



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118265724 A

(43) 申请公布日 2024. 06. 28

(21) 申请号 202280060779.9

(22) 申请日 2022.07.08

(30) 优先权数据

63/220,000 2021.07.09 US

63/316,905 2022.03.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2024.03.07

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/073536 2022.07.08

(87) PCT国际申请的公布数据
W02023/283620 EN 2023.01.12

(71) 申请人 达因疗法公司
地址 美国

(72) 发明人 斯特凡诺·扎诺蒂
泰勒·皮卡里洛 蒂莫西·威登

科迪·A·德雅尔丹

罗梅什·R·苏布拉马尼亚

穆罕默德·T·卡塔纳尼

布伦丹·奎因 约翰·纳吉姆

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

专利代理师 张福誉 刘振佳

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

C07K 14/79 (2006.01)

C12N 15/113 (2006.01)

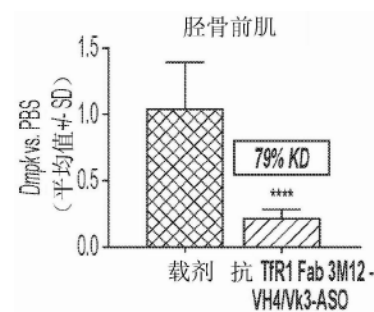
权利要求书19页 说明书133页
序列表(电子公布) 附图5页

(54) 发明名称

肌肉靶向复合物及其用于治疗强直性肌营养不良的用途

(57) 摘要

本申请涉及被设计为靶向DMPK RNA的寡核苷酸(例如,反义寡核苷酸,例如间隔聚体)和涉及用于将该寡核苷酸递送至细胞(例如,肌细胞)的靶向复合物及其用途,特别是与疾病治疗相关的用途。在一些实施方案中,所述肌肉靶向剂与肌细胞上的内化细胞表面受体特异性结合。在一些实施方案中,所述分子载荷抑制DMPK的表达或活性。



1. 复合物,其包含与寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1 (TfR1) 抗体,所述寡核苷酸被配置用于降低DMPK的表达或活性,其中所述抗TfR1抗体包含表2至7中列出的任何抗TfR1抗体的重链互补决定区1 (CDR-H1)、重链互补决定区2 (CDR-H2)、重链互补决定区3 (CDR-H3)、轻链互补决定区1 (CDR-L1)、轻链互补决定区2 (CDR-L2)、轻链互补决定区3 (CDR-L3),

并且其中所述寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3' 构型,其中

X包含3至7个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;

Y包含6至15个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且

Z包含3至7个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;并且

其中所述寡核苷酸包含针对SEQ ID NO:205、214、222、217、211、215、220、225、160至204、206至210、212、213、216、218、219、221、223、224、和226至230任一者中至少15个连续核苷的互补区。

2. 权利要求1所述的复合物,其中

X包含3至5个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;

Y包含6至10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且

Z包含3至5个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷。

3. 权利要求1或权利要求2所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体包含含有与SEQ ID NO:76具有至少95%同一性的氨基酸序列的重链可变区 (VH) 和/或包含含有与SEQ ID NO:75具有至少95%同一性的氨基酸序列的轻链可变区 (VL),

任选地,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。

4. 权利要求1至3中任一项所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体是Fab,其中所述Fab包含含有与SEQ ID NO:101具有至少85%同一性的氨基酸序列的重链和/或包含含有与SEQ ID NO:90具有至少85%同一性的氨基酸序列的轻链,

任选地,其中所述Fab包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

5. 权利要求1至4中任一项所述的复合物,其中所述抗体与所述寡核苷酸通过可切割接头共价连接,任选地其中所述可切割接头包含缬氨酸-瓜氨酸序列。

6. 权利要求1至5中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸的长度为15至25个核苷,任选地其中所述寡核苷酸的长度为15至20个核苷。

7. 权利要求1至6中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:276、348、354、350、345、286、352、357、231至275、277至285、287至344、346、347、349、351、353、355、356、和358至362中任一者的至少15个连续核苷,其中每个胸腺嘧啶碱基 (T) 可独立且任选地用尿嘧啶碱基 (U) 替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。

8. 权利要求1至7中任一项所述的复合物,其中X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或者Z中的每个核苷是2'-经修饰核苷,任选地其中每个2'-经修饰核苷独立地是2'-4' 双环核苷或非双环2'-经修饰核苷。

9. 权利要求1至8中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含以下的5'-X-Y-Z-3'

构型:

X	Y	Z
EEEEEE	(D) ₁₀	EEEEEE,
EEE	(D) ₁₀	EEE,
EEEEEE	(D) ₁₀	EEEE,
EEEEEE	(D) ₁₀	EE,
LLL	(D) ₁₀	LLL,
EELL	(D) ₈	LLEE,
LLEE	(D) ₈	EELL, 或
LLEEE	(D) ₁₀	EEELL,

其中“E”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“L”是LNA;“D”是2'-脱氧核糖核苷;并且“10”或“8”是Y中2'-脱氧核糖核苷的数目。

10. 权利要求1至9中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联。

11. 权利要求1至10中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸中的每个核苷间键联均是硫代磷酸酯核苷间键联。

12. 权利要求1至10中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含一个或更多个磷酸二酯核苷间键联,任选地其中所述一个或更多个磷酸二酯核苷间键联在X和/或Z中。

13. 权利要求1至11中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含选自以下的结构:

oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),

oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),

oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),

oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),

oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),

oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),

oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),

oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),

oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO:

- 310) ,
oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO:
311) ,
oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO:
312) ,
oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO:
313) ,
oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO:
314) ,
oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO:
315) ,
oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO:
316) ,
oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO:
246) ,
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO:
317) ,
oU*oG*oU*oG*oC*dA*x dC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO:
318) ,
oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*x dC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO:
319) ,
oC*oA*oC*oA*oG*x dC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO:
320) ,
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*x dC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO:
321) ,
oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO:
322) ,
oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO:
323) ,
oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO:
254) ,
oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*x dC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO:
255) ,
oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO:
256) ,
oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*x dC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO:
324) ,
oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*x dC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO:
325) ,

- oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
- oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
- oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
- oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
- oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
- oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
- oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
- oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
- oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
- oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
- oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
- oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
- oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
- oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
- oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340), 和
- oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),

其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

14. 权利要求13所述的复合物,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并且包含选自以下的结构:

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG}$ (SEQ ID NO: 302),

NH2-(CH2)6-O-U-G-C-A-D-G-x-D-G-T-D-C-A-O-G-O-G

(SEQ ID NO:321),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC}$ (SEQ ID NO:322),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU}$ (SEQ ID NO:323),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC}$ (SEQ ID NO:254),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA}$ (SEQ ID NO:255),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC}$ (SEQ ID NO:256),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC}$ (SEQ ID NO:324),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC}$ (SEQ ID NO:325),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG}$ (SEQ ID NO:326),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG}$ (SEQ ID NO:327),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC}$ (SEQ ID NO:328),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC}$ (SEQ ID NO:329),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC}$ (SEQ ID NO:330),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG}$ (SEQ ID NO:331),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC}$ (SEQ ID NO:332),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC}$ (SEQ ID NO:333),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC}$ (SEQ ID NO:334),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU}$ (SEQ ID NO:335),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG}$ (SEQ ID NO:336),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC}$ (SEQ ID NO:337),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG} * \text{oG} * \text{oA} * \text{oC} * \text{oG} * \text{dG} * \text{dC} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dG} * \text{dC} * \text{dT} * \text{dT} * \text{dG} * \text{oC} * \text{oU} * \text{oG} * \text{oC} * \text{oC}$
(SEQ ID NO:338),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU} * \text{oG} * \text{oG} * \text{oA} * \text{oA} * \text{dC} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dG} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dG} * \text{dC} * \text{oC} * \text{oC} * \text{oG} * \text{oG} * \text{oC}$
(SEQ ID NO:339),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC} * \text{oA} * \text{oU} * \text{oC} * \text{oC} * \text{dA} * \text{dA} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dT} * \text{dG} * \text{dG} * \text{dA} * \text{oU} * \text{oU} * \text{oG} * \text{oG} * \text{oG}$
(SEQ ID NO:340), 和

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG} * \text{oC} * \text{oA} * \text{oU} * \text{oC} * \text{dC} * \text{dA} * \text{dA} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dT} * \text{dG} * \text{dG} * \text{oA} * \text{oU} * \text{oU} * \text{oG} * \text{oG} * \text{oG}$
(SEQ ID NO:341),

其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

并且任选地,其中在5'- $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 -$ 与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

15. 权利要求1至11中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*x*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*x*oC*oA*+A*+G (SEQ ID NO:276),
+A*x+C*x*oC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*x*oC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO:348),
x+C*x+C*x*oC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO:354),
+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*x*oC*oG*+A*+A (SEQ ID NO:350),
x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*x*oC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO:345),
xoC*x*oC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*x*oC*oA (SEQ ID NO:286),
xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*x*oC (SEQ ID NO:352),
x+C*+G*oU*x*oC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*x*oC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO:357),
x+C*+A*x*oC*oG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*oA*oA*+G*x+C (SEQ ID NO:275),
xoC*oA*x+C*+G*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*+A*+A*oG*x*oC (SEQ ID NO:275),
oG*x*oC*+A*x+C*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*x+C*+A*oA*oG (SEQ ID NO:276),
+A*x+C*oG*oU*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO:342),
oA*x*oC*+G*+U*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*+A*+G*x*oC*oA (SEQ ID NO:342),
x+C*+A*oA*oA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*oG*x*oC*+A*+G (SEQ ID NO:278),
+A*x+C*oU*oU*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*oU*x*oC*+A*+U (SEQ ID NO:343),
+U*+A*oG*oU*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*oG*oA*+A*+G (SEQ ID NO:344),
+G*x+C*x*oC*x*oC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*xdC*dA*oG*oG*+A*x+C (SEQ ID NO:281),
+G*+U*x*oC*oA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*dC*oU*x*oC*+A*+G (SEQ ID NO:346),
x+C*x+C*oA*oG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*+U*+U (SEQ ID NO:347),
x+C*x+C*oA*oA*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO:286),
x+C*+A*x*oC*oU*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*oU*oU*x+C*+A (SEQ ID NO:349),
+G*+G*x*oC*x*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*oA*oG*+G*+A (SEQ ID NO:289),
+A*+A*oA*x*oC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*x*oC*oA*+G*+U (SEQ ID NO:351),
x+C*+U*oU*x*oC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x*oC*oA*+U*x+C (SEQ ID NO:352),
+A*+G*oU*oU*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*+G*+U (SEQ ID NO:353),

$\text{xOC}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO:278),
 $\text{oA}^*\text{xOC}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*+\text{U}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO:343),
 $\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO:344),
 $\text{oG}^*\text{xOC}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{xOC}$ (SEQ ID NO:281),
 $\text{xOC}^*\text{oA}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xOC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO:349),
 $\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO:350),
 $\text{oG}^*\text{oG}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{oG}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO:289),
 $\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{A}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO:351),
 $\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO:353),
 $\text{xOC}^*\text{xOC}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{xOC}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO:354),
 $\text{x}^*+\text{C}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*+\text{G}^*\text{x}^*+\text{C}$ (SEQ ID NO:355),
 $+\text{A}^*+\text{U}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oG}^*\text{xOC}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO:356),
 $+\text{U}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xOC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}^*+\text{C}$ (SEQ ID NO:358),
 $+\text{A}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO:359),
 $\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}^*+\text{C}$ (SEQ ID NO:360),
 $\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*+\text{U}^*\text{x}^*+\text{C}$ (SEQ ID NO:361),
 和

$\text{x}^*+\text{C}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oU}^*\text{xOC}^*+\text{U}^*\text{x}^*+\text{C}$ (SEQ ID NO:362),
 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

16.权利要求15所述的复合物,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的结构:

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-+\text{G}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xOC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO:276),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-+\text{A}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xOC}^*\text{oU}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO:348),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}^*+\text{C}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{xOC}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO:354),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-+\text{G}^*+\text{U}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xOC}^*\text{oG}^*+\text{A}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO:350),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xOC}^*\text{oG}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{x}^*+\text{C}$ (SEQ ID NO:345),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xOC}^*\text{xOC}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{xOC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO:286),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xOC}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}^*+\text{C}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oU}^*\text{xOC}$ (SEQ ID NO:352),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}^*+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oU}^*\text{xOC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xOC}^*\text{oU}^*\text{x}^*+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO:357),

NH2-(CH2)6-O*O*A*+G*+U*dT*dG*dA*xC*dT*dG*dG*xC*+G*+A*O*A*OG (SEQ ID NO:

344),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{xOC}^* \text{x} + \text{C}^* \text{x} + \text{C}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dA}^* + \text{G}^* + \text{G}^* \text{oA}^* \text{xOC}$ (SEQ ID NO: 281),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{xOC}^* \text{oA}^* \text{x} + \text{C}^* + \text{U}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dT}^* + \text{U}^* + \text{U}^* \text{xOC}^* \text{oA}$ (SEQ ID NO: 349),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oU}^* + \text{A}^* + \text{G}^* \text{dT}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{x} + \text{C}^* + \text{G}^* \text{oA}^* \text{oA}$ (SEQ ID No: 350),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oG}^* \text{x} + \text{C}^* \text{x} + \text{C}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* + \text{A}^* + \text{G}^* \text{oG}^* \text{oA}$ (SEQ ID NO: 289),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA}^* \text{oA}^* + \text{A}^* \text{x} + \text{C}^* \text{dT}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{x} + \text{C}^* + \text{A}^* \text{oG}^* \text{oU}$ (SEQ ID NO: 351),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA}^* \text{oG}^* + \text{U}^* + \text{U}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* + \text{A}^* + \text{A}^* \text{oG}^* \text{oU}$ (SEQ ID NO: 353),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{xOC}^* \text{xOC}^* \text{x} + \text{C}^* + \text{G}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* + \text{G}^* + \text{A}^* \text{xOC}^* \text{oU}$ (SEQ ID NO: 354),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* \text{x} + \text{C}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{xOC}^* \text{xOC}^* + \text{G}^* \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 355),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - + \text{A}^* + \text{U}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{xdC}^* \text{oG}^* \text{xOC}^* \text{x} + \text{C}^* + \text{A}$ (SEQ ID NO: 356),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - + \text{U}^* \text{x} + \text{C}^* \text{oA}^* \text{xOC}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{xdC}^* \text{xdC}^* \text{dT}^* \text{xOC}^* \text{oA}^* + \text{G}^* \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 358),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - + \text{A}^* \text{x} + \text{C}^* \text{xOC}^* \text{oA}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{oU}^* \text{oA}^* + \text{G}^* + \text{U}$ (SEQ ID NO: 359),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* + \text{A}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{dT}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dA}^* \text{oG}^* \text{oU}^* + \text{U}^* \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 360),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* + \text{A}^* \text{xOC}^* \text{xOC}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{xOC}^* \text{xOC}^* + \text{U}^* \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 361), 和

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* \text{x} + \text{C}^* \text{oA}^* \text{oA}^* \text{xdC}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{xdC}^* \text{xdC}^* \text{oU}^* \text{xOC}^* + \text{U}^* \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 362),

其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

并且任选地,其中在5'- $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 -$ 与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

17.降低肌细胞中DMPK表达的方法,所述方法包括使所述肌细胞与有效量的权利要求1至16中任一项所述的复合物接触以降低所述肌细胞中的DMPK表达。

18.权利要求17所述的方法,其中降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK RNA的量,任选地其中所述DMPK RNA量在所述肌细胞的核中降低,任选地其中所述DMPK RNA是突变体DMPK mRNA。

19. 权利要求17或权利要求18所述的方法,其中降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK蛋白的量。

20. 治疗1型强直性肌营养不良(DM1)的方法,所述方法包括向有此需要的对象施用有效量的权利要求1至16中任一项所述的复合物。

21. 权利要求20所述的方法,其中所述施用导致所述对象中肌细胞中的DMPK RNA降低至少30%,任选地其中所述DMPK RNA是DMPK mRNA。

22. 权利要求20或权利要求21所述的方法,其中所述施用导致所述对象中肌细胞的核中的DMPK RNA降低。

23. 寡核苷酸,其包含选自以下的结构:

oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),

oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*x dC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),

oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*x dC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),

oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*x dC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),

oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),

oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),

oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),

oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),

oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*x oG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),

oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),

oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),

oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),

oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),

oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),

oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),

oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246) ,

oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317) ,

oU*oG*oU*oG*oC*dA*x dC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318) ,

oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*x dC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319) ,

oC*oA*oC*oA*oG*x dC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320) ,

oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*x dC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321) ,

oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322) ,

oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323) ,

oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254) ,

oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*x dC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255) ,

oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256) ,

oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*x dC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324) ,

oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*x dC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325) ,

oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*x dC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326) ,

oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327) ,

oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*x dC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328) ,

oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*x dC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329) ,

oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330) ,

oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331) ,

oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO:

- 332),
oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO:
333),
oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO:
334),
oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO:
335),
oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO:
336),
oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO:
337),
oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO:
338),
oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO:
339),
oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO:
340),和
oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO:
341),

其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

24.权利要求23所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的结构:

- $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG}$ (SEQ ID NO:302),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU}$ (SEQ ID NO:303),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC}$ (SEQ ID NO:304),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU}$ (SEQ ID NO:305),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG}$ (SEQ ID NO:306),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU}$ (SEQ ID NO:307),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC}$ (SEQ ID NO:308),
 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU}$ (SEQ

ID NO:309) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC}$
(SEQ ID NO:310) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG}$ (SEQ
ID NO:311) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG}$
(SEQ ID NO:312) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA}$
(SEQ ID NO:313) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU}$
(SEQ ID NO:314) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*dG*oC*oC*oA*oG*oG}$
(SEQ ID NO:315) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*x dC*oG*oC*oC*oA*oG}$
(SEQ ID NO:316) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA}$ (SEQ
ID NO:246) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC}$ (SEQ
ID NO:317) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oG*oU*oG*oC*dA*x dC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG}$
(SEQ ID NO:318) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*x dC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG}$
(SEQ ID NO:319) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oC*oA*oG*x dC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG}$
(SEQ ID NO:320) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*x dC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG}$
(SEQ ID NO:321) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC}$ (SEQ
ID NO:322) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU}$ (SEQ
ID NO:323) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC}$ (SEQ
ID NO:254) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*x dC*oG*oC*oC*oC*oA}$
(SEQ ID NO:255) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC}$ (SEQ
ID NO:256) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*x dC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC}$
(SEQ ID NO:324) ,

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:325),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{dT}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}$
(SEQ ID NO:326),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oG}$ (SEQ
ID NO:327),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:328),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:329),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oC}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{oC}$ (SEQ
ID NO:330),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oC}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oG}$ (SEQ
ID NO:331),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dT}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oC}$ (SEQ
ID NO:332),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:333),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:334),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{dT}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{oA}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{oU}^* \text{oU}$
(SEQ ID NO:335),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oC}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dG}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oG}$
(SEQ ID NO:336),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oC}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dC}^* \text{oA}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:337),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oC}^* \text{oG}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{dC}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{dT}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{oC}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:338),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oA}^* \text{oA}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dC}^* \text{oC}^* \text{oC}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oC}$
(SEQ ID NO:339),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{oC}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{dA}^* \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oG}^* \text{oG}$
(SEQ ID NO:340), 和

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^* \text{oC}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{oC}^* \text{dC}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{dA}^* \text{xdC}^* \text{dG}^* \text{dT}^* \text{dG}^* \text{dG}^* \text{oA}^* \text{oU}^* \text{oU}^* \text{oG}^* \text{oG}$
(SEQ ID NO:341),

其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

并且任选地,其中在5'- $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 -$ 与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

25. 寡核苷酸,其包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xDC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO:276) ,
+A*x+C*xoC*oA*dA*xDC*dA*xDC*dG*dT*xDC*xDC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO:348) ,
x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xDC*dA*xDC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO:354) ,
+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xDC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO:350) ,
x+C*+A*oU*oG*dA*xDC*dA*dA*dT*xDC*dT*xDC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO:345) ,
xoC*xoC*+A*+A*dA*xDC*dT*dT*dG*xDC*dT*xDC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO:286) ,
xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xDC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO:352) ,
x+C*+G*oU*xoC*dA*xDC*xDC*dT*xDC*dG*dG*xDC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO:357) ,
x+C*+A*xoC*oG*dT*dG*dT*dG*dG*xDC*dT*xDC*oA*oA*+G*x+C (SEQ ID NO:275) ,
xoC*oA*x+C*+G*dT*dG*dT*dG*dG*xDC*dT*xDC*+A*+A*oG*xoC (SEQ ID NO:275) ,
oG*xoC*+A*x+C*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xDC*dT*x+C*+A*oA*oG (SEQ ID NO:276) ,
+A*x+C*oG*oU*dG*dT*dG*dG*xDC*dT*xDC*dA*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO:342) ,
oA*xoC*+G*+U*dG*dT*dG*dG*xDC*dT*xDC*dA*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO:342) ,
x+C*+A*oA*oA*xDC*dT*dT*dG*xDC*dT*xDC*dA*oG*xoC*+A*+G (SEQ ID NO:278) ,
+A*x+C*oU*oU*xDC*dA*dG*xDC*dT*dG*dT*dT*oU*xoC*+A*+U (SEQ ID NO:343) ,
+U*+A*oG*oU*dT*dG*dA*xDC*dT*dG*dG*xDC*oG*oA*+A*+G (SEQ ID NO:344) ,
+G*x+C*xoC*xoC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*xDC*dA*oG*oG*+A*x+C (SEQ ID NO:281) ,
+G*+U*xoC*oA*xDC*xDC*dT*xDC*dG*dG*xDC*dC*oU*xoC*+A*+G (SEQ ID NO:346) ,
x+C*x+C*oA*oG*dG*dT*dA*xDC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*+U*+U (SEQ ID NO:347) ,
x+C*x+C*oA*oA*dA*xDC*dT*dT*dG*xDC*dT*xDC*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO:286) ,
x+C*+A*xoC*oU*dT*xDC*dA*dG*xDC*dT*dG*dT*oU*oU*x+C*+A (SEQ ID NO:349) ,
+G*+G*xoC*xoC*xDC*dG*dG*dA*dT*xDC*dA*xDC*oA*oG*+G*+A (SEQ ID NO:289) ,
+A*+A*oA*xoC*dT*dT*dG*xDC*dT*xDC*dA*dG*xoC*oA*+G*+U (SEQ ID NO:351) ,
x+C*+U*oU*xoC*dA*dG*xDC*dT*dG*dT*dT*dT*xoC*oA*+U*x+C (SEQ ID NO:352) ,
+A*+G*oU*oU*dG*dA*xDC*dT*dG*dG*xDC*dG*oA*oA*+G*+U (SEQ ID NO:353) ,
xoC*oA*+A*+A*xDC*dT*dT*dG*xDC*dT*xDC*dA*+G*x+C*oA*oG (SEQ ID NO:278) ,
oA*xoC*+U*+U*xDC*dA*dG*xDC*dT*dG*dT*dT*+U*x+C*oA*oU (SEQ ID NO:343) ,
oU*oA*+G*+U*dT*dG*dA*xDC*dT*dG*dG*xDC*+G*+A*oA*oG (SEQ ID NO:344) ,
oG*xoC*x+C*x+C*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*+G*+G*oA*xoC (SEQ ID NO:281) ,
xoC*oA*x+C*+U*dT*xDC*dA*dG*xDC*dT*dG*dT*+U*+U*xoC*oA (SEQ ID NO:349) ,
oG*oU*+A*+G*dT*dT*dG*dA*xDC*dT*dG*dG*x+C*+G*oA*oA (SEQ ID NO:350) ,
oG*oG*x+C*x+C*xDC*dG*dG*dA*dT*xDC*dA*xDC*+A*+G*oG*oA (SEQ ID NO:289) ,
oA*oA*+A*x+C*dT*dT*dG*xDC*dT*xDC*dA*dG*x+C*+A*oG*oU (SEQ ID NO:351) ,
oA*oG*+U*+U*dG*dA*xDC*dT*dG*dG*xDC*dG*+A*+A*oG*oU (SEQ ID NO:353) ,
xoC*xoC*x+C*+G*dG*dA*dT*xDC*dA*xDC*dA*dG*+G*+A*xoC*oU (SEQ ID NO:354) ,
x+C*x+C*oA*oU*dG*dA*xDC*dA*dA*dT*xDC*dT*xoC*xoC*+G*x+C (SEQ ID NO:355) ,
+A*+U*oG*oA*xDC*dA*dA*dT*xDC*dT*xDC*xDC*oG*xoC*x+C*+A (SEQ ID NO:356) ,
+U*x+C*oA*xoC*xDC*dT*xDC*dG*dG*xDC*xDC*dT*xoC*oA*+G*x+C (SEQ ID NO:358) ,

+A*x+C*xoC*oA*dG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*oU*oA*+G*+U (SEQ ID NO:359),
 x+C*+A*oG*oG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*+U*x+C (SEQ ID NO:360),
 x+C*+A*xoC*xoC*dA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xoC*xoC*+U*x+C (SEQ ID NO:361),
 和

x+C*x+C*oA*oA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xdC*oU*xoC*+U*x+C (SEQ ID NO:362),
 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核
 苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-
 2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

26. 权利要求25所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的结构:

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - +\text{G}^*\text{x} + \text{C}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^* + \text{A}^* + \text{G}$ (SEQ ID NO: 276),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - +\text{A}^*\text{x} + \text{C}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{oU}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{U}$ (SEQ ID NO:348),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^*\text{x} + \text{C}^*\text{xoC}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{U}$ (SEQ ID NO:354),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - +\text{G}^* + \text{U}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xoC}^*\text{oG}^* + \text{A}^* + \text{A}$ (SEQ ID NO: 350),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* + \text{A}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{oG}^*\text{x} + \text{C}^*\text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO:345),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{xoC}^*\text{xoC}^* + \text{A}^* + \text{A}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^* + \text{A}^* + \text{G}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO:286),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{xoC}^*\text{oU}^* + \text{U}^*\text{x} + \text{C}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{A}^*\text{oU}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 352),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* + \text{G}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{oU}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{A}$ (SEQ ID NO:357),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* + \text{A}^*\text{xoC}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{oA}^*\text{oA}^* + \text{G}^*\text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 275),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{xoC}^*\text{oA}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{G}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^* + \text{A}^* + \text{A}^*\text{oG}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 275),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oG}^*\text{xoC}^* + \text{A}^*\text{x} + \text{C}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 276),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - +\text{A}^*\text{x} + \text{C}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x} + \text{C}^* + \text{A}$ (SEQ ID NO: 342),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{oA}^*\text{xoC}^* + \text{G}^* + \text{U}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^* + \text{A}^* + \text{G}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 342),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C}^* + \text{A}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{xoC}^* + \text{A}^* + \text{G}$ (SEQ ID NO: 278),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - +\text{A}^*\text{x} + \text{C}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{xoC}^* + \text{A}^* + \text{U}$ (SEQ ID NO:

353)

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{xoC} * \text{xoC} * \text{x} + \text{C} * + \text{G} * \text{dG} * \text{dA} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{dG} * + \text{G} * + \text{A} * \text{xoC} * \text{oU}$ (SEQ ID NO: 354),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C} * \text{x} + \text{C} * \text{oA} * \text{oU} * \text{dG} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{dA} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{dT} * \text{xoC} * \text{xoC} * + \text{G} * \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 355),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - + \text{A} * + \text{U} * \text{oG} * \text{oA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{dA} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{xdC} * \text{oG} * \text{xoC} * \text{x} + \text{C} * + \text{A}$ (SEQ ID NO: 356),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - + \text{U} * \text{x} + \text{C} * \text{oA} * \text{xoC} * \text{xdC} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dG} * \text{xdC} * \text{xdC} * \text{dT} * \text{xoC} * \text{oA} * + \text{G} * \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 358),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - + \text{A} * \text{x} + \text{C} * \text{xoC} * \text{oA} * \text{dG} * \text{dG} * \text{dT} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{dG} * \text{dG} * \text{oU} * \text{oA} * + \text{G} * + \text{U}$ (SEQ ID NO: 359),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C} * + \text{A} * \text{oG} * \text{oG} * \text{dT} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{dG} * \text{dG} * \text{dT} * \text{dA} * \text{oG} * \text{oU} * + \text{U} * \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 360),

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C} * + \text{A} * \text{xoC} * \text{xoC} * \text{dA} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{xoC} * \text{xoC} * + \text{U} * \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 361), 和

$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 - \text{x} + \text{C} * \text{x} + \text{C} * \text{oA} * \text{oA} * \text{xdC} * \text{dA} * \text{xdC} * \text{dG} * \text{dT} * \text{xdC} * \text{xdC} * \text{xdC} * \text{oU} * \text{xoC} * + \text{U} * \text{x} + \text{C}$ (SEQ ID NO: 362),

其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

并且任选地,其中在5'- $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_6 -$ 与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

27. 组合物,其包含钠盐形式的权利要求23至26中任一项所述的寡核苷酸。

肌肉靶向复合物及其用于治疗强直性肌营养不良的用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据35 U.S.C. §119(e) 要求于2021年7月9日提交的标题为“MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY”的美国临时申请序列No.63/220000和于2022年3月4日提交的标题为“MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY”的美国临时申请序列No.63/316905的优先权;其各自的内容均通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0003] 本申请涉及被设计为靶向DMPK RNA的寡核苷酸和涉及用于将该寡核苷酸递送至细胞(例如,肌细胞)的靶向复合物及其用途,特别是与疾病治疗相关的用途。

[0004] 参考电子序列表

[0005] 电子序列表(D082470054W000-SEQ-C0B.xml;大小:574,699字节;以及创建日期:2022年7月7日)的内容通过引用以其整体并入本文。

背景技术

[0006] 强直性肌营养不良(myotonic dystrophy,DM)是一种显性遗传的遗传疾病,其特征在于肌强直、肌肉损失或变性、肌肉功能减弱、胰岛素抵抗、心律不齐、平滑肌功能障碍和神经系统异常。DM是成年发病的肌营养不良的最常见形式,全世界发病率为全世界8000人中约1人。已经描述了该疾病的两种类型,即1型强直性肌营养不良(DM1)和2型强直性肌营养不良(DM2)。DM1是该疾病的更常见形式,其是由19号染色体上DMPK的3'非编码区中CTG三核苷酸重复的重复扩增(repeat expansion)导致的;DM2是由3号染色体上ZNF9的第一个内含子中CCTG四核苷酸重复的重复扩增导致的。在DM1患者中,CTG三核苷酸重复的重复扩增可包含大于约50至约3,000或更多的总重复,导致产生有毒的RNA重复,其能够形成以高亲和力和力结合必需的胞内蛋白(例如盲肌样蛋白(muscleblind-like protein))的发夹结构,从而导致蛋白质隔离(protein sequestration)和作为疾病特征的功能丧失表型。除了支持性护理和解决疾病症状的治疗之外,目前尚无可用于DM1的有效治疗剂。

