E)

[0612] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

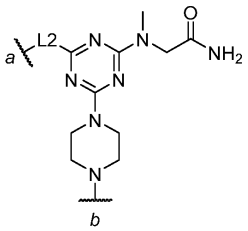
[0613] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체는 항-TfR1 Fab 내의 리신을 통해 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드 (예를 들어, 표 9에 열거된 올리고뉴클레오티드의 센스 또는 안티센스 가닥)의 3' 또는 5' 단부에 공유 연결된 Fab인 항-TfR1 항체를 포함하며, 여기서 항-TfR1 Fab는 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고, 여기서 복합체는 화학식 (E)의 구조를 갖는다:

[0614] 

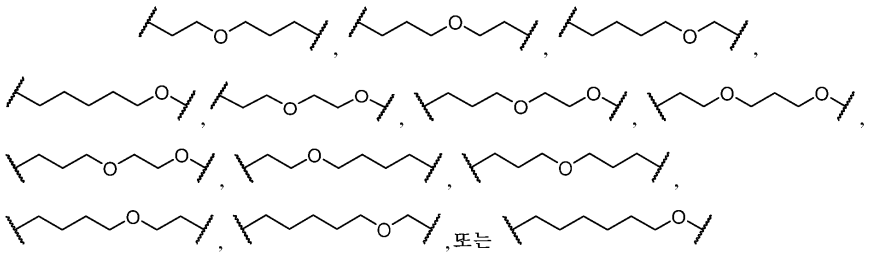
(E)

[0615] 여기서 n은 3이고, m은 4이다. 화학식 (E)에서 항-TfR1 항체에 인접하여 제시된 바와 같은 바와 같은 아미드는 항-TfR1 항체의 아민, 예컨대 리신 엡실론 아민과의 반응으로부터 생성된다는 것이 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된다. 일부 실시양태에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된다.

[0616] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복합체의 예 중 어느 하나에서, L1은 하기이다:

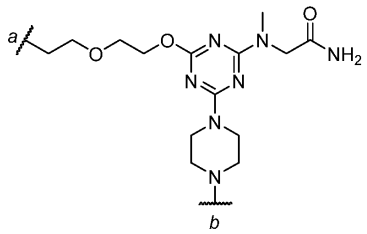
[0617] 

[0618] 여기서 L2는

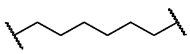
[0619] 

이고; 여기서 a는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결되는 부위를 라벨링하고; b는 올리고뉴클레오티드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결되는 부위를 라벨링한다.

[0620] 일부 실시양태에서, L1은 하기이다:

[0621] 

[0622] 여기서 a는 화학식 (B), (D), (E) 및 (I)의 카르바메이트 모이어티에 직접 연결되는 부위를 라벨링하고; b는 올리고뉴클레오티드에 (직접 또는 추가의 화학적 모이어티를 통해) 공유 연결되는 부위를 라벨링한다.

[0623] 일부 실시양태에서, L1은  이다.

[0624] 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오티드의 5' 포스페이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레

오티드의 5' 포스페이트에 대한 L1의 연결은 L1과 올리고뉴클레오티드 사이에 포스포디에스테르 결합을 형성한다.

[0625] 일부 실시양태에서, L1은 올리고뉴클레오티드의 3' 포스페이트에 연결된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드의 3' 포스페이트에 대한 L1의 연결은 L1과 올리고뉴클레오티드 사이에 포스포디에스테르 결합을 형성한다.

[0626] 일부 실시양태에서, L1은 임의적이다 (예를 들어, 반드시 존재할 필요는 없음).

[0627] III. 제제

[0628] 본원에 제공된 복합체는 임의의 적합한 방식으로 제제화될 수 있다. 일반적으로, 본원에 제공된 복합체는 제약 용도에 적합한 방식으로 제제화된다. 예를 들어, 복합체는 분해를 최소화하거나, 전달 및/또는 (예를 들어, 및) 흡수를 용이하게 하거나, 또는 제제 내의 복합체에 또 다른 유익한 특성을 제공하는 제제를 사용하여 대상체에게 전달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 이러한 조성물은 대상체에게 표적 세포의 바로 옆 환경으로 또는 전신으로 투여되는 경우에, 충분한 양의 복합체가 표적 근육 세포에 진입하도록 적합하게 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 복합체는 완충제 용액, 예컨대 포스페이트-완충 염수 용액, 리포솜, 미셀 구조 및 캡시드 중에 제제화된다.

[0629] 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 제공된 복합체의 1종 이상의 성분 (예를 들어, 근육-표적화제, 링커, 분자 페이로드 또는 이들 중 어느 하나의 전구체 분자)을 개별적으로 포함할 수 있다는 것이 인지될 것이다.

[0630] 일부 실시양태에서, 복합체는 물 또는 수용액 (예를 들어, pH 조정이 동반된 물) 중에 제제화된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 염기성 완충 수용액 (예를 들어, PBS) 중에 제제화된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 제제는 부형제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 조성물에 활성 성분의 개선된 안정성, 개선된 흡수, 개선된 용해도 및/또는 (예를 들어, 및) 치료 증진을 부여한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 완충제 (예를 들어, 시트르산나트륨, 인산나트륨, 트리스 염기 또는 수산화나트륨) 또는 비히클 (예를 들어, 완충 용액, 페트롤라툼, 디메틸 술폭시드 또는 미네랄 오일)이다.

[0631] 일부 실시양태에서, 복합체 또는 그의 성분 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 또는 항체)은 그의 보관-수명을 연장시키기 위해 동결건조된 다음, 사용 (예를 들어, 대상체에 대한 투여) 전에 용액으로 만들어진다. 따라서, 본원에 기재된 복합체 또는 그의 성분을 포함하는 조성물 중 부형제는 동결건조보호제 (예를 들어, 만니톨, 락토스, 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리비닐 피롤리돈) 또는 붕괴 온도 조절제 (예를 들어, 덱스트란, 피콜 또는 젤라틴)일 수 있다.

[0632] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 그의 의도된 투여 경로에 적합하도록 제제화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어 정맥내, 피내, 피하 투여를 포함한다. 전형적으로, 투여 경로는 정맥내 또는 피하이다.

[0633] 주사가능한 용도에 적합한 제약 조성물은 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제제는 조성물 중에 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨 및 염화나트륨을 포함한다. 멸균 주사가능한 용액은 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합과 함께 선택된 용매 중에 요구되는 양의 복합체를 혼입시키고, 이어서 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다.

[0634] 일부 실시양태에서, 조성물은 적어도 약 0.1% 또는 그 초과의 복합체 또는 그의 성분을 함유할 수 있으며, 활성 성분(들)의 백분율은 총 조성물의 중량 또는 부피의 약 1% 내지 약 80% 또는 그 초과일 수 있다. 용해도, 생체이용률, 생물학적 반감기, 투여 경로, 생성물 보관 수명, 뿐만 아니라 다른 약리학적 고려사항과 같은 인자가 이러한 제약 제제를 제조하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 고려될 것이고, 따라서 다양한 투여량 및 치료 요법이 바람직할 수 있다.

[0635] IV. 사용 / 치료 방법

[0636] 본원에 기재된 바와 같은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체는 FSHD를 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, 복합체는 1형 FSHD를 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, 복합체는 2형 FSHD를 치료하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, FSHD는 DUX4 유전자를 함유하는 염색체 4 상의 D4Z4 반복 영역 내의 결실과 연관된다. 일부 실시양태에서, FSHD는 SMCHD1 유전자 내의 돌연변이와 연관된다. 일부

실시양태에서, FSHD는 DNMT3B 유전자 내의 돌연변이와 연관된다. 일부 실시양태에서, FSHD는 LRIF1 유전자 내의 돌연변이와 연관된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간 대상체, 비-인간 영장류 대상체, 설치류 대상체 또는 임의의 적합한 포유동물 대상체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 근긴장성 이영양증을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 태아 발생 및 고환 외부에서 DUX4 유전자의 상승된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 1형 또는 2형의 안면견갑상완 근육 이영양증을 갖는다. 일부 실시양태에서, FSHD를 갖는 대상체는 SMCHD1 유전자 내의 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, FSHD를 갖는 대상체는 DNMT3B 유전자 내의 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, FSHD를 갖는 대상체는 LRIF1 유전자 내의 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, FSHD를 갖는 대상체는 염색체 4 상의 D4Z4 반복 영역 내의 결실 돌연변이를 갖는다.

[0637] 본 개시내용의 한 측면은 대상체에게 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 복합체를 투여하는 것을 수반하는 방법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 유효량이 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 복합체를 포함하는 제약 조성물은 정맥내 투여를 포함할 수 있는 적합한 경로에 의해, 예를 들어 볼루스로서 또는 일정 기간에 걸친 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 정맥내 투여는 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활막내 또는 척수강내 경로에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 고체 형태, 수성 형태 또는 액체 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 수성 또는 액체 형태는 네뷸라이징되거나 동결건조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 네뷸라이징 또는 동결건조 형태는 수성 또는 액체 용액으로 재구성될 수 있다.

[0638] 정맥내 투여를 위한 조성물은 다양한 담체, 예컨대 식물성 오일, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 에틸 락테이트, 에틸 카르보네이트, 이소프로필 미리스테이트, 에탄올 및 폴리올 (글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등)을 함유할 수 있다. 정맥내 주사의 경우, 수용성 항체가 점적 방법에 의해 투여될 수 있고, 이에 의해 항체 및 생리학상 허용되는 부형제를 함유하는 제약 제제가 주입된다. 생리학상 허용되는 부형제는, 예를 들어 5% 덱스트로스, 0.9% 염수, 링거액 또는 다른 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 근육내 제제, 예를 들어 항체의 적합한 가용성 염 형태의 멸균 제제는 제약 부형제, 예컨대 주사용수, 0.9% 염수 또는 5% 글루코스 용액 중에 용해되어 투여될 수 있다.

[0639] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 부위-특이적 또는 국부 전달 기술을 통해 투여된다. 이들 기술의 예는 복합체의 이식가능한 데포 공급원, 국부 전달 카테터, 부위 특이적 담체, 직접 주사 또는 직접 적용을 포함한다.

[0640] 일부 실시양태에서, 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 대상체에 대해 치료 효과를 부여하는 유효 농도로 투여된다. 유효량은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인식되는 바와 같이, 질환의 중증도, 치료될 대상체의 고유한 특징, 예를 들어 연령, 신체 상태, 건강 또는 체중, 치료 지속기간, 임의의 공동 요법의 성질, 투여 경로 및 관련 인자에 따라 달라진다. 이들 관련 인자는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 단지 상용에 지나지 않는 실험으로 다루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 유효 농도는 환자에게 안전한 것으로 간주되는 최대 용량이다. 일부 실시양태에서, 유효 농도는 최대 효능을 제공하는 최저 가능한 농도일 것이다.

[0641] 경험적 고려사항, 예를 들어 대상체에서의 복합체의 반감기는 일반적으로 치료에 사용되는 제약 조성물의 농도의 결정에 기여할 것이다. 투여 빈도는 치료 효능을 최대화하기 위해 실험적으로 결정되고 조정될 수 있다.

[0642] 일반적으로, 본원에 기재된 임의의 복합체의 투여를 위해, 초기 후보 투여량은 상기 기재된 인자, 예를 들어 안전성 또는 효능에 따라 약 1 내지 100 mg/kg 또는 그 초과일 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료는 1회 투여될 것이다. 일부 실시양태에서, 치료는 매일, 격주, 매주, 격월, 매월 또는 대상체에 대한 안전성 위험을 최소화하면서 최대 효능을 제공하는 임의의 시간 간격으로 투여될 것이다. 일반적으로, 효능 및 치료 및 안전성 위험은 치료 과정 전반에 걸쳐 모니터링될 수 있다.

[0643] 치료 효능은 임의의 적합한 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료 효능은 주로 안면, 견갑골 및 상완의 근육에서의 근육 질량 손실 및 근육 위축을 포함한 FSHD와 연관된 증상의 관찰의 평가에 의해 평가될 수 있다.

[0644] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물은 표적 유전자의 활성 또는 발현을 대조군, 예를 들어 치료 전의 유전자 발현의 기준선 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%에 대해 적어도

80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%만큼 억제하는 데 충분한 유효 농도로 대상체에게 투여된다.

[0645] 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1-5, 1-10, 5-15, 10-20, 15-30, 20-40, 25-50일 또는 그 초과 동안 억제하는 데 충분하다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12주 동안 억제하는 데 충분하다. 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 본원에 기재된 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체를 포함하는 제약 조성물의 단일 용량 또는 투여는 표적 유전자의 활성 또는 발현을 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개월 동안 억제하는 데 충분하다.

[0646] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 분자 페이로드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 1종 초과의 복합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 대상체, 예를 들어 FSHD를 갖는 인간 대상체의 치료를 위한 임의의 다른 적합한 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 다른 치료제는 본원에 기재된 복합체의 유효성을 증진 또는 보충할 수 있다. 일부 실시양태에서, 다른 치료제는 본원에 기재된 복합체와 상이한 증상 또는 질환을 치료하는 기능을 할 수 있다.

[0647] 실시예

[0648] 실시예 1: 형질감염된 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용한 유전자 발현의 표적화

[0649] 하이포크산틴 포스포리보실트랜스퍼라제 (HPRT)를 표적화하는 siRNA를 불멸화 세포주에서 HPRT의 발현 수준을 감소시키는 그의 능력에 대해 시험관내에서 시험하였다. 간략하게, Hepa 1-6 세포를 대조군 siRNA (siCTRL; 100 nM) 또는 HPRT를 표적화하는 siRNA (siHPRT; 100 nM) (리포펙타민 2000과 함께 제제화됨)로 형질감염시켰다. 형질감염 48시간 후에 HPRT 발현 수준을 평가하였다. 비히클 (포스페이트-완충 염수)을 배양물 중 Hepa 1-6 세포에 전달하고 세포를 48시간 동안 유지하는 대조군 실험을 또한 수행하였다. 도 1에 제시된 바와 같이, HPRT siRNA는 HPRT 발현 수준을 대조군과 비교하여 약 90%만큼 감소시킨 것으로 밝혀졌다. 사용된 siRNA의 서열이 표 10에 제공된다. HPRT 발현 수준은 HPRT mRNA 발현 수준에 의해 나타내어진다.

[0650] 표 10. siHPRT 및 siCTRL의 서열

	서열	SEQ ID NO:
siHPRT 센스 가닥	5'-UcCuAuGaCuGuAgAuUuUaU-$(CH_2)_6NH_2$-3′	163
siHPRT 안티센스 가닥	5'-aUaAaAuCuAcAgUcAuAgGasAsu-3′	164
siCTRL 센스 가닥	5'-UgUaAuAaCcAuAuCuAcCuU-$(CH_2)_6NH_2$-3′	165
siCTRL 안티센스 가닥	5'-aAgGuAgAuAuGgUuAuUaCasAsa-3′	166

[0651]

[0652] *소문자 - 2' O-Me 리보뉴클레오시드'; 대문자 - 2' 플루오로 리보뉴클레오시드; s - 포스포로티오에이트 연결

[0653] 실시예 2: 근육-표적화 복합체를 사용한 HPRT 표적화

[0654] 비-절단가능한 N-감마-말레이미도부티릴-옥시숙신이미드 에스테르 (GMBS) 링커를 통해 항-트랜스페린 수용체 항체인 DTX-A-002에 공유 연결된 실시예 1에 사용된 HPRT siRNA (siHPRT)를 포함하는 근육-표적화 복합체를 생성하였다. DTX-A-002는 RI7 217 항-TfR1 Fab이다.

[0655] 간략하게, GMBS 링커를 건조 DMSO 중에 용해시키고, 수성 조건 하에 아미드 결합 형성을 통해 siHPRT의 센스 가닥의 3' 단부에 커플링시켰다. 반응의 완결을 카이저 시험에 의해 확인하였다. 과량의 링커 및 유기 용매를 겔 투과 크로마토그래피에 의해 제거하였다. 이어서, siHPRT의 정제된 말레이미드 관능화 센스 가닥을 마이클 첨가 반응을 사용하여 DTX-A-002 항체에 커플링시켰다.

[0656] 이어서, 항체 커플링 반응의 생성물을 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 적용하였다. DTX-A-002 항체에 공유 부착된 1 또는 2개의 siHPRT 분자를 포함하는 항TfR1-siHPRT 복합체를 정제하였다. 밀도측정법은 정제된 복합체 샘플이 1.46의 평균 siHPRT 대 항체 비를 갖는다는 것을 확인시켜 주었다. SDS-PAGE 분석은 정제된 복합체 샘플의 >90%가 1 또는 2개의 siHPRT 분자에 연결된 DTX-A-002를 포함한다는 것을 입증하였다.

[0657] 상기 기재된 것과 동일한 방법을 사용하여, IgG2a (Fab) 항체에 GMBS 링커를 통해 공유 연결된 실시예 1에서 사용된 HPRT siRNA (siHPRT)를 포함하는 대조군 IgG2a-siHPRT 복합체 (DTX-A-003)를 생성하였다. 밀도측정법은

DTX-C-001 (IgG2a-siHPRT 복합체)이 1.46의 평균 siHPRT 대 항체 비를 갖는다는 것을 확인시켜 주었고, SDS-PAGE는 정제된 대조군 복합체 샘플의 >90%가 1 또는 2개의 siHPRT 분자에 연결된 DTX-A-003을 포함하였다는 것을 입증하였다.

[0658] 이어서, 항TfR1-siHPRT 복합체를 세포 내재화 및 세포 내 HPRT의 억제에 대해 시험하였다. 비교적 높은 발현 수준의 트랜스페린 수용체를 갖는 Hepa 1-6 세포를 비히클 (포스페이트-완충 염수), IgG2a-siHPRT (100 nM), 항TfR1-siCTRL (100 nM) 또는 항TfR1-siHPRT (100 nM)의 존재 하에 72시간 동안 인큐베이션하였다. 72시간 인큐베이션 후에, 세포를 단리하고, HPRT의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 2). 항TfR1-siHPRT로 처리된 세포는 비히클 대조군으로 처리된 세포 및 IgG2a-siHPRT 복합체로 처리된 세포에 비해 HPRT 발현의 ~50%만큼의 감소를 입증하였다. 한편, IgG2a-siHPRT 또는 항TfR1-siCTRL로 처리된 세포는 비히클 대조군 (HPRT 발현의 감소 없음)과 대등한 HPRT 발현 수준을 가졌다. 이들 데이터는 항TfR1-siHPRT의 항-트랜스페린 수용체 항체가 복합체의 세포 내재화를 가능하게 하여, siHPRT가 HPRT의 발현을 억제하도록 한다는 것을 나타낸다. HPRT 발현 수준은 HPRT mRNA 발현 수준에 의해 나타내어진다.

[0659] 실시예 3: 근육-표적화 복합체를 사용한 마우스 근육 조직에서의 HPRT 표적화

[0660] 실시예 2에 기재된 근육-표적화 복합체인 항TfR1-siHPRT를 마우스 조직에서의 HPRT의 억제에 대해 시험하였다. C57BL/6 야생형 마우스에게 단일 용량의 비히클 대조군 (포스페이트-완충 염수); siHPRT (2 mg/kg의 siRNA); IgG2a-siHPRT (2 mg/kg의 siRNA, 9 mg/kg 항체 복합체에 상응함); 또는 항TfR1-siHPRT (2 mg/kg의 siRNA, 9 mg/kg 항체 복합체에 상응함)를 정맥내로 주사하였다. 각각의 실험 조건을 4마리의 개별 C57BL/6 야생형 마우스에서 반복하였다. 주사 3-일 기간 후에, 마우스를 안락사시키고, 단리된 조직 유형으로 절편화하였다. 개별 조직 샘플을 후속적으로 HPRT의 발현 수준에 대해 검정하였다 (도 3a-3b 및 4a-4e).

[0661] 항TfR1-siHPRT 복합체로 처리된 마우스는 siHPRT 대조군으로 처리된 마우스에 비해 비복근 (31% 감소; $p<0.05$) 및 심장 (30% 감소; $p<0.05$)에서 HPRT 발현의 감소를 나타냈다 (도 3a-3b). 한편, IgG2a-siHPRT 복합체로 처리된 마우스는 모든 검정된 근육 조직 유형에 대해 siHPRT 대조군 (HPRT 발현의 감소가 거의 또는 전혀 없음)과 대등한 HPRT 발현 수준을 가졌다.

[0662] 항TfR1-siHPRT 복합체로 처리된 마우스는 비-근육 조직, 예컨대 뇌, 간, 폐, 신장 및 비장 조직에서 HPRT 발현의 변화를 나타내지 않았다 (도 4a-4e).

[0663] 이들 데이터는 항TfR1-siHPRT 복합체의 항-트랜스페린 수용체 항체가 생체내 마우스 모델에서 근육-특이적 조직 내로의 복합체의 세포 내재화를 가능하게 하여, siHPRT가 HPRT의 발현을 억제하도록 한다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 본 개시내용의 항TfR1-올리고뉴클레오티드 복합체가 근육 조직을 특이적으로 표적화할 수 있다는 것을 추가로 입증한다. HPRT의 억제는 HPRT mRNA의 감소에 의해 나타내어진다.

[0664] 실시예 4: FSHD 환자 근관에서의 DUX4-표적화 siRNA 접합체의 활성

[0665] DUX4-표적화 siRNA에 공유 연결된 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 함유하는 접합체의 활성을 AB1080 불멸화 FSHD 환자-유래 근관에서 시험하였다. 접합체에서, 항-TfR1 Fab는 링커를 통해 각각의 siRNA의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결되고, 상응하는 안티센스 가닥은 센스 가닥에 어닐링된다. 시험된 siRNA는 siRNA-A (서열식별번호: 174에 대한 상보성 영역을 가짐), siRNA-B (서열식별번호: 175에 대한 상보성 영역을 가짐) 또는 siRNA-C (서열식별번호: 176에 대한 상보성 영역을 가짐)이다.