发明内容

[0007] 在一些方面中,本公开内容提供了被设计为靶向DMPK RNA的寡核苷酸。在一些实施方案中,本公开内容提供了与DMPK RNA互补的寡核苷酸,其可用于降低具有疾病相关重复扩增的毒性DMPK的水平,例如,在患有或怀疑患有强直性肌营养不良的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导位于细胞(例如,肌细胞(例如肌管)或神经系统的细胞(例如,中枢神经系统(central nervous system,CNS)细胞))的核中的靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的生物利用度和/或血清稳定性特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的结合亲和力特性。在一些实施方案中,寡核苷酸

被设计为具有期望的毒性特征。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有低补体激活和/或细胞因子诱导特性。

[0008] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸被设计为促进与其他分子(例如,靶向剂,例如,肌肉靶向剂)的缀合。因此,在一些方面中,本公开内容提供了靶向特定细胞类型以用于将寡核苷酸递送至这些细胞的复合物。例如,在一些实施方案中,本公开内容提供了靶向肌细胞以用于将寡核苷酸递送至这些细胞的复合物。在一些实施方案中,本文中提供的复合物特别可用于递送分子载荷,所述分子载荷抑制包含扩增的疾病相关重复的DMPK等位基因的表达或活性,例如,在患有或怀疑患有强直性肌营养不良的对象中。因此,在一些实施方案中,本文中提供的复合物包含与肌细胞表面上的受体特异性结合以用于将分子载荷递送至肌细胞的肌肉靶向剂(例如,肌肉靶向抗体)。在一些实施方案中,复合物通过受体介导的内化被摄取到细胞中,然后分子载荷可被释放以在细胞内部执行功能。例如,经改造以递送寡核苷酸的复合物可释放该寡核苷酸,使得该寡核苷酸可以抑制肌细胞中的突变体DMPK表达。在一些实施方案中,通过对连接复合物的肌肉靶向剂与寡核苷酸的共价接头进行内体切割而释放该寡核苷酸。应理解,本文中提供的寡核苷酸和/或复合物可用于多种组织和细胞类型,例如肌肉组织中(例如,肌细胞中)和中枢神经系统中(例如,CNS细胞例如神经元中)。

[0009] 本公开内容的一些方面提供了靶向DMPK RNA的寡核苷酸。

[0010] 根据一些方面,提供了复合物,其包含与寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(anti-transferrin receptor 1,TfR1)抗体,所述寡核苷酸被配置用于降低DMPK的表达或活性,其中所述抗TfR1抗体包含表2至7中列出的任何抗TfR1抗体的重链互补决定区1(heavy chain complementarity determining region 1,CDR-H1)、重链互补决定区2(CDR-H2)、重链互补决定区3(CDR-H3)、轻链互补决定区1(light chain complementarity determining region 1,CDR-L1)、轻链互补决定区2(CDR-L2)、轻链互补决定区3(CDR-L3),

[0011] 并且其中所述寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中

[0012] X包含3至7个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;

[0013] Y包含6至15个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且

[0014] Z包含3至7个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;并且

[0015] 其中所述寡核苷酸包含针对SEQ ID NO:205、214、222、217、211、215、220、225、160至204、206至210、212、213、216、218、219、221、223、224、和226至230任一者中至少15个连续核苷的互补区。

[0016] 在一些实施方案中,X包含3至5个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;

[0017] Y包含6至10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且

[0018] Z包含3至5个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷。

[0019] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含含有与SEQ ID NO:76具有至少95%同一性的氨基酸序列的重链可变区(heavy chain variable region,VH)和/或包含含有与SEQ ID NO:75具有至少95%同一性的氨基酸序列的轻链可变区(light chain variable region,

VL),

[0020] 任选地,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。

[0021] 在一些实施方案中,所述抗TfR1抗体是Fab,其中所述Fab包含含有与SEQ ID NO:101具有至少85%同一性的氨基酸序列的重链和/或包含含有与SEQ ID NO:90具有至少85%同一性的氨基酸序列的轻链,

[0022] 任选地,其中所述Fab包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0023] 在一些实施方案中,所述抗体和所述寡核苷酸通过可切割接头共价连接,其中所述可切割接头任选地包含缬氨酸-瓜氨酸序列。

[0024] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸的长度为15至25个核苷,任选地其中所述寡核苷酸的长度为15至20个核苷。

[0025] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:276、348、354、350、345、286、352、357、231至275、277至285、287至344、346、347、349、351、353、355、356、和358至362中任一者的至少15个连续核苷,其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。

[0026] 在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或者Z中的每个核苷是2'-经修饰核苷,任选地其中每个2'-经修饰核苷独立地是2'-4'双环核苷或非双环2'-经修饰核苷。

[0027] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含以下的5'-X-Y-Z-3'构型:

	X	Y	Z
	EEEEEE	(D) ₁₀	EEEEEE,
	EEE	(D) ₁₀	EEE,
	EEEEEE	(D) ₁₀	EEEE,
[0028]	EEEEEE	(D) ₁₀	EE,
	LLL	(D) ₁₀	LLL,
	EELL	(D) ₈	LLEE,
	LLEE	(D) ₈	EELL, 或
	LLEEE	(D) ₁₀	EEELL,

[0029] 其中“E”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“L”是LNA;“D”是2'-脱氧核糖核苷;并且“10”或“8”是Y中2'-脱氧核糖核苷的数目。

[0030] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含一个或多个硫代磷酸酯核苷间键联。

[0031] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸中的每个核苷间键联均是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0032] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含一个或多个磷酸二酯核苷间键联,任选地其中所述一个或多个磷酸二酯核苷间键联在X和/或Z中。

[0033] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含选自以下的结构:

[0034]

oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),
oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),
oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),
oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),
oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),
oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),
oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),

- oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
[0035] oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340), 和
oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),
[0036] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核
糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-
MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。
[0037] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的
结构:
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
[0038] NH₂-(CH₂)₆-oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),

- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
- NH₂-(CH₂)₆-oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
- NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),
- [0039] NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
- NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
- NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
- NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
- [0040] NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340),
- 和
- NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),
- [0041] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核

糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0042] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0043] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),
 +A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),
 x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),
 +G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),
 x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
 xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286),
 xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352),
 x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),
 x+C*+A*xoC*oG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*oA*oA*+G*x+C (SEQ ID NO: 275),
 xoC*oA*x+C*+G*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*+A*+A*oG*xoC (SEQ ID NO: 275),
 oG*xoC*+A*x+C*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*x+C*+A*oA*oG (SEQ ID NO: 276),
 +A*x+C*oG*oU*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO: 342),
 oA*xoC*+G*+U*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 342),
 x+C*+A*oA*oA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*oG*xoC*+A*+G (SEQ ID NO: 278),
 +A*x+C*oU*oU*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*oU*xoC*+A*+U (SEQ ID NO: 343),
 +U*+A*oG*oU*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*oG*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 344),
 +G*x+C*xoC*xoC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*xdC*dA*oG*oG*+A*x+C (SEQ ID NO: 281),
 +G*+U*xoC*oA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*dC*oU*xoC*+A*+G (SEQ ID NO: 346),
 x+C*x+C*oA*oG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*+U*+U (SEQ ID NO: 347),
 x+C*x+C*oA*oA*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO: 286),
 x+C*+A*xoC*oU*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*oU*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 349),
 +G*+G*xoC*xoC*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*oA*oG*+G*+A (SEQ ID NO: 289),
 +A*+A*oA*xoC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*xoC*oA*+G*+U (SEQ ID NO: 351),

- $x+C*+U*oU*xoC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*xoC*oA*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 352),
 $+A*+G*oU*oU*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*+G*+U$ (SEQ ID NO: 353),
 $xoC*oA*+A*+A*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*+G*x+C*oA*oG$ (SEQ ID NO: 278),
 $oA*xoC*+U*+U*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*+U*x+C*oA*oU$ (SEQ ID NO: 343),
 $oU*oA*+G*+U*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*+G*+A*oA*oG$ (SEQ ID NO: 344),
 $oG*xoC*x+C*x+C*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*+G*+G*oA*xoC$ (SEQ ID NO: 281),
 $xoC*oA*x+C*+U*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*+U*+U*xoC*oA$ (SEQ ID NO: 349),
 $oG*oU*+A*+G*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*x+C*+G*oA*oA$ (SEQ ID NO: 350),
 $oG*oG*x+C*x+C*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*+A*+G*oG*oA$ (SEQ ID NO: 289),
 [0045] $oA*oA*+A*x+C*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*x+C*+A*oG*oU$ (SEQ ID NO: 351),
 $oA*oG*+U*+U*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*+A*+A*oG*oU$ (SEQ ID NO: 353),
 $xoC*xoC*x+C*+G*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*+G*+A*xoC*oU$ (SEQ ID NO: 354),
 $x+C*x+C*oA*oU*dG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xoC*xoC*+G*x+C$ (SEQ ID NO: 355),
 $+A*+U*oG*oA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xdC*oG*xoC*x+C*+A$ (SEQ ID NO: 356),
 $+U*x+C*oA*xoC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xdC*dT*xoC*oA*+G*x+C$ (SEQ ID NO: 358),
 $+A*x+C*xoC*oA*dG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*oU*oA*+G*+U$ (SEQ ID NO: 359),
 $x+C*+A*oG*oG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 360),
 $x+C*+A*xoC*xoC*dA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xoC*xoC*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 361), 和
 $x+C*x+C*oA*oA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xdC*oU*xoC*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 362),
 [0046] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。
 [0047] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的结构:
 $NH_2-(CH_2)_6-+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G$ (SEQ ID NO: 276),
 $NH_2-(CH_2)_6-+A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U$ (SEQ ID NO: 348),
 $NH_2-(CH_2)_6-x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U$ (SEQ ID NO: 354),
 $NH_2-(CH_2)_6-+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A$ (SEQ ID NO: 350),
 [0048] $NH_2-(CH_2)_6-x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C$ (SEQ ID NO: 345),
 $NH_2-(CH_2)_6-xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA$ (SEQ ID NO: 286),
 $NH_2-(CH_2)_6-xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC$ (SEQ ID NO: 352),
 $NH_2-(CH_2)_6-x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A$ (SEQ ID NO: 357),

- $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 275),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 275),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{xoC}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 276),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 342),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{xoC}^*+\text{G}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 342),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{xoC}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 278),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*+\text{A}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 343),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{U}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{oG}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 344),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{G}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oG}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 281),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{G}^*+\text{U}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dC}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 346),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 347),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 286),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{oU}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 349),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{G}^*+\text{G}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{G}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 289),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 352),
[0049] $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{G}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 278),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 343),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 344),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 281),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 349),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 350),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{oG}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 289),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 354),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 355),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{U}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oG}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 356),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 358),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 359),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 360),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 361), 和
[0050] $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 362),
[0051] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-

甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0052] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0053] 根据一些方面,本文中提供了降低肌细胞中DMPK表达的方法。在一些实施方案中,方法包括使所述肌细胞与有效量的本文中公开的复合物接触以降低所述肌细胞中的DMPK表达。

[0054] 在一些实施方案中,降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK RNA的量,任选地其中所述DMPK RNA量在所述肌细胞的核中降低,任选地其中所述DMPK RNA是突变体DMPK mRNA。

[0055] 在一些实施方案中,降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK蛋白的量。

[0056] 根据一些方面,本文中提供了治疗1型强直性肌营养不良(DM1)的方法。在一些实施方案中,方法包括向有此需要的对象施用有效量的本文中公开的复合物。

[0057] 在一些实施方案中,所述施用导致所述对象中肌细胞中的DMPK RNA降低至少30%,任选地其中所述DMPK RNA是DMPK mRNA。

[0058] 在一些实施方案中,所述施用导致所述对象中肌细胞的核中的DMPK RNA降低,任选地其中所述DMPK RNA是DMPK mRNA。

[0059] 根据一些方面,本文中提供了寡核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含选自以下的结构:

[0060] oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),

oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),
oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),
oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),
oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),
[0061] oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),
oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),
oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),

- oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
[0062] oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xC*dG*dG*dA*xC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*dA*xC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340), 和
oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*dA*xC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),
[0063] 其中“xC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核
糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-
MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0064] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的
结构:

- NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
[0065] NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oU*oG*oA*oC*oA*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xC*dG*oC*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oU*oG*oC*dA*xC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oA*oG*xC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340),
和
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),

[0067] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0068] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0069] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),

+A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),

[0070]

x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),

+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),

$x+C^*+A^*oU^*oG^*dA^*xC^*dA^*dA^*dT^*xC^*dT^*xC^*xoC^*oG^*x+C^*x+C$ (SEQ ID NO: 345),
 $xoC^*xoC^*+A^*+A^*dA^*xC^*dT^*dT^*dG^*xC^*dT^*xC^*+A^*+G^*xoC^*oA$ (SEQ ID NO: 286),
 $xoC^*oU^*+U^*x+C^*dA^*dG^*xC^*dT^*dG^*dT^*dT^*dT^*x+C^*+A^*oU^*xoC$ (SEQ ID NO: 352),
 $x+C^*+G^*oU^*xoC^*dA^*xC^*xC^*dT^*xC^*dG^*dG^*xC^*xoC^*oU^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 357),
 $x+C^*+A^*xoC^*oG^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xC^*dT^*xC^*oA^*oA^*+G^*x+C$ (SEQ ID NO: 275),
 $xoC^*oA^*x+C^*+G^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xC^*dT^*xC^*+A^*+A^*oG^*xoC$ (SEQ ID NO: 275),
 $oG^*xoC^*+A^*x+C^*dG^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xC^*dT^*x+C^*+A^*oA^*oG$ (SEQ ID NO: 276),
 $+A^*x+C^*oG^*oU^*dG^*dT^*dG^*dG^*xC^*dT^*xC^*dA^*oA^*oG^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 342),
 $oA^*xoC^*+G^*+U^*dG^*dT^*dG^*dG^*xC^*dT^*xC^*dA^*+A^*+G^*xoC^*oA$ (SEQ ID NO: 342),
 $x+C^*+A^*oA^*oA^*xC^*dT^*dT^*dG^*xC^*dT^*xC^*dA^*oG^*xoC^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 278),
 $+A^*x+C^*oU^*oU^*xC^*dA^*dG^*xC^*dT^*dG^*dT^*dT^*oU^*xoC^*+A^*+U$ (SEQ ID NO: 343),
 $+U^*+A^*oG^*oU^*dT^*dG^*dA^*xC^*dT^*dG^*dG^*xC^*oG^*oA^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 344),
 $+G^*x+C^*xoC^*xoC^*dG^*dG^*dA^*dT^*dC^*dA^*xC^*dA^*oG^*oG^*+A^*x+C$ (SEQ ID NO: 281),
 $+G^*+U^*xoC^*oA^*xC^*xC^*dT^*xC^*dG^*dG^*xC^*dC^*oU^*xoC^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 346),
 $x+C^*x+C^*oA^*oG^*dG^*dT^*dA^*xC^*dA^*dG^*dG^*dT^*oA^*oG^*+U^*+U$ (SEQ ID NO: 347),
 $x+C^*x+C^*oA^*oA^*dA^*xC^*dT^*dT^*dG^*xC^*dT^*xC^*oA^*oG^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 286),
 [0071] $x+C^*+A^*xoC^*oU^*dT^*xC^*dA^*dG^*xC^*dT^*dG^*dT^*oU^*oU^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 349),
 $+G^*+G^*xoC^*xoC^*xC^*dG^*dG^*dA^*dT^*xC^*dA^*xC^*oA^*oG^*+G^*+A$ (SEQ ID NO: 289),
 $+A^*+A^*oA^*xoC^*dT^*dT^*dG^*xC^*dT^*xC^*dA^*dG^*xoC^*oA^*+G^*+U$ (SEQ ID NO: 351),
 $x+C^*+U^*oU^*xoC^*dA^*dG^*xC^*dT^*dG^*dT^*dT^*dT^*xoC^*oA^*+U^*x+C$ (SEQ ID NO: 352),
 $+A^*+G^*oU^*oU^*dG^*dA^*xC^*dT^*dG^*dG^*xC^*dG^*oA^*oA^*+G^*+U$ (SEQ ID NO: 353),
 $xoC^*oA^*+A^*+A^*xC^*dT^*dT^*dG^*xC^*dT^*xC^*dA^*+G^*x+C^*oA^*oG$ (SEQ ID NO: 278),
 $oA^*xoC^*+U^*+U^*xC^*dA^*dG^*xC^*dT^*dG^*dT^*dT^*+U^*x+C^*oA^*oU$ (SEQ ID NO: 343),
 $oU^*oA^*+G^*+U^*dT^*dG^*dA^*xC^*dT^*dG^*dG^*xC^*+G^*+A^*oA^*oG$ (SEQ ID NO: 344),
 $oG^*xoC^*x+C^*x+C^*dG^*dG^*dA^*dT^*dC^*dA^*dC^*dA^*+G^*+G^*oA^*xoC$ (SEQ ID NO: 281),
 $xoC^*oA^*x+C^*+U^*dT^*xC^*dA^*dG^*xC^*dT^*dG^*dT^*+U^*+U^*xoC^*oA$ (SEQ ID NO: 349),
 $oG^*oU^*+A^*+G^*dT^*dT^*dG^*dA^*xC^*dT^*dG^*dG^*x+C^*+G^*oA^*oA$ (SEQ ID NO: 350),
 $oG^*oG^*x+C^*x+C^*xC^*dG^*dG^*dA^*dT^*xC^*dA^*xC^*+A^*+G^*oG^*oA$ (SEQ ID NO: 289),
 $oA^*oA^*+A^*x+C^*dT^*dT^*dG^*xC^*dT^*xC^*dA^*dG^*x+C^*+A^*oG^*oU$ (SEQ ID NO: 351),
 $oA^*oG^*+U^*+U^*dG^*dA^*xC^*dT^*dG^*dG^*xC^*dG^*+A^*+A^*oG^*oU$ (SEQ ID NO: 353),
 $xoC^*xoC^*x+C^*+G^*dG^*dA^*dT^*xC^*dA^*xC^*dA^*dG^*+G^*+A^*xoC^*oU$ (SEQ ID NO: 354),
 $x+C^*x+C^*oA^*oU^*dG^*dA^*xC^*dA^*dA^*dT^*xC^*dT^*xoC^*xoC^*+G^*x+C$ (SEQ ID NO: 355),
 $+A^*+U^*oG^*oA^*xC^*dA^*dA^*dT^*xC^*dT^*xC^*xC^*oG^*xoC^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 356),

- +U*x+C*oA*xoC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xdC*dT*xoC*oA*+G*x+C (SEQ ID NO: 358),
 +A*x+C*xoC*oA*dG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*oU*oA*+G*+U (SEQ ID NO: 359),
 [0072] x+C*+A*oG*oG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*+U*x+C (SEQ ID NO: 360),
 x+C*+A*xoC*xoC*dA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xoC*xoC*+U*x+C (SEQ ID NO: 361), 和
 x+C*x+C*oA*oA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xdC*oU*xoC*+U*x+C (SEQ ID NO: 362),
 [0073] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核
 糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-
 甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。
 [0074] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并包含选自以下的
 结构:

- NH₂-(CH₂)₆-G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),
 NH₂-(CH₂)₆-A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),
 NH₂-(CH₂)₆-G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
 NH₂-(CH₂)₆-xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286),
 NH₂-(CH₂)₆-xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*xoC*oG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*oA*oA*+G*x+C (SEQ ID NO: 275),
 NH₂-(CH₂)₆-xoC*oA*x+C*+G*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*+A*+A*oG*xoC (SEQ ID NO: 275),
 [0075] NH₂-(CH₂)₆-oG*xoC*+A*x+C*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*x+C*+A*oA*oG (SEQ ID NO: 276),
 NH₂-(CH₂)₆-A*x+C*oG*oU*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO: 342),
 NH₂-(CH₂)₆-oA*xoC*+G*+U*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 342),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*oA*oA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*oG*xoC*+A*+G (SEQ ID NO: 278),
 NH₂-(CH₂)₆-A*x+C*oU*oU*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*oU*xoC*+A*+U (SEQ ID NO: 343),
 NH₂-(CH₂)₆-U*+A*oG*oU*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*oG*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 344),
 NH₂-(CH₂)₆-G*x+C*xoC*xoC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*xdC*dA*oG*oG*+A*x+C (SEQ ID NO: 281),
 NH₂-(CH₂)₆-G*+U*xoC*oA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*dC*oU*xoC*+A*+G (SEQ ID NO: 346),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*oA*oG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*+U*+U (SEQ ID NO: 347),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*oA*oA*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO: 286),
 NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*xoC*oU*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*oU*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 349),
 NH₂-(CH₂)₆-G*+G*xoC*xoC*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*oA*oG*+G*+A (SEQ ID NO: 289),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 352),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{G}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 278),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 343),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 344),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 281),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 349),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 350),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{oG}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 289),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 354),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 355),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{U}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oG}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 356),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 358),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 359),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 360),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 361), 和
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 362),

[0076] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0078] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0079] 根据一些方面,本文中提供了包含寡核苷酸的组合物。在一些实施方案中,组合物包含钠盐形式的本文中公开的寡核苷酸。

附图说明

[0080] 图1A至1H示出了具有与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1 Fab的缀合物将寡核苷酸递送至多种肌肉组织并降低了表达人TfR1的小鼠模型中的小鼠Dmpk表达。DMPK靶向寡核苷酸与抗TfR1 Fab3M12-VH4/Vk3缀合。图1A示出了缀合物将胫骨前肌中的小鼠野生型Dmpk降低了79%。图1B示出了缀合物将腓肠肌中的小鼠野生型Dmpk降低了76%。图1C示出了缀合物将心脏中的小鼠野生型Dmpk降低了70%。图1D示出了缀合物将膈肌中的小鼠野生型Dmpk降低了88%。图1E至1H示出了胫骨前肌(图1E)、腓肠肌(图1F)、心脏(图1G)和膈肌(图1H)中的寡核苷酸分布。

[0081] 图2A至2D示出了在用载剂对照或与抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vk3缀合的DMPK靶向

ASO (AS058、AS047、AS061或AS066) 处理之后hTfR1/DMSXL小鼠的心脏(图2A)、膈肌(图2B)、腓肠肌(图2C)和胫骨前肌(图2D)肌肉组织中的毒性人DMPK敲低。(*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$; ***, $P \leq 0.001$; ****, $P \leq 0.0001$, 通过单因素ANOVA来分析)。

具体实施方式

[0082] 本公开内容的一些方面提供了被设计为靶向DMPK RNA的寡核苷酸。在一些实施方案中,本公开内容提供了与DMPK RNA互补的寡核苷酸,其可用于降低具有疾病相关的重复扩增的毒性DMPK的水平,例如,在患有或怀疑患有强直性肌营养不良的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导位于细胞(例如,肌细胞(例如肌管)或中枢神经系统(CNS)细胞))的核中的靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的生物利用度和/或血清稳定性特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的结合亲和力特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的毒性特征。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有低补体激活和/或细胞因子诱导特性。

[0083] 在一些方面中,本公开内容提供了包含与本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸共价连接的肌肉靶向剂的复合物,以用于将寡核苷酸有效递送至肌细胞。在一些实施方案中,提供了用于靶向包含扩增的疾病相关重复的DMPK等位基因的复合物,以治疗患有DM1的对象。在一些实施方案中,本文中提供的复合物可包含抑制含有扩增的疾病相关重复的DMPK等位基因表达的寡核苷酸。作为另一个实例,复合物可包含干扰疾病相关的DMPK mRNA与肌盲样蛋白(例如,MBNL1,2和/或(例如,和)3)结合的寡核苷酸,从而降低疾病相关的DMPK等位基因的毒性作用。

[0084] 下面提供了本公开内容的另一些方面,包括对限定的术语的描述。

[0085] I. 定义

[0086] 施用:本文中使用的术语“施用”意指以生理和/或(例如,和)药理学上可用的方式向对象提供复合物(例如,以治疗对象中的病症)。

[0087] 大约:本文中使用的术语“大约”或“约”,如应用于一个或更多个目的值时,是指类似于陈述的参考值的值。在某些实施方案中,术语“大约”或“约”是指落入陈述的参考值的任一方向上(大于或小于)15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或更小以内的值的范围,除非另有说明或在其他情况下从上下文中可以明显看出(除非这样的数字超过可能值的100%)。

[0088] 抗体:本文中使用的术语“抗体”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域或至少一个抗原决定簇(例如,与抗原特异性结合的互补位(paratope))的多肽。在一些实施方案中,抗体是全长抗体。在一些实施方案中,抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。然而,在一些实施方案中,抗体是Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂片段、Fv片段或scFv片段。在一些实施方案中,抗体是来源于骆驼科抗体的纳米抗体或来源于鲨鱼抗体的纳米抗体。在一些实施方案中,抗体是双抗体。在一些实施方案中,抗体包含具有人种序列的框架。在另一个实施方案中,抗体包含选自IgG、IgG1、IgG2、IgG2A、IgG2B、IgG2C、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgM和IgE恒定结构域的重链恒定结构域。在一些实施方案中,抗体包含重(H)链可变区(在本文中简称为VH)和/或(例如,和)轻(L)链可变区(在本文中简称为

VL)。在一些实施方案中,抗体包含恒定结构域,例如Fc区。免疫球蛋白恒定结构域是指重链或轻链恒定结构域。人IgG重链和轻链恒定结构域氨基酸序列及其功能变异是已知的。关于重链,在一些实施方案中,本文中所述的抗体的重链可以是alpha(α)、delta(Δ)、epsilon(ϵ)、gamma(γ)或mu(μ)重链。在一些实施方案中,本文中所述的抗体的重链可包含人alpha(α)、delta(Δ)、epsilon(ϵ)、gamma(γ)或mu(μ)重链。在一个具体实施方案中,本文中所述的抗体包含人 γ 1CH1、CH2和/或(例如,和)CH3结构域。在一些实施方案中,VH结构域的氨基酸序列包含人gamma(γ)重链恒定区的氨基酸序列,例如本领域已知的任何。人恒定区序列的一些非限制性实例已在本领域中描述,例如,参见美国专利No.5,693,780和Kabat E A et al., (1991)同上。在一些实施方案中,VH结构域包含与本文中提供的任何可变链恒定区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,对抗体进行修饰,例如,通过糖基化、磷酸化、SUMO化(sumoylation)和/或(例如,和)甲基化进行修饰。在一些实施方案中,抗体是与一个或多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化(GPI锚定附着)和/或(例如,和)磷酸糖基化(phosphoglycosylation)与抗体缀合。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是支化的寡糖或支化的聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中,抗体是包含多肽的构建体,所述多肽包含与接头多肽或免疫球蛋白恒定结构域连接的一个或多个本公开内容的抗原结合片段。接头多肽包含通过肽键连接的两个或多个氨基酸残基,并且用于连接一个或多个抗原结合部分。接头多肽的一些实例已有报道(参见,例如,Holliger,P.,et al. (1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak,R.J.,et al. (1994)Structure 2:1121-1123)。另外,抗体可以是更大的免疫黏附分子的一部分,免疫黏附分子通过抗体或抗体部分与一个或多个其他蛋白质或肽的共价或非共价缔合而形成。这样的免疫黏附分子的一些实例包括使用链霉亲和素核芯区域来制备四聚体scFv分子(Kipriyanov,S.M.,et al. (1995)Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101),以及使用半胱氨酸残基、标记肽和C端多组氨酸标签来制备二价和生物素化的scFv分子(Kipriyanov,S.M.,et al. (1994)Mol.Immunol.31:1047-1058)。

[0089] CDR:本文中使用的术语“CDR”是指抗体可变序列内的互补决定区。典型的抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其通常参与抗原结合。VH区和VL区可进一步细分为高变区,也称为“互补决定区”(“CDR”),其中散布有更保守的称为“框架区”(“framework region,FR”)的区域。每个VH和VL通常由三个CDR和四个FR构成,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。可使用本领域已知的方法,例如通过Kabat定义、IMGT定义、Chothia定义、AbM定义和/或(例如,和)接触定义(所有这些都是本领域公知的)来精确鉴定框架区和CDR的范围。参见,例如,

[0090] 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:D 1006-1012(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;以及Almagro,J.Mol.Recognit.17:132-143(2004)。。还参见hgmp.mrc.ac.uk和bioinf.org.uk/abs。本文中使用的CDR可以是指由本领域已知的任何方法定义的CDR。具有相同CDR的两种抗体意指这两种抗体的该CDR的氨基酸序列相同,如通过相同的方法(例如,IMGT定义)确定的。

[0091] 重链和轻链的每个可变区中有三个CDR,对于每个可变区分别称为CDR1、CDR2和CDR3。本文中使用的术语“CDR组”是指出现在单个可变区内的能够结合抗原的三个CDR的组。这些CDR的确切边界已根据不同的系统进行了不同的定义。Kabat描述的系统(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987)and(1991))不仅提供了适用于抗体的任何可变区的明确的残基编号系统,而且还提供了定义三个CDR的精确残基边界。这些CDR可被称为Kabat CDR。CDR的子部分可被指定为L1、L2和L3或H1、H2和H3,其中“L”和“H”分别指定轻链和重链区域。这些区域可称为Chothia CDR,其具有与Kabat CDR重叠的边界。Padlan(FASEB J.9:133-139(1995))和MacCallum(J Mol Biol 262(5):732-45(1996))已经描述了定义与Kabat CDR重叠的CDR的其他边界。另一些CDR边界定义可能并不严格遵循上述系统之一,但仍与Kabat CDR重叠,尽管可根据预测或者根据特定残基或残基的组或甚至整个CDR不会显著影响抗原结合的实验发现来缩短或延长它们。本文中使用的的方法可利用根据这些系统中的任何一个定义的CDR。表1中提供了CDR定义系统的一些实例。

[0092] 表1.CDR定义

[0093]	IMGT ¹	Kabat ²	Chothia ³
CDR-H1	27-38	31-35	26-32
CDR-H2	56-65	50-65	53-55
CDR-H3	105-116/117	95-102	96-101
CDR-L1	27-38	24-34	26-32
CDR-L2	56-65	50-56	50-52
CDR-L3	105-116/117	89-97	91-96

[0094] ¹IMGT®,the international ImMuNoGeneTics informationsystem®,imgt.org, Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,27:209-212(1999)

[0095] ²Kabat et al.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242

[0096] ³Chothia et al.,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))

[0097] CDR接枝抗体(CDR-grafted antibody):术语“CDR接枝抗体”是指包含来自一个物

种的重链和轻链可变区序列但是其中VH和/或(例如,和)VL的一个或更多个CDR区的序列被另一物种的CDR序列替代的抗体,例如具有鼠重链和轻链可变区并且其中一个或更多个鼠CDR(例如,CDR3)已被人CDR序列替代的抗体。