[0666] AB1080 (C6) 불멸화 FSHD 환자-유래된 근관을 1 pM, 1 nM 또는 100 nM의 siRNA와 등가인 농도의 siRNA 접합체로 10일 동안 처리하였다. 택맨 패스트 어드밴스드 셀즈-투-Ct 키트(TaqMan Fast Advanced Cells-to-Ct Kit) (써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific))를 사용하여 세포로부터 cDNA를 수득하고, 특이적 택맨 검정 (써모 피셔 사이언티픽)으로 qPCR을 통해 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 MBD3L2 (Hs00544743_m1), TRIM43 (Hs00299174_m1), ZSCAN4 (Hs00537549_m1) 및 RPL13A (Hs04194366_g1)의 수준을 분석하였다. 퀀트스튜디오 7 기기 (써모 피셔 사이언티픽) 상에서 한계 사이클 (Ct)의 결정을 위한 2-단계 증폭 반응 및 형광 측정을 수행하였다. FSHD1 세포에서의 FSHD 복합 점수를 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 (MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4)를 사용하여 계산하였으며, 여기서 ΔCt = (3종의 DUX4 마커의 평균 Ct) - (RPL13A의 평균 Ct), $\Delta\Delta Ct$ = ΔCt (처리군) - ΔCt (비히클), FSHD 복합 점수 = 2 - $\Delta\Delta CT$ *100(%)이었다 (도 5 참조). 결과는 siRNA 접합체가 FSHD 환자-유래된 근관에서 시험된 DUX4 트랜스크립톰 마커의 감소를 달성하였고, 100 nM의 siRNA와 등가인 접합체를 사용한 처리가 시험된 DUX4 트랜스크립톰 마커의 약 50% 감소를 달성하였다는 것을 보여준다.

[0667] 실시예 4에 대한 siRNA 및 항체 접합 프로토콜

[0668] 하기 프로토콜을 사용하여 실시예 4에서 시험된 siRNA 접합체를 제조하였다. 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3에 공유 연결된 siRNA-A, siRNA-B, siRNA-C를 함유하는 접합체를 생성하였다. 접합체는 하기 제시된 반응에 의해 생성될 수 있다.

[0669] 물질:

[0670] 아지드-PEG3-vc-PABC-PFP 링커: MW=773.79

[0671] 아지도-PEG8-PFP 에스테르 링커: MW= 633.6

[0672] BCN-PEG4-PFP 링커: MW=607.6

[0673] 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3: MW=47968

[0674] siRNA-A, siRNA-B, siRNA-C

[0675] 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 pH 8.0의 50 mM EPPS 중으로 완충제 교환하고, 약 10 mg/ml의 농도로 농축시켰다.

[0676] 각각의 시험된 siRNA의 센스 가닥을 50 mg/ml의 농도 (농도는 UV 흡광도로 확인됨)로 물 중에 용해시켰다. 4x 아지드-링커 (DMA 중 20 mg/ml), 50x 트리부틸아민 (4.2M) 및 70% DMA를 센스 가닥 용액에 첨가하고, 실온에서 밤새 인큐베이션하여 아지도-센스 가닥 중간체를 생성하였다. 인큐베이션 후, 1/10 부피의 3M NaCl 및 3 부피의 차가운 이소프로판올 알콜 (IPA)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 -80℃ 동결기에 30분 동안 넣고, 이어서 4500 rpm으로 25분 동안 회전시켰다. 아지도-센스 가닥 중간체를 함유하는 펠릿을 70% 에탄올로 2회 세척하고 (펠릿을 세척 동안 피펫 팁으로 들어올렸음), PBS 중에 약 40 mg/ml의 최종 농도 (농도는 UV 흡광도로 확인됨)로 용해시켰다.

[0677] 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하기 위해, 각각의 시험된 siRNA의 안티센스 가닥을 PBS 중에 50 mg/ml의 농도 (농도는 UV 흡광도로 확인됨)로 용해시켰다. 아지드-센스 가닥 중간체 및 상응하는 안티센스 가닥을 1:1 비로 혼합하였다. 어닐링을 위해, 300-500 ml의 물을 유리 비커에서 비등하도록 가열하고, 아지드-센스 가닥 중간체와 안티센스 가닥 혼합물을 함유하는 튜브를 비등 수조에 5분 동안 넣고, 수조에 둔 채로 벤치 상에서 실온으로 냉각시켰다. 각각의 siRNA에 대한 어닐링 효율을 UPLC SEC 칼럼으로 측정하였다.

[0678] BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하기 위해, 30 mM MES, pH 5.0 중 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체 용액을 얼음 상에서 동일한 부피의 DMA에 천천히 첨가하였다. 이어서, 4x BCN-PEG4-PFP 링커 (DMA 중 20 mg/ml)를 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체/DMA 혼합물에 천천히 첨가하고, 실온에서 3-3.5시간 동안 인큐베이션하여 BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하였다. 대안적으로, 3x BCN-PEG4-PFP 링커 (DMA 중 20 mg/ml)가 이 단계에 사용될 수 있다. UPLC C18 칼럼을 사용하여 반응의 완결을 검사하였다.

[0679] 이어서, 조 반응 혼합물을 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3과의 접합 반응 전에 정제하였다. BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 단리하기 위해, 1/10 부피의 3M NaCl 및 3 부피의 차가운 IPA를 반응 혼합물에 첨가하고, -80℃ 동결기에 30분 동안 넣고, 이어서 4500 rpm으로 25분 동안 회전시켰다. BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 함유하는 펠릿을 70% 에탄올로 2회 세척하고 (펠릿을 세척 동안 피펫 팁으로 들어올렸음), 20 mM MES, pH 5.0 중에 약 20 mg/ml의 농도 (농도는 UV 흡광도에 의해 확인됨)로 용해시켰다.

[0680] 대안적으로, 조 반응 혼합물은 어떠한 정제도 없이 즉시 접합 반응으로 진행될 수 있다. 이 경우에, 25 mM MES, pH5.0 중 2-3 mM의 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체 용액, BCN-PEG4-PFP 링커 및 40%의 DMA의 반응 혼합물을 설정하고, 30℃ 수조에서 3-4시간 동안 인큐베이션하여 BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하였다. 아지드-siRNA 듀플렉스와 BCN-PEG4-PFP 링커 사이의 몰비는 1:0.85이었다.

[0681] 마지막으로, 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 1x (DAR1 표적화)의 BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체와 혼합하고, 실온에서 밤새 인큐베이션하여 항-TfR1 Fab-siRNA 접합체를 생성하였다.

[0682] 대안적 접합 방법이 또한 사용될 수 있다. 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 pH 8.0의 50 mM EPPS 중으로 완충제 교환하고, 약 10 mg/ml의 농도로 농축시켰다. 각각의 시험된 siRNA의 센스 가닥을 100 mg/ml의 농도 (농도는 UV 흡광도로 확인됨)로 물 중에 용해시켰다. 4x 아지드-링커 (DMA 중 20 mg/ml), 100x 트리부틸아민 (4.2M) 및 70% DMA를 센스 가닥 용액에 첨가하고, 실온에서 밤새 인큐베이션하여 아지도-센스 가닥 중간체를 생성하였

다. 인큐베이션 후, 1/10 부피의 3M NaCl 및 5 부피의 차가운 이소프로판올 알콜 (IPA)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 -80℃ 동결기에 30분 동안 넣고, 이어서 4500 rpm으로 25분 동안 회전시켰다. 아지도-센스 가닥 중간체를 함유하는 펠릿을 80% 에탄올로 2회 세척하고, 물 중에 약 40 mg/ml의 최종 농도 (농도는 UV 흡광도로 확인됨)로 용해시켰다.

[0683] 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하기 위해, 각각의 시험된 siRNA의 안티센스 가닥을 물 중에 50 mg/ml의 농도로 용해시켰다. 아지드-센스 가닥 중간체 및 상응하는 안티센스 가닥을 1:1 비로 혼합하고, 어닐링을 위해 30℃ 수조에서 4시간 초과 동안 인큐베이션하였다.

[0684] BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하기 위해, 25 mM MES, pH 5.0 중 2-3 mM의 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체 용액, 4 몰 과량의 BCN-PEG4-PFP 링커 및 40%의 DMA의 반응 혼합물을 설정하고, 30℃ 수조에서 2-3시간 동안 인큐베이션하여 BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하였다. 대안적으로, 3x BCN-PEG4-PFP 링커 (DMA 중 20 mg/ml)가 이 단계에 사용될 수 있다. UPLC C18 칼럼을 사용하여 반응의 완결을 검사하였다.

[0685] 이어서, 조 반응 혼합물을 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3과의 접합 반응 전에 정제하였다. BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 단리하기 위해, 1/10 부피의 3M NaCl 및 3 부피의 차가운 IPA를 반응 혼합물에 첨가하고, -80℃ 동결기에 30분 동안 넣고, 이어서 4500 rpm으로 25분 동안 회전시켰다. BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 함유하는 펠릿을 80% 에탄올로 2회 세척하고, 물 중에 약 20 mg/ml의 농도로 용해시켰다.

[0686] 대안적으로, 조 반응 혼합물은 어떠한 정제도 없이 즉시 접합 반응으로 진행될 수 있다. 이 경우에, 25mM MES, pH5.0 중 2-3mM의 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체 용액, 몰 과량의 BCN-PEG4-PFP 링커 및 40%의 DMA의 반응 혼합물을 설정하고, 30℃ 수조에서 3-4시간 동안 인큐베이션하여 BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 생성하였다. 아지드-siRNA 듀플렉스와 BCN-PEG4-PFP 링커 사이의 몰비는 1:0.85이었다.

[0687] 마지막으로, 50mM의 EPPS, pH8.5 중 5-10mg/ml의 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 1x (DAR1 표적화)의 BCN-아지드-siRNA 듀플렉스 중간체와 혼합하고, 실온에서 밤새 인큐베이션하여 항-TfR1 Fab-siRNA 접합체를 생성하였다.

[0688] 대안적 접합 방법이 또한 사용될 수 있고, 이를 하기 실시예 5-7에서 시험된 siRNA 접합체를 제조하는 데 사용하였다. 대안적 방법에서, PBS 중 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3 (5-6 mg/ml), 1xBCN (DMA 중 20 mg/ml, 32.9 mM) 및 10% DMA를 혼합하고, 실온에서 적어도 5시간 동안 인큐베이션하여 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3-BCN 중간체를 생성하였다. 이어서, 항체-BCN 중간체를 TFF를 사용하여 정제하고, 50mM EPPS, pH 8.0 중으로 완충제 교환하였다.

[0689] 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체를 상기 기재된 바와 같이 생성하였다.

[0690] 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3-BCN 중간체 (EPPS 중 6-7 mg/ml의 농도, pH 8.0)를 1.0 몰 과량의 아지드-siRNA 듀플렉스 중간체와 혼합하고, 실온에서 밤새 인큐베이션하여 항-TfR1 Fab-siRNA 접합체를 생성하였다.

[0691] TSK겔 슈퍼Q-5PW 칼럼에 의한 정제:

[0692] 2-단계 반응 또는 1-단계 반응을 사용하여 생성된 항-TfR1 Fab-siRNA 접합체를 하기 방법을 사용하여 정제하였다.

[0693] 50 mM EPPS, pH 8.0 중 조 접합 반응 생성물을 5 칼럼 부피 (cv)의 10 mM 트리스, pH 8.0으로 희석하였다. 샘플을 0.5 ml/분으로 1 ml TSK겔 슈퍼Q-5PW 칼럼 상에 수지 ml당 10 mg 미만의 접합체로 로딩하였다. 칼럼을 5-6 cv의 완충제 A (20mM 트리스, pH8.0)로 1 ml/분으로 세척하였다. 이어서, 접합체를 79%의 완충제 A (20 mM 트리스, pH8.0) 및 21% 완충제 B (20mM 트리스, pH8.0 + 1.5M NaCl)를 함유하는 15-20 cv의 용리 완충제로 1 ml/분으로 용리시켰다. 이어서, 용리된 접합체를 PBS 중으로 완충제 교환하고, >5mg/ml의 농도로 농축시켰다.

[0694] 대안적 정제 방법에서, 조 접합 반응 생성물을 1 부피의 10 mM 트리스, pH 8.0으로 희석하고, 5 ml TSK겔 슈퍼Q-5PW 칼럼 상에 로딩하였다. 칼럼을 15% 완충제 B (완충제 B: 20mM 트리스, pH 8.0 + 1.5M NaCl; 완충제 A: 20mM 트리스, pH 8.0))에서 40% 완충제 B의 구배로 25 칼럼 부피 (CV)에 걸쳐 1.5 ml/분으로 용리시켰다. DAR 1 접합체 분획을 수집하고, PBS 중으로 완충제 교환하고, >5mg/ml의 농도로 농축시켰다.

[0695] 실시예 5: 시험관내 DUX4-표적화 siRNA의 활성

[0696] 48종의 DUX4-표적화 siRNA를 2가지 siRNA 농도 (0.2 nM 및 20 nM)에서 FSHD 환자-유래 C6 근관에서 DUX4 트랜스크립톰을 녹다운시키는 데 있어서의 그의 활성에 대해 시험하였다. 시험된 siRNA는 siRNA 49, 50, 53, 54, 136, 19, 114, 137, 138, 32, 35, 33, 36, 73, 74, 77, 76, 75, 78, 83, 68, 103, 104, 107, 106, 105, 108,

85, 86, 89, 88, 87, 90, 133, 135, 140, 97, 128, 132, 134, 47, 91, 92, 95, 94, 93 및 96이었다. 엑손 1 표적화 siRNA인 siRNA 7을 양성 대조군으로서 사용하였다. siRNA 번호는 표 8에서의 siRNA 번호에 상응한다. FSHD 환자-유래 C6 근관에서 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4의 평균 mRNA 수준을 사용하여 계산된 복합 점수가 도 6에 제시된다.

[0697] 결과는 시험된 siRNA 중 대다수가 양성 대조군과 비교하여 FSHD 환자-유래 C6 근관에서 시험된 DUX4 트랜스크립톰 마커의 대등한 수준의 녹다운을 달성하였다는 것을 보여준다. siRNA 중 일부는 양성 대조군과 비교하여 더 유의한 녹다운을 나타냈다.

[0698] 추가적으로, 48종의 siRNA 중 16종 (siRNA 136, 137, 74, 77, 78, 104, 107, 106, 86, 89, 133, 97, 128, 92, 95 및 94)을 또한 20 nM의 농도에서 Hepa1-6 세포에서 시험하였다. siRNA를 스크리닝하기 위해 듀얼글로 리포터-플라스미드를 설계하였다. 플라스미드는 리포터 루시페라제의 3'-UTR에 인간 DUX4 mRNA에 대한 코딩 서열을 함유한다. Hepa1-6 세포를 듀얼글로 리포터 플라스미드 및 20 nM의 16종의 DUX 표적화 siRNA로 형질감염시켰다. siRNA 7을 또한 Hepa1-6 세포에서 양성 대조군으로서 사용하였다. 형질감염 후, 세포를 1일 동안 유지하였다. 16종의 siRNA 각각의 DUX4 녹다운 활성이 FSHD 환자-유래 C6 근관에서 상기 시험된 동일한 16종의 siRNA의 DUX4 트랜스크립톰 녹다운 활성과 함께 표 10에 제시된다.

[0699] 결과는 시험된 siRNA가 양성 대조군과 비교하여 Hepa1-6 세포에서 DUX4의 및 FSHD 환자-유래 C6 근관에서 DUX4 트랜스크립톰의 대등한 또는 더 유의한 수준의 녹다운을 달성하였다는 것을 보여주며, 이는 다수의 시험관내 FSHD 모델에서 강건한 효력을 나타낸다.

[0700] 소정 범위의 농도 (2 pM 내지 40 nM)에 걸쳐 시험된 16종의 siRNA 및 양성 대조군에 대한 인간 MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4 마커의 평균 mRNA 수준으로부터 계산된 복합 점수를 사용하여 용량 반응 곡선을 또한 생성하였으며, 이는 DUX4 트랜스크립톰 마커의 녹다운을 보여준다 (도 7a-7c 참조).

[0701] 표 10. 시험관내 DUX-4 표적화 siRNA의 활성

	Hepa1-6 (20 nM)		FSHD C6 (20 nM)	
	DUX4 (% 대조군)		FSHD 복합 점수 (% 대조군)	
siRNA	평균	SD	평균	SD
7	8.0	1.3	29.0	17.6
136	15.0	2.8	28.5	18.7
137	6.5	1.2	26.3	21.9
74	13.0	1.6	6.8	5.9
77	10.8	0.7	4.5	3.1
78	12.8	2.3	6.5	0.6
104	10.8	0.2	9.3	9.1
107	8.8	1.7	7.3	13.3
106	10.6	1.5	24.8	38.3
86	9.6	1.4	26.0	38.7
89	8.4	1.2	10.0	5.0
133	10.8	2.0	27.0	34.0
97	7.3	1.1	8.8	12.3
128	15.8	2.5	30.5	18.0
92	6.7	0.3	10.5	4.0
95	5.7	0.6	9.0	7.8
94	6.4	0.8	3.8	0.6

[0702]

[0703] 실시예 5: FSHD 환자 근관에서의 DUX4-표적화 siRNA 복합체의 활성

[0704] 링커를 통해 DUX4-표적화 siRNA에 공유 연결된 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 함유하는 7종의 복합체의 활성을 AB1080 불멸화 FSHD 환자-유래 근관에서 시험하였다. 각각의 siRNA 복합체에 대해, 2가지 버전, 즉 항-TfR1 Fab가 siRNA의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된 버전 및 항-TfR1 Fab가 각각의 siRNA의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 버전을 시험하였다. 시험된 siRNA는 siRNA 142-148이었다. siRNA 번호는 표 9에서의 siRNA 번호에 상응한다. 엑손 1 표적화 siRNA를 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0705] AB1080 (C6) 불멸화 FSHD 환자-유래 근관을 10nM, 100 nM 또는 1000nM과 등가인 농도의 siRNA 복합체로 10일 동안 처리하였다. 택맨 패스트 어드밴스드 셀즈-투-Ct 키트 (써모 피셔 사이언티픽)를 사용하여 세포로부터 cDNA를 수득하고, 특이적 택맨 검정 (써모 피셔 사이언티픽)으로 qPCR을 통해 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커

MBD3L2 (Hs00544743_m1), TRIM43 (Hs00299174_m1), ZSCAN4 (Hs00537549_m1) 및 RPL13A (Hs04194366_g1)의 수준을 분석하였다. 퀀트스튜디오 7 기기 (써모 피셔 사이언티픽) 상에서 한계 사이클 (Ct)의 결정을 위한 2-단계 증폭 반응 및 형광 측정을 수행하였다. FSHD 환자-유래 C6 근관에서 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 MBD3L2, TRIM43 및 ZSCAN4의 평균 mRNA 수준을 사용하여 계산된 복합 점수가 도 8에 제시된다.

[0706] 결과는 시험된 siRNA가 양성 대조군과 비교하여 FSHD 환자-유래 C6 근관에서 시험된 DUX4 트랜스크립톰 마커의 유의한 수준의 녹다운을 달성하였다는 것을 보여준다.

[0707] 실시예 6: FSHD 환자-유래 1차 세포에서의 DUX4-표적화 siRNA 복합체의 활성

[0708] DUX4-표적화 siRNA에 공유 연결된 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 함유하는 복합체의 활성을 FSHD1 1차 세포 (MB010, MB015, MB016, MB018 및 MB020)에서 시험하였다. 복합체에서, 항-TfR1 Fab는 링커를 통해 각각의 siRNA의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결되고, 상응하는 안티센스 가닥은 센스 가닥에 어닐링된다. 시험된 siRNA는 siRNA 145였다. siRNA 번호는 표 9에서의 siRNA 번호에 상응한다. 1차 세포를 100nM의 siRNA와 등가인 농도의 siRNA 복합체로 7일 동안 처리하였다. 택맨 패스트 어드밴스드 셀즈-투-Ct 키트 (써모 피셔 사이언티픽)를 사용하여 세포로부터 cDNA를 수득하고, 특이적 택맨 검정 (써모 피셔 사이언티픽)으로 qPCR을 통해 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 MBD3L2 (Hs00544743_m1), TRIM43 (Hs00299174_m1), ZSCAN4 (Hs00537549_m1) 및 RPL13A (Hs04194366_g1)의 수준을 분석하였다. 퀀트스튜디오 7 기기 (써모 피셔 사이언티픽) 상에서 한계 사이클 (Ct)의 결정을 위한 2-단계 증폭 반응 및 형광 측정을 수행하였다.

[0709] 결과 (표 11 참조)는 siRNA가 FSHD 환자-유래 1차 세포에서 시험된 DUX4 트랜스크립톰 마커의 유의한 감소를 달성하였다는 것을 보여준다.

[0710] 표 11

[0711]

FSHD 세포	DUX4 트랜스크립토믹스 (% 대조군)	
	평균	SD
MB010	60.3	20.7
MB015	33.7	12.0
MB016	37.6	10.9
MB018	34.5	13.4
MB020	2.7	1.2

[0712] 실시예 7: 마우스 근육 조직에서의 DUX4-표적화 siRNA 복합체의 활성

[0713] 링커를 통해 DUX4-표적화 siRNA에 공유 연결된 항-TfR1 Fab 3M12 VH4/Vκ3을 함유하는 복합체의 활성을 8 내지 9주령 hTfR1/FLExDUX4/ACTA 마우스에서 시험하였다. 각각의 siRNA 복합체에 대해, 2가지 버전, 즉 항-TfR1 Fab가 siRNA의 센스 가닥의 3' 단부에 공유 연결된 버전 및 항-TfR1 Fab가 각각의 siRNA의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 버전을 시험하였다. 시험된 siRNA는 siRNA145, siRNA148, siRNA144, siRNA143 및 siRNA142였다. siRNA 번호는 표 9에서의 siRNA 번호에 상응한다.

[0714] hTfR1/FLExDUX4/ACTA 마우스에 단일 용량의 비히클 대조군 (포스페이트-완충 염수) 또는 10 mg/kg의 siRNA에 등가인 농도의 siRNA 복합체를 정맥내로 주사하였다. 각각의 실험 조건을 3 내지 15마리의 개별 hTfR1/FLExDUX4/ACTA 마우스에서 반복하였다. 주사 28일 후, 마우스를 안락사시켰다. 비복근 및 사두근 근육을 수집하고, RNA레이터(RNAlater)™ 안정화 용액 (써모 피셔 사이언티픽) 중에서 순간 동결시켰다. 맥스웰(Maxwell)® RSC miRNA 조직 키트 (프로메가(Promega))를 사용하여 비복근 및 사두근 근육으로부터 총 miRNA를 단리하고, 실시간 정량적 RT-PCR을 수행하였다.