[0098] 嵌合抗体:术语“嵌合抗体”是指包含来自一个物种的重链和轻链可变区序列和来自另一物种的恒定区序列的抗体,例如具有与人恒定区连接的鼠重链和轻链可变区的抗体。

[0099] 互补:本文中使用的术语“互补”是指在两个核苷或两组核苷之间精确配对的能力。特别地,互补是表征氢键配对引起两个核苷或两组核苷之间结合的程度的术语。例如,如果寡核苷酸的一个位置处的碱基能够与靶核酸(例如,mRNA)的相应位置处的碱基进行氢键合,则认为在该位置处碱基彼此互补。碱基配对可包括规范的沃森-克里克碱基配对和非沃森-克里克碱基配对(例如,Wobble碱基配对和Hoogsteen碱基配对)二者。例如,在一些实施方案中,对于互补碱基配对,腺苷型碱基(A)与胸苷型碱基(T)或尿嘧啶型碱基(U)互补,胞嘧啶型碱基(C)与鸟苷型碱基(G)互补,并且通用碱基例如3-硝基吡咯或5-硝基吡咯可与任何A、C、U或T杂交并被认为是互补的。肌苷(I)在本领域中也被认为是通用碱基,并且被认为与任何A、C、U或T互补。

[0100] 保守氨基酸替换:本文中使用的“保守氨基酸替换”是指不改变进行氨基酸替换的蛋白质的相对电荷或尺寸特征的氨基酸替换。可以根据本领域普通技术人员已知的用于改变多肽序列的方法来制备变体,所述方法例如可以在汇编这样的方法的参考文献中找到:例如Molecular Cloning:A Laboratory Manual,J.Sambrook,et al.,eds.,Fourth Edition,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York,2012,或Current Protocols in Molecular Biology,F.M.Ausubel,et al.,eds.,John Wiley& Sons,Inc.,New York。氨基酸的保守替换包括在以下组内的氨基酸之间进行的替换:(a)M、I、L、V;(b)F、Y、W;(c)K、R、H;(d)A、G;(e)S、T;(f)Q、N;和(g)E、D。

[0101] 共价连接:本文中使用的术语“共价连接”是指两个或更多个分子通过至少一个共价键连接在一起的特征。在一些实施方案中,两个分子可以通过充当分子之间的接头的单键例如二硫键或二硫桥共价连接在一起。然而,在一些实施方案中,两个或更多个分子可以通过充当接头的分子共价连接在一起,该接头通过多个共价键将两个或更多个分子连接在一起。在一些实施方案中,接头可以是可切割接头。然而,在一些实施方案中,接头可以是不可切割接头。

[0102] 交叉反应性:如本文中使用的以及在靶向剂(例如,抗体)的情况下,术语“交叉反应性”是指物质能够以相似亲和力或亲合力与相似类型或类别的超过一种抗原(例如,多个同源物、旁系同源物或直系同源物的抗原)特异性结合的性质。例如,在一些实施方案中,对相似类型或类别的人和灵长类抗原(例如,人转铁蛋白受体和非人灵长类转铁蛋白受体)具有交叉反应性的抗体能够以相似亲和力或亲合力与人抗原和非人灵长类抗原结合。在一些实施方案中,抗体对相似类型或类别的人抗原和啮齿动物抗原具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体对相似类型或类别的啮齿动物抗原和非人灵长类抗原具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体对相似类型或类别的人抗原、非人灵长类抗原和啮齿动物抗原具有交叉反应性。

[0103] 疾病相关重复:本文中使用的术语“疾病相关重复”是指在基因组位置处的重复核

核苷酸序列,其中重复核苷酸序列的单元的数目与遗传疾病(例如DM1)相关和/或者(例如,和)直接或间接促成或造成遗传疾病(例如DM1)。疾病相关重复的每个重复单元的长度可以是2、3、4、5个或更多个核苷酸。例如,在一些实施方案中,疾病相关重复是二核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关重复是三核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关重复是四核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关重复是五核苷酸重复。在一些实施方案中,一些实施方案,疾病相关重复包含CAG重复、CTG重复、CUG重复、CGG重复、CCTG重复、或其任何的核苷酸互补序列。在一些实施方案中,疾病相关重复在基因的非编码部分中。然而,在一些实施方案中,疾病相关重复在基因的编码区中。在一些实施方案中,疾病相关重复从正常状态扩增至直接或间接促成或造成遗传疾病的长度。在一些实施方案中,疾病相关重复在RNA(例如, RNA转录物)中。在一些实施方案中,疾病相关重复在DNA(例如,染色体、质粒)中。在一些实施方案中,疾病相关重复在生殖细胞的染色体中扩增。在一些实施方案中,疾病相关重复在体细胞的染色体中扩增。在一些实施方案中,疾病相关重复扩增至与疾病的先天性发作相关的重复单元数目。在一些实施方案中,疾病相关重复扩增至与儿童期疾病发作相关的重复单元数目。在一些实施方案中,疾病相关重复扩增至与成年疾病发作相关的重复单元数目。在DM1中,DMPK的3'非翻译区(3'-UTR)中CTG单元的三核苷酸重复区是疾病相关的。正常的DMPK等位基因包含约5至约37个CTG重复单元,而在患有DM1的患者中,CTG重复区的长度显著增加,达到数百或数千个三核苷酸重复。

[0104] DMPK:本文中使用的术语“DMPK”是指编码作为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的肌强直蛋白激酶(myotonin-protein kinase)(也称为强直性营养不良蛋白激酶或营养不良性肌强直蛋白激酶)的基因。该酶的底物可包括肌细胞生成蛋白(myogenin)、L型钙通道的 β 亚基以及phospholemman。在一些实施方案中,DMPK可以是人基因(基因ID:1760)、非人灵长类基因(例如,基因ID:456139、基因ID:715328)或啮齿动物基因(例如,基因ID:13400)。在人中,DMPK的3'非编码、非翻译区中的CTG重复扩增与I型强直性肌营养不良(DM1)相关。另外,已经表征了编码不同的蛋白质同种型的多种人转录物变体(例如,如以下GenBank RefSeq登录号进行注释:NM_001081563.2、NM_004409.4、NM_001081560.2、NM_001081562.2、NM_001288764.1、NM_001288765.1和NM_001288766.1)。

[0105] DMPK等位基因:本文中使用的术语“DMPK等位基因”是指DMPK基因的任一种替代形式(例如,野生型或突变体形式)。在一些实施方案中,DMPK等位基因可编码保留其正常和典型功能的野生型肌强直蛋白激酶。在一些实施方案中,DMPK等位基因可包含一个或更多个疾病相关重复扩增。在一些实施方案中,正常对象具有两个包含5至37个重复单元的DMPK等位基因。在一些实施方案中,患有DM1的对象中CTG重复单元的数目为约50至约3,000或更多,重复数目越高导致疾病严重性越高。在一些实施方案中,轻度受影响的DM1对象具有至少一个具有50至150个重复单元的DMPK等位基因。在一些实施方案中,患有经典DM1的对象具有至少一个具有100至1,000或更多个重复单元的DMPK等位基因。在一些实施方案中,患有先天性发作DM1的对象可具有至少一个包含多于2,000个重复单元的DMPK等位基因。

[0106] 框架:本文中使用的术语“框架”或“框架序列”是指可变区减去CDR的剩余序列。由于CDR序列的确切定义可通过不同的系统确定,因此框架序列的含义相应地具有不同解释。六个CDR(轻链的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3和重链的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)也将轻链和重链上的框架区分为每条链上的四个子区域(FR1、FR2、FR3和FR4),其中CDR1位于FR1和FR2之

间,CDR2位于FR2和FR3之间,并且CDR3位于FR3和FR4之间。在未将特定子区域指定为FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,其他人提到的框架区代表单个天然存在的免疫球蛋白链的可变区内的组合的FR。如本文中所使用的,FR代表四个子区域之一,并且FRs代表构成框架区的四个子区域中的两个或更多个。人重链和轻链接受体序列是本领域已知的。在一个实施方案中,本领域已知的接受体序列可用于本文中公开的抗体中。

[0107] 人抗体:本文中使用的术语“人抗体”旨在包括具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本公开内容的人抗体可包含不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中,特别是在CDR3中。然而,本文中使用的术语“人抗体”不旨在包括其中来源于另一哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已接枝到人框架序列上的抗体。

[0108] 人源化抗体:术语“人源化抗体”是指包含来自非人物种(例如,小鼠)的重链和轻链可变区序列但是其中VH和/或(例如,和)VL序列的至少一部分已被改变为更加“人样”(即,更类似于人种系可变序列)的抗体。一种类型的人源化抗体是CDR接枝抗体,其中人CDR序列被引入到非人VH和VL序列中以替代相应的非人CDR序列。在一个实施方案中,提供了人源化抗TfR1抗体和抗原结合部分。这样的抗体可以通过使用传统的杂交瘤技术获得鼠抗TfR1单克隆抗体随后使用体外基因工程化进行人源化来产生,例如在Kasaian et al的PCT公开No.WO 2005/123126 A2中公开的那些。

[0109] 内化细胞表面受体:本文中使用的术语“内化细胞表面受体”是指例如在外部刺激(例如,配体与受体结合)下被细胞内化的细胞表面受体。在一些实施方案中,内化细胞表面受体通过内吞作用内化。在一些实施方案中,内化细胞表面受体通过网格蛋白介导的内吞作用内化。然而,在一些实施方案中,内化细胞表面受体通过不依赖于网格蛋白的途径内化,所述途径例如如吞噬作用、巨胞饮作用、小窝和筏介导的摄取或组成型网格蛋白非依赖性内吞作用。在一些实施方案中,内化细胞表面受体包含胞内结构域、跨膜结构域和/或(例如,和)胞外结构域,其可任选地还包含配体结合结构域。在一些实施方案中,细胞表面受体在配体结合之后被细胞内化。在一些实施方案中,配体可以是肌肉靶向剂或肌肉靶向抗体。在一些实施方案中,内化细胞表面受体是转铁蛋白受体。

[0110] 分离的抗体:本文中使用的“分离的抗体”旨在指代基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合转铁蛋白受体的分离的抗体基本上不含特异性结合转铁蛋白受体以外的抗原的抗体)。然而,特异性结合转铁蛋白受体复合物的分离的抗体可能与其他抗原(例如来自其他物种的转铁蛋白受体分子)具有交叉反应性。此外,分离的抗体可基本上不含其他细胞材料和/或(例如,和)化学物质。

[0111] Kabat编号:术语“Kabat编号”、“Kabat定义”和“Kabat标记”在本文中可互换使用。在本领域中公认的这些术语是指对抗体或其抗原结合部分的重链和轻链可变区中的比其他氨基酸残基更加可变(即高变)的氨基酸残基进行编号的系统(Kabat et al. (1971) Ann.NY Acad.Sci.190:382-391以及,Kabat,E.A.,et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)。对于重链可变区,CDR1的高变区为第31至35位氨基酸,CDR2的高变区为第50至65位氨基酸,并且CDR3的高变区为第95至102位氨基酸。对于轻链可变区,CDR1的高变区为第24至34位氨基酸,CDR2的高变区为第50至56位氨基酸,并

且CDR3的高变区为第89至97位氨基酸。

[0112] 分子载荷:本文中使用的术语“分子载荷”是指发挥调节生物学结局作用的分子或物质。在一些实施方案中,分子载荷与肌肉靶向剂连接或以其他方式缔合。在一些实施方案中,分子载荷是小分子、蛋白质、肽、核酸或寡核苷酸。在一些实施方案中,分子载荷发挥调节DNA序列的转录、调节蛋白质的表达或调节蛋白质的活性的作用。在一些实施方案中,分子载荷是寡核苷酸,其包含具有针对靶基因之互补区的链。

[0113] 肌肉靶向剂:本文中使用的术语“肌肉靶向剂”是指与肌细胞上表达的抗原特异性结合的分子。肌细胞内或其上的抗原可以是膜蛋白,例如整合膜蛋白或外周膜蛋白。通常来说,肌肉靶向剂与肌细胞上的抗原特异性结合,这有助于将肌肉靶向剂(和任何缔合的分子载荷)内化到肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与肌肉上的内化细胞表面受体特异性结合,并且能够通过受体介导的内化而内化到肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是小分子、蛋白质、肽、核酸(例如,适配体)、或抗体。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与分子载荷连接。

[0114] 肌肉靶向抗体:本文中使用的术语“肌肉靶向抗体”是指为与存在于肌细胞内或其上的抗原特异性结合的抗体的肌肉靶向剂。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体与肌细胞上的抗原特异性结合,这有助于将肌肉靶向抗体(和任何缔合的分子载荷)内化到肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体与存在于肌细胞上的内化细胞表面受体特异性结合。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是与转铁蛋白受体特异性结合的抗体。

[0115] 强直性肌营养不良(DM):本文中使用的术语“强直性肌营养不良(DM)”是指由DMPK基因或CNBP(ZNF9)基因中的突变引起的遗传疾病,其特征不在于肌肉损失、肌肉变弱和肌肉功能。已经描述了该疾病的两种类型,即1型强直性肌营养不良(DM1)和2型强直性肌营养不良(DM2)。DM1与DMPK的3'非编码区中CTG三核苷酸重复的扩增相关。DM2与ZNF9的第一个内含子中CCTG四核苷酸重复的扩增相关。在DM1和DM2二者中,核苷酸扩增导致毒性RNA重复,其能够形成以高亲和力结合关键的胞内蛋白(例如,盲肌样蛋白)的发夹结构。强直性肌营养不良、该疾病的遗传基础以及相关症状在本领域中有描述(参见,例如,Thornton,C.A.,“Myotonic Dystrophy”Neurol Clin.(2014),32(3):705-719.;以及Konieczny et al.“Myotonic dystrophy:candidate small molecule therapeutics”Drug Discovery Today(2017),22:11)。在一些实施方案中,对象出生时患有称为先天性强直性肌营养不良的DM1变异。先天性强直性肌营养不良的症状从出生开始就存在,并且包括所有肌肉无力、呼吸困难、畸形足、发育迟缓和智力障碍。DM1与在线人孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man)(OMIM)Entry#160900相关。DM2与OMIM Entry#602668相关。

[0116] 寡核苷酸:本文中使用的术语“寡核苷酸”是指长度长至200个核苷酸的寡聚核酸化合物。寡核苷酸的一些实例包括但不限于RNAi寡核苷酸(例如,siRNA、shRNA)、微RNA、间隔聚体、混合聚体、磷酸二酰胺吗啉代、肽核酸、适配体、指导核酸(例如,Cas9指导RNA)等。寡核苷酸可以是单链或双链。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个经修饰核苷(例如,2'-O-甲基糖修饰、嘌呤或嘧啶修饰)。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个硫代磷酸酯键联,其可为Rp或Sp立体化学构型。

[0117] 重组抗体:本文中使用的术语“重组人抗体”旨在包括通过重组方式制备、表达、产

生或分离的所有人抗体,例如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体(在本公开内容中更详细地描述),从重组、组合人抗体文库分离的抗体(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),从人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如,小鼠)分离的抗体(参见例如,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),或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他方式制备、表达、产生或分离的抗体。这样的重组人抗体具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案中,对这样的重组人抗体进行体外诱变(或当使用人Ig序列转基因的动物时,进行体内体细胞诱变),并且因此重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列,尽管其来源于人种系VH和VL序列并与之相关,但可能不是体内人抗体种系库中天然存在的。本公开内容的一个实施方案提供了能够结合人转铁蛋白受体的完全人抗体,其可使用本领域公知的技术产生,例如但不限于使用人Ig噬菌体文库,例如Jermutus et al.的PCT公开No.WO 2005/007699 A2中公开的那些。

[0118] 互补区:本文中使用的术语“互补区”是指与例如靶核酸的同源核苷酸序列充分互补的例如寡核苷酸的核苷酸序列,使得两个核苷酸序列能够在生理条件下(例如,在细胞中)彼此退火。在一些实施方案中,互补区与靶核酸的同源核苷酸序列完全互补。然而,在一些实施方案中,互补区与靶核酸的同源核苷酸序列部分互补(例如,至少80%、90%、95%或99%互补)。在一些实施方案中,与靶核酸的同源核苷酸序列相比,互补区包含1、2、3或4个错配。

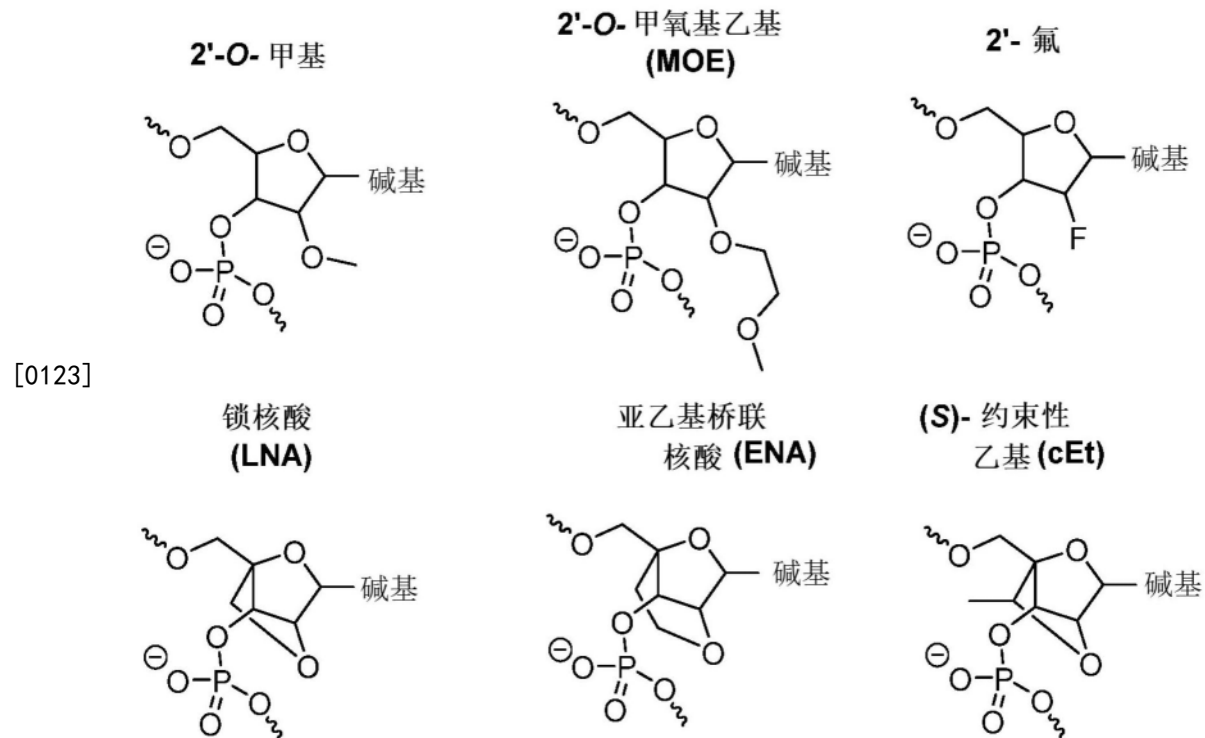
[0119] 特异性结合:本文中使用的术语“特异性结合”是指分子以一定程度的亲和力或亲合力与结合配偶体结合的能力,该亲和力或亲合力使得分子能够用于在结合测定或其他结合环境中将结合配偶体与合适的对照区分开。关于抗体,术语“特异性结合”是指与合适的一种或更多种参考抗原相比,抗体以一定程度的亲和力或亲合力与特异性抗原结合的能力,该亲和力或亲合力使得抗体能够用于将特异性抗原与其他抗原区分开,例如至允许通过与如本文中所述的抗原结合而优先靶向某些细胞(例如,肌细胞)的程度。在一些实施方案中,如果抗体与靶标结合的 K_D 为至少约 $10^{-4}M$ 、 $10^{-5}M$ 、 $10^{-6}M$ 、 $10^{-7}M$ 、 $10^{-8}M$ 、 $10^{-9}M$ 、 $10^{-10}M$ 、 $10^{-11}M$ 、 $10^{-12}M$ 、 $10^{-13}M$ 或更小,则抗体与靶标特异性结合。在一些实施方案中,抗体与转铁蛋白受体(例如,转铁蛋白受体的顶端结构域(apical domain)的表位)特异性结合。

[0120] 对象:本文中使用的术语“对象”是指哺乳动物。在一些实施方案中,对象是非人灵长类或啮齿动物。在一些实施方案中,对象是人。在一些实施方案中,对象是患者,例如患有或怀疑患有疾病的人患者。在一些实施方案中,对象是患有或怀疑患有由疾病相关重复扩增(例如,在DMPK等位基因中)引起的疾病的人患者。

[0121] 转铁蛋白受体:本文中使用的术语“转铁蛋白受体”(也称为TFRC、CD71、p90或TFR1)是指结合转铁蛋白以促进通过内吞作用摄取铁的内化细胞表面受体。在一些实施方案中,转铁蛋白受体可以是人来源的(NCBI基因ID 7037)、非人灵长类来源的(例如,NCBI基因ID 711568或NCBI基因ID 102136007)或啮齿动物来源的(例如,NCBI基因ID 22042)。另

外,已经表征了编码受体的不同同种型的多种人转录物变体(例如,如以下GenBank RefSeq登录号注释的:NP_001121620.1、NP_003225.2、NP_001300894.1和NP_001300895.1)。

[0122] 2'-经修饰核苷:本文中使用的术语“2'-经修饰核苷”和“2'-经修饰核糖核苷”可互换使用,并且是指在2'位置具有经修饰糖部分的核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷,其中糖的2'和4'位置是桥联的(例如,通过亚甲基、亚乙基或(S)-约束性乙基桥联)。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是非双环的2'-经修饰核苷,例如,其中糖部分的2'位置被取代。2'-经修饰核苷的一些非限制性实例包括:2'-脱氧、2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA)、锁核酸(LNA,亚甲基桥联核酸)、亚乙基桥联核酸(ENA)和(S)-约束性乙基桥联核酸(cEt)。在一些实施方案中,本文中所述的2'-经修饰核苷是高亲和力的经修饰核苷和寡核苷酸,其包含相对于未经修饰的寡核苷酸而对靶序列具有提高的亲合力的2'-经修饰核苷。下面提供了2'-经修饰核苷之结构的一些实例:



[0124] 这些实例显示带有磷酸基团,但是任何核苷间键联都考虑在2'-经修饰核苷之间。

[0125] II. 复合物

[0126] 本文中提供了包含与分子载荷共价连接的靶向剂(例如,抗体)的复合物。在一些实施方案中,复合物包含与寡核苷酸共价连接的肌肉靶向抗体。复合物可包含特异性结合单个抗原位点或结合可存在于相同或不同抗原上的至少两个抗原位点的抗体。

[0127] 复合物可用于调节至少一种基因、蛋白质和/或(例如,和)核酸的活性或功能。在一些实施方案中,存在于复合物内的分子载荷负责基因、蛋白质和/或(例如,和)核酸的调节。分子载荷可以是能够调节细胞中基因、蛋白质和/或(例如,和)核酸的活性或功能的小

分子、蛋白质、核酸、寡核苷酸或任何分子实体。在一些实施方案中,分子载荷是靶向细胞(例如,肌细胞或CNS细胞)中疾病相关重复的寡核苷酸。

[0128] 在一些实施方案中,复合物包含与分子载荷(例如,靶向DMPK的反义寡核苷酸,例如包含疾病相关重复的核酸,例如DMPK等位基因)共价连接的肌肉靶向剂,例如抗TfR1抗体。

[0129] A.肌肉靶向剂

[0130] 本公开内容的一些方面提供了肌肉靶向剂,例如用于将分子载荷递送至肌细胞。在一些实施方案中,这样的肌肉靶向剂能够例如通过与肌细胞上的抗原特异性结合而与肌细胞结合,并且将缔合的分子载荷递送至肌细胞。在一些实施方案中,分子载荷与肌肉靶向剂结合(例如,共价结合),并且在肌肉靶向剂与肌细胞上的抗原结合之后内化到肌细胞中,例如通过内吞作用。应理解,根据本公开内容可以使用多种类型的肌肉靶向剂,并且任何肌肉靶标(例如,肌肉表面蛋白)都可被本文中所述的任何类型的肌肉靶向剂靶向。例如,肌肉靶向剂可包含小分子、核酸(例如,DNA或RNA)、肽(例如,抗体)、脂质(例如,微泡(microvesicle))或糖部分(例如,多糖),或者由其组成。示例性的肌肉靶向剂在本文中进一步详细描述,然而,应理解,本文中提供的示例性肌肉靶向剂并不意味着是限制性的。

[0131] 本公开内容的一些方面提供了与肌肉(例如骨骼肌、平滑肌或心肌)上的抗原特异性结合的肌肉靶向剂。在一些实施方案中,本文中提供的任何肌肉靶向剂均与骨骼肌细胞、平滑肌细胞和/或(例如,和)心肌细胞上的抗原结合(例如,与之特异性结合)。

[0132] 通过与肌肉特异性细胞表面识别元件(例如,细胞膜蛋白)相互作用,可实现组织定位和选择性摄取到肌细胞中二者。在一些实施方案中,作为肌肉摄取转运体之底物的分子可用于将分子载荷递送到肌肉组织中。与肌肉表面识别元件结合之后是内吞作用,其可允许甚至大分子(例如,抗体)进入肌细胞。作为另一个实例,与转铁蛋白或抗TfR1抗体缀合的分子载荷可通过与转铁蛋白受体结合而被肌细胞摄取,然后可例如通过网格蛋白介导的内吞作用被内吞。

[0133] 肌肉靶向剂的使用可用于将分子载荷(例如,寡核苷酸)集中在肌肉中,同时降低与其他组织中的作用相关的毒性。在一些实施方案中,与对象内的另一种细胞类型相比,肌肉靶向剂将结合的分子载荷集中在肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂将结合的分子载荷以是非肌细胞(例如,肝、神经元、血液或脂肪细胞)中的量的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90或100倍高的量集中在肌细胞(例如,骨骼肌、平滑肌或心肌细胞)中。在一些实施方案中,当分子载荷在与肌肉靶向剂结合时递送至对象时,其在对象中的毒性降低至少1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%或95%。

[0134] 在一些实施方案中,为了实现肌肉选择性,可能需要肌肉识别元件(例如,肌细胞抗原)。作为一个实例,肌肉靶向剂可以是肌肉特异性摄取转运体之底物的小分子。作为另一个实例,肌肉靶向剂可以通过转运体介导的内吞作用进入肌细胞的抗体。作为另一个实例,肌肉靶向剂可以是与肌细胞上的细胞表面受体结合的配体。应理解,尽管基于转运体的方法为细胞进入提供了直接途径,但是基于受体的靶向可能涉及刺激的内吞作用以达到期望的作用部位。

[0135] i.肌肉靶向抗体

[0136] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是抗体。通常来说,抗体对其靶抗原的高特异性提供了用于选择性靶向肌细胞(例如,骨骼肌、平滑肌和/或(例如,和)心肌细胞)的潜力。这种特异性也可以限制脱靶毒性。能够靶向肌细胞表面抗原的抗体的一些实例已经报道并且在本公开内容的范围内。例如,靶向肌细胞表面的抗体在以下中有描述:

[0137] 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;以及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;

[0138] 其各自的全部内容均通过引用并入本文。

[0139] a. 抗转铁蛋白受体 (TfR) 抗体

[0140] 本公开内容的一些方面是基于这样的认识:与转铁蛋白受体结合的物质(例如,抗转铁蛋白受体抗体)能够靶向肌细胞。转铁蛋白受体是内化细胞表面受体,其转运转铁蛋白穿过细胞膜并参与胞内铁水平的调节和稳态。本公开内容的一些方面提供了能够与转铁蛋白受体结合的转铁蛋白受体结合蛋白。因此,本公开内容的一些方面提供了与转铁蛋白受体结合的结合蛋白(例如,抗体)。在一些实施方案中,与转铁蛋白受体结合的结合蛋白与任何结合的分子载荷一起被内化到肌细胞中。本文中使用的与转铁蛋白受体结合的抗体可以可互换地称为转铁蛋白受体抗体、抗转铁蛋白受体抗体或抗TfR1抗体。与转铁蛋白受体结合(例如,特异性结合)的抗体可在与转铁蛋白受体结合之后例如通过受体介导的内吞作用而被内化到细胞中。

[0141] 应理解,可使用数种已知的方法(例如使用噬菌体展示的文库设计)来产生、合成和/或(例如,和)衍生抗TfR1抗体。示例性方法已经在本领域中表征并且通过引用并入(Díez, 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)。在另一些实施方案中,抗TfR1抗体先前已被表征或公开。与转铁蛋白受体特异性结合的抗体是本领域中已知的(参见,例如1979年12月4日提交的美国专利No. 4,364,934, “Monoclonal antibody to a human early thymocyte antigen and methods for preparing same”; 2006年6月14日提交的美国专利No. 8,409,573, “Anti-CD71 monoclonal antibodies and uses thereof for treating malignant tumor cells”; 2014年5月20日提交的美国专利No. 9,708,406, “Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use”; 2014年12月19日提交的US 9,611,323, “Low affinity blood brain barrier receptor antibodies and uses therefor”; 2014年12月24日提交的WO 2015/098989, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”; 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.)。

[0142] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体以高特异性和亲和力与转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与转铁蛋白受体的任何胞外表位或暴露于抗体的表位特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的抗TfR1抗体与来自人、非人灵长类、小鼠、大鼠等的转铁蛋白受体特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的抗TfR1抗体与人转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与人或非人灵长类转铁蛋白受体的氨基酸区段(如SEQ ID NO:105至108中提供的)结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与这样的氨基酸区段结合:对应于人转铁蛋白受体(如SEQ ID NO:105中所示)的第90至96位氨基酸,其不在转铁蛋白受体的顶端结构域中。

[0143] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的抗TfR克隆8)结合TfR1中的表位,其中所述表位包含SEQ ID NO:105的第214至241位氨基酸和/或第354至381位氨基酸中的残基。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体结合包含SEQ ID NO:105的第214至241位氨基酸和第354至381位氨基酸中的残基的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体结合包含SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的一个或更多个残基Y222、T227、K231、H234、T367、S368、S370、T376和S378的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体结合包含SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的残基Y222、T227、K231、H234、T367、S368、S370、T376和S378的表位。

[0144] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其变体)结合TfR1中的表位,其中所述表位包含SEQ ID NO:105的第258至291位氨基酸和/或第358至381位氨基酸中的残基。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其变体)结合包含SEQ ID NO:105的第258至291位氨基酸和第358至381位氨基酸中的残基的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其变体)结合包含SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的一个或更多个残基K261、S273、Y282、T362、S368、S370和K371的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其变体)结合包含SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的残基K261、S273、Y282、T362、S368、S370和K371的表位。

[0145] 对应于NCBI序列NP_003225.2(转铁蛋白受体蛋白1同种型1,智人)的示例性人转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

[0146]

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLA VDEEENADNNTKANVT
KPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPA
ARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENS YVPREAGSQKDENLALYVENQFREF
KLSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLV
HANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNA
ELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPRSSGLPNIPVQTISR AAAEKLFGNMEGDCP
SDWKTDSTCRMVTSSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAGSGVGTALLLKL AQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSGV GATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGT SNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARA
AAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARG
DFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPF RHVFWGSG
SHTLPALLENLKL RKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
(SEQ ID NO: 105).