[0715] 특이적 택맨 검정 (써모 피셔 사이언티픽)으로 qPCR을 통해 3종의 뮤린 하류 DUX4 트랜스크립톰 마커 Wfdc3 (Mm01243777_m1), Sord (Mm00455377_g1), Serpinb6c (Mm00655242_m1) 및 Rpl37A (Mm00782745_s1)를 분석하였다. 퀀트스튜디오 7 기기 (써모 피셔 사이언티픽) 상에서 한계 사이클 (Ct)의 결정을 위한 2-단계 증폭 반응 및 형광 측정을 수행하였다. FSHD 복합 점수를 3종의 DUX4 트랜스크립톰 마커 (Wfdc3, Sord, Serpinb6c)를 사용하여 계산하였으며, 여기서 ΔCt = (3종의 DUX4 마커의 평균 Ct) - (Rpl37A의 평균 Ct), ΔΔCt = ΔCt (처리군) - ΔCt (비히클), FSHD 복합 점수 = 2- ΔΔCT *100(%)이었다 (표 12, 도 9a 및 9b 참조).

[0716] 결과는 siRNA 복합체 중 다수가 hTfR1/FLExDUX4/ACTA 마우스의 비복근 및 사두근에서 시험된 DUX4 마우스 트랜스크립톰 마커의 유의한 감소를 달성하였다는 것을 보여준다.

[0717] 표 12

항TfR1-siRNA	DUX4 트랜스크립톰 녹다운 (% 대조군) (기하 평균)	
	사두근	비복근
siRNA 145- 5’	85	73
siRNA 145-3’	87	81
siRNA 148-5’	63	78
siRNA 148-3’	71	62
siRNA 144-5’	67	77
siRNA 144-3’	71	60
siRNA 143-5’	21	41
siRNA 143-3’	0	0
siRNA 142-5’	67	84
siRNA 142-3’	59	36

[0718]

[0719] 추가의 실시양태

[0720] 1. 이중 호메오박스 4 (DUX4) RNA를 표적화하는 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 근육-표적화제를 포함하는 복합체로서, 여기서 올리고뉴클레오티드는 18-25개 뉴클레오티드 길이의 안티센스 가닥을 포함하고, 서열식별번호: 174-235에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하고, 여기서 상보성 영역은 적어도 16개의 연속 뉴클레오시드 길이인 복합체.

[0721] 2. 실시양태 1에 있어서, 근육-표적화제가 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체인 복합체.

[0722] 3. 실시양태 1 또는 실시양태 2에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 RNAi 올리고뉴클레오티드인 복합체.

[0723] 4. 실시양태 1 또는 실시양태 2에 있어서, 안티센스 가닥이 서열식별번호: 236-266 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0724] 5. 실시양태 1-4 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 안티센스 가닥에 대해 상보적인 적어도 18개의 연속 뉴클레오시드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함하는 것인 복합체.

[0725] 6. 실시양태 5에 있어서, 센스 가닥이 서열식별번호: 205-235 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0726] 7. 실시양태 1-6 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 것인 복합체.

[0727] 8. 실시양태 7에 있어서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드가 2' 변형된 뉴클레오티드이고, 임의로 여기서 1개 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드가 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-O-Me), 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE), 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로부터 선택된 것인 복합체.

[0728] 9. 실시양태 8에 있어서, 각각의 2' 변형된 뉴클레오티드가 2'-O-메틸 (2'-O-Me) 또는 2'-플루오로 (2'-F)인 복합체.

[0729] 10. 실시양태 1-9 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함하는 것인 복합체.

[0730] 11. 실시양태 10에 있어서, 1개 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥 상에 존재하는 것인 복합체.

[0731] 12. 실시양태 11에 있어서, 안티센스 가닥의 3' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결인 복합체.

[0732] 13. 실시양태 11 또는 실시양태 12에 있어서, 안티센스 가닥의 5' 단부에서의 2개의 뉴클레오시드간 연결이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결인 복합체.

[0733] 14. 실시양태 1-13 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 1개 이상의 시티딘이 2'-변형된 5-메틸-시티딘이고, 임의로 여기서 2'-변형된 5-메틸-시티딘이 2'-O-Me 변형된 5-메틸-시티딘 또는 2'-F 변형된 5-메틸-시티딘인 복합체.

[0734] 15. 실시양태 1-14 중 어느 하나에 있어서, 안티센스 가닥이 표 8에 열거된 서열식별번호: 236-266의 변형된 버전 (예를 들어, MAS1-MAS4)으로부터 선택된 것인 복합체.

[0735] 16. 실시양태 5-15 중 어느 하나에 있어서, 센스 가닥이 표 8에 열거된 서열식별번호: 205-235의 변형된 버전 (예를 들어, MS1-MS6)으로부터 선택된 것인 복합체.

[0736] 17. 실시양태 1-16 중 어느 하나에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 표 8에 열거된 siRNA로부터 선택된 siRNA 분자인 복합체.

[0737] 18. 실시양태 2-17 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 표 2에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2), 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3)을 포함하는 것인 복합체.

[0738] 19. 실시양태 2-17 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 표 3에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인 복합체.

[0739] 20. 실시양태 2-17 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab이고, 임의로 여기서 Fab가 표 5에 열거된 항-TfR1 Fab 중 어느 것의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 것인 복합체.

[0740] 21. 실시양태 2-20 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가

[0741] (i) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3;

[0742] (ii) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3; 또는

[0743] (ii) 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

[0744] 을 포함하는 것인 복합체.

[0745] 22. 실시양태 21에 있어서, 항-TfR1 항체가 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 것인 복합체.

[0746] 23. 실시양태 22에 있어서, 항-TfR1 항체가 Fab이고, 서열식별번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 복합체.

[0747] 24. 실시양태 1-23 중 어느 하나에 있어서, 근육 표적화제 및 안티센스 올리고뉴클레오티드가 링커를 통해 공유 연결되고, 임의로 여기서 링커가 발린-시트룰린 서열을 포함하는 것인 복합체.

[0748] 25. 근육 세포에서 DUX4 발현을 감소시키는 방법으로서, 근육 세포를 근육 세포에 대한 올리고뉴클레오티드의 내재화를 촉진하기 위한 유효량의 실시양태 1-25 중 어느 하나의 복합체와 접촉시키는 것을 포함하는 방법.

[0749] 26. 실시양태 25에 있어서, DUX4 발현을 감소시키는 것이 DUX4 단백질 및/또는 mRNA 수준을 감소시키는 것을 포함하는 것인 방법.

[0750] 27. 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD)을 치료하는 방법으로서, 그를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 실시양태 1-24 중 어느 하나의 복합체를 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0751] 28. 실시양태 27에 있어서, 대상체가 DUX4 단백질의 이상 생산을 갖는 것인 방법.

[0752] 29. 표 8에 열거된 siRNA 올리고뉴클레오티드로부터 선택된 siRNA 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0753] 30. 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체를 생산하는 방법으로서,

[0754] (i) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계이며, 여기서 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함하고, 임의로 여기서 siRNA 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA를 표적화하는 것인 단계;

[0755] (ii) siRNA 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥을 센스 가닥에 어닐링시키는 단계;

[0756] (iii) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물과 반응시켜 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계; 및

[0757] (iv) 항-TfR1 항체를 근육 표적화제와 함께 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결시켜 화학식 (E)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계

[0758] 를 포함하는 방법.

[0759] 31. 실시양태 30에 있어서, 단계 (ii)의 어닐링을 30℃에서 수행하는 것인 방법.

[0760] 32. 실시양태 30 또는 실시양태 31에 있어서, 단계 (iii) 후에 및 단계 (iv) 전에 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 단리하는 것을 추가로 포함하는 방법.

[0761] 33. 실시양태 30 또는 실시양태 31에 있어서, 화학식 (D)의 구조를 포함하는 화합물을 단계 (iv) 전에 단리하지 않는 것인 방법.

[0762] 34. 올리고뉴클레오티드에 공유 연결된 항-트랜스페린 수용체 1 (TfR1) 항체를 포함하는 복합체를 생산하는 방법으로서,

[0763] (i) 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계이며, 여기서 올리고뉴클레오티드는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥을 포함하고, 임의로 여기서 siRNA 올리고뉴클레오티드는 DUX4 RNA를 표적화하는 것인 단계;

[0764] (ii) siRNA 올리고뉴클레오티드의 안티센스 가닥을 센스 가닥에 어닐링시키는 단계;

[0765] (iii) 항-TfR1 항체를 화학식 (C)의 구조를 포함하는 화합물에 공유 연결시켜 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계; 및

[0766] (iv) 화학식 (F)의 구조를 포함하는 화합물을 화학식 (B)의 구조를 포함하는 화합물과 반응시켜 화학식 (E)의 구조를 포함하는 화합물을 수득하는 단계

[0767] 를 포함하는 방법.

[0768] 35. 실시양태 30-34 중 어느 하나에 있어서, 안티센스 가닥이 18-25개 뉴클레오티드 길이이고, 서열식별번호: 189, 191, 200, 186, 190, 174-185, 187, 188, 192-199 및 201-235에 제시된 바와 같은 표적 서열에 대한 상보성 영역을 포함하고, 여기서 상보성 영역이 적어도 16개의 연속 뉴클레오시드 길이인 방법.

[0769] 36. 실시양태 30-35 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 표 2에 열거된 항-TfR1 항체 중 어느 것의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-H2), 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3), 경쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (CDR-L2), 경쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-L3)을 포함하는 것인 방법.

[0770] 37. 실시양태 30-36 중 어느 하나에 있어서, 항-TfR1 항체가 DUX4 RNA를 표적화하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 센스 가닥의 5' 단부에 공유 연결된 것인 방법.

[0771] 등가물 및 용어

[0772] 본원에 예시적으로 기재된 본 개시내용은 본원에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소 또는 요소들, 제한 또는 제한들의 부재 하에 적합하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어 본원의 각각의 예에서, 용어 "포함하는", "로 본질적으로 이루어진" 및 "로 이루어진" 중 임의의 용어는 다른 두 용어 중 어느 하나로 대체될 수 있다. 사용된 용어 및 표현은 제한이 아닌 설명의 용어로서 사용되었으며, 이러한 용어 및 표현의 사용에 있어서 제시 및 기재된 특색 또는 그의 부분의 임의의 등가물을 배제하려는 의도는 없지만, 본 개시내용의 범주 내에서 다양한 변형이 가능한 것으로 인식된다. 따라서, 본 개시내용이 바람직한 실시양태에 의해 구체적으로 개시되었지

만, 본원에 개시된 개념의 임의적인 특색, 변형 및 변경이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 재분류될 수 있고, 이러한 변형 및 변경이 본 개시내용의 범주 내에 있는 것으로 간주된다고 이해될 것이다.

[0773] 추가로, 본 개시내용의 특색 또는 측면이 마쿠쉬 군 또는 다른 대안적 군의 면에서 기재되는 경우에, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용이 또한 마쿠쉬 군 또는 다른 군의 임의의 개별 구성원 또는 구성원의 하위군의 면에서 기재된다는 것을 인식할 것이다.