[0147] 对应于NCBI序列NP_001244232.1 (转铁蛋白受体蛋白1, 恒河猴 (*Macaca mulatta*)) 的示例性非人灵长类转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

[0148]

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLG VDEEENTDNNTKPNGT
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK
LSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVH
ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPQS SSGLPNIPVQTISR AAAEKLFGNMEGDCPS
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
GPGAAGSSVGTALLLKL AQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSGV GATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGT SNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR
AAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSA
RGDFFRATSRLTTDFRNAEK RDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPF RHVFWG
SGSHTLSALLESLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
(SEQ ID NO: 106)

[0149] 对应于NCBI序列XP_005545315.1 (转铁蛋白受体蛋白1, 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)) 的示例性非人灵长类转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDDEENTDNNTKANGT
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK
LSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVH
ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSSQSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPS
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW
[0150] GPGAAKSSVGTALLLKL AQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGY
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWA
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR

AAAEVAGQFVIKLTHDTELNDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWL YSA
RGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPRHVFHWG
SGSHTLSALLESKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
(SEQ ID NO: 107).

[0151] 对应于NCBI序列NP_001344227.1 (转铁蛋白受体蛋白1,小家鼠 (mus musculus))
的示例性小鼠转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAADDEENADNNMKASV
RKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLG YCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETE
DVPTSSRLYWADLKTLLSEKLSNIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFH
EFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVSGKLV
HANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKFPVVE
ADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSSQSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGKMEGS
[0152] CPARWNIDSSCKLELSQNQNVLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGAQRDA
LGAGVAAKSSVGTGLLLKL AQVFSDMISKDGRFPSRSIIFASWTAGDFGAVGATEWLEG
YLSSLHLKAFTYINLDKVVLGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSN
WISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQM
VRTAAEVAGQLIKLTHDVELNDYEMYNSKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQWL YS
ARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNR FVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESPRHFHWG
SGSHTLSALVENLKL RQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF
(SEQ ID NO: 108)

[0153] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体与如下的受体氨基酸区段结合:

FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVHANFGTKKDFE
DLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLG
TGDPYTPGFPSFNHTQFPSSRSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCR
MVTSESKNVKLT VSNVLKE (SEQ ID NO: 109)并且不抑制转铁蛋白受体与转
铁蛋白和/或(例如,和)人血色素沉着蛋白(human hemochromatosis protein,也称为HFE)
之间的结合相互作用。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体不与SEQ ID NO:109中

的表位结合。

[0154] 可使用适当的方法来获得和/或(例如,和)产生抗体、抗体片段或抗原结合剂,例如,通过使用重组DNA方案。在一些实施方案中,也可通过杂交瘤的产生来产生抗体(参见,例如,Kohler,G and Milstein,C.“Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity”*Nature*,1975,256:495-497)。目的抗原可以以任何形式或实体(例如,重组或天然存在的形式或实体)用作免疫原。使用标准方法(例如ELISA筛选)筛选杂交瘤,以发现至少一种产生靶向特定抗原之抗体的杂交瘤。也可通过筛选表达抗体的蛋白质表达文库(例如,噬菌体展示文库)来产生抗体。在一些实施方案中,也可使用噬菌体展示文库设计(参见,例如,1991年3月1日提交的美国专利No 5,223,409,“Directed evolution of novel binding proteins”;1992年4月10日提交的W0 1992/18619,“Heterodimeric receptor libraries using phagemids”;1991年5月1日提交的W0 1991/17271,“Recombinant library screening methods”;1992年5月15日提交的W0 1992/20791,“Methods for producing members of specific binding pairs”;1992年2月28日提交的W0 1992/15679,“Improved epitope displaying phage”)。在一些实施方案中,目的抗原可用于对非人动物,例如啮齿动物或山羊进行免疫接种。在一些实施方案中,然后从非人动物获得抗体,并且可任选地使用多种方法(例如,使用重组DNA技术)对其进行修饰。抗体产生的其他实例和方法是本领域已知的(参见,例如Harlow et al. “Antibodies:A Laboratory Manual”,Cold Spring Harbor Laboratory,1988.)。

[0155] 在一些实施方案中,对抗体进行修饰,例如,通过糖基化、磷酸化、SUMO化和/或(例如,和)甲基化进行修饰。在一些实施方案中,抗体是与一个或多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化(GPI锚定附着)和/或(例如,和)磷酸糖基化与抗体缀合。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是支化的寡糖或支化的聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中,存在约1至10个、约1至5个、约5至10个、约1至4个、约1至3个或约2个糖分子。在一些实施方案中,糖基化抗体是完全或部分糖基化的。在一些实施方案中,通过化学反应或通过酶促手段使抗体糖基化。在一些实施方案中,抗体在体外或细胞内被糖基化,其可任选地缺少N-或O-糖基化途径中的酶,例如糖基转移酶。在一些实施方案中,用糖或碳水化合物分子对抗体进行官能化,如国际专利申请公开W02014065661中所述,其于2014年5月1日公开,标题为“Modified antibody,antibody-conjugate and process for the preparation thereof”。

[0156] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含选自表2至7中任一者所述的任一种抗TfR1抗体的VL结构域和/或(例如,和) VH结构域,并且包含恒定区,所述恒定区包含IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子、免疫球蛋白分子的任何类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或任何亚类(例如,IgG2a和IgG2b)的恒定区的氨基酸序列。本领域中描述了人恒定区的一些非限制性实例,例如参见上文Kabat E A et al., (1991)。

[0157] 在一些实施方案中,与转铁蛋白受体结合的物质,例如抗TfR1抗体,能够靶向肌细

胞和/或(例如,和)介导物质穿过血脑屏障(例如,到CNS细胞)的转运。转铁蛋白受体是将转铁蛋白转运穿过细胞膜并参与胞内铁水平的调节和稳态的内化细胞表面受体。本公开内容的一些方面提供了能够结合转铁蛋白受体的转铁蛋白受体结合蛋白。与转铁蛋白受体结合(例如,特异性结合)的抗体可在与转铁蛋白受体结合之后被内化到细胞中,例如通过受体介导的内吞作用而被内化到细胞中。

[0158] 在一些方面中,本文中提供了以高特异性和亲和力与转铁蛋白受体结合的人源化抗体。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与转铁蛋白受体的任何胞外表位或暴露于抗体的表位特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的人源化抗TfR1抗体与来自人、非人灵长类、小鼠、大鼠等的转铁蛋白受体特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的人源化抗TfR1抗体与人转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与SEQ ID NO:105至108中提供的人或非人灵长类转铁蛋白受体的氨基酸区段结合。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与这样的氨基酸区段结合:对应于SEQ ID NO:105中所示的人转铁蛋白受体的第90至96位氨基酸,其不在转铁蛋白受体的顶端结构域中。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与TfR1结合但不与TfR2结合。

[0159] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体以至少约 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M或更小的结合亲和力(例如,如由Kd所指示)特异性结合TfR1(例如,人或非人灵长类TfR1)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体以亚纳摩范围的KD与TfR1结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体选择性地与转铁蛋白受体1(TfR1)结合但不与转铁蛋白受体2(TfR2)结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与人TfR1和食蟹猴TfR1结合(例如,其中Kd为 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M或更小),但不与小鼠TfR1结合。抗TfR1抗体的亲和力和结合动力学可使用任何合适的方法测试,包括但不限于生物传感器技术(例如,OCTET或BIAcore)。在一些实施方案中,本文中所述的任一种抗TfR1抗体的结合不竞争或抑制转铁蛋白与TfR1的结合。在一些实施方案中,本文中所述的任一种抗TfR1抗体的结合不竞争或抑制HFE- β -2-微球蛋白与TfR1的结合。

[0160] 表2中提供了抗TfR1抗体的一些非限制性实例。

[0161] 表2. 抗TfR1抗体的一些实例

[0162]

Ab	编号系统	IMGT	Kabat	Chothia
3-A4	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	WIDPENGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 8)	ENG (SEQ ID NO: 13)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 17)		
3-A4 N54T*	VL	DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPETGDT (SEQ ID NO: 19)	WIDPETGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 20)	ETG (SEQ ID NO: 21)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)	RMS (SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 16)
3-A4 N54S*	VH	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPETGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 22)		
	VL	DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 7)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)
	CDR-H2	IDPESGDT (SEQ ID NO: 23)	WIDPESGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 24)	ESG (SEQ ID NO: 25)

[0163]

Ab	编号系统	IMGT	Kabat	Chothia
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)	LRRGLD (SEQ ID NO: 14)
	CDR-L1	KSLHLSNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLHLSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)	SKSLHLSNGYTY (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	EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPESGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 26)		
	VL	DIVMTQAAPSPVPTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (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	TRSSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 29)	SSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 35)	SYDYDVL DY (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	DVQLQESGPGVLVKPSQSLTCSVTGYISITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYITFDGAN NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWGQGTITLTV SS (SEQ ID NO: 43)		
	VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLN WYQQRPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGGKLEIK (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)	SSSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 61)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (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)

[0164]

Ab	编号系统	IMGT	Kabat	Chothia
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)	SSSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVPRGASVKISCKASGYSFTDYYINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 65)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYCYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (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)	RASESDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)	SESDGYDNSF (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)	SSSEDPW (SEQ ID NO: 60)
	VH	QIQLQQSGPELVPRGASVKISCKASGYSFTDYYINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 68)		
	VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYCYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 62)		
抗TfR克隆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)	IYPGDSDTYRSPSFQGG (SEQ ID NO: 145)	GDS (SEQ ID NO: 150)
	CDR-H3	ARFPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 140)	FPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 146)	PYDSSGYYSFD (SEQ ID NO: 151)
	CDR-L1	QSISSY (SEQ ID NO: 141)	RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 147)	SQSISSY (SEQ ID NO: 152)
	CDR-L2	AAS (SEQ ID NO: 142)	AASSLQS (SEQ ID NO: 148)	AAS (SEQ ID NO: 142)
	CDR-L3	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 143)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 143)	SYSTPL (SEQ ID NO: 153)

[0165] *突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0166] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体是表2中提供的任一种抗TfR1抗体的人源化变体。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含与表2中提供的任一种抗TfR1抗体中的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3相同的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且包含人源化重链可变区和/或(例如,和)人源化轻链可变区。

[0167] 表3中提供了本文中所述的抗TfR1抗体的氨基酸序列的一些实例。

[0168] 表3.抗TfR1抗体的可变区

[0169]

抗体	可变区氨基酸序列**
3A4 VH3 (N54T*)/Vk4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ETGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLD YWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 69)
	VL: DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLHSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSN LASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QHL EYPFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 (N54S*)/Vk4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ESGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLD YWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 71)
	VL: DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLHSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSN LASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QHL EYPFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3A4 VH3 /Vk4	VH: EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFNIK DDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP ENG DTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLD YWGQGT
	VL: DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSK SLLHSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR MSN LASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QHL EYPFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 70)
3M12 VH3/Vk2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITF DGANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYD YDVL DY WGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DISN FLNWYQQKPGQPVKLLIYY TSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQ QGH TL PYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH3/Vk3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITF DGANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYD YDVL DY WGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 73)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DISN FLNWYQQKPGQPVKLLIYY TSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQ QGH TL PYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
3M12 VH4/Vk2	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITF D GANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYD YDVL DYW GQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DISN FLNWYQQKPGQPVKLLIYY TSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQ QGH TL PYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)
3M12 VH4/Vk3	VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITF D GANNYNPSLKNR VSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTR SSYD YDVL DYW GQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 76)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DISN FLNWYQQKPGQPVKLLIYY TSRLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQ QGH TL PYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)

[0170]

抗体	可变区氨基酸序列**
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk3	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT DDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSA STAYMELSSLRSEDTAVYYCARE DDYYPYH GMDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 77)
	VL: DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASE SV DGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSRTD FTLTISSLQAEDVAVYYC QQSSEDPWT FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 78)
5H12 VH5 (C33D*)/Vk4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT DDYDINWVRQAPGQGLEWMGWIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSA STAYMELSSLRSEDTAVYYCARE DDYYPYH GMDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 79)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASE SV DGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSRTD FTLTISSLQAEDVAVYYC QQSSEDPWT FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 80)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vk4	VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT DDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIY PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTSA STAYMELSSLRSEDTAVYYCARE DDYYPYH GMDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 77)
	VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASE SV DGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR ASNLESGVPDRFSGSGSRTD FTLTISSLQAEDVAVYYC QQSSEDPWT FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 80)
抗 Tfr 克隆 8	VH: QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYP GDS DT RYSPSFQ QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCAR FPYDSSGYY SFDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 154)
	VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYA AASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PE DFATYYC QQSYSTPLT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 155)

[0171] *突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0172] **根据Kabat编号系统的CDR被加粗

[0173] 在一些实施方案中,本公开内容的抗Tfr1抗体包含VH,所述VH包含表3中提供的任一种抗Tfr1抗体的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,并且与表3中提供的相应VH相比,在框架区中包含一个或更多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个)氨基酸变异。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗Tfr1抗体包含VL,所述VL包含表3中提供的任一种抗Tfr1抗体的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且与表3中提供的相应VL相比,在框架区中包含一个或更多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个)氨基酸变异。在一些实施方案中,抗Tfr1抗体的VH是人源化VH,和/或者抗Tfr1抗体的VL是人源化VL。

[0174] 在一些实施方案中,本公开内容的抗Tfr1抗体包含VH,所述VH包含表3中提供的任一种抗Tfr1抗体的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,并且与表3中提供的相应VH相比在框架区中包含具有至少70%(例如,至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%)同一性的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗Tfr1抗体包含VL,所述VL包含表3中提供的任一种抗Tfr1抗体的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且与表3中提供的相应VL相比在框架区中包含具有至少70%(例如,至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗Tfr1抗体的VH是人源化VH,和/或者抗Tfr1抗体的VL是人源化VL。

[0175] 在一些实施方案中,本公开内容的抗Tfr1抗体包含含有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。

[0176] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。

[0177] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。

[0178] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL。

[0179] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。

[0180] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL。

[0181] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。

[0182] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的VL。

[0183] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的VL。

[0184] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的VL。

[0185] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的VL。

[0186] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是全长IgG,其可包含来自人抗体的重恒定区和轻恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的重链可包含重链恒定区(CH)或其一部分(例如,CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可具有任何合适的来源,例如人、小鼠、大鼠或兔。在一个具体实例中,重链恒定区来自人IgG例如IgG1、IgG2或IgG4(γ 重链)。以下给出了人IgG1恒定区的一个实例:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
[0187] QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

[0188] 在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的重链包含突变体人IgG1恒定区。例如,已知在人IgG1的CH2结构域中引入LALA突变(来源于mAb b12的突变体,其已突变以用A1a234和A1a235替换较低的铰链残基Leu234 Leu235)降低了Fc γ 受体结合(Bruhns, P., et al. (2009) 和Xu, D. et al. (2000))。下面提供了突变体人IgG1恒定区(突变加粗并带有下划线):

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
[0189] EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)。

[0190] 在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的轻链可还包含轻链恒定区(CL),其可以是本领域已知的任何CL。在一些实例中,CL是κ轻链。在另一些实例中,CL是λ轻链。在一些实施方案中,CL是κ轻链,下面提供了其序列:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
[0191] DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)。

[0192] 其他抗体重链和轻链恒定区是本领域公知的,例如在IMGT数据库(www.imgt.org)或www.vbase2.org/vbstat.php中提供的那些,二者均通过引用并入本文。

[0193] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:82具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:82相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及SEQ ID NO:81中所示的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及SEQ ID NO:82中所示的重链恒定区。

[0194] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中列出的任一种VL或其任意变体以及SEQ ID NO:83中所示的轻链恒定区。

[0195] 下表4中提供了所述抗TfR1抗体的IgG重链和轻链氨基酸序列的一些实例。

[0196] 表4. 抗TfR1 IgG实例的重链和轻链序列

[0197]

抗体	IgG 重链/轻链序列 **
3A4 VH3 (N54T*)/Vκ4	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDPE</u> <u>TGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDAVYYCTLWLRRLDYW</u> GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 84) 轻链 (具有κ轻链恒定区) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFQORPGQSPRLLIYRMS NLASGVPDFRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFTGGGKVEIK RTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/Vκ4	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDPE</u> <u>SGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDAVYYCTLWLRRLDYW</u> GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 86) 轻链 (具有κ轻链恒定区) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFQORPGQSPRLLIYRMS NLASGVPDFRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFTGGGKVEIK RTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 /Vκ4	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDPE</u> <u>NGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDAVYYCTLWLRRLDYW</u> GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 87) 轻链 (具有κ轻链恒定区) DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFQORPGQSPRLLIYRMS NLASGVPDFRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFTGGGKVEIK RTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSTSGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITFD</u> <u>GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWG</u> QGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 88)

[0198]

抗体	IgG 重链/轻链序列 **
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN</u> <u>WYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLT</u> <u>TISSLOPEDFATYFCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAP</u> SVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	重链（具有野生型人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGGLVKPSQTL</u> <u>SLTCSVTGYSITSGYYWNWIROPPGKGLEWMGYITFD</u> <u>GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL</u> <u>DYWG</u> <u>QGT</u> <u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT</u> <u>SVWNSGALT</u> SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL LSPGK (SEQ ID NO: 88)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN</u> <u>WYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLT</u> <u>TISSLOPEDFATYYCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAA</u> PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	重链（具有野生型人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGGLVKPSQTL</u> <u>SLTCTVTGYSITSGYYWNWIROPPGKGLEWIGYITFDG</u> <u>ANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL</u> <u>DYWGQ</u> <u>GTT</u> <u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT</u> <u>SVWNSGALTS</u> GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL LSPGK (SEQ ID NO: 91)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN</u> <u>WYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLT</u> <u>TISSLOPEDFATYFCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAP</u> SVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	重链（具有野生型人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGGLVKPSQTL</u> <u>SLTCTVTGYSITSGYYWNWIROPPGKGLEWIGYITFDG</u> <u>ANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL</u> <u>DYWGQ</u> <u>GTT</u> <u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT</u> <u>SVWNSGALTS</u> GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL LSPGK (SEQ ID NO: 91)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN</u> <u>WYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLT</u> <u>TISSLOPEDFATYYCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAA</u> PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)

[0199]

抗体	IgG 重链/轻链序列 **
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYP</u> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYHGM</u> <u>DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYNDFMHYWOQKPGQPPKLLIFRAS</u> <u>NLESGVPDRFSGSGSTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQOQSEDPWTFGQGTKEIKR</u> TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYDINWVRQAPGQGLEWMGWIYP</u> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYHGM</u> <u>DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYNDFMHYWOQKPGQPPKLLIFRA</u> <u>SNLESGVPDRFSGSGSTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQOQSEDPWTFGQGTKEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	重链 (具有野生型人 IgG1 恒定区) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYP</u> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYHGM</u> <u>DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDGYNDFMHYWOQKPGQPPKLLIFRA</u> <u>SNLESGVPDRFSGSGSTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQOQSEDPWTFGQGTKEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
抗 Tfr 克隆 8	VH: <u>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIHYPG</u> <u>DS TRYSPSFQGOVTISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYCARFPYDSSGYYSF</u> <u>DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 156)

[0200]

抗体	IgG 重链/轻链序列 **
	VL: <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASOSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLOS</u> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOQSYSTPLTFGGGKVEIKRTVAAP</u> SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)

[0201] *突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0202] **根据Kabat编号系统的CDR被加粗;VH/VL序列带有下列线

[0203] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链,所述重链与SEQ ID NO: 84、86、87、88、91、92、94和156中的任一者中所示的重链相比,包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链与SEQ ID NO:85、89、90、93、95和157中的任一者中所示的轻链相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0204] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含与SEQ ID NO:84、86、87、88、91、92、94和156中任一者具有至少75%(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO:85、89、90、93、95和157中任一者具有至少75%(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:84、86、87、88、91、92、94和156中任一者的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:85、89、90、93、95和157中任一者的氨基酸序列的轻链。

[0205] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:84的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0206] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0207] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0208] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0209] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0210] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0211] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0212] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。

[0213] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0214] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0215] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。

[0216] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体是完整抗体(全长抗体)的Fab片段、Fab'片段或F(ab')₂片段。完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段可通过常规方法制备(例如,重组地制备或通过使用酶如木瓜蛋白酶消化全长IgG的重链恒定区来制备)。例如,F(ab')₂片段可通过胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化抗体分子产生,并且Fab片段可通过还原F(ab')₂片段的二硫桥产生。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体的Fab片段中的重链恒定区包含以下氨基酸序列:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ

[0217] SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 96)

[0218] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:96具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:96相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及SEQ ID NO:96中所示的重链恒定区。

[0219] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中列出的任一种VL或其任意变体以及SEQ ID NO:83中所示的轻链恒定区。

[0220] 下表5中提供了所述抗TfR1抗体的Fab重链和轻链氨基酸序列的一些实例。

[0221] 表5.抗TfR1 Fab实例的重链和轻链序列

[0222]

抗体	Fab 重链/轻链序列 **
3A4 VH3 (N54T*)/VK4	重链 (具有部分人 IgG1 恒定区) <u>EVQLVQSGSELKPGASVKV</u> <u>SCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDPE</u> <u>TGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLDYW</u> <u>GQGT</u> <u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u> TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 97)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSL</u> <u>LHSNGYTYLFWFQORPGQSPRLLIYRMS</u> <u>NLASGV</u> <u>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKVEIK</u> RTVAAPS <u>VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES</u> VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3 (N54S*)/VK4	重链 (具有部分人 IgG1 恒定区) <u>EVQLVQSGSELKPGASVKV</u> <u>SCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDPE</u> <u>SGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLDYW</u> <u>GQGT</u> <u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u> TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHT (SEQ ID NO: 98)

[0223]

抗体	Fab重链/轻链序列 **
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSKSLHNSGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYRMS</u> <u>NLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFGGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3A4 VH3/Vκ4	重链（具有部分人 IgG1 恒定区） <u>EVQLVQSGSELKPGASVKVSTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDPE</u> <u>NGDTEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDATVYYCTLWLRRLDYW</u> <u>GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u> <u>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS</u> <u>CDKHTT</u> (SEQ ID NO: 99)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSKSLHNSGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYRMS</u> <u>NLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFGGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)
3M12 VH3/Vκ2	重链（具有部分人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTSVTGYSITSGYYWNWIROPKPGKLEWMGYITFD</u> <u>GANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYYDVL</u> <u>QGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</u> <u>DKTHT</u> (SEQ ID NO: 100)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWIYQQKPGQPVKLLIYYTSLRHS</u> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAP</u> <u>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH3/Vκ3	重链（具有部分人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTSVTGYSITSGYYWNWIROPKPGKLEWMGYITFD</u> <u>GANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYYDVL</u> <u>QGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</u> <u>DKTHT</u> (SEQ ID NO: 100)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWIYQQKPGQPVKLLIYYTSLRHS</u> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAP</u> <u>PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS</u> <u>KDSTYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 90)
3M12 VH4/Vκ2	重链（具有部分人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROPKPGKLEWIGYITFDG</u> <u>ANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYYDVL</u> <u>QGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD</u> <u>KTHT</u> (SEQ ID NO: 101)
	轻链（具有κ轻链恒定区） <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWIYQQKPGQPVKLLIYYTSLRHS</u> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQOGHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAP</u> <u>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 89)
3M12 VH4/Vκ3	重链（具有部分人 IgG1 恒定区） <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROPKPGKLEWIGYITFDG</u> <u>ANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYYDVL</u> <u>QGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD</u> <u>KTHT</u> (SEQ ID NO: 101)

[0224]

抗体	Fab 重链/轻链序列 **
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLN</u> <u>WYQOKPGQPVKLLIYYTSRLHS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SLQPEDFATYYCOQGHTLPYTFGQGT</u> <u>KLEIKRTVAA</u> PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ3	重链 (具有部分人 IgG1 恒定区) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYP</u> <u>SGGNTRYSERFKGRVTITRDT</u> <u>SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARE</u> <u>DYYPYHGM</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u> <u>TVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVLTQSPD</u> <u>SLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA</u> <u>NLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTIS</u> <u>SLQAEDVAVYYCQOSSEDPWTFGQGT</u> <u>KLEIKR</u> TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)
5H12 VH5 (C33D*)/Vκ4	重链 (具有部分人 IgG1 恒定区) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYP</u> <u>SGGNTRYSERFKGRVTITRDT</u> <u>SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARE</u> <u>DYYPYHGM</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u> <u>TVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 103)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVMTQSPD</u> <u>SLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA</u> <u>SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SLQAEDVAVYYCQOSSEDPWTFGQGT</u> <u>KLEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
5H12 VH5 (C33Y*)/Vκ4	重链 (具有部分人 IgG1 恒定区) <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYP</u> <u>SGGNTRYSERFKGRVTITRDT</u> <u>SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARE</u> <u>DYYPYHGM</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u> <u>TVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)
	轻链 (具有κ轻链恒定区) <u>DIVMTQSPD</u> <u>SLAVSLGERATINCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA</u> <u>SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SLQAEDVAVYYCQOSSEDPWTFGQGT</u> <u>KLEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)
抗 Tfr 克隆 8 形式 1	VH: <u>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIHYPG</u> <u>DS</u> <u>TRYSPSFQGOVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGYYSF</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u> <u>TVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 158)
	VL: <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN</u> <u>WYQOKPGKAPKLLIYAASSLOS</u> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SLQPEDFATYYCQQS</u> <u>YSTPLTFGGG</u> <u>TKVEIKRTVAA</u> PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)
抗 Tfr 克隆 8 形式 2	VH: <u>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIHYPG</u> <u>DS</u> <u>TRYSPSFQGOVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGYYSF</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u> <u>TVSWN</u> SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 159)

抗体	Fab 重链/轻链序列 **
[0225]	VL: <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLOS</u> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOSYSTPLTFGGGT</u> KVEIKRTVAAP SVFIHPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGEC (SEQ ID NO: 157)

[0226] *突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0227] **根据Kabat编号系统的CDR被加粗;VH/VL序列带有下列线

[0228] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链,所述重链与SEQ ID NO: 97至103、158和159中的任一者中所示的重链相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链与SEQ ID NO:85、89、90、93、95和157中的任一者中所示的轻链相比不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0229] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含与SEQ ID NO:97至103、158和159中任一者具有至少75%(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO:85、89、90、93、95和157中任一者具有至少75%(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含SEQ ID NO:97至103、158和159中任一者的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:85、89、90、93、95和157中任一者的氨基酸序列。

[0230] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0231] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0232] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0233] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0234] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0235] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0236] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0237] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。

[0238] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:103的氨基酸

序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0239] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0240] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。

[0241] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。

[0242] 其他已知的抗TfR1抗体

[0243] 本领域中已知的任何其他合适的抗TfR1抗体均可用作本文中公开的复合物中的肌肉靶向剂。表6中列出了已知抗TfR1抗体的一些实例,包括相关参考文献和结合表位。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含本文中提供的任何抗TfR1抗体(例如,表6中列出的抗TfR1抗体)的互补决定区(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3)。

[0244] 表6-抗TfR1抗体克隆的列表,包括相关参考文献和结合表位信息。

[0245]

抗体克隆名称	参考文献	表位/注释
OKT9	1979年12月4日提交的美国专利 No. 4,364,934, 标题为“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.	TfR1 的顶端结构域 (人 TfR1 序列 XM_052730.3 的第 305 至 366 位残基, 可在 GenBank 中获得)
(来自 JCR) 克隆 M11 克隆 M23 克隆 M27 克隆 B84	2014年12月24日提交的 WO 2015/098989, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier” 2014年12月24日提交的美国专利 No. 9,994,641, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”	顶端结构域 (TfR1 的第 230 至 244 位和第 326 至 347 位残基) 和蛋白酶样结构域 (第 461 至 473 位残基)

[0246]

抗体克隆名称	参考文献	表位/注释
(来自 Genentech) 7A4、8A2、15D2、 10D11、7B10、 15G11、16G5、13C3、 16G4、16F6、7G7、 4C2、1B12 和 13D4	2016 年 5 月 26 日提交的 WO 2016/081643, 标题为 “ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE” 2014 年 5 月 20 日提交的美国专利 No. 9,708,406, “Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use”	顶端结构域和非顶端区
(来自 Armagen) 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. 2008 年 9 月 11 日提交的美国专利申请 2010/077498, 标题为 “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.	

[0247]

抗体克隆名称	参考文献	表位/注释
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、TFRC/1818、1E6、66Ig10、TFRC/1059、Q1/71、23D10、13E4、TFRC/1149、ER-MP21、YTA74.4、BU54、2B6、RI7 217	市售抗转铁蛋白受体抗体。	Novus Biologicals 8100 Southpark Way, A-8 Littleton CO 80120
(来自 INSERM) BA120g	2005 年 6 月 15 日提交的美国专利申请 2011/0311544A1, 标题为“ANTI-CD71 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF FOR TREATING MALIGNANT TUMOR CELLS”	不与 OKT9 竞争
LUCA31	2004 年 6 月 7 日提交的美国专利 No. 7,572,895, 标题为“TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES”	“LUCA31 表位”

[0248]

抗体克隆名称	参考文献	表位/注释			
(Salk Institute) 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, 第 294 卷, 第 171 至 173 页				
R17 217.1.3、 5E9C11、 OKT9 (BE0023 克隆)	市售抗转铁蛋白受体抗体。	BioXcell 10 Technology Dr., Suite 2B West Lebanon, NH 03784-1671 USA			
BK19.9、B3/25、 T56/14 和 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.				
抗 TfR1 抗体					
CDRH1 (SEQ ID NO: 372)	另外的抗 TfR1 抗体 SEQ ID NOs				
CDRH2 (SEQ ID NO: 373)		VH/VL	CDR1	CDR2	CDR3
CDRH3 (SEQ ID NO: 374)	VH1	387	380	381	374
CDRL1 (SEQ ID NO: 375)	VH2	388	380	382	374
CDRL2 (SEQ ID NO: 376)	VH3	389	380	383	374
CDRL3 (SEQ ID NO: 377)	VH4	390	380	382	374
VH (SEQ ID NO: 378)	VL1	391	375	376	115
VL (SEQ ID NO: 379)	VL2	392	75	376	115
	VL3	393	3 5	384	377
	VL4	394	385	386	377

[0249] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含来自选自表6的任一种抗TfR1抗体的一个或更多个CDR-H(例如,CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含如针对选自表6的任一种抗TfR1抗体所提供的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含如针对选自表6的任一种抗TfR1抗体所提供的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0250] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包括包含任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的重链可变结构域和/或(例如,和)轻链可变结构域的任何抗体。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包括包含任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的重链可变和轻链可变对的任何抗体。

[0251] 本公开内容的一些方面提供了抗TfR1抗体,其具有与本文中所述的那些中的任何同源的重链可变(VH)和/或(例如,和)轻链可变(VL)结构域氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含与任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的重链可变序列和/或任何轻链可变序列具有至少75%(例如80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的重链可变序列或轻链可变序列。在一些实施方案中,同源重链可变和/或(例如,和)轻链可变氨基酸序列在本文中提供的任何CDR序列内均不变化。例如,在一些实施方案中,序列变异的程度(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)可发生在不包括本文中提供的任何CDR序列的重链可变和/或(例如,和)轻链可变序列中。在一些实施方案中,本文中提供的任何抗TfR1抗体包含重链可变序列和轻链可变序列,其包含与任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的框架序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%同一性的框架序列。

[0252] 根据本公开内容可使用的转铁蛋白受体抗体的一个实例描述于国际申请公开W0 2016/081643中,其通过引用并入本文。该抗体的氨基酸序列在表7中提供。

[0253] 表7. 已知的抗TfR1抗体实例的重链和轻链CDR

[0254]

序列类型	Kabat	Chothia	Contact
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)
鼠 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO: 124)		
鼠 VL	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKSPQLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYYCQHFHWGTPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 125)		
人源化 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQTMVTVSS (SEQ ID NO: 128)		
人源化 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 129)		
嵌合全长 IgG1 的 HC	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 132)		
嵌合全长 IgG1 的 LC	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKSPQLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYYCQHFHWGTPLTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 133)		
完全人全长 IgG1 的 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHYWGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)		
完全人全长 IgG1 的 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 135)		
嵌合 Fab 的 HC	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 136)		

序列类型	Kabat	Chothia	Contact
[0255] 完全人 Fab 的 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEIN PTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHY WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 137)		

[0256] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含与表7中所示的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3相同的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含与表7中所示的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3相同的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0257] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含CDR-L3,其与表7中所示的CDR-L3相比包含不超过3个氨基酸变异(例如,不超过3、2或1个氨基酸变异)。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含CDR-L3,其与表7中所示的CDR-L3相比包含一个氨基酸变异。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含QHFAGTPLT(SEQ ID NO:126)的CDR-L3(根据Kabat和Chothia定义系统)或QHFAGTPL(SEQ ID NO:127)的CDR-L3(根据Contact定义系统)。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含与表7中所示的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3相同的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1和CDR-L2,并且包含QHFAGTPLT(SEQ ID NO:126)的CDR-L3(根据Kabat和Chothia定义系统)或QHFAGTPL(SEQ ID NO:127)的CDR-L3(根据Contact定义系统)。

[0258] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链CDR,其共同与表7中所示的重链CDR具有至少80%(例如,80%、85%、90%、95%或98%)同一性。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链CDR,其共同与表7中所示的轻链CDR具有至少80%(例如,80%、85%、90%、95%或98%)同一性。

[0259] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的VH。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL。

[0260] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的VH。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VL。

[0261] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含VH,所述VH与SEQ ID NO:128中所示的VH相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含VL,所述VL与SEQ ID NO:129中所示的VL相比包含不超过15个氨基酸变异(例如,不超过20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0262] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体是全长IgG1抗体,其可包含来自人抗体的重恒定区和轻恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的重链可包含重链恒定区(CH)或其一部分(例如,CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可具有任何合适的来源,例如人、小鼠、大鼠或兔。在一个具体实例中,重链恒定区来自人IgG例如IgG1、IgG2或IgG4(γ 重链)。以下给出了人IgG1恒定区的一个实例:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
[0263] QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLR
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)。

[0264] 在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的轻链可还包含轻链恒定区(CL),其可以是本领域已知的任何CL。在一些实例中,CL是 κ 轻链。在另一些实例中,CL是 λ 轻链。在一些实施方案中,CL是 κ 轻链,下面提供了其序列:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
[0265] DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)。

[0266] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是嵌合抗体,其包含含有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的轻链。

[0267] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是包含重链的完全人抗体,所述重链包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的轻链。

[0268] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体是完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段(Fab)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:136的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的轻链。

[0269] 本文中所述的抗TfR1抗体可为任何抗体形式,包括但不限于完整(即,全长)抗体、其抗原结合片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链抗体、双特异性抗体或纳米抗体。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是scFv。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是scFv-Fab(例如,与恒定区的一部分融合的scFv)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是与恒定区(例如,SEQ ID NO:81中所示的人IgG1恒定区)融合的scFv。

[0270] 在一些实施方案中,可在残基不太可能参与与靶抗原(例如,转铁蛋白受体)相互作用的位置(例如,如基于晶体结构确定的)处将保守突变引入到抗体序列(例如,CDR或框架序列)中。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入到本文中所述的抗TfR1抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以改变抗体的一种或更多种功能特性,例如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合和/或(例如,和)抗原依赖性细胞毒性。

[0271] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入到Fc区(CH1结构域)的铰链区中,使得铰链区中的半胱氨酸残基的数目改变(例如,增加或减少),如例如美国专利No.5,677,425中所述。可改变CH1结构域的铰链区中半胱氨酸残基的数目,例如以促进轻链和重链的组装,或改变(例如,提高或降低)抗体的稳定性或促进接头缀合。

[0272] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入到本文中所述的肌肉靶向抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以提高或降低抗体对效应细胞表面上Fc受体(例如,激活的Fc受体)的亲合力。降低或提高抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc区中突变以及将这样的突变引入到Fc受体或其片段中的技术是本领域技术人员已知的。可被进行以改变抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc受体中突变的一些实例描述于以下中:例如Smith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186,美国专利No.6,737,056,以及国际公开No.WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631,其通过引用并入本文。

[0273] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入到IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以改变(例如,降低或提高)抗体在体内的半衰期。参见例如,国际公开No.WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631,以及美国专利No.5,869,046、6,121,022、6,277,375和6,165,745,例如将改变(例如,降低或提高)抗体在体内的半衰期的突变。

[0274] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入到IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以降低体内抗TfR1抗体的半衰期。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入到IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以提高抗体在体内的半衰期。在一些实施方案中,抗体可在第二恒定(CH2)结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)第三恒定(CH3)结构域(人IgG1的第341至447位残基)(根据Kabat中的EU索引(Kabat E A et al., (1991)同上)编号)中具有一个或更多个氨基酸突变(例如,替换)。在一些实施方案中,本文中所述的抗体的IgG1的恒定区包含在第252位处的甲硫氨酸(M)至酪氨酸(Y)替换,在第254位处的丝氨酸(S)至苏氨酸(T)替换,以及在第256位处的苏氨酸(T)至谷氨酸(E)替换,所述位置根据Kabat中的EU索引编号。参见美国专利No.7,658,921,其通过引用并入本文。这种类型的突变体IgG(称为“YTE突变体”)已显示出与同一抗体的野生型形式相比半衰期提高4倍(参见Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24)。在一些实施方案中,抗体包含IgG恒定结构域,该结构域包含在第251至257、285至290、308至314、385至389和428至436位处的氨基酸残基的一个、两个、三个或更多个氨基酸替换,所述位置根据Kabat中的EU索引编号。

[0275] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸替换引入到IgG恒定结构域Fc区中,以改变抗TfR1抗体的效应子功能。对其的亲合力被改变的效应配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。该方法在美国专利No.5,624,821和5,648,260中有更详细的描述。在一些实施方案中,恒定区结构域的缺失或失活(通过点突变或其他方式)可降低循环抗体的Fc受体结合,从而提高肿瘤定位。对于使恒定结构域缺失或失活从而提高肿瘤定位的突变的描述,参见例如美国专利No.5,585,097和8,591,886。在一些实施方案中,可将一个或更多个氨基酸替换引入到本文中所述的抗体的Fc区中,以去除Fc区上潜在的糖基化位点,这可降低Fc受体结合(参见,例如Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-604)。

[0276] 在一些实施方案中,可将本文中所述的抗TfR1抗体的恒定区中的一个或更多个氨基酸替代为不同的氨基酸残基,使得抗体具有改变的C1q结合和/或(例如,和)降低或消除的

补体依赖性细胞毒性(complement dependent cytotoxicity,CDC)。这种方法在美国专利 No.6,194,551 (Idusogie et al) 中有更详细的描述。在一些实施方案中,改变本文中所述的抗体的CH2结构域的N端区域中的一个或更多个氨基酸残基,从而改变抗体的固定补体的能力。这种方法在国际公开No.WO 94/29351中有进一步描述。在一些实施方案中,对本文中所述的抗体的Fc区进行修饰以提高抗体的介导抗体依赖性细胞毒性(antibody dependent cellular cytotoxicity,ADCC)的能力和/或(例如,和)提高抗体对Fc γ 受体的亲和力。这种方法在国际公开No.WO 00/42072中有进一步描述。

[0277] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体的重链和/或(例如,和)轻链可变结构域序列可用于产生例如CDR接枝、嵌合、人源化或复合的人抗体或抗原结合片段,如本文中其他地方所述。如本领域普通技术人员所理解的,来源于本文中提供的任何抗体的任何变体(CDR接枝、嵌合、人源化或复合的抗体)可用于本文中所述的组合物和方法中,并将保持特异性结合转铁蛋白受体的能力,从而使得相对于其所来源原始抗体,变体(CDR接枝、嵌合、人源化或复合的抗体)具有至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更多的与转铁蛋白受体的结合。

[0278] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体包含赋予抗体以期望性质的突变。例如,为了避免归因于已知与天然IgG4 mAb发生的Fab臂交换而引起的潜在并发症,本文中提供的抗体可包含稳定性‘Adair’突变(Angal S.,et al.,“A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human(IgG4) antibody,”Mol Immunol 30,105-108;1993),其中第228位(EU编号;根据Kabat编号为第241位残基)丝氨酸转化为脯氨酸,从而产生了IgG1样铰链序列。因此,任何抗体都可包含稳定性‘Adair’突变。

[0279] 在一些实施方案中,对抗体进行修饰,例如,通过糖基化、磷酸化、SUMO化和/或(例如,和)甲基化进行修饰。在一些实施方案中,抗体是与一个或更多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化(GPI锚定附着)和/或(例如,和)磷酸糖基化与抗体缀合。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子是支化的寡糖或支化的聚糖。在一些实施方案中,一个或更多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中,存在约1至10个、约1至5个、约5至10个、约1至4个、约1至3个或约2个糖分子。在一些实施方案中,糖基化抗体是完全或部分糖基化的。在一些实施方案中,通过化学反应或通过酶促手段使抗体糖基化。在一些实施方案中,抗体在体外或细胞内被糖基化,其可任选地缺少N-或O-糖基化途径中的酶,例如糖基转移酶。在一些实施方案中,用糖或碳水化合物分子对抗体进行官能化,如2014年5月1日公开的标题为“Modified antibody,antibody-conjugate and process for the preparation thereof”的国际专利申请公开W02014065661中所述。

[0280] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种抗TfR1抗体可在重链序列和/或(例如,和)轻链序列中包含信号肽(例如,N端信号肽)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含VH和VL序列中的任一种、IgG重链序列和轻链序列中的任一种、或者本文中所述的F(ab’)重链序列和轻链序列中的任一种,并且还包含信号肽(例如,N端信号肽)。在一些实施方案中,信号肽包含氨基酸序列MGWSCIIILFLVATATGVHS(SEQ ID NO:104)。

[0281] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体可具有一种或更多种翻译后修饰。在一些实施方案中,也称为焦谷氨酸形成(pyro-Glu)的N端环化可在产生期间在抗体的N端谷氨酸(Glu)和/或谷氨酰胺(Gln)残基处发生。因此,应理解,指定为具有包含N端谷氨酸或谷氨酰胺残基的序列的抗体涵盖已经历由翻译后修饰引起的焦谷氨酸形成的抗体。在一些实施方案中,焦谷氨酸形成发生在重链序列中。在一些实施方案中,焦谷氨酸形成发生在轻链序列中。

[0282] b. 其他肌肉靶向抗体

[0283] 在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是特异性结合血幼素(hemojuvelin)、小窝蛋白-3、迪谢内肌营养不良肽(Duchenne muscular dystrophy peptide)、肌球蛋白IIb或CD63的抗体。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是特异性结合肌原性前体蛋白的抗体。一些示例性的肌原性前体蛋白包括但不限于ABCG2、M-钙黏着蛋白/钙黏着蛋白-15、小窝蛋白-1、CD34、FoxK1、整联蛋白 α 7、整联蛋白 α 7 β 1、MYF-5、MyoD、肌细胞生成蛋白、NCAM-1/CD56、Pax3、Pax7和Pax9。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是特异性结合骨骼肌蛋白的抗体。一些示例性的骨骼肌蛋白包括但不限于 α -肌聚糖蛋白(alpha-Sarcoglycan)、 β -肌聚糖蛋白、钙蛋白酶抑制剂、肌酸激酶MM/CKMM、eIF5A、烯醇化酶2/神经元特异性烯醇化酶、 ϵ -肌聚糖蛋白、FABP3/H-FABP、GDF-8/肌生成抑制蛋白、GDF-11/GDF-8、整联蛋白 α 7、整联蛋白 α 7 β 1、整联蛋白 β 1/CD29、MCAM/CD146、MyoD、肌细胞生成蛋白、肌球蛋白轻链激酶抑制剂、NCAM-1/CD56和肌钙蛋白I。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是特异性结合平滑肌蛋白的抗体。一些示例性的平滑肌蛋白包括但不限于 α -平滑肌肌动蛋白、VE-钙黏着蛋白、钙调蛋白结合蛋白/CALD1、钙调理蛋白1、结蛋白(Desmin)、组胺H2 R、胃动素R/GPR38、转凝蛋白/TAGLN、和波形蛋白。然而,应理解,针对其他靶标的抗体在本公开内容的范围内,并且本文中提供的靶标的示例性列表并不意味着是限制性的。

[0284] c. 抗体特征/改变

[0285] 在一些实施方案中,可在残基不太可能参与与靶抗原(例如,转铁蛋白受体)相互作用的位置(例如,如基于晶体结构确定的)处将保守突变引入到抗体序列(例如,CDR或框架序列)中。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入到本文中所述的肌肉靶向抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以改变抗体的一种或更多种功能特性,例如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合和/或(例如,和)抗原依赖性细胞毒性。

[0286] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入到Fc区(CH1结构域)的铰链区中,使得铰链区中的半胱氨酸残基的数目改变(例如,增加或减少),如例如美国专利No.5,677,425中所述。可改变CH1结构域的铰链区中半胱氨酸残基的数目,例如以促进轻链和重链的组装,或改变(例如,提高或降低)抗体的稳定性或促进接头缀合。

[0287] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入到本文中所述的肌肉靶向抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以提高或降低抗体对效应细胞表面上Fc受体(例如,激活的Fc受体)的亲和力。降低或提高抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc区中突变以及将这

样的突变引入到Fc受体或其片段的技术是本领域技术人员已知的。可被进行以改变抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc受体中突变的一些实例描述于以下中:例如Smith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186, 美国专利No. 6,737,056, 以及国际公开No. WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631, 其通过引用并入本文。

[0288] 在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个氨基酸突变(即, 替换、插入或缺失)引入到IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地, Fc或铰链-Fc结构域片段)中以改变(例如, 降低或提高)抗体在体内的半衰期。参见例如国际公开No. WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631, 以及美国专利No. 5,869,046、6,121,022、6,277,375和6,165,745, 例如将改变(例如, 降低或提高)抗体在体内的半衰期的突变。

[0289] 在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个氨基酸突变(即, 替换、插入或缺失)引入到IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地, Fc或铰链-Fc结构域片段)中以降低体内抗转铁蛋白受体抗体的半衰期。在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个氨基酸突变(即, 替换、插入或缺失)引入到IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地, Fc或铰链-Fc结构域片段)中以提高抗体在体内的半衰期。在一些实施方案中, 抗体可在第二恒定(CH2)结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如, 和)第三恒定(CH3)结构域(人IgG1的第341至447位残基)(根据Kabat中的EU索引(Kabat E A et al., (1991) 同上)编号)中具有一个或更多个氨基酸突变(例如, 替换)。在一些实施方案中, 本文中所述的抗体的IgG1的恒定区包含在第252位处的甲硫氨酸(M)至酪氨酸(Y)替换, 在第254位处的丝氨酸(S)至苏氨酸(T)替换, 以及在第256位处的苏氨酸(T)至谷氨酸(E)替换, 所述位置根据Kabat中的EU索引编号。参见美国专利No. 7,658,921, 其通过引用并入本文。这种类型的突变体IgG(称为“YTE突变体”)已显示出与同一抗体的野生型形式相比半衰期提高4倍(参见Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24)。在一些实施方案中, 抗体包含IgG恒定结构域, 该结构域包含在第251至257、285至290、308至314、385至389和428至436位处的氨基酸残基的一个、两个、三个或更多个氨基酸替换, 所述位置根据Kabat中的EU索引编号。

[0290] 在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个氨基酸替换引入到IgG恒定结构域Fc区中, 以改变抗转铁蛋白受体抗体的效应子功能。对其的亲合力被改变的效应配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。该方法在美国专利No. 5,624,821和5,648,260中有更详细的描述。在一些实施方案中, 恒定区结构域的缺失或失活(通过点突变或其他方式)可降低循环抗体的Fc受体结合, 从而提高肿瘤定位。对于使恒定结构域缺失或失活从而提高肿瘤定位的突变的描述, 参见例如美国专利No. 5,585,097和8,591,886。在一些实施方案中, 可将一个或更多个氨基酸替换引入到本文中所述的抗体的Fc区中, 以去除Fc区上潜在的糖基化位点, 这可降低Fc受体结合(参见, 例如Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-604)。

[0291] 在一些实施方案中, 可将本文中所述的肌肉靶向抗体的恒定区中的一个或更多个氨基酸替代为不同的氨基酸残基, 使得抗体具有改变的C1q结合和/或者(例如, 和)降低或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。这种方法在美国专利No. 6,194,551(Idusogie et al)中有更详细的描述。在一些实施方案中, 改变本文中所述的抗体的CH2结构域的N端区域中的一个或更多个氨基酸残基, 从而改变抗体的固定补体的能力。这种方法在国际公开No. WO 94/29351中有进一步描述。在一些实施方案中, 对本文中所述的抗体的Fc区进行修饰以提

高抗体的介导抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 的能力和/或 (例如, 和) 提高抗体对 Fc γ 受体的亲和力。这种方法在国际公开 No. WO 00/42072 中有进一步描述。

[0292] 在一些实施方案中, 本文中提供的抗体的重链和/或 (例如, 和) 轻链可变结构域序列可用于产生例如 CDR 接枝、嵌合、人源化或复合的人抗体或抗原结合片段, 如本文中其他地方所述。如本领域普通技术人员所理解的, 来源于本文中提供的任何抗体的任何变体 (CDR 接枝、嵌合、人源化或复合的抗体) 可用于本文中所述的组合物和方法中, 并将保持特异性结合转铁蛋白受体的能力, 从而使得相对于其所来源原始抗体, 变体 (CDR 接枝、嵌合、人源化或复合的抗体) 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95% 或更多的与转铁蛋白受体的结合。

[0293] 在一些实施方案中, 本文中提供的抗体包含赋予抗体以期望性质的突变。例如, 为了避免归因于已知与天然 IgG4 mAb 发生的 Fab 臂交换而引起的潜在并发症, 本文中提供的抗体可包含稳定性 'Adair' 突变 (Angal S., et al., "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," *Mol Immunol* 30, 105-108; 1993), 其中第 228 位 (EU 编号, 根据 Kabat 编号为第 241 位残基) 丝氨酸转化为脯氨酸, 从而产生了 IgG1 样铰链序列。因此, 任何抗体都可包含稳定性 'Adair' 突变。

[0294] 如本文中所提供, 本公开内容的抗体可任选地包含恒定区或其一部分。例如, VL 结构域可在其 C 端连接至轻链恒定结构域, 如 C κ 或 C λ 。类似地, VH 结构域或其一部分可连接至如 IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM (以及任何同种型亚类) 的重链的全部或一部分。抗体可包含合适的恒定区 (参见, 例如, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md. (1991))。因此, 在本公开内容范围内的抗体可包含与任何合适的恒定区组合的 VH 和 VL 结构域或其抗原结合部分。

[0295] ii. 肌肉靶向肽

[0296] 本公开内容的一些方面提供了肌肉靶向肽作为肌肉靶向剂。已描述了与特定细胞类型结合的短肽序列 (例如, 长度为 5 至 20 个氨基酸的肽序列)。例如, 细胞靶向肽已在以下中进行了描述: Vines e., et al., "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; 美国专利 No. 6, 329, 501, 其于 2001 年 12 月 11 日授权, 标题为 "METHODS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING COMPOUNDS TO MUSCLE"; 以及 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; 其各自的全部内容均通过引用并入本文。通过设计肽与特定的细胞表面抗原 (例如, 受体) 相互作用, 可实现对所期望组织例如肌肉的选择性。已研究了骨骼肌靶向并且能够递送一系列分子载荷。这些方法可对肌肉组织具有高度选择性, 而没有大的抗体或病毒颗粒的许多实际缺点。因此, 在一些实施方案中, 肌肉靶向剂是长度为 4 至 50 个氨基酸的肌肉靶向肽。在一些实施方案中, 肌肉靶向肽的长度为 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或50个氨基酸。可使用数种方法中的任一种(例如噬菌体展示)来产生肌肉靶向肽。

[0297] 在一些实施方案中,肌肉靶向肽可与和某些其他细胞相比在肌细胞中过表达或相对高地表达的内化细胞表面受体,例如转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,肌肉靶向肽可靶向转铁蛋白受体(例如,与之结合)。在一些实施方案中,靶向转铁蛋白受体的肽可包含天然存在配体(例如转铁蛋白)的区段。在一些实施方案中,靶向转铁蛋白受体的肽如2000年11月30日提交的美国专利No.6,743,893,“RECEPTOR-MEDIATED UPTAKE OF PEPTIDES THAT BIND THE HUMAN TRANSFERRIN RECEPTOR”中所述。在一些实施方案中,靶向转铁蛋白受体的肽如Kawamoto,M.et al,“A novel transferrin receptor-targeted hybrid peptide disintegrates cancer cell membrane to induce rapid killing of cancer cells.”BMC Cancer.2011Aug 18;11:359中所述。在一些实施方案中,靶向转铁蛋白受体的肽如2011年5月20日提交的美国专利No.8,399,653,“TRANSFERRIN/TRANSFERRIN RECEPTOR-MEDIATED SIRNA DELIVERY”中所述。

[0298] 如上所讨论,已报道了肌肉靶向肽的一些实例。例如,使用呈递表面七肽的噬菌体展示文库鉴定了肌肉特异性肽。作为一个实例,具有氨基酸序列ASSLNIA(SEQ ID NO:363)的肽在体外与C2C12鼠肌管结合,并且在体内与小鼠肌肉组织结合。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂包含氨基酸序列ASSLNIA(SEQ ID NO:363)。该肽在小鼠中进行静脉内注射之后展示出提高的与心脏和骨骼肌组织结合的特异性,以及降低的与肝、肾和脑的结合。使用噬菌体展示已鉴定了另外的肌肉特异性肽。例如,通过噬菌体展示文库鉴定了12个氨基酸的肽用于在DMD治疗的情况下进行肌肉靶向。参见Yoshida D.,et al.,“Targeting of salicylate to skin and muscle following topical injections in rats.”Int J Pharm 2002;231:177-84;其全部内容在此通过引用并入。在此,鉴定了具有序列SKTFNTHPQSTP(SEQ ID NO:364)的12个氨基酸的肽,并且该肌肉靶向肽相对于ASSLNIA(SEQ ID NO:363)肽显示出提高的与C2C12细胞的结合。

[0299] 用于鉴定相对于其他细胞类型而对肌肉(例如,骨骼肌)具有选择性的肽的另一方法包括体外选择,这已在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中进行了描述;其全部内容通过引用并入本文。通过将随机的12聚体(12-mer)肽噬菌体展示文库与非肌细胞类型的混合物预孵育选择出了非特异性细胞结合物。在数轮选择之后,12个氨基酸的肽TARGEHKEELI(SEQ ID NO:365)最频繁地出现。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂包含氨基酸序列TARGEHKEELI(SEQ ID NO:365)。

[0300] 肌肉靶向剂可以是含氨基酸的分子或肽。肌肉靶向肽可对应于优先与肌细胞中发现的蛋白质受体结合的蛋白质序列。在一些实施方案中,肌肉靶向肽包含高倾向性的疏水性氨基酸,例如缬氨酸,使得该肽优先靶向肌细胞。在一些实施方案中,肌肉靶向肽是先前未表征或公开过的。可使用数种方法中的任一种(例如噬菌体展示肽文库、单珠单化合物肽文库或位置扫描合成肽组合文库)来构思、产生、合成和/或(例如,和)衍生这些肽。示例性方法已在本领域中表征并通过引用并入(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.)。在一些实施方案中,先前已公开了肌肉靶向肽(参见,例如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.)。示例性的肌肉靶向肽包含以下组的氨基酸序列:CQAQGQLVC (SEQ ID NO:366),CSERSMNFC (SEQ ID NO:367),CPKTRRVPC (SEQ ID NO:368),WLSEAGPVVTVRALRGTGSW (SEQ ID NO:369),ASSLNIA (SEQ ID NO:363),CMQHSMRVC (SEQ ID NO:370),和DDTRHWG (SEQ ID NO:371)。在一些实施方案中,肌肉靶向肽可包含约2至25个氨基酸、约2至20个氨基酸、约2至15个氨基酸、约2至10个氨基酸或约2至5个氨基酸。肌肉靶向肽可包含天然存在的氨基酸例如半胱氨酸、丙氨酸或者非天然存在或经修饰氨基酸。非天然存在的氨基酸包括 β -氨基酸、高氨基酸(homo-amino acid)、脯氨酸衍生物、3-经取代的丙氨酸衍生物、线性核心氨基酸、N-甲基氨基酸和本领域中已知的其他氨基酸。在一些实施方案中,肌肉靶向肽可以是线性的;在另一些实施方案中,肌肉靶向肽可以是环状的,例如双环的(参见,例如Silvana,M.G.et al.Mol.Therapy,2018,26:1,132-147.)。

[0301] iii.肌肉靶向受体配体

[0302] 肌肉靶向剂可以是配体,例如与受体蛋白结合的配体。肌肉靶向配体可以是蛋白质,例如与由肌细胞表达的内化细胞表面受体结合的转铁蛋白。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂是转铁蛋白或与转铁蛋白受体结合的转铁蛋白衍生物。肌肉靶向配体可替代地是小分子,例如相对于其他细胞类型而优先靶向肌细胞的亲脂性小分子。可靶向肌细胞的一些示例性亲脂性小分子包括包含以下的化合物:胆固醇、胆固醇基、硬脂酸、棕榈酸、油酸、油烯基、亚麻烯(linolenic)、亚油酸、肉豆蔻酸、甾醇类、二氢睾酮、睾酮衍生物、甘油、烷基链、三苯甲基类和烷氧基酸。

[0303] iv.肌肉靶向适配体

[0304] 肌肉靶向剂可以是适配体,例如RNA适配体,其相对于其他细胞类型而优先靶向肌细胞。在一些实施方案中,肌肉靶向适配体是先前未表征或公开过的。可使用数种方法中的任一种(例如通过指数富集的配体的系统进化)来构思、产生、合成和/或(例如,和)衍生这些适配体。示例性方法已在本领域中表征并通过引用并入(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.)。在一些实施方案中,先前已公开了肌肉靶向适配体(参见,例如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.)。示例性的肌肉靶向适配体包括A01B RNA适配

体和RNA Apt 14。在一些实施方案中,适配体是基于核酸的适配体、寡核苷酸适配体或肽适配体。在一些实施方案中,适配体可以是约5kDa至15kDa、约5kDa至10kDa、约10kDa至15kDa、约1Da至5Da、约1kDa至3kDa或更小。

[0305] v. 其他肌肉靶向剂

[0306] 用于靶向肌细胞(例如,骨骼肌细胞)的一种策略是使用肌转运体蛋白(例如在肌膜上表达的转运体蛋白)的底物。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是对肌肉组织具有特异性的流入转运体的底物。在一些实施方案中,流入转运体对骨骼肌组织具有特异性。两类主要的转运体在骨骼肌肌膜上表达:(1)三磷酸腺苷(ATP)结合盒(ABC)超家族,其促进从骨骼肌组织流出和(2)溶质运载体(SLC)超家族,其可促进底物流入到骨骼肌中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是与转运体的ABC超家族或SLC超家族结合的底物。在一些实施方案中,与转运体的ABC或SLC超家族结合的底物是天然存在的底物。在一些实施方案中,与转运体的ABC或SLC超家族结合的底物是非天然存在的底物,例如,与转运体的ABC或SLC超家族结合的其合成衍生物。

[0307] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是本文中所述的靶向转运体的SLC超家族的任何肌肉靶向剂(例如,抗体、核酸、小分子、肽、适配体、脂质、糖部分)。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是转运体的SLC超家族的底物。SLC转运体是平衡型的,或者使用跨膜而产生的质子或钠离子梯度来驱动底物的转运。具有高骨骼肌表达的示例性SLC转运体包括但不限于SATT转运体(ASCT1;SLC1A4)、GLUT4转运体(SLC2A4)、GLUT7转运体(GLUT7;SLC2A7)、ATRC2转运体(CAT-2;SLC7A2)、LAT3转运体(KIAA0245;SLC7A6)、PHT1转运体(PTR4;SLC15A4)、OATP-J转运体(OATP5A1;SLC21A15)、OCT3转运体(EMT;SLC22A3)、OCTN2转运体(FLJ46769;SLC22A5)、ENT转运体(ENT1;SLC29A1和ENT2;SLC29A2)、PAT2转运体(SLC36A2)和SAT2转运体(KIAA1382;SLC38A2)。这些转运体可促进底物流入到骨骼肌中,为肌肉靶向提供机会。

[0308] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是平衡型核苷转运体2(equilibrative nucleoside transporter 2,ENT2)转运体的底物。相对于其他转运体,ENT2在骨骼肌中具有最高的mRNA表达之一。虽然人ENT2(hENT2)在大多数身体器官例如脑、心脏、胎盘、胸腺、胰腺、前列腺和肾中表达,但其在骨骼肌中特别丰富。人ENT2根据其浓度梯度促进其底物的吸收。ENT2通过转运广泛范围的嘌呤和嘧啶核碱基在维持核苷稳态中发挥作用。hENT2转运体对除肌苷之外的所有核苷(腺苷、鸟苷、尿苷、胸苷和胞苷)均具有低的亲和力。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂是ENT2底物。示例性的ENT2底物包括但不限于肌苷、2',3'-二脱氧肌苷和氯法拉滨(calofarabine)。在一些实施方案中,本文中提供的任何肌肉靶向剂均与分子载荷(例如,寡核苷酸载荷)缔合。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与分子载荷共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与分子载荷非共价连接。