[0774] 일부 실시양태에서, 서열 목록에 제시된 서열은 올리고뉴클레오티드 또는 다른 핵산의 구조를 기재하는 데 언급될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 이러한 실시양태에서, 실제 올리고뉴클레오티드 또는 다른 핵산은 명시된 서열과 본질적으로 동일하거나 유사한 상보적 특성을 보유하면서 명시된 서열과 비교하여 1개 이상의 대안적 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 (예를 들어, DNA 뉴클레오시드의 RNA 대응부 또는 RNA 뉴클레오시드의 DNA 대응부) 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드/뉴클레오시드 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결 및/또는 (예를 들어, 및) 1개 이상의 다른 변형을 가질 수 있다.

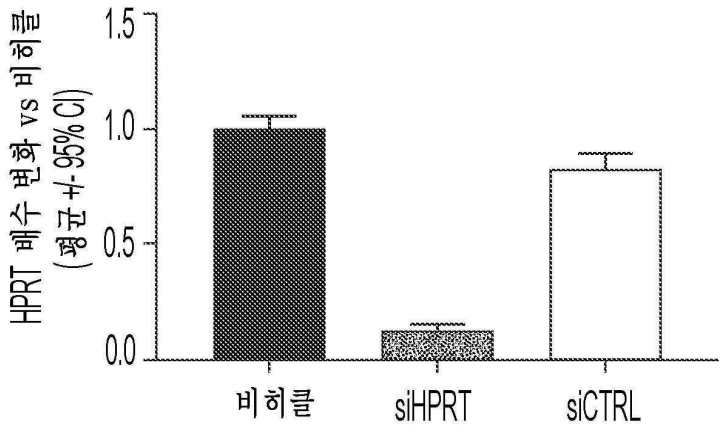
[0775] 본 발명을 기재하는 문맥에서 (특히 하기 청구범위의 문맥에서) 단수 용어 및 유사한 지시대상의 사용은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 명확하게 모순되지 않는 한, 단수 및 복수 둘 다를 포괄하는 것으로 해석될 것이다. 용어 "포함하는", "갖는", "포함한" 및 "함유하는"은 달리 나타내지 않는 한 개방형 용어 (즉, "포함하나 이에 제한되지는 않음"을 의미함)로서 해석될 것이다. 본원에서 값의 범위에 대한 언급은 본원에 달리 나타내지 않는 한, 단지 상기 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 지칭하는 약칭 방법으로서 제공되는 것으로 의도되고, 각각의 개별 값은 본원에 개별적으로 열거된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본원에 기재된 모든 방법은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예 또는 예시적인 어휘 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 보다 잘 예시하는 것으로 의도되며, 달리 청구되지 않는 한 본 발명의 범주에 대한 제한을 부과하지 않는다. 본 명세서의 어떠한 어휘도 임의의 청구되지 않은 요소가 본 발명의 실시에 필수적인 것임을 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0776] 본 발명의 실시양태가 본원에 기재된다. 이들 실시양태의 변경은 상기 설명을 읽으면 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명해질 수 있다.

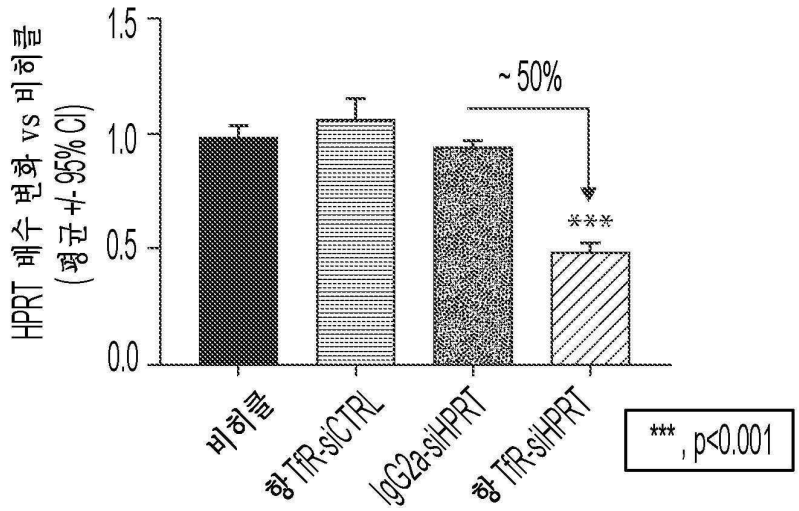
[0777] 본 발명자들은 통상의 기술자가 이러한 변경을 적절하게 사용할 것으로 예상하고, 본 발명자들은 본 발명이 본원에 구체적으로 기재된 것과 달리 실시되는 것을 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법에 의해 허용되는 바와 같은 본원에 첨부된 청구범위에 언급된 대상의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 더욱이, 모든 가능한 변경에서 상기 기재된 요소들의 임의의 조합은 본원에 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한 본 발명에 의해 포괄된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 단지 상용에 지나지 않는 실험을 사용하여, 본원에 기재된 본 발명의 구체적 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

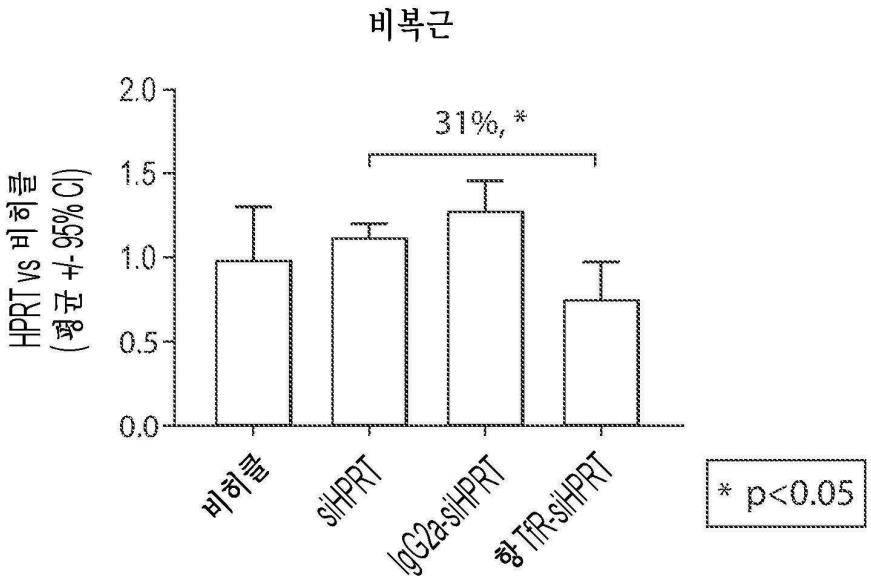
도면1



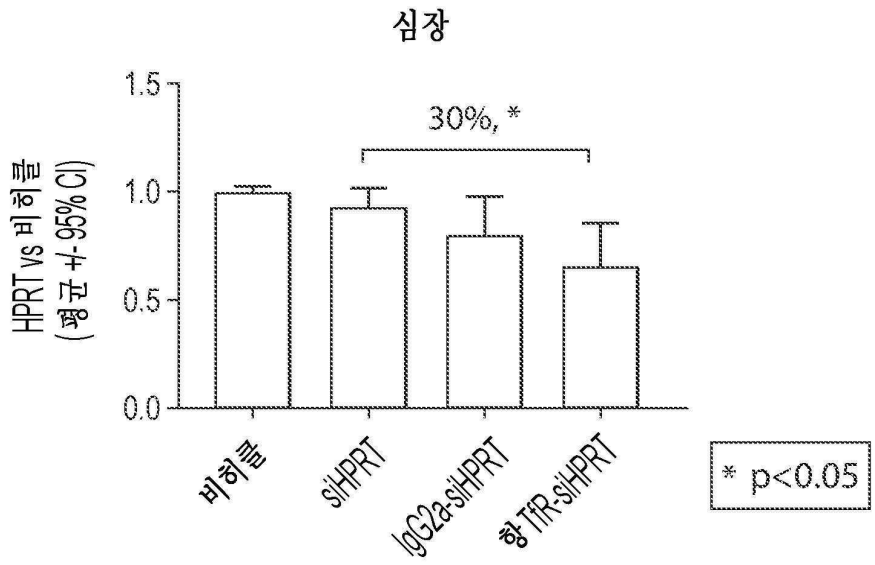
도면2


HPRT 배수 변화 vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
~ 50%
***
비히클
항 TfR-siCTRL
IgG2a-siHPRT
항 TfR-siHPRT
***, p<0.001

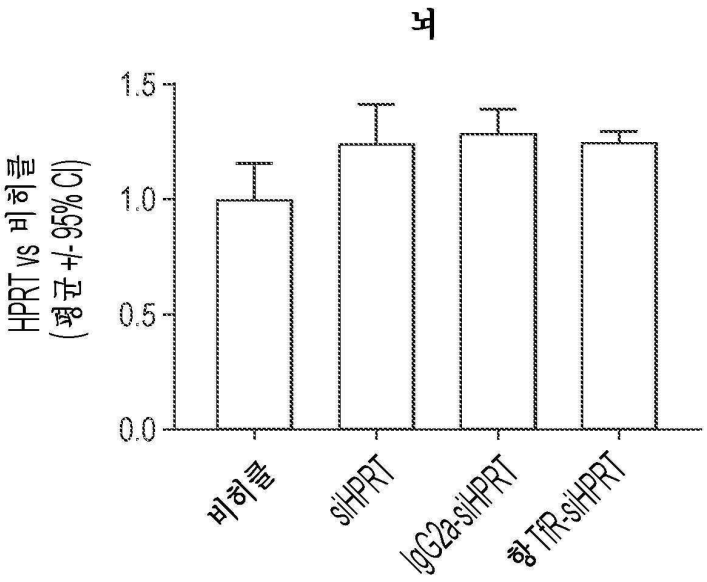
도면3a


비복근
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
31%, *
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항 TfR-siHPRT
* p<0.05

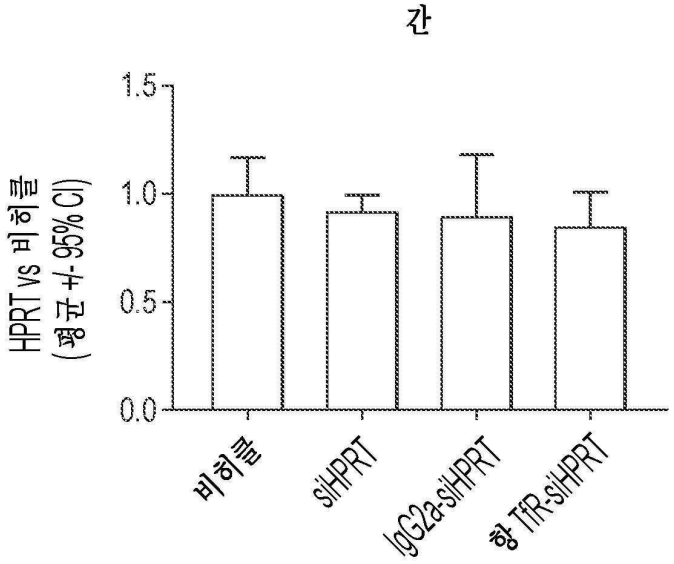
도면3b


심장
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
30%, *
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항TfR-siHPRT
* p<0.05