[0309] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是有机阳离子/肉碱转运体(OCTN2)的底物,所述有机阳离子/肉碱转运体是钠离子依赖性的高亲和力肉碱转运体。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是肉碱、米屈肼(mildronate)、乙酰肉碱或与OCTN2结合的其任意衍生物。在一些实施方案中,肉碱、米屈肼、乙酰肉碱或其衍生物与分子载荷(例如,寡核苷酸载荷)共价连接。

[0310] 肌肉靶向剂可以是蛋白质,该蛋白质是以靶向肌细胞的至少一种可溶性形式存在的蛋白质。在一些实施方案中,肌肉靶向蛋白可以是血幼素(也称为排斥性导向分子C或血色素沉着症2型蛋白),所述血幼素是参与铁超负荷和稳态的蛋白。在一些实施方案中,血幼

素可以是全长或片段,或者与功能性血幼素蛋白具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的突变体。在一些实施方案中,血幼素突变体可以是可溶性片段,可缺乏N端信号传导,和/或(例如,和)缺乏C端锚定结构域。在一些实施方案中,血幼素可以以GenBank RefSeq登录号NM_001316767.1、NM_145277.4、NM_202004.3、NM_213652.3或NM_213653.3进行注释。应理解,血幼素可以是人、非人灵长类或啮齿动物来源的。

[0311] B. 分子载荷

[0312] 本公开内容的一些方面提供了分子载荷,例如,被设计为靶向DMPK RNA以调节DMPK的表达或活性的寡核苷酸。在一些实施方案中,调节DMPK的表达或活性包括降低DMPK RNA和/或(例如,和)蛋白质的水平。在一些实施方案中,DMPK RNA是疾病相关的,例如,具有疾病相关重复扩增,或者是由具有疾病相关重复扩增的等位基因编码。在一些实施方案中,DMPK RNA包含CUG重复扩增,或者编码它的等位基因包含CTG重复扩增。在一些实施方案中,本公开内容提供了与DMPK RNA互补的寡核苷酸,其可用于降低具有疾病相关重复扩增的毒性DMPK的水平,例如在患有或怀疑患有强直性肌营养不良的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导位于细胞(例如,肌细胞(例如肌管)或CNS细胞(例如神经元))的核中的靶DMPK RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的生物利用度和/或血清稳定性特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的结合亲和力特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的毒性特征。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有低补体激活和/或细胞因子诱导特性。

[0313] 在一些实施方案中,寡核苷酸与本文中所述的肌肉靶向剂连接或以其他方式缔合。在一些实施方案中,这样的寡核苷酸能够靶向肌细胞中的DMPK,例如在通过缔合的肌肉靶向剂递送至肌细胞之后通过与肌细胞中的DMPK序列特异性结合。应理解,根据本公开内容可使用多种类型的肌肉靶向剂。在一些实施方案中,寡核苷酸包含针对含有疾病相关重复扩增的DMPK等位基因之互补区。示例性的靶向DMPK RNA的寡核苷酸在本文中进一步详细描述,然而,应理解,本文中提供的示例性分子载荷并不意味着是限制性的。

[0314] i. 寡核苷酸

[0315] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸被设计为引起RNA酶H介导的DMPK mRNA的降解。应理解,在一些实施方案中,可以通过将功能序列(例如,反义链序列)从一种格式并入至另一种格式来使一种格式的寡核苷酸(例如,反义寡核苷酸)适当地适应于另一种格式(例如,siRNA寡核苷酸)。

[0316] 可用于靶向DMPK的寡核苷酸的一些实例在以下中提供:美国专利申请公开20100016215A1,其于2010年1月1日公开,标题为Compound And Method For Treating Myotonic Dystrophy;美国专利申请公开20130237585A1,其于2010年7月19日公开,Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (DMPK) Expression;美国专利申请公开20150064181A1,其于2015年3月5日公开,标题为“Antisense Conjugates For Decreasing Expression Of Dmpk”;美国专利申请公开20150238627A1,其于2015年8月27日公开,标题为“Peptide-Linked Morpholino Antisense Oligonucleotides For Treatment Of Myotonic Dystrophy”;和美国专利申请公开20160304877A1,其于2016年10

月20日公开,标题为“Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase(Dmpk)Expression”,其各自的内容以其整体并入本文。

[0317] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有针对如下所示序列之互补区,所述序列是示例人DMPK基因序列(基因ID 1760;NM_001081560.2):

```
AGGGGGGCTGGACCAAGGGGTGGGGAGAAGGGGAGGAGGCCTCGGCCGGCCGCAG
AGAGAAGTGGCCAGAGAGGCCCCAGGGGACAGCCAGGGACAGGCAGACATGCAGCC
AGGGCTCCAGGGCCTGGACAGGGGCTGCCAGGCCCTGTGACAGGAGGACCCCGAG
CCCCCGGCCCGGGGAGGGGGCCATGGTGCTGCCTGTCCAACATGTCAGCCGAGGTGC
[0318] GGCTGAGGCGGCTCCAGCAGCTGGTGTGGACCCGGGCTTCCTGGGGCTGGAGCCC
CTGCTCGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGCGCCTCCGAACTGGCCCAG
GACAAGTACGTGGCCGACTTCTTGCAGTGGGCGGAGCCCATCGTGGTGAGGCTTAA
GGAGGTCCGACTGCAGAGGGACGACTTCGAGATTCTGAAGGTGATCGGACGCGGG
GCGTTCAGCGAGGTAGCGGTAGTGAAGATGAAGCAGACGGGCCAGGTGTATGCCAT
```

[0319]

GAAGATCATGAACAAGTGGGACATGCTGAAGAGGGGCGAGGTGTCGTGCTTCCGTG
AGGAGAGGGACGTGTTGGTGAATGGGGACCGGCGGTGGATCACGCAGCTGCACTTC
GCCTTCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAGTATTACGTGGGCGGGGA
CCTGCTGACACTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATTCCGGCCGAGATGGCGCGCT
TCTACCTGGCGGAGATTGTCATGGCCATAGACTCGGTGCACCGGCTTGGCTACGTGC
ACAGGGACATCAAACCCGACAACATCCTGCTGGACCGCTGTGGCCACATCCGCCTG
GCCGACTTCGGCTCTTGCCCTCAAGCTGCGGGCAGATGGAACGGTGCGGTCGCTGGT
GGCTGTGGGACCCCCAGACTACCTGTCCCCGAGATCCTGCAGGCTGTGGGCGGTG
GGCCTGGGACAGGCAGCTACGGGCCCCGAGTGTGACTGGTGGGCGCTGGGTGTATTC
GCCTATGAAATGTTCTATGGGCAGACGCCCTTCTACGCGGATTCCACGGCGGAGAC
CTATGGCAAGATCGTCCACTACAAGGAGCACCTCTCTCTGCCGCTGGTGGACGAAG
GGGTCCCTGAGGAGGCTCGAGACTTCATTACGCGGTTGCTGTGTCCCCCGGAGACA
CGGCTGGGCCGGGGTGGAGCAGGCGACTTCCGGACACATCCCTTCTTCTTTGGCCTC
GACTGGGATGGTCTCCGGGACAGCGTGCCCCCTTTACACCGGATTTCAAGGTGC
CACCGACACATGCAACTTCGACTTGGTGGAGGACGGGCTCACTGCCATGGAGACAC
TGTCGGACATTCGGGAAGGTGCGCCGCTAGGGGTCCACCTGCCTTTTGTGGGCTACT
CCTACTCCTGCATGGCCCTCAGGGACAGTGAGGTCCCAGGCCCCACACCCATGGAA
CTGGAGGCCGAGCAGCTGCTTGAGCCACACGTGCAAGCGCCAGCCTGGAGCCCTC
GGTGTCCCCACAGGATGAAACAGCTGAAGTGGCAGTTCCAGCGGCTGTCCCTGCGG
CAGAGGCTGAGGCCGAGGTGACGCTGCGGGAGCTCCAGGAAGCCCTGGAGGAGGA
GGTGCTCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGGGAGATGGAGGCCATCCGCACGGACAAC
CAGAACTTCGCCAGTCAACTACGCGAGGCAGAGGCTCGGAACCGGGACCTAGAGG
CACACGTCCGGCAGTTGCAGGAGCGGATGGAGTTGCTGCAGGCAGAGGGAGCCAC
AGCTGTACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATG
GGGGGGCGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCAC
CGCCGCCACCTGCTGCTCCCTGCCAGGGTCCCTAGGCCTGGCCTATCGGAGGCGCTT
TCCCTGCTCCTGTTGCGCGTTGTTCTGTCTCGTGCCGCCGCCCTGGGCTGCATTGGGT
TGGTGGCCCACGCCGGCCAACTCACCGCAGTCTGGCGCCGCCAGGAGCCGCCCGC
GCTCCCTGAACCCTAGAACTGTCTTCGACTCCGGGGCCCCGTTGGAAGACTGAGTGC
CCGGGGCACGGCACAGAAGCCGCGCCACCGCCTGCCAGTTCACAACCGCTCCGAG
CGTGGGTCTCCGCCAGCTCCAGTCCTGTGATCCGGGGCCCGCCCCCTAGCGGGCCGGG
GAGGGAGGGGCCGGGTCCGCGGCCGGCGAACGGGGCTCGAAGGGTCTTGTAGCC
GGGAATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GCTGCTGCTGGGGGGATCACAGACCATTTCTTTCTTTTCGGCCAGGCTGAGGCCCTGA
CGTGGATGGGCAAACTGCAGGCCTGGGAAGGCAGCAAGCCGGGCCGTCCGTGTTCC

[0320]

ATCCTCCACGCACCCCCACCTATCGTTGGTTCGCAAAGTGCAAAGCTTTCTTGTGCA
TGACGCCCTGCTCTGGGGAGCGTCTGGCGCGATCTCTGCCTGCTTACTCGGGAAATT
TGCTTTTGCCAAACCCGCTTTTTCGGGGATCCCGCGCCCCCTCCTCACTTGCGCTGC
TCTCGGAGCCCCAGCCGGCTCCGCCCCGCTTCGGCGGTTTGGATATTTATTGACCTCG
TCCTCCGACTCGCTGACAGGCTACAGGACCCCCAACAACCCCAATCCACGTTTTGGA
TGCACTGAGACCCCGACATTCCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTAGGACCCCC
ACCCCGACCCTCGCGAATAAAAGGCCCTCCATCTGCCCAAAGCTCTGGA(SEQ ID
NO: 130).

[0321] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有针对如下所示序列之互补区,所述序列是示例小鼠DMPK基因序列(基因ID 13400;NM_001190490.1)。

[0322]

GAACTGGCCAGAGAGACCCAAGGGATAGTCAGGGACGGGCAGACATGCAGCTAGG
GTTCTGGGGCCTGGACAGGGGCAGCCAGGCCCTGTGACGGGAAGACCCCGAGCTCC
GGCCCGGGGAGGGGCCATGGTGTTCCTGCCAACATGTCAGCCGAAGTGCGGCTG
AGGCAGCTCCAGCAGCTGGTGTGACCCAGGCTTCCTGGGACTGGAGCCCCTGCT
CGACCTTCTCCTGGGCGTCCACCAGGAGCTGGGTGCCTCTCACCTAGCCCAGGACA
AGTATGTGGCCGACTTCTTGCAGTGGGTGGAGCCCATTGCAGCAAGGCTTAAGGAG
GTCCGACTGCAGAGGGATGATTTTGAGATTTTGAAGGTGATCGGGCGTGGGGCGTT
CAGCGAGGTAGCGGTGGTGAAGATGAAACAGACGGGCCAAGTGTATGCCATGAAG
ATTATGAATAAGTGGGACATGCTGAAGAGAGGCGAGGTGTCGTGCTTCCGGGAAGA
AAGGGATGTATTAGTGAAAGGGGACCGGCGCTGGATCACACAGCTGCACTTTGCCT
TCCAGGATGAGAACTACCTGTACCTGGTCATGGAATACTACGTGGGCGGGGACCTG
CTAACGCTGCTGAGCAAGTTTGGGGAGCGGATCCCCGCCGAGATGGCTCGCTTCTA
CCTGGCCGAGATTGTCATGGCCATAGACTCCGTGCACCGGCTGGGCTACGTGCACA
GGGACATCAAACCAGATAACATTCTGCTGGACCGATGTGGGCACATTTCGCTGGCA
GACTTCGGCTCCTGCCTCAAACCTGCAGCCTGATGGAATGGTGAGGTCGCTGGTGGCT
GTGGGCACCCCGGACTACCTGTCTCCTGAGATTCTGCAGGCCGTTGGTGGAGGGCCT
GGGGCAGGCAGCTACGGGCCAGAGTGTGACTGGTGGGCACTGGGCGTGTTTCGCCTA
TGAGATGTTCTATGGGCAGACCCCCTTCTACGCGGACTCCACAGCCGAGACATATG
CCAAGATTGTGCACTACAGGGAACACTTGTGCTGCCGCTGGCAGACACAGTTGTC
CCCGAGGAAGCTCAGGACCTCATTTCGTGGGCTGCTGTGTCCTGCTGAGATAAGGCT
AGGTCGAGGTGGGGCAGACTTCGAGGGTGCCACGGACACATGCAATTTTCGATGTGG
TGGAGGACCGGCTCACTGCCATGGTGAGCGGGGGCGGGGAGACGCTGTCAGACAT
GCAGGAAGACATGCCCCTTGGGGTGCGCCTGCCCTTCGTGGGCTACTCCTACTGCTG
CATGGCCTTCAGAGACAATCAGGTCCCGGACCCCAACCCTATGGAAGTAGAGGCC

[0323]

TGCAGTTGCCTGTGTGTCAGACTTGCAAGGGCTTGACTTGCAGCCCCCAGTGTCCCCAC
CGGATCAAGTGGCTGAAGAGGCTGACCTAGTGGCTGTCCCTGCCCTGTGGCTGAG
GCAGAGACCACGGTAACGCTGCAGCAGCTCCAGGAAGCCCTGGAAGAAGAGGTTT
TCACCCGGCAGAGCCTGAGCCGCGAGCTGGAGGCCATCCGGACCGCCAACCAGAAC
TTCTCCAGCCAACTACAGGAGGCCGAGGTCCGAAACCGAGACCTGGAGGCGCATGT
TCGGCAGCTACAGGAACGGATGGAGATGCTGCAGGCCCCAGGAGCCGCAGCCATC
ACGGGGGTCCCCAGTCCCCGGGCCACGGATCCACCTTCCCATCTAGATGGCCCCC
GGCCGTGGCTGTGGGCCAGTGCCCGCTGGTGGGGCCAGGCCCCATGCACCGCCGTC
ACCTGCTGCTCCCTGCCAGGATCCCTAGGCCTGGCCTATCCGAGGCGCGTTGCCTGC
TCCTGTTTCGCCGCTGCTCTGGCTGCTGCCGCCACACTGGGCTGCACTGGGTGGTGG
CCTATACCGGCGGTCTCACCCAGTCTGGTGTTCCTGGGAGCCACCTTCGCCCCCT
GAACCCCTAAGACTCCAAGCCATCTTTCATTTAGGCCTCCTAGGAAGGTCGAGCGAC
CAGGGAGCGACCCAAAGCGTCTCTGTGCCATCGCGCCCCCCCCCCCCCCCCACCG
CTCCGCTCCACACTTCTGTGAGCCTGGGTCCCCACCCAGCTCCGCTCCTGTGATCCA
GGCCTGCCACCTGGCGGCCGGGGAGGGAGGAACAGGGCTCGTGCCCAGCACCCCTG
GTTCTGTCAGAGCTGGTAGCCACCGCTGCTGCAGCAGCTGGGCATTGCGCCGACCTTG
CTTTACTCAGCCCCGACGTGGATGGGCAAACCTGCTCAGCTCATCCGATTTCACTTTT
TCACTCTCCCAGCCATCAGTTACAAGCCATAAGCATGAGCCCCCTATTTCCAGGGAC
ATCCCATTCCCATAGTGATGGATCAGCAAGACCTCTGCCAGCACACACGGAGTCTTT
GGCTTCGGACAGCCTCACTCCTGGGGGTTGCTGCAACTCCTTCCCCGTGTACACGTC
TGCACTCTAACAACGGAGCCACAGCTGCACTCCCCCTCCCCCAAAGCAGTGTGGG
TATTTATTGATCTTGTTATCTGACTCACTGACAGACTCCGGGACCCACGTTTTAGAT
GCATTGAGACTCGACATTCTCGGTATTTATTGTCTGTCCCCACCTACGACCTCCACT
CCCGACCCTTGCGAATAAAATACTTCTGGTCTGCCCTAAA (SEQ ID NO: 131).

[0324] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有针对多种物种(例如,选自人、小鼠和非人物种)的DMPK基因序列之互补区。

[0325] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有针对DMPK的突变体形式(例如,如在以下中报道的突变体形式)之互补区:Botta A.et al.“The CTG repeat expansion size correlates with the splicing defects observed in muscles from myotonic dystrophy type 1 patients.”J Med Genet.2008 Oct;45(10):639-46.;和Machuca-Tzili L.et al.“Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies:a review.”Muscle Nerve.2005 Jul;32(1):1-18.;其各自的内容通过引用以其整体并入本文。

[0326] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸是靶向DMPK的反义寡核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸靶向是靶向DMPK的任一种反义寡核苷酸(例如,间隔聚体),如美国专利申请公开US20160304877A1中所述,其于2016年10月20日公开,标题为“Compounds And Methods For Modulation Of Dystrophia Myotonica-Protein Kinase (DMPK) Expression,”其通过引用并入本文)。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸靶向如

Genbank登录No.NM_001081560.2中所示的DMPK基因序列(SEQ ID NO:130)或如Genbank登录No.NG_009784.1中所示的DMPK基因序列(SEQ ID NO:395)的区域。

[0327] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含含有针对靶区域之互补区的核苷酸序列,所述靶区域是SEQ ID NO:130中的至少10个连续核苷酸(例如,至少10个、至少12个、至少14个、至少16个、至少18个、至少20个或更多个连续核苷酸)。

[0328] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含间隔聚体基序。“间隔聚体”意指这样的嵌合反义化合物:其中具有多个支持RNA酶H切割的核苷的内部区域位于具有一个或更多个核苷的外部区域之间,其中包含内部区域的核苷在化学上不同于包含外部区域的一个或更多个核苷。内部区域可被称为“间隔区段”并且外部区域可被称为“翼区段”。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含一个或更多个经修饰核苷,和/或者(例如,和)一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,核苷间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含完整的硫代磷酸酯主链。在一些实施方案中,寡核苷酸是具有cET末端的DNA间隔聚体(例如,3-10-3;cET-DNA-cET)。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含一个或更多个6'-(S)-CH₃生物环核苷、一个或更多个β-D-2'-脱氧核糖核苷酸和/或者(例如,和)一个或更多个5-甲基胞嘧啶核苷。

[0329] a.寡核苷酸大小/序列

[0330] 寡核苷酸可具有多种不同的长度,例如,取决于格式。在一些实施方案中,寡核苷酸的长度为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、75或更多个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸的长度为8至50个核苷酸、长度为8至40个核苷酸、长度为8至30个核苷酸、长度为10至15个核苷酸、长度为10至20个核苷酸、长度为15至25个核苷酸、长度为21至23个核苷酸、长度为15至20个核苷酸、长度为20至25个核苷酸,等。

[0331] 在一些实施方案中,用于本公开内容的目的的寡核苷酸的核酸序列在其可与靶核酸特异性杂交时与靶核酸“互补”。在一些实施方案中,与靶核酸(例如,mRNA或前体mRNA分子)杂交的寡核苷酸导致对靶标的活性或表达的调节(例如,mRNA翻译降低、前体mRNA剪接改变、外显子跳读、靶mRNA降解等)。在一些实施方案中,寡核苷酸的核酸序列与其靶核酸具有足够程度的互补性,使得其在期望避免非特异性结合的条件下,例如在生理条件下,不杂交非靶序列。因此,在一些实施方案中,寡核苷酸可与靶核酸的连续核苷酸至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%互补。在一些实施方案中,互补的核苷酸序列不需要与其靶标的核苷酸序列100%互补来与靶核酸可特异性杂交或对靶核酸具有特异性。在某些实施方案中,寡核苷酸包含一个或更多个相对于靶核酸错配的核碱基。在某些实施方案中,与靶标相关的活性因这样的错配而降低,但与非靶标相关的活性以更大的量降低(即,对靶核酸的选择性提高并且脱靶效应降低)。

[0332] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含针对靶核酸之互补区,所述互补区的长度为8至15个、8至30个、8至40个、或10至50个、或5至50个、15至20个、20至25个、或5至40个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸针对靶核酸之互补区的长度为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或50个核苷酸。在一些实施方案中,互补区与靶核酸的至

少8个连续核苷酸互补。在一些实施方案中,与靶核酸的连续核苷酸部分相比,寡核苷酸可包含1、2或3个碱基错配。在一些实施方案中,寡核苷酸在15个碱基上可具有至多3个错配,或在10个碱基上可具有至多2个错配。

[0333] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:231至362中任一者的序列的至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:231至362中任一者的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:231至362中任一者的至少12个或至少15个连续核苷酸共享至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或97%序列同一性的序列。

[0334] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含针对SEQ ID NO:160至230中的任一者中所示的核苷酸序列之互补区。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:160至230中的任一者中所示的核苷酸序列互补的至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸(例如,连续核苷酸)。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:160至230中任一者的至少12个或至少15个连续核苷酸至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%互补的序列。

[0335] 在一些实施方案中,寡核苷酸与本文中提供的任一种寡核苷酸(例如,表8、表9和表10中列出的寡核苷酸)的靶序列互补(例如,至少85%、至少90%、至少95%或100%互补)。在一些实施方案中,这样的靶序列与表8、表9或表10中列出的寡核苷酸100%互补。

[0336] 在一些实施方案中,应理解,C5位置处的核碱基尿嘧啶的甲基化形成胸腺嘧啶。因此,在一些实施方案中,具有C5甲基化尿嘧啶(或5-甲基-尿嘧啶)的核苷酸或核苷可等效地鉴定为胸腺嘧啶核苷酸或核苷。

[0337] 在一些实施方案中,本文中提供的任一种寡核苷酸(例如,表8、表9和表10中列出的寡核苷酸)中的任一个或更多个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地是尿嘧啶碱基(U),和/或者U中的任一个或更多个可独立且任选地是T。

[0338] b.寡核苷酸修饰:

[0339] 本文中所述的寡核苷酸可被修饰,例如,包含经修饰糖部分、经修饰核苷间键联、经修饰核苷酸或核苷、和/或(例如,和)其组合。另外,在一些实施方案中,寡核苷酸可表现出以下特性中的一种或更多种:不介导选择性剪接;不是免疫刺激性的;具有核酸酶抗性;与未经修饰寡核苷酸相比具有提高的细胞摄取;对细胞或哺乳动物无毒;提高了在细胞中内部排出内体;使TLR刺激最小化;或避免模式识别受体。本文中所述的寡核苷酸的任何经修饰的化学组成(chemistry)或形式可彼此组合。例如,同一寡核苷酸内可包含一种、两种、三种、四种、五种或更多种不同类型的修饰。

[0340] 在一些实施方案中,可使用某些核苷酸或核苷修饰,所述核苷酸或核苷修饰使并入它们的寡核苷酸比天然寡脱氧核苷酸或寡核糖核苷酸分子对核酸酶消化更具抗性;这些经修饰寡核苷酸比未经修饰寡核苷酸完整存活更长的时间。经修饰寡核苷酸的一些具体实例包括含有经修饰的主链(backbone)的那些,例如经修饰核苷间键联,例如硫代磷酸酯键联、磷酸三酯键联、甲基磷酸酯键联、短链烷基键联或环烷基糖间键联或短链杂原子键联或杂环糖间键联。因此,本公开内容的寡核苷酸可例如通过并入修饰例如核苷酸或核苷修饰而稳定化以抵抗溶核降解。

[0341] 在一些实施方案中,寡核苷酸的长度可以是多至50个或多至100个核苷酸,其中寡

核苷酸的2至10个、2至15个、2至16个、2至17个、2至18个、2至19个、2至20个、2至25个、2至30个、2至40个、2至45个或更多个核苷酸或核苷是经修饰核苷酸/核苷。寡核苷酸的长度可以是8至30个核苷酸,其中寡核苷酸的2至10个、2至15个、2至16个、2至17个、2至18个、2至19个、2至20个、2至25个、2至30个核苷酸或核苷是经修饰核苷酸/核苷。寡核苷酸的长度可以是8至15个核苷酸,其中寡核苷酸的2至4个、2至5个、2至6个、2至7个、2至8个、2至9个、2至10个、2至11个、2至12个、2至13个、2至14个核苷酸或核苷是经修饰核苷酸/核苷。任选地,寡核苷酸可具有除1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个经修饰核苷酸/核苷之外的每个核苷酸或核苷。寡核苷酸修饰在本文中进一步描述。

[0342] c. 经修饰核苷

[0343] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含在糖的2' 位置处经修饰的至少一个核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个2' -经修饰核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸中的所有核苷均是2' -经修饰核苷。

[0344] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含一个或更多个非双环2' -经修饰核苷,例如2' -脱氧、2' -氟(2' -F)、2' -O-甲基(2' -O-Me)、2' -O-甲氧基乙基(2' -MOE)、2' -O-氨基丙基(2' -O-AP)、2' -O-二甲基氨基乙基(2' -O-DMAOE)、2' -O-二甲基氨基丙基(2' -O-DMAP)、2' -O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2' -O-DMAEOE)或2' -O-N-甲基乙酰胺基(2' -O-NMA)修饰的核苷。

[0345] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含一个或更多个2' -4' 双环核苷,其中核糖环包含连接环中的两个原子的桥联部分,例如,通过亚甲基(LNA)桥联、亚乙基(ENA)桥联或(S)-约束性乙基(cEt)桥联将2' -O原子与4' -C原子连接。LNA的一些实例描述于国际专利申请公开W0/2008/043753中,其于2008年4月17日公开,并且标题为“RNA Antagonist Compounds For The Modulation Of PCSK9”,其内容通过引用以其整体并入本文。ENA的一些实例在以下中提供:国际专利公开No.WO 2005/042777,其于2005年5月12日公开,并且标题为“APP/ENA Antisense”;Morita et al.,Nucleic Acid Res.,增刊1:241-242,2001;Surono et al.,Hum.Gene Ther.,15:749-757,2004;Koizumi,Curr.Opin.Mol.Ther.,8:144-149,2006以及Horie et al.,Nucleic Acids Symp.Ser(Oxf),49:171-172,2005;其公开内容通过引用以其整体并入本文。cEt的一些实例在以下中提供:美国专利7,101,993、7,399,845和7,569,686,其各自通过引用以其整体并入本文。

[0346] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含在以下美国专利或专利申请公开之一中公开的经修饰核苷:美国专利7,399,845,其于2008年7月15日授权,并且标题为“6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利7,741,457,其于2010年6月22日授权,并且标题为“6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利8,022,193,其于2011年9月20日授权,并且标题为“6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利7,569,686,其于2009年8月4日授权,并且标题为“Compounds And Methods For Synthesis Of Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利7,335,765,其于2008年2月26日授权,并且标题为“Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues”;美国专利7,314,923,其于2008年1月1日授权,并且标题为“Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues”;美国专利7,816,333,其于2010年10月19日授权,并且标题为“Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same”和美国公开号2011/

0009471, 现在为美国专利8,957,201, 其于2015年2月17日授权, 并且标题为“Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same”, 其各自的全部内容出于所有目的通过引用并入本文。

[0347] 在一些实施方案中, 寡核苷酸包含至少一个经修饰核苷, 其导致所述寡核苷酸与不具有至少一个经修饰核苷的寡核苷酸相比, T_m 提高1°C、2°C、3°C、4°C或5°C。寡核苷酸可具有多个经修饰核苷, 其导致所述寡核苷酸与不具有经修饰核苷的寡核苷酸相比, T_m 总体提高2°C、3°C、4°C、5°C、6°C、7°C、8°C、9°C、10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°C或更高。

[0348] 寡核苷酸可包含不同种类的核苷的混合物。例如, 寡核苷酸可包含2'-脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-氟修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含2'-氟修饰核苷和2'-O-甲基修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含桥接的核苷和2'-氟或2'-O-甲基修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含非双环2'-经修饰核苷(例如, 2'-O-MOE)和2'-4'双环核苷(例如, LNA、ENA、cEt)的混合物。寡核苷酸可包含2'-氟修饰核苷和2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含2'-4'双环核苷和2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含非双环2'-经修饰核苷(例如, 2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me)和2'-4'双环核苷(例如, LNA、ENA、cEt)的混合物。

[0349] 寡核苷酸可包含不同种类的替代核苷。例如, 寡核苷酸可包含替代的2'-脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-氟修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-O-Me修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的2'-氟修饰核苷和2'-O-Me修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的桥联核苷和2'-氟或2'-O-甲基修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的非双环2'-经修饰核苷(例如, 2'-O-MOE)和2'-4'双环核苷(例如, LNA、ENA、cEt)。寡核苷酸可包含替代的2'-4'双环核苷和2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的非双环2'-经修饰核苷(例如, 2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me)和2'-4'双环核苷(例如, LNA、ENA、cEt)。

[0350] 在一些实施方案中, 本文中所述的寡核苷酸包含5'-乙烯基磷酸酯修饰、一个或更多个无碱基残基和/或者一个或更多个倒置无碱基残基。

[0351] d. 核苷间键联/主链

[0352] 在一些实施方案中, 寡核苷酸可包含硫代磷酸酯键联或其他经修饰核苷间键联。在一些实施方案中, 寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中, 寡核苷酸在至少两个核苷之间包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中, 寡核苷酸在所有核苷之间均包含硫代磷酸酯核苷间键联。例如, 在一些实施方案中, 寡核苷酸在核苷酸序列的5'或3'末端的第一、第二和/或(例如, 和)第三核苷间键联处包含经修饰核苷间键联。

[0353] 可使用的含磷的键联包括但不限于: 硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基磷酸酯和包含3'亚烷基磷酸酯的其他烷基磷酸酯、以及手性磷酸酯、次磷酸酯、包含3'-氨基磷酰胺酯和氨基烷基磷酰胺酯的磷酰胺酯、硫羰基磷酰胺酯、硫羰基烷基磷酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯和具有正常3'-5'键联的硼烷磷酸酯、这些的2'-5'连接类似物、以及其中相邻的核苷单元对连接在3'-5'到5'-3'或2'-5'到5'-2'的具有相反极性的那些; 参见美国专利no. 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;和5,625,050。