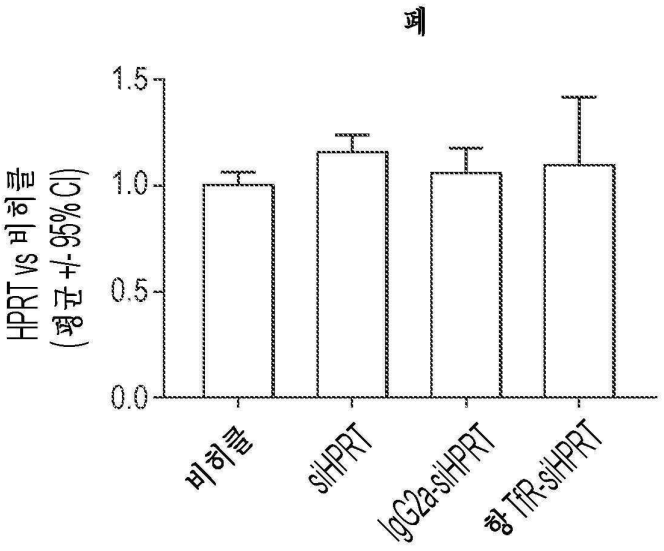
도면4a


뇌
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항TfR-siHPRT

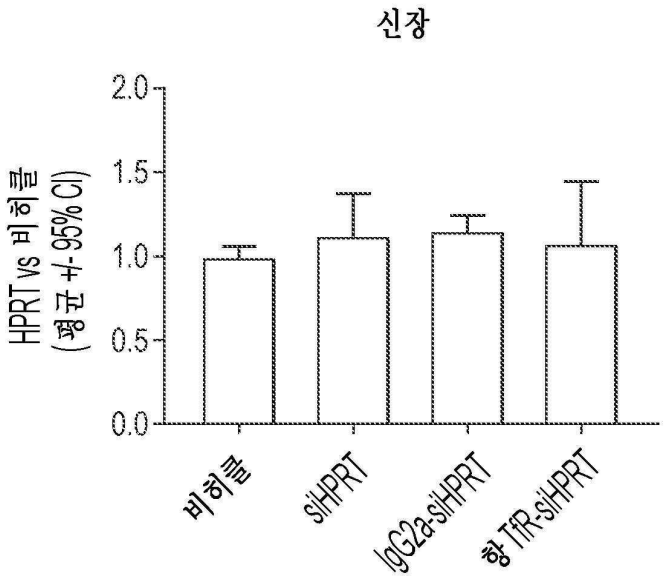
도면4b


간
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항 TfR-siHPRT

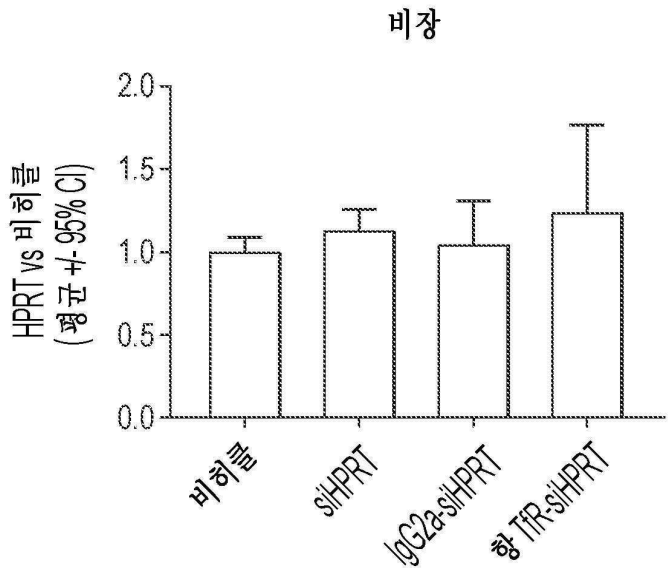
도면4c


폐
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항 TfR-siHPRT

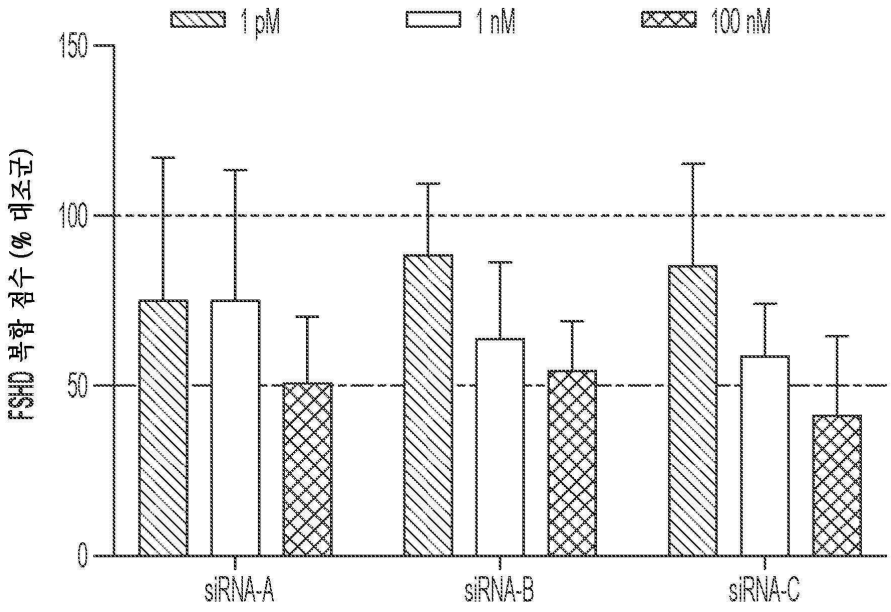
도면4d


신장
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항 TfR-siHPRT

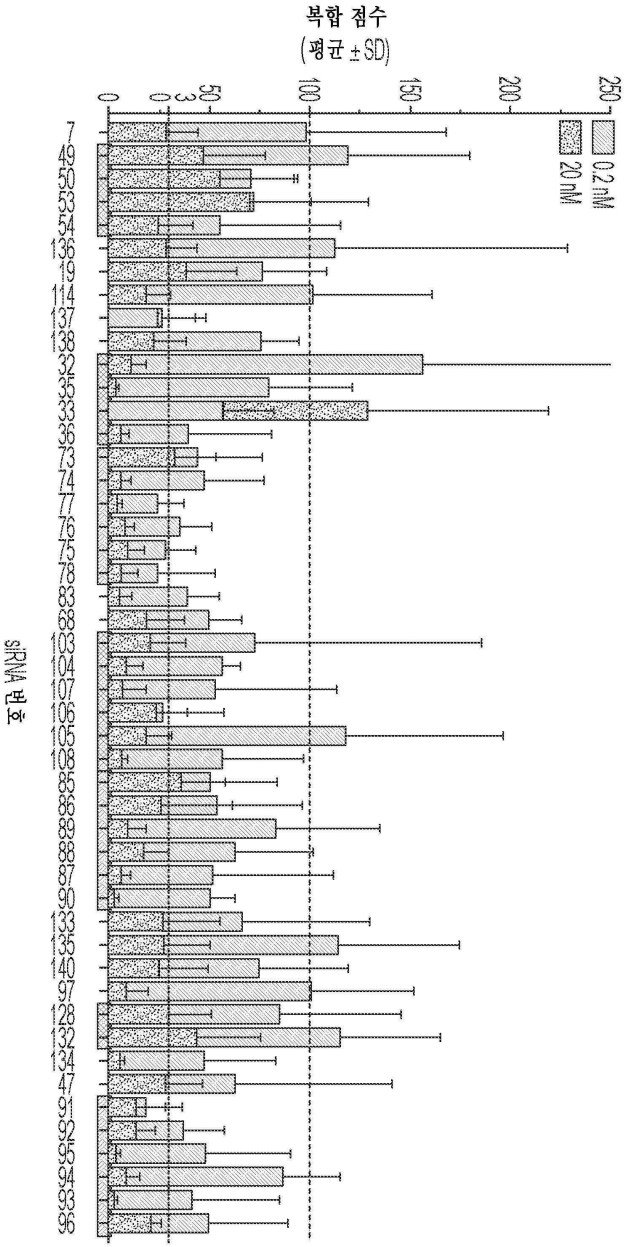
도면4e


비장
HPRT vs 비히클
(평균 +/- 95% CI)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
비히클
siHPRT
IgG2a-siHPRT
항 TfR-siHPRT

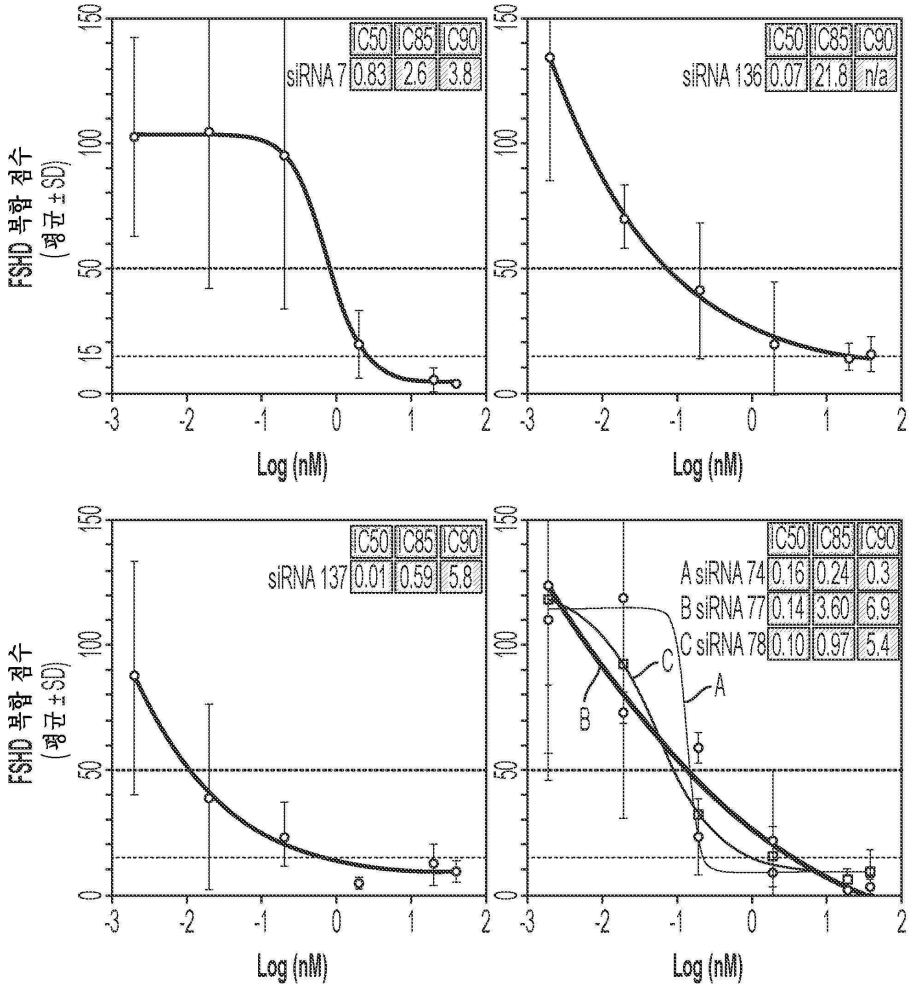
도면5



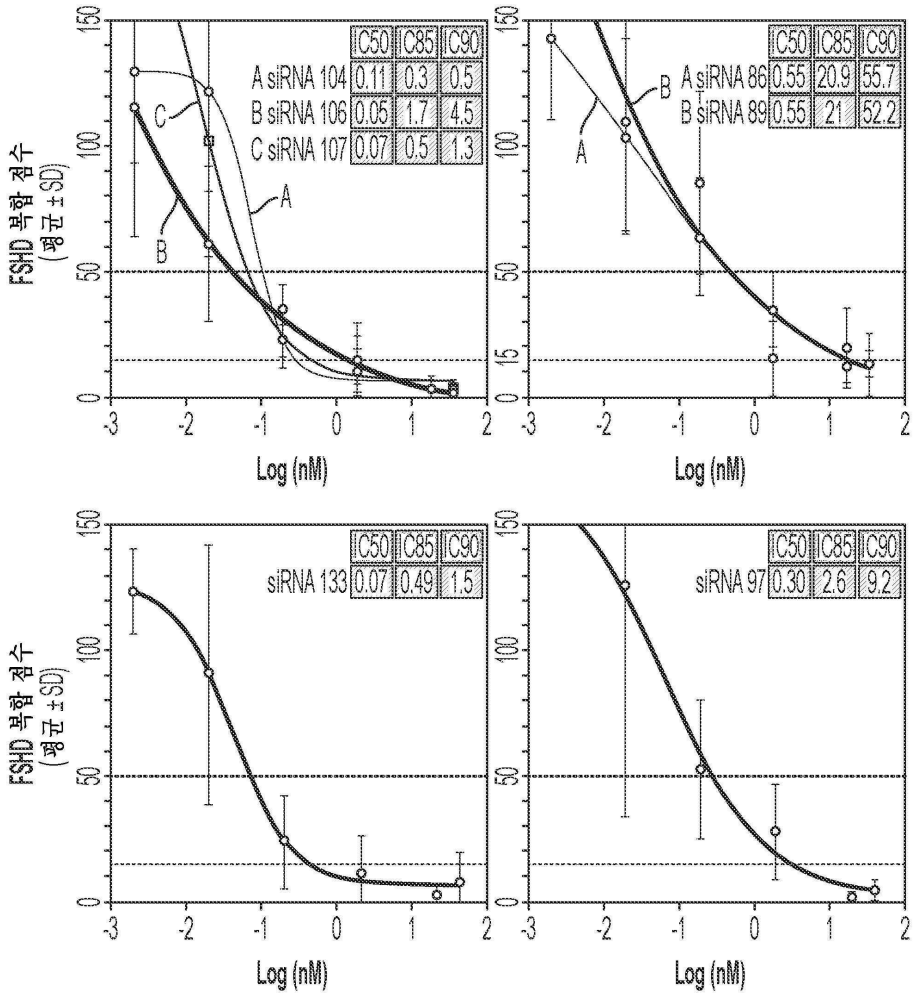
도면6


복합 점수
(평균 ± SD)
0
30
50
100
150
200
250
0.2 nM
20 nM
siRNA 번호
7
49
50
53
54
136
19
114
137
138
32
35
33
36
73
74
77
76
75
78
83
68
103
104
107
106
105
108
85
86
89
88
87
90
133
135
140
97
128
132
134
47
91
92
95
94
93
96

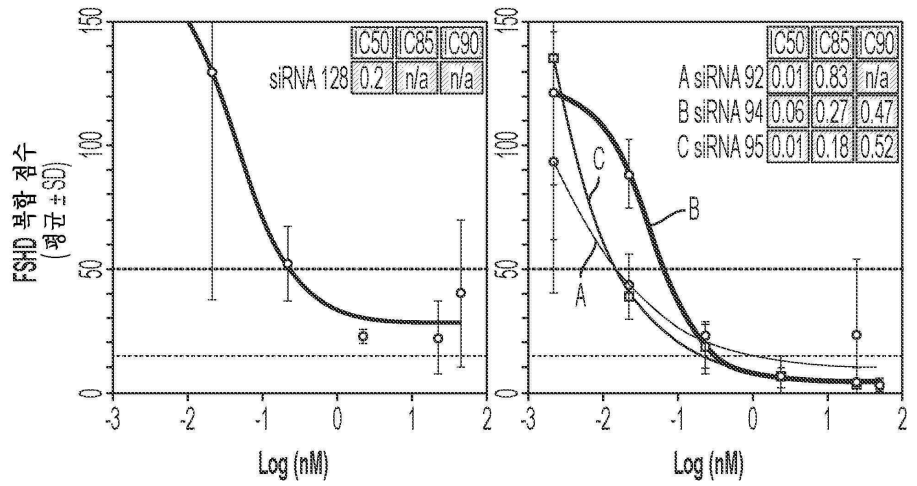
도면7a


FSHD 복합 점수
(평균 ± SD)
Log (nM)
siRNA 7 IC50 0.83 IC85 2.6 IC90 3.8
siRNA 136 IC50 0.07 IC85 21.8 IC90 n/a
siRNA 137 IC50 0.01 IC85 0.59 IC90 5.8
A siRNA 74 IC50 0.16 IC85 0.24 IC90 0.3
B siRNA 77 IC50 0.14 IC85 3.60 IC90 6.9
C siRNA 78 IC50 0.10 IC85 0.97 IC90 5.4
A
B
C

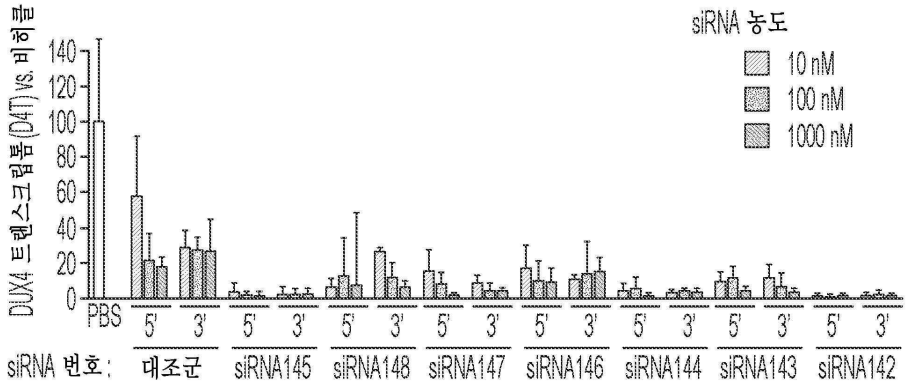
도면7b


FSHD 복합 점수 (평균 ±SD)
Log (nM)
IC50 IC85 IC90
A siRNA 104 0.11 0.3 0.5
B siRNA 106 0.05 1.7 4.5
C siRNA 107 0.07 0.5 1.3
A siRNA 86 0.55 20.9 55.7
B siRNA 89 0.55 21 52.2
siRNA 133 0.07 0.49 1.5
siRNA 97 0.30 2.6 9.2

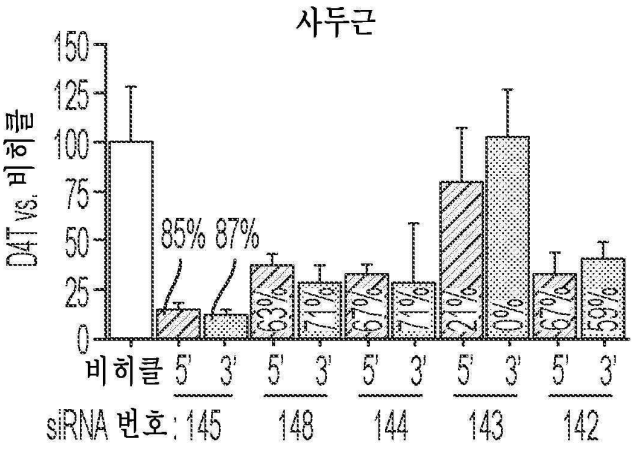
도면7c


FSHD 복합 점수 (평균 ±SD)
Log (nM)
IC50 IC85 IC90
siRNA 128 0.2 n/a n/a
A siRNA 92 0.01 0.83 n/a
B siRNA 94 0.06 0.27 0.47
C siRNA 95 0.01 0.18 0.52

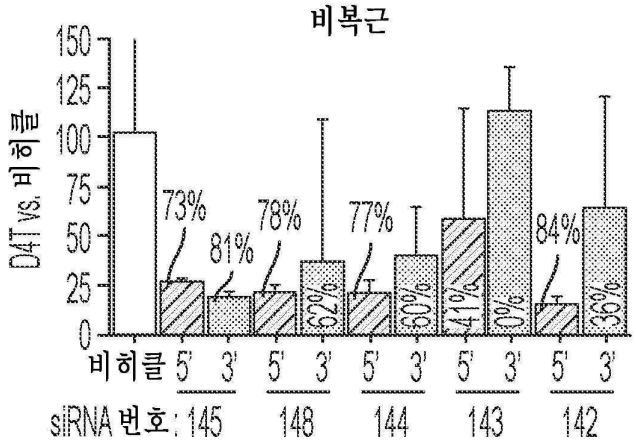
도면8



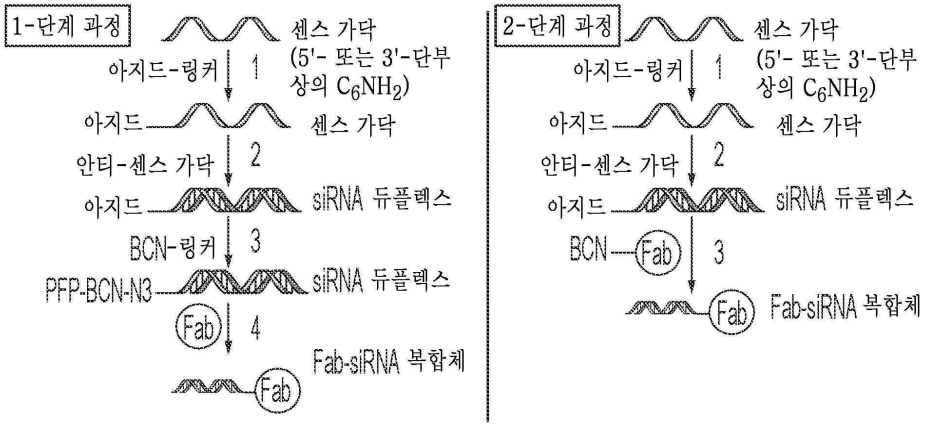
도면9a



도면9b



도면10


1-단계 과정
센스 가닥
아지드-링커
1
(5'- 또는 3'-단부 상의 C_6NH_2)
아지드
센스 가닥
안티-센스 가닥
2
아지드
siRNA 듀플렉스
BCN-링커
3
PFP-BCN-N3
siRNA 듀플렉스
Fab
4
Fab-siRNA 복합체
Fab
2-단계 과정
센스 가닥
아지드-링커
1
(5'- 또는 3'-단부 상의 C_6NH_2)
아지드
센스 가닥
안티-센스 가닥
2
아지드
siRNA 듀플렉스
BCN
Fab
3
Fab
Fab-siRNA 복합체

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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