[0354] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有杂原子主链,例如亚甲基(甲基亚氨基)或MMI主链;酰胺主链(参见De Mesmaeker et al.Ace.Chem.Res.1995,28:366-374);吗啉代主链(参见Summerton and Weller,美国专利No.5,034,506);或肽核酸(peptide nucleic acid,PNA)主链(其中寡核苷酸的磷酸二酯主链被聚酰胺主链替代,核苷酸与聚酰胺主链的氮杂氮原子直接或间接结合,参见Nielsen et al.,Science 1991,254,1497)。

[0355] e. 立体特异性寡核苷酸

[0356] 在一些实施方案中,寡核苷酸的核苷酸间磷原子是手性的,并且基于手性磷原子的构型调节寡核苷酸的特性。在一些实施方案中,可使用适当方法来以立体控制的方式合成P-手性寡核苷酸类似物(例如,如Oka N,WadaT,Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms.Chem Soc Rev.2011 Dec;40(12):5829-43.中所述)。在一些实施方案中,提供了含硫代磷酸酯的寡核苷酸,其包含通过基本上所有的Sp或基本上所有的Rp硫代磷酸酯糖间键连接在一起的核苷单元。在一些实施方案中,具有基本上手性纯糖间键联的这样的硫代磷酸酯寡核苷酸通过酶或化学合成制备,如例如于1996年12月12日授权的美国专利5,587,261中所述,其内容通过引用以其整体并入本文。在一些实施方案中,手性控制的寡核苷酸提供了靶核酸的选择性切割模式。例如,在一些实施方案中,手性控制的寡核苷酸在核酸的互补序列内提供了单个位点切割,如例如美国专利申请公开20170037399 A1中所述,其于2017年2月2日公开,标题为“CHIRAL DESIGN”,其内容通过引用以其整体并入本文。

[0357] h. 间隔聚体

[0358] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸是间隔聚体。间隔聚体寡核苷酸通常具有式5'-X-Y-Z-3',其中X和Z作为围绕间隔区Y的侧翼区。在一些实施方案中,式5'-X-Y-Z-3'的侧翼区X也称为X区、侧翼序列X、5'翼区X或5'翼区段。在一些实施方案中,式5'-X-Y-Z-3'的侧翼区Z也称为Z区、侧翼序列Z、3'翼区Z或3'翼区段。在一些实施方案中,式5'-X-Y-Z-3'的间隔区Y也称为Y区、Y区段或间隔区段Y。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷,并且5'翼区X或3'翼区Z均不包含任何2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔聚体寡核苷酸包含针对表8中提供的靶序列(例如,SEQ ID NO:160至230中任一者)的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷)之互补区和/或者包含表8、9或10中的反义序列的核苷酸序列或者表9或10中提供的ASO结构的核苷酸序列(例如,SEQ ID NO:231至362中任一者)的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷),其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。

[0359] 在一些实施方案中,Y区是核苷酸的连续延伸,例如,6个或更多个DNA核苷酸的区域,其能够募集RNA酶(例如RNA酶H)。在一些实施方案中,间隔聚体与靶核酸结合,在该点处RNA酶被募集并随后可切割靶核酸。在一些实施方案中,Y区5'和3'二者的侧翼是包含高亲和力和经修饰核苷,例如1至6个高亲和力和经修饰核苷的X和Z区。高亲和力和经修饰核苷的一些实例包括但不限于2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE、2'-O-Me、2'-F)或2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt、ENA)。在一些实施方案中,侧翼序列X和Z的长度可以是1至20个核苷酸、1至8个核

苷酸或1至5个核苷酸。侧翼序列X和Z可具有相似长度或不同长度。在一些实施方案中,间隔区Y可以是长度为5至20个核苷酸、5至15个核苷酸、5至12个核苷酸或6至10个核苷酸的核苷酸序列。

[0360] 在一些实施方案中,除DNA核苷之外,间隔聚体寡核苷酸的间隔区可包含已知可被接受用于有效的RNA酶H作用的经修饰核苷,例如C4'-取代的核苷、无环核苷和阿拉伯糖(arabino)构型的核苷。在一些实施方案中,间隔区包含一个或更多个未经修饰的核苷间。在一些实施方案中,一个或两个侧翼区在至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个核苷酸之间各自独立地包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联(例如,硫代磷酸酯核苷间键联或其他键联)。在一些实施方案中,间隔区和两个侧翼区在至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个核苷酸之间各自独立地包含经修饰核苷间键联(例如,硫代磷酸酯核苷间键联或其他键联)。

[0361] 可使用适当的方法产生间隔聚体。教导制备间隔聚体的代表性美国专利、美国专利出版物和PCT出版物包括但不限于:美国专利No.5,013,830;5,149,797;5,220,007;5,256,775;

[0362] 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;美国专利公开No.US20050074801,US20090221685;US20090286969,US20100197762,和US20110112170;PCT公开No.W02004069991;W02005023825;W02008049085和W02009090182;以及EP专利No.EP2,149,605,其各自通过引用以其整体并入本文。

[0363] 在一些实施方案中,间隔聚体的长度为10至40个核苷。例如,间隔聚体的长度可以是10至40个、10至35个、10至30个、10至25个、10至20个、10至15个、15至40个、15至35个、15至30个、15至25个、15至20个、20至40个、20至35个、20至30个、20至25个、25至40个、25至35个、25至30个、30至40个、30至35个或35至40个核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的长度是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或40个核苷。

[0364] 在一些实施方案中,间隔聚体中的间隔区Y的长度为5至20个核苷。例如,间隔区Y的长度可以是5至20个、5至15个、5至10个、10至20个、10至15个或15至20个核苷。在一些实施方案中,间隔区Y的长度是5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的所有核苷均是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的一个或更多个核苷是经修饰核苷(例如,2' 经修饰核苷,例如本文中所述的那些)。在一些实施方案中,间隔区Y中的一个或更多个胞嘧啶任选地是5-甲基-胞嘧啶。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个胞嘧啶是5-甲基-胞嘧啶。

[0365] 在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)和间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)独立地为1至20个核苷长。例如,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)和间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)可独立地为1至20个、1至15个、1至10个、1至7个、1至5个、1至3个、1至2个、2至5个、2至7个、3至5个、3至7个、5至20个、5至15个、5

至10个、10至20个、10至15个或15至20个核苷长。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷长。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)的长度相同。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)的长度不同。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)比间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)长。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)比间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)短。

[0366] 在一些实施方案中,间隔聚体包含以下的5'-X-Y-Z-3': 5-10-5, 4-12-4, 3-14-3, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 4-6-4, 3-6-3, 2-6-2, 4-7-4, 3-7-3, 2-7-2, 4-8-4, 3-8-3, 2-8-2, 1-8-1, 2-9-2, 1-9-1, 2-10-2, 1-10-1, 1-12-1, 1-16-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-14-3, 3-14-1, 2-14-2, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-3, 3-13-2, 1-12-5, 5-12-1, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 1-11-6, 6-11-1, 2-11-5, 5-11-2, 3-11-4, 4-11-3, 1-17-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-15-3, 3-15-1, 2-15-2, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-3, 3-14-2, 1-13-5, 5-13-1, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 1-12-6, 6-12-1, 2-12-5, 5-12-2, 3-12-4, 4-12-3, 1-11-7, 7-11-1, 2-11-6, 6-11-2, 3-11-5, 5-11-3, 4-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 1-16-3, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 5-14-1, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 3-16-1, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-19-1, 1-18-2, 2-18-1, 1-17-3, 3-17-1, 2-17-2, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-3, 3-16-2, 1-15-5, 2-15-4, 4-15-2, 3-15-3, 1-14-6, 6-14-1, 2-14-5, 5-14-2, 3-14-4, 4-14-3, 1-13-7, 7-13-1, 2-13-6, 6-13-2, 3-13-5, 5-13-3, 4-13-4, 1-12-8, 8-12-1, 2-12-7, 7-12-2, 3-12-6, 6-12-3, 4-12-5, 5-12-4, 2-11-8, 8-11-2, 3-11-7, 7-11-3, 4-11-6, 6-11-4, 5-11-5, 1-20-1, 1-19-2, 2-19-1, 1-18-3, 3-18-1, 2-18-2, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-3, 3-17-2, 1-16-5, 2-16-4, 4-16-2, 3-16-3, 1-15-6, 6-15-1, 2-15-5, 5-15-2, 3-15-4, 4-15-3, 1-14-7, 7-14-1, 2-14-6, 6-14-2, 3-14-5, 5-14-3, 4-14-4, 1-13-8, 8-13-1, 2-13-7, 7-13-2, 3-13-6, 6-13-3, 4-13-5, 5-13-4, 2-12-8, 8-12-2, 3-12-7, 7-12-3, 4-12-6, 6-12-4, 5-12-5, 3-11-8, 8-11-3, 4-11-7, 7-11-4, 5-11-6, 6-11-5, 1-21-1, 1-20-2, 2-20-1, 1-20-3, 3-19-1, 2-19-2, 1-18-4, 4-18-1, 2-18-3, 3-18-2, 1-17-5, 2-17-4, 4-17-2, 3-17-3, 1-16-6, 6-16-1, 2-16-5, 5-16-2, 3-16-4, 4-16-3, 1-15-7, 7-15-1, 2-15-6, 6-15-2, 3-15-5, 5-15-3, 4-15-4, 1-14-8, 8-14-1, 2-14-7, 7-14-2, 3-14-6, 6-14-3, 4-14-5, 5-14-4, 2-13-8, 8-13-2, 3-13-7, 7-13-3, 4-13-6, 6-13-4, 5-13-5, 1-12-10, 10-12-1, 2-12-9, 9-12-2, 3-12-8, 8-12-3, 4-12-7, 7-12-4, 5-12-6, 6-12-5, 4-11-8, 8-11-4, 5-11-7, 7-11-5, 6-11-6, 1-22-1, 1-21-2, 2-21-1, 1-21-3, 3-20-1, 2-20-2, 1-19-4, 4-19-1, 2-19-3, 3-19-2, 1-18-5, 2-18-4, 4-18-2, 3-18-3, 1-17-6, 6-17-1, 2-17-5, 5-17-2, 3-17-4, 4-17-3, 1-16-7, 7-16-1, 2-16-6, 6-16-2, 3-16-5, 5-16-3, 4-16-4, 1-15-8, 8-15-1, 2-15-7, 7-15-2, 3-15-6, 6-15-3, 4-15-5, 5-15-4, 2-14-8, 8-14-2, 3-14-7, 7-14-3, 4-14-6, 6-14-4, 5-14-5, 3-13-8, 8-13-3, 4-13-7, 7-

13-4,5-13-6,6-13-5,4-12-8,8-12-4,5-12-7,7-12-5,6-12-6,5-11-8,8-11-5,6-11-7,或7-11-6。这些数字表示5'-X-Y-Z-3'间隔聚体中X、Y和Z区中的核苷数目。

[0367] 在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)或间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的一个或更多个核苷是经修饰核苷(例如,高亲和力经修饰核苷)。在一些实施方案中,经修饰核苷(例如,高亲和力经修饰核苷)是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷或非双环2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,高亲和力经修饰核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双环2'-经修饰核苷(例如2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)或2'-O-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA))。

[0368] 在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)中的一个或更多个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的一个或更多个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)中的一个或更多个核苷是高亲和力经修饰核苷,并且间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的一个或更多个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷,并且间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷。

[0369] 在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)包含与间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)相同的高亲和力核苷。例如,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)可包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)。在另一个实例中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)可包含一个或更多个2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)。

[0370] 在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为1至7个(例如,1、2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X和Z中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),并且Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为1至7个(例如,1、2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X和Z中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)包含与间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)不同的高亲和力核苷。例如,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)可包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),并且间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)可包含一个或更多个2'-4'

双环核苷(例如,LNA或cEt)。在另一个实例中,间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)可包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),并且间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)可包含一个或更多个2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)。

[0371] 在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为1至7个(例如,1、2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),Z中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为1至7个(例如,1、2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),Z中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),并且Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。

[0372] 在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)和一个或更多个2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)。在一些实施方案中,间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)和一个或更多个2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)二者均包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)和一个或更多个2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)。

[0373] 在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中Z中第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中第1、2、3、4、5、6或7位中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)和Z中第1、2、3、4、5、6或7位(最5'的位置是第1位)中的至少一个位置但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。

[0374] 在间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和/或间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中具有非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)和2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)的混合物的间隔聚体构型的一些非限制性实例包括: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-BBAAA; KKK- (D) n-KKAAA; LLL- (D) n-LLAAA; BBB- (D) n-BBBEEE; KKK- (D) n-KKKEEE; LLL- (D) n-LLLEEE; BBB- (D) n-BBAAA; KKK- (D) n-KKAAA; LLL- (D) n-LLAAA; 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; AAB- (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; AAB- (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; AKKAACK- (D) n-KK; ALLAALLL- (D) n-LL; EBBEEBB- (D) n-BB; EKKEEKK- (D) n-KK; ELLEELL- (D) n-LL; ABBAABB- (D) n-BB; AKKAACK- (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; EEK- (D) n-EEEEEEEEE; EEK- (D) n-EEEEEEEEE; EK- (D) n-EEEEEEEEE; EK- (D) n-EEEKEK; 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-KEEKEE; EK- (D) n-EEKEKE; EK- (D) n-EEEKEKE; 和 EK- (D) n-EEEEKEK; 其中“a”代表2'-经修饰核苷;“b”代表2'-4' 双环核苷;“k”代表约束性乙基核苷(cEt);“l”代表LNA核苷;以及“e”代表2'-MOE修饰的核糖核苷;“d”代表2'-脱氧核糖核苷;“n”代表间隔区段(5'-x-y-z-3' 构型中的y)的长度并且是1至20的整数。

[0375] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种间隔聚体在x、y和z区的每一个中包含一个或更多个经修饰核苷键联(例如,硫代磷酸酯键联)。在一些实施方案中,本文中所述的任一种间隔聚体中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,x、y和z区各自独立地包含硫代磷酸酯键联和磷酸二酯键联的混合物。在一些实施方案中,间隔区y中的每

个核苷间键联是硫代磷酸酯键联,5'翼区X包含硫代磷酸酯键联和磷酸二酯键联的混合物,并且3'翼区Z包含硫代磷酸酯键联和磷酸二酯键联的混合物。

[0376] 表8、表9和表10中提供了DMPK靶向寡核苷酸的一些非限制性实例。

[0377] 表8.DMPK靶向寡核苷酸 (ASO) 的一些实例

[0378]

SEQ ID NO:	靶序列 † (5' 至 3')	SEQ ID NO:	反义序列 † (5' 至 3')
160	CGGGCCAGGTGTATGCCATG	231	CATGGCATAACCTGGCCCG
161	AGGAGAGGGACGTGTTGGTG	232	CACCAACACGTCCCTCTCCT
162	GGAGAGGGACGTGTTGGTGA	233	TCACCAACACGTCCCTCTCC
163	AGGGACGTGTTGGTGAATGG	234	CCATTACCAACACGTCCCT
164	CAGGATGAGAACTACCTGTA	235	TACAGGTAGTTCTCATCCTG
165	AGGATGAGAACTACCTGTAC	236	GTACAGGTAGTTCTCATCCT
166	GAGAACTACCTGTACCTGGT	237	ACCAGGTACAGGTAGTTCTC
167	AGAACTACCTGTACCTGGTC	238	GACCAGGTACAGGTAGTTCT
168	GAACCTACCTGTACCTGGTCA	239	TGACCAGGTACAGGTAGTTC
169	CACTGCTGAGCAAGTTTGGG	240	CCCAAAGTTGCTCAGCAGTG
170	CTACCTGGCGGAGATTGTCA	241	TGACAATCTCCGCCAGGTAG
171	TACCTGGCGGAGATTGTTCAT	242	ATGACAATCTCCGCCAGGTA
172	ACCTGGCGGAGATTGTTCATG	243	CATGACAATCTCCGCCAGGT
173	CCTGGCGGAGATTGTTCATGG	244	CCATGACAATCTCCGCCAGG
174	CTGGCGGAGATTGTTCATGGC	245	GCCATGACAATCTCCGCCAG
175	TGGCGGAGATTGTTCATGGCC	246	GGCCATGACAATCTCCGCCA
176	GGCGGAGATTGTTCATGGCCA	247	TGGCCATGACAATCTCCGCC
177	CCGGCTTGGCTACGTGCACA	248	TGTGCACGTAGCCAAGCCGG
178	CGGCTTGGCTACGTGCACAG	249	CTGTGCACGTAGCCAAGCCG
179	CATCCTGCTGGACCGCTGTG	250	CACAGCGGTCCAGCAGGATG
180	CTGCTGGACCGCTGTGGCCA	251	TGGCCACAGCGGTCCAGCAG
181	GAGTGTGACTGGTGGGCGCT	252	AGCGCCCACCAGTCACACTC
182	AGTGTGACTGGTGGGCGCTG	253	CAGCGCCCACCAGTCACACT
183	GTGTGACTGGTGGGCGCTGG	254	CCAGCGCCCACCAGTCACAC
184	TGGGCGCTGGGTGTATTGCGC	255	GCGAATACACCCAGCGCCCA
185	GGGCGCTGGGTGTATTGCGC	256	GGCGAATACACCCAGCGCCC
186	GGCAAGATCGTCCACTACAA	257	TTGTAGTGGACGATCTTGCC
187	GCAAGATCGTCCACTACAAG	258	CTTGTAGTGGACGATCTTGC
188	CAAGATCGTCCACTACAAGG	259	CCTTGTAGTGGACGATCTTG

[0379]

189	CTCGACTGGGATGGTCTCCG	260	CGGAGACCATCCCAGTCGAG
190	GGAGACACTGTCGGACATTC	261	GAATGTCCGACAGTGTCTCC
191	GAGACACTGTCGGACATTCG	262	CGAATGTCCGACAGTGTCTC
192	GACAGTGAGGTCCCAGGCC	263	GGGCCTGGGACCTCACTGTC
193	CTGCTTGAGCCACACGTGCA	264	TGCACGTGTGGCTCAAGCAG
194	GGATGAAACAGCTGAAGTGG	265	CCACTTCAGCTGTTTCATCC
195	GGCTGAGGCCGAGGTGACGC	266	GCGTCACCTCGGCCTCAGCC
196	GCTGAGGCCGAGGTGACGCT	267	AGCGTCACCTCGGCCTCAGC
197	AACTTCGCCAGTCAACTACG	268	CGTAGTTGACTGGCGAAGTT
198	CAGTCCTGTGATCCGGGCCC	269	GGGCCCCGGATCACAGGACTG
199	GCCCTGACGTGGATGGGCAA	270	TTGCCCATCCACGTCAGGGC
200	GGCAGCAAGCCGGGCCGTCC	271	GGACGGCCCCGGCTTGCTGCC
201	GCCGGGCCGTCCGTGTTCCA	272	TGGAACACGGACGGCCCGGC
202	CCCAATCCACGTTTTTGATG	273	CATCCAAAACGTGGATTGGG
203	CCAATCCACGTTTTTGATGC	274	GCATCCAAAACGTGGATTGG
204	GCTTGAGCCACACGTG	275	CACGTGTGGCTCAAGC
205	CTTGAGCCACACGTGC	276	GCACGTGTGGCTCAAG
206	TGCTTGAGCCACACGT	277	ACGTGTGGCTCAAGCA
207	CTGCTGAGCAAGTTTG	278	CAAACCTGCTCAGCAG
208	ATGAAACAGCTGAAGT	279	ACTTCAGCTGTTTCAT
209	CTTCGCCAGTCAACTA	280	TAGTTGACTGGCGAAG
210	GTCCTGTGATCCGGGC	281	GCCCGGATCACAGGAC
211	GGCGGAGATTGTCATG	282	CATGACAATCTCCGCC
212	CTGAGGCCGAGGTGAC	283	GTCACCTCGGCCTCAG
213	AACTACCTGTACCTGG	284	CCAGGTACAGGTAGTT
214	AGAGGGACGTGTTGGT	285	ACCAACACGTCCCTCT
215	TGCTGAGCAAGTTTG	286	CCAACTTGCTCAGCA
216	TGAAACAGCTGAAGTG	287	CACTTCAGCTGTTTCA
217	TTCGCCAGTCAACTAC	288	GTAGTTGACTGGCGAA
218	TCCGTGTGATCCGGGCC	289	GGCCCGGATCACAGGA
219	ACTGCTGAGCAAGTTT	290	AAACTTGCTCAGCAGT
220	GATGAAACAGCTGAAG	291	CTTCAGCTGTTTCATC
221	ACTTCGCCAGTCAACT	292	AGTTGACTGGCGAAGT
222	AGTCCTGTGATCCGGG	293	CCCGGATCACAGGACT
223	GCGGAGATTGTCATGG	294	CCATGACAATCTCCGC
224	TGGCGGAGATTGTCAT	295	ATGACAATCTCCGCCA
225	TGAGGCCGAGGTGACG	296	CGTCACCTCGGCCTCA
226	GCTGAGGCCGAGGTGA	297	TCACCTCGGCCTCAGC
227	ACTACCTGTACCTGGT	298	ACCAGGTACAGGTAGT
228	GAACCTGTACCTG	299	CAGGTACAGGTAGTTC
229	GAGGGACGTGTTGGTG	300	CACCAACACGTCCCTC
230	GAGAGGGACGTGTTGG	301	CCAACACGTCCCTCTC

[0380] †表8中提供的任一种寡核苷酸和/或靶序列中的每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代。表8中列出的靶序列包含T,但考虑了DMPK靶向寡核苷酸与RNA和/或DNA的结合。

[0381] 表9.DMPK靶向寡核苷酸(ASO)的一些实例

[0382]

ASO 名称	SEQ ID NO:	反义序列 [†] (5'至3')	ASO 结构 [†] (5'至3')
ASO1	302	CAUGGCATACCTGGCCCCG	oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA* dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG
ASO2	303	CACCAACACGTCCCTCUCCU	oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT *dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU
ASO3	304	UCACCAACACGTCCUCUCC	oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG *dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC
ASO4	305	CCAUUCACCAACACGUCCU	oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA* dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU

[0383]

ASO5	306	UACAGGTAGTTCTCAUCCUG	oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT* dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG
ASO6	307	GUACAGGTAGTTCTCAUCCU	oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT* dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU
ASO7	308	ACCAGGTACAGGTAGUUCUC	oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG* dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC
ASO8	309	GACCAGGTACAGGTAGUUCU	oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA* dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU
ASO9	310	UGACCAGGTACAGGTAGUUC	oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC* dA*dG*dG*dT*oA*oG*oU*oU*oC
ASO10	311	CCCAAAGTCTGCTCAGCAGUG	oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC* dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG
ASO11	312	UGACAATCTCCGCCAGGUAG	oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC* *dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG
ASO12	313	AUGACAATCTCCGCCAGGUA	oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC* xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA
ASO13	314	CAUGACAATCTCCGCCAGGU	oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT* dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU
ASO14	315	CCAUGACAATCTCCGCCAGG	oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC* dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG
ASO15	316	GCCAUGACAATCTCCGCCAG	oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT* dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG
ASO16	246	GGCCATGACAATCTCCGCCA	oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA* dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA
ASO17	317	UGGCCATGACAATCTCCGCC	oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA* dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC
ASO18	318	UGUGCACGTAGCCAAGCCGG	oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG* *dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG
ASO19	319	CUGUGCACGTAGCCAAGCCG	oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA* *dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG
ASO20	320	CACAGCGGTCCAGCAGGAUG	oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC* *dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG
ASO21	321	UGGCCACAGCGGTCCAGCAG	oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG* *dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG
ASO22	322	AGCGCCCACCAGTCACACUC	oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA* dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC
ASO23	323	CAGCGCCCACCAGTCACACU	oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC* dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU
ASO24	254	CCAGCGCCCACCAGTCACAC	oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC* dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC
ASO25	255	GCGAATACACCCAGCGCCCA	oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC* dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA
ASO26	256	GGCGAATACACCCAGCGCCC	oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC* dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC
ASO27	324	UUGUAGTGGACGATCUUGCC	oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC* *dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC
ASO28	325	CUUGUAGTGGACGATCUUGC	oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA* xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC
ASO29	326	CCUUGTAGTGGACGAUCUUG	oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG* dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG
ASO30	327	CGGAGACCATCCAGUCGAG	oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC* dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG
ASO31	328	GAAUGTCCGACAGTGUCUCC	oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC* *dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC
ASO32	329	CGAAUGTCCGACAGTGUCUC	oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA* *dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC
ASO33	330	GGGCTGGGACCTCACUGUC	oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC* dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC
ASO34	331	UGCACGTGTGGCTCAAGCAG	oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG* dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG
ASO35	332	CCACUTCAGCTGTTTCAUCC	oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT* dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC

[0384]

ASO36	333	GCGUCACCTCGGCCCTCAGCC	oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG *dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC
ASO37	334	AGCGUCACCTCGGCCUCAGC	oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC *dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC
ASO38	335	CGUAGTTGACTGGCGAAGUU	oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT* dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU
ASO39	336	GGGCCCCGATCACAGGACUG	oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC *dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG
ASO40	337	UUGCCCATCCACGTCAGGGC	oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA* xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC
ASO41	338	GGACGGCCCCGGCTTGUCUGCC	oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG *dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC
ASO42	339	UGGAACACGGACGGCCCGGC	oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA *xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC
ASO43	340	CAUCCAAAACGTGGAUUGGG	oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*dA*xdC*dG *dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG
ASO44	341	GCAUCCAAAACGTGGAUUGG	oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*dA*xdC *dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG

[0385] †表9中提供的任一种寡核苷酸中的每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。作为替代或补充(例如,补充),每个U和每个胞苷碱基(C)可独立且任选地被甲基化。“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。表9中列出的每种ASO均具有完全PS主链(fully PS backbone)和EEEE- (D)₁₀-EEEE的间隔聚体构型5'-X-Y-Z-3',其中“E”表示2'-MOE修饰的核糖核苷;“D”表示2'-脱氧核糖核苷,以及下标数字表示Y中2'-脱氧核糖核苷的数目。每个ASO可任选地在其5'末端处用NH₂-(CH₂)₆修饰,并且NH₂-(CH₂)₆与5'端核苷之间的键联任选地是磷酸二酯键联。

[0386] 表10.DMPK靶向寡核苷酸(ASO)的一些实例

[0387]

ASO 名称	SEQ ID NO:	反义序列 † (5'至 3')	ASO 结构 † (5'至 3')
ASO45	275	CACGTGTGGCTCAAGC	x+C*+A*xoC*oG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*oA *oA*+G*x+C
ASO46	275	CACGTGTGGCTCAAGC	xoC*oA*x+C*+G*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*+A *+A*oG*xoC
ASO47	276	GCACGTGTGGCTCAAG	+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC *oA*+A*+G
ASO48	276	GCACGTGTGGCTCAAG	oG*xoC*+A*x+C*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*x+C *+A*oA*oG
ASO49	342	ACGUGTGGCTCAAGCA	+A*x+C*oG*oU*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*oA* oG*x+C*+A
ASO50	342	ACGUGTGGCTCAAGCA	oA*xoC*+G*+U*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*+A* +G*xoC*oA
ASO51	278	CAAACCTGCTCAGCAG	x+C*+A*oA*oA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*oG *xoC*+A*+G
ASO52	343	ACUUCAGCTGTTUCAU	+A*x+C*oU*oU*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*oU* xoC*+A*+U
ASO53	344	UAGUTGACTGGCGAAG	+U*+A*oG*oU*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*oG*o A*+A*+G
ASO54	281	GCCCGGATCACAGGAC	+G*x+C*xoC*xoC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*xdC*dA*oG *oG*+A*x+C
ASO55	345	CAUGACAATCTCCGCC	x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xo C*oG*x+C*x+C

[0388]

ASO56	346	GUCACCTCGGCCUCAG	+G*+U*xoC*oA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*dC*oU*xoC*+A*+G
ASO57	347	CCAGGTACAGGTAGUU	x+C*x+C*oA*oG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*+U*+U
ASO58	348	ACCAACACGTCCCUCU	+A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U
ASO59	286	CCAAACTTGCTCAGCA	x+C*x+C*oA*oA*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*oA*oG*x+C*+A
ASO60	349	CACUTCAGCTGTUUCA	x+C*+A*xoC*oU*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*oU*oU*x+C*+A
ASO61	350	GUAGTTGACTGGCGAA	+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A
ASO62	289	GGCCCGGATCACAGGA	+G*+G*xoC*xoC*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*oA*oG*+G*+A
ASO63	351	AAACTTGCTCAGCAGU	+A*+A*oA*xoC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*xoC*oA*+G*+U
ASO64	352	CUUCAGCTGTTTCAUC	x+C*+U*oU*xoC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*xoC*oA*+U*x+C
ASO65	353	AGUUGACTGGCGAAGU	+A*+G*oU*oU*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*+G*+U
ASO66	354	CCCGGATCACAGGACU	x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U
ASO67	278	CAAACCTGCTCAGCAG	xoC*oA*+A*+A*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*+G*x+C*oA*oG
ASO68	343	ACUUCAGCTGTTUCAU	oA*xoC*+U*+U*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*+U*x+C*oA*oU
ASO69	344	UAGUTGACTGGCGAAG	oU*oA*+G*+U*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*+G*+A*oA*oG
ASO70	281	GCCCGGATCACAGGAC	oG*xoC*x+C*x+C*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*+G*+G*oA*xoC
ASO71	286	CCAAACTTGCTCAGCA	xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA
ASO72	349	CACUTCAGCTGTUUCA	xoC*oA*x+C*+U*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*+U*+U*xoC*oA
ASO73	350	GUAGTTGACTGGCGAA	oG*oU*+A*+G*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*x+C*+G*oA*oA
ASO74	289	GGCCCGGATCACAGGA	oG*oG*x+C*x+C*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*+A*+G*oG*oA
ASO75	351	AAACTTGCTCAGCAGU	oA*oA*+A*x+C*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*x+C*+A*oG*oU
ASO76	352	CUUCAGCTGTTTCAUC	xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC
ASO77	353	AGUUGACTGGCGAAGU	oA*oG*+U*+U*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*+A*+A*oG*oU
ASO78	354	CCCGGATCACAGGACU	xoC*xoC*x+C*+G*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*+G*+A*xoC*oU
ASO79	355	CCAUGACAATCTCCGC	x+C*x+C*oA*oU*dG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xoC*xoC*+G*x+C
ASO80	356	AUGACAATCTCCGCCA	+A*+U*oG*oA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xdC*oG*xoC*x+C*+A
ASO81	357	CGUCACCTCGGCCUCA	x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A
ASO82	358	UCACCTCGGCCTCAGC	+U*x+C*oA*xoC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xdC*dT*xoC*oA*+G*x+C
ASO83	359	ACCAGGTACAGGUAGU	+A*x+C*xoC*oA*dG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*oU*oA*+G*+U
ASO84	360	CAGGTACAGGTAGUUC	x+C*+A*oG*oG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*+U*x+C
ASO85	361	CACCAACACGTCCCUC	x+C*+A*xoC*xoC*dA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xoC*xoC*+U*x+C
ASO86	362	CCAACACGTCCCUCUC	x+C*x+C*oA*oA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xdC*oU*xoC*+U*x+C

[0389] †表10中提供的任一种寡核苷酸中的每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。作为替代或补充(例如,补充),每个

U和每个胞苷碱基(C)可独立且任选地被甲基化。“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。表10中列出的每种ASO均具有完全PS主链和LLEE-(D)₈-EELL或EELL-(D)₈-LLEE的间隔聚体构型5'-X-Y-Z-3',其中“E”表示2'-MOE修饰的核糖核苷;“L”是LNA;“D”表示2'-脱氧核糖核苷,以及下标数字表示Y中2'-脱氧核糖核苷的数目。每个ASO可任选地在其5'末端处用NH₂-(CH₂)₆修饰,并且NH₂-(CH₂)₆与5'端核苷之间的键联任选地是磷酸二酯键联。

[0390] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸长度为15至25个核苷(例如,15至20个、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷),并且包含针对SEQ ID NO:160至230中任一者的至少15个连续核苷(例如至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷)之互补区。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至7个(例如,3至5个、3、4、5、6或7个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至15个(例如,6至10个、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且Z包含3至7个(例如,3至5个、3、4、5、6或7个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0391] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷),其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至7个(例如,3至5个、3、4、5、6或7个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至15个(例如,6至10个、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且Z包含3至7个(例如,3至5个、3、4、5、6或7个)个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0392] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列,其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至7个(例如,3至5个、3、4、5、6或7个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至15个(例如,6至10个、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且Z包含3至7个(例如,3至5个、3、4、5、6或7个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0393] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸的长度为15至25个核苷(例如,15至20个、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷),其包含针对SEQ ID NO:160

至230中任一者的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷)之互补区,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0394] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸的长度为15至25个核苷(例如,15至20个、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷),其包含针对SEQ ID NO:160至230中任一者的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷)之互补区,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)。

[0395] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸的长度为15至25个核苷(例如,15至20个、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷),其包含针对SEQ ID NO:160至230中任一者的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷)之互补区,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷),和/或者(例如,和)Z包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0396] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷),其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双

环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0397] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷),其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)。

[0398] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或20个连续核苷),其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷),和/或者(例如,和)Z包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0399] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列,其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0400] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列,其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)和/或者(例如,和)Z中的

每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和/或者(例如,和)Z中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)。

[0401] 在一些实施方案中,本文中所述的DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的核苷酸序列,其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。在一些实施方案中,X包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷),和/或者(例如,和)Z包含至少一个2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和至少一个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0402] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含一个或更多个磷酸二酯核苷间键联,任选地其中磷酸二酯核苷间键联在X和/或Z中。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含1磷酸二酯核苷间键联(P0),2 P0,3 P0,4 P0,5 P0,6 P0,7 P0,8 P0,9 P0,10 P0,11 P0,12 P0,13 P0,14 P0,15 P0,16 P0,17 P0,18 P0,19 P0,20 P0,21 P0,22 P0,23 P0,24 P0,25 P0,26 P0,27 P0,28 P0,或29 P0,并且剩余核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联(PS)。例如,20个核苷酸的DMPK靶向寡核苷酸可包含1 P0和18 PS、2 P0和17 PS、3 P0和16 PS、4 P0和15 PS、5 P0和14 PS、6 P0和13 PS、7 P0和12 PS、8 P0和11 PS、9 P0和10 PS、10 P0和9 PS、11 P0和8 PS、12 P0和7 PS、13 P0和6 PS、14 P0和5 PS、15 P0和4 PS、16 P0和3 PS、17 P0和2 PS、或18 P0和1 PS。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,X包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联,并且Z包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,X中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,并且Z包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,X包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联,并且Z中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。例如,DMPK靶向寡核苷酸可包含具有混合磷酸二酯/硫代磷酸酯主链的翼区X和Z以及具有完全硫代磷酸酯主链的间隔区Y,或者可包含具有混合磷酸二酯/硫代磷酸酯主链的一个翼区(即,X或Z),具有完全硫代磷酸酯主链的另一个翼区和具有完全硫代磷酸酯主链的间隔区Y。在一些实施方案中,间隔区Y包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联,并且翼区X和Y各自独立地具有完全硫代磷酸酯主链或者包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联和一个或更多个磷酸二酯核苷间键联。例如,DMPK靶向寡核苷酸可包含具有混合磷酸二酯/硫代磷酸酯主链的翼区X和Z以及具有混合磷酸二

酯/硫代磷酸酯主链的间隔区Y。

[0403] 在一些实施方案中,提供了下式的反义寡核苷酸: $(L)_{X1} (E)_{X2} (L)_{X3} (D)_{X4} (L)_{X5} (E)_{X6} (L)_{X7}$:

[0404] 其中每个(L)是2'-4'双环核苷,

[0405] 其中每个(E)是非双环2'-经修饰核苷,

[0406] 其中每个(D)是2'-脱氧核糖核苷,

[0407] 其中X1独立地是0至5的整数,其表示相应L的实例数,

[0408] 其中X2独立地是0至5的整数,其表示相应E的实例数,

[0409] 其中X3独立地是0至5的整数,其表示相应L的实例数,

[0410] 其中X4独立地是5至12的整数,其表示D的实例数,

[0411] 其中X5独立地是0至5的整数,其表示相应L的实例数,

[0412] 其中X6独立地是0至5的整数,其表示相应E的实例数,

[0413] 其中X7独立地是0至5的整数,其表示相应L的实例数,并且

[0414] 其中X1、X2和X3中的至少一个是1至5,并且X5、X6和X7中的至少一个是1至5。

[0415] 在一些实施方案中,X1、X3、X5和X7各自为0,并且X2和X6独立地是1、2、3、4或5。

[0416] 在一些实施方案中,X1、X2、X5和X6各自为0,并且X3和X7独立地是1、2、3、4或5。

[0417] 在一些实施方案中,X3和X5各自为0,并且X1、X2、X6和X7独立地是1、2、3、4或5。

[0418] 在一些实施方案中,X1和X7各自为0,并且X2、X3、X5和X6独立地是1、2、3、4或5。

[0419] 在一些实施方案中,X4是5、6、7、8、9或10。

[0420] 在一些实施方案中,2'-4'双环核苷选自LNA、cEt和ENA核苷。在一些实施方案中,非双环2'-经修饰核苷是2'-MOE修饰的核苷或2'-OMe修饰的核苷。

[0421] 在一些实施方案中,寡核苷酸的核苷通过硫代磷酸酯核苷间键联、磷酸二酯核苷间键联或其组合连接在一起。在一些实施方案中,寡核苷酸仅包含连接每个核苷的硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯和磷酸二酯核苷间键联的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸仅包含连接每对2'-脱氧核糖核苷的硫代磷酸酯核苷间键联,以及连接剩余核苷的硫代磷酸酯和磷酸二酯核苷间键联的混合物。

[0422] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含以下的5'-X-Y-Z-3'构型:

X	Y	Z
EEEEEE	(D) ₁₀	EEEEEE,
EEE	(D) ₁₀	EEE,
EEEEEE	(D) ₁₀	EEEE,
EEEEEE	(D) ₁₀	EE,
LLL	(D) ₁₀	LLL,
EELL	(D) ₈	LLEE,
LLEE	(D) ₈	EELL, 或
LLEEE	(D) ₁₀	EEELL,

[0424] 其中“E”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“L”是LNA;“D”是2'-脱氧核糖核苷;并且“10”

或“8”是Y中2'-脱氧核糖核苷的数目,并且其中寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷间键联、磷酸二酯核苷间键联或其组合。

[0425] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一种DMPK靶向寡核苷酸中,X和/或Z中的每个胞苷(例如,2'-经修饰胞苷)任选且独立地是5-甲基-胞苷,和/或者X和/或Z中的每个尿苷(例如,2'-经修饰尿苷)任选且独立地是5-甲基-尿苷。

[0426] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸选自表8、表9和表10中列出的ASO。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸与表8中列出的靶序列互补。

[0427] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸与SEQ ID NO:205、211、214、217、222、215、220和225中任一者互补。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸与SEQ ID NO:205、214、215和220中任一者互补。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸与SEQ ID NO:211、217、222和225中任一者互补。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸与SEQ ID NO:205、214、217和222中任一者互补。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸与SEQ ID NO:211、215、220和225中任一者互补。

[0428] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:276、282、285、286、288、291、293、296、345、348、350、352、354和357中任一者的核碱基序列。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:276、285、286、291、348和352中任一者的核碱基序列。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:282、288、293、296、345、350、354和357中任一者的核碱基序列。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:276、285、288、293、348、350和354中任一者的核碱基序列。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:282、286、291、296、345、352和357中任一者的核碱基序列。在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸的每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。

[0429] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),
x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
+A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),
+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),
[0430] x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),
xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286),
xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352), 和
x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),

[0431] 其中“+N”是LNA核苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0432] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),

[0433] +A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),
xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286), 和
xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352),

[0434] 其中“+N”是LNA核苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0435] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含选自以下的结构:

x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),

[0436] x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354), 和
x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),

[0437] 其中“+N”是LNA核苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0438] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含选自以下的结构:

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),
+A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),

[0439] +G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350), 和
x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),

[0440] 其中“+N”是LNA核苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0441] 在一些实施方案中,DMPK靶向寡核苷酸包含选自以下的结构:

x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286),

[0442] xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352), 和
x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),

[0443] 其中“+N”是LNA核苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0444] 在一些实施方案中,任一种DMPK靶向寡核苷酸可以是盐形式,例如作为钠盐、钾盐或镁盐。

[0445] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种寡核苷酸(例如,表8、表9和表10中列出的寡核苷酸)的5'或3'核苷(例如,末端核苷)与胺基缀合,任选地通过间隔基。在一些实施方案中,间隔基包含脂族部分。在一些实施方案中,间隔基包含聚乙二醇部分。在一些实施方案中,磷酸二酯键联存在于间隔基与寡核苷酸的5'或3'核苷之间。在一些实施方案中,本文中所述的任何寡核苷酸(例如,表8、表9和表10中列出的寡核苷酸)的5'或3'核苷(例如,

末端核苷)与间隔基缀合,所述间隔基是经取代或未经取代的脂族、经取代或未经取代的杂脂族、经取代或未经取代的亚碳环基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、 $-O-$ 、 $-N(R^A)-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^A-$ 、 $-NR^AC(=O)-$ 、 $-NR^AC(=O)R^A-$ 、 $-C(=O)R^A-$ 、 $-NR^AC(=O)O-$ 、 $-NR^AC(=O)N(R^A)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)N(R^A)-$ 、 $-S(O)_2NR^A-$ 、 $-NR^AS(O)_2-$ 、或其组合;每个 R^A 独立地是氢或者经取代或未经取代的烷基。在某些实施方案中,间隔基是经取代或未经取代的亚烷基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚杂芳基、 $-O-$ 、 $-N(R^A)-$ 或 $-C(=O)N(R^A)_2$ 、或其组合。

[0446] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种寡核苷酸(例如,表8、表9和表10中列出的寡核苷酸)的5'或3'核苷与式 $NH_2-(CH_2)_n$ -化合物缀合,其中n为1至12的整数。在一些实施方案中,n是6、7、8、9、10、11或12。在一些实施方案中,磷酸二酯键联存在于在式 $NH_2-(CH_2)_n$ -化合物与寡核苷酸的5'或3'核苷之间。在一些实施方案中,式 $NH_2-(CH_2)_6$ -化合物通过6-氨基-1-己醇($NH_2-(CH_2)_6-OH$)与寡核苷酸的5'磷酸之间的反应与寡核苷酸缀合。

[0447] 在一些实施方案中,寡核苷酸例如通过胺基与靶向剂,例如肌肉靶向剂(例如抗TfR1抗体)缀合。

[0448] C. 接头

[0449] 本文中所述的复合物通常包含共价连接本文中所述的任一种抗TfR1抗体与分子载荷的接头。接头包含至少一个共价键。在一些实施方案中,接头可以是共价连接抗TfR1抗体与分子载荷的单键,例如二硫键或二硫桥。然而,在一些实施方案中,接头可通过多个共价键共价连接本文中所述的任一种抗TfR1抗体与分子载荷。在一些实施方案中,接头可以是可切割接头。然而,在一些实施方案中,接头可以是不可切割接头。接头通常在体外和体内是稳定的,并且在某些细胞环境中可以是稳定的。另外,通常来说接头不负面影响抗TfR1抗体或分子载荷的功能特性。接头合成的实例和方法是本领域中已知的(参见,例如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.)。

[0450] 接头通常将包含允许与抗TfR1抗体和分子载荷二者连接的两种不同的反应性物质。在一些实施方案中,两种不同的反应性物质可以是亲核体和/或亲电体。在一些实施方案中,接头包含两种不同的亲电体或亲核体,其对两种不同亲核体或亲电体具有特异性。在一些实施方案中,接头通过与抗TfR1抗体的赖氨酸残基或半胱氨酸残基缀合而与抗TfR1抗体共价连接。在一些实施方案中,接头通过含马来酰亚胺的接头与抗TfR1抗体的半胱氨酸残基共价连接,其中任选地,含马来酰亚胺的接头包含马来酰亚胺基己酰基或马来酰亚胺基甲基环己烷-1-羧酸根基团。在一些实施方案中,接头通过3-芳基丙腈官能团与抗TfR1抗体的半胱氨酸残基或巯基官能化的分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头与抗TfR1抗体的赖氨酸残基共价连接。在一些实施方案中,接头通过酰胺键、氨基甲酸酯键、酰肼、三唑、硫醚和/或二硫键独立地与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。

[0451] i. 可切割接头

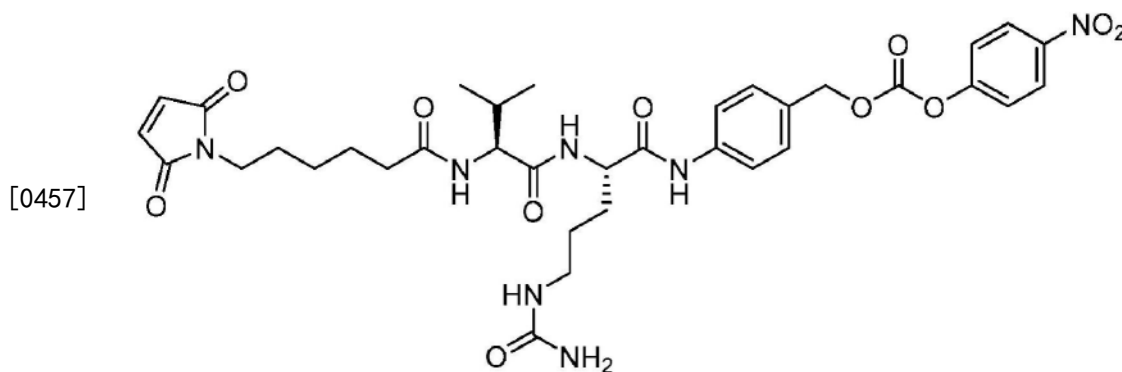
[0452] 可切割接头可以是蛋白酶敏感性接头、pH敏感性接头或谷胱甘肽敏感性接头。这些接头通常仅在胞内可切割,并且优选在胞外环境,例如肌细胞或CNS细胞胞外中稳定。

[0453] 蛋白酶敏感性接头可通过蛋白酶酶活性切割。这些接头通常包含肽序列,并且长度可为2至10个氨基酸、约2至5个氨基酸、约5至10个氨基酸、约10个氨基酸、约5个氨基酸、约3个氨基酸或约2个氨基酸。在一些实施方案中,肽序列可包含天然存在的氨基酸(例如半胱氨酸、丙氨酸)或者非天然存在的或经修饰的氨基酸。非天然存在的氨基酸包括 β -氨基酸、高氨基酸、脯氨酸衍生物、3-经取代的丙氨酸衍生物、线性核心氨基酸、N-甲基氨基酸和本领域已知的其他氨基酸。在一些实施方案中,蛋白酶敏感性接头包含缬氨酸-瓜氨酸或丙氨酸-瓜氨酸序列。在一些实施方案中,蛋白酶敏感性接头可被溶酶体蛋白酶(例如组织蛋白酶B(cathepsin B))和/或(例如,和)内体蛋白酶切割。

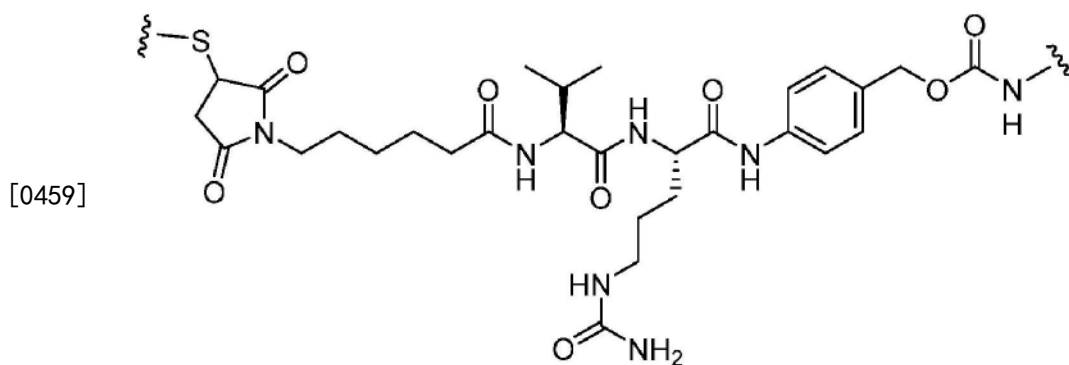
[0454] pH敏感性接头是在高或低pH环境中容易降解的共价键联。在一些实施方案中,pH敏感性接头可在4至6的pH下被切割。在一些实施方案中,pH敏感性接头包含脲或环缩醛。在一些实施方案中,pH敏感性接头在内体或溶酶体内被切割。

[0455] 在一些实施方案中,谷胱甘肽敏感性接头包含二硫化物部分。在一些实施方案中,谷胱甘肽敏感性接头通过与细胞内的谷胱甘肽物质进行二硫化物交换反应来切割。在一些实施方案中,二硫化物部分还包含至少一种氨基酸,例如半胱氨酸残基。

[0456] 在一些实施方案中,接头包含缬氨酸-瓜氨酸序列(例如,如美国专利6,214,345中所述,其通过引用并入本文)。在一些实施方案中,在缀合之前,接头包含以下的结构:

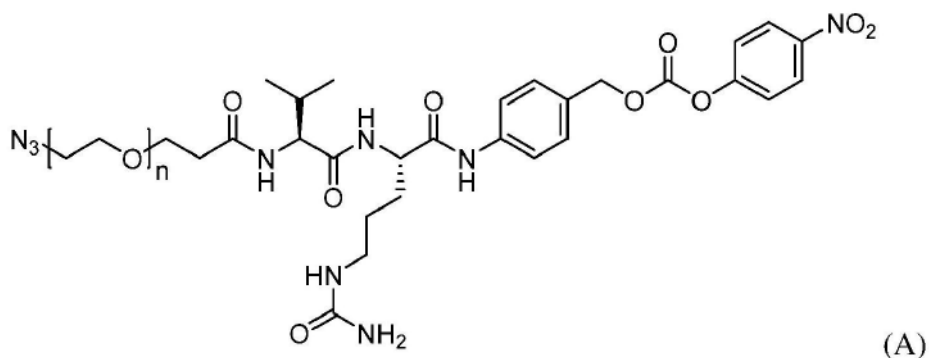


[0458] 在一些实施方案中,在缀合后,接头包含以下结构:



[0460] 在一些实施方案中,在缀合之前,接头包含以下结构:

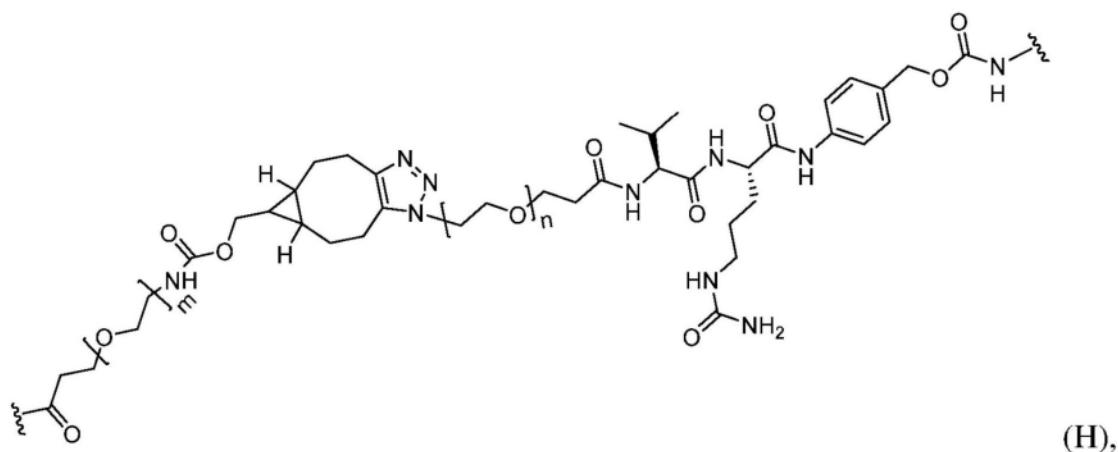
[0461]



[0462] 其中n是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3。

[0463] 在一些实施方案中,接头包含以下结构:

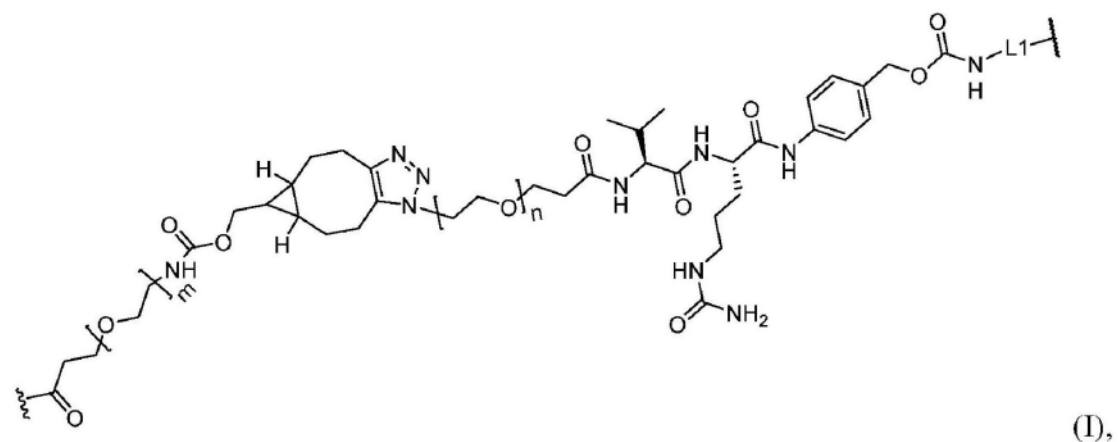
[0464]



[0465] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或者(例如,和)m是4。

[0466] 在一些实施方案中,接头包含以下结构:

[0467]



[0468] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或者(例如,和)m是4。

[0469] ii. 不可切割接头

[0470] 在一些实施方案中,可使用不可切割接头。通常来说,不可切割接头在细胞或生理环境中不容易被降解。在一些实施方案中,不可切割接头包含任选经取代的烷基,其中所述取代可包括卤素、羟基、氧物质和其他常见的取代。在一些实施方案中,接头可包含任选经取代的烷基、任选经取代的亚烷基、任选经取代的亚芳基、亚杂芳基、包含至少一种非天然

氨基酸的肽序列、截短的聚糖、不能被酶降解的一种或更多种糖、叠氮化物、炔-叠氮化物、包含LPXT序列的肽序列、硫醚、生物素、联苯、聚乙二醇或等同化合物的重复单元、酸性酯、酰胺、磺酰胺和/或烷氧基-胺接头。在一些实施方案中,分选酶介导的连接可用于共价连接包含LPXT序列的抗TfR1抗体与包含(G)_n序列的分子载荷(参见,例如Proft T.Sortase-mediated protein ligation:an emerging biotechnology tool for protein modification and immobilization.Biotechnol Lett.2010,32(1):1-10.)。

[0471] 在一些实施方案中,接头可包含经取代的亚烷基、任选经取代的亚烯基、任选经取代的亚炔基、任选经取代的亚环烷基、任选经取代的亚环烯基、任选经取代的亚芳基、还包含至少一个选自N、O和S的杂原子的任选经取代的亚杂芳基;还包含至少一个选自N、O和S的杂原子的任选经取代的亚杂环基;亚氨基、任选经取代的氮物质、任选经取代的氧物质O、任选经取代的硫物质或聚(环氧烷烃),例如聚环氧乙烷或聚环氧丙烷。在一些实施方案中,接头可以是不可切割N-γ-马来酰亚胺基丁酰基-氧基琥珀酰亚胺酯(GMBS)接头。

[0472] iii. 接头缀合

[0473] 在一些实施方案中,接头通过磷酸酯、硫醚、醚、碳-碳、氨基甲酸酯、或酰胺键与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头通过磷酸酯或硫代磷酸酯基团例如寡核苷酸主链的末端磷酸酯与寡核苷酸共价连接。在一些实施方案中,接头通过抗TfR1抗体上存在的赖氨酸或半胱氨酸残基与该抗TfR1抗体共价连接。

[0474] 在一些实施方案中,接头或其一部分通过叠氮化物和炔烃之间的环加成反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接以形成三唑,其中叠氮化物或炔烃可位于抗TfR1抗体、分子载荷或接头上。在一些实施方案中,炔烃可以是环炔烃,例如环辛炔。在一些实施方案中,炔烃可以是双环壬炔(也称为双环[6.1.0]壬炔或BCN)或经取代的双环壬炔。在一些实施方案中,环辛炔如国际专利申请公开W02011136645中所述,其于2011年11月3日公开,标题为“Fused Cyclooctyne Compounds And Their Use In Metal-free Click Reactions”。在一些实施方案中,叠氮化物可以是包含叠氮化物的糖或碳水化合物分子。在一些实施方案中,叠氮化物可以是6-叠氮基-6-脱氧半乳糖或6-叠氮基-N-乙酰半乳糖胺。在一些实施方案中,包含叠氮化物的糖或碳水化合物分子如国际专利申请公开W02016170186中所述,其于2016年10月27日公开,标题为“Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From Aβ(1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase”。在一些实施方案中,在叠氮化物和炔烃之间进行环加成反应以形成三唑,其中叠氮化物或炔烃可位于抗TfR1抗体、分子载荷或接头上,如以下中所述:国际专利申请公开W02014065661,其于2014年5月1日公开,标题为“Modified antibody,antibody-conjugate and process for the preparation thereof”;或国际专利申请公开W02016170186,其于2016年10月27日公开,标题为“Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From Aβ(1,4)-N-Acetylgalactosaminyltransferase”。

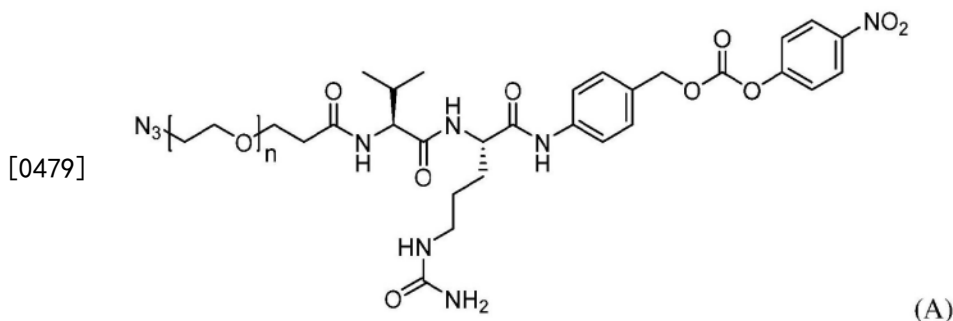
[0475] 在一些实施方案中,接头包含间隔基,例如聚乙二醇间隔基或酰基/胺甲酰基磺酰胺间隔基,例如HydraSpaceTM间隔基。在一些实施方案中,间隔基如Verkade,J.M.M.et al.,“A Polar Sulfamide Spacer Significantly Enhances the Manufacturability, Stability,and Therapeutic Index of Antibody-Drug Conjugates”,Antibodies,2018,

7,12中所述。

[0476] 在一些实施方案中,接头通过亲二烯体和二烯/杂二烯之间的第尔斯-阿尔德反应(Diels-Alder reaction)与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接,其中亲二烯体或二烯/杂二烯可位于抗TfR1抗体、分子载荷或接头上。在一些实施方案中,接头通过其他周环反应(pericyclic reaction),例如烯反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头通过酰胺、硫代酰胺或磺酰胺键合反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头通过缩合反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接,以形成存在于接头与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷之间的脒、脞或氨基脒基团。

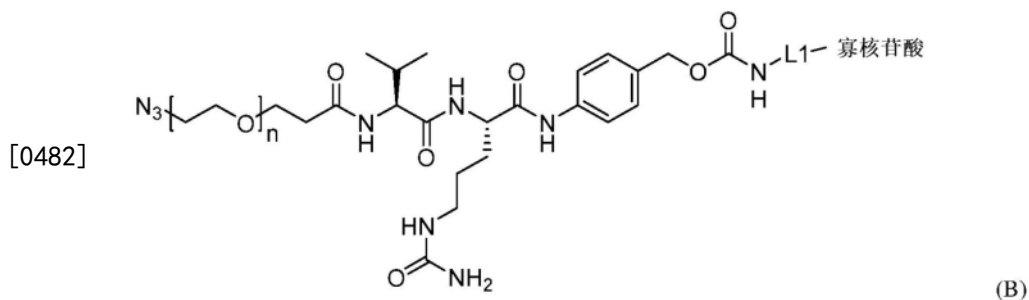
[0477] 在一些实施方案中,接头通过亲核体(例如胺或羟基)和亲电体(例如羧酸、碳酸或醛)之间的共轭加成反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,在进行接头与抗TfR1抗体或分子载荷之间的反应之前,亲核体可存在于接头上并且亲电体可存在于抗TfR1抗体或分子载荷上。在一些实施方案中,在进行接头与抗TfR1抗体或分子载荷之间的反应之前,亲电体可存在于接头上并且亲核体可存在于抗TfR1抗体或分子载荷上。在一些实施方案中,亲电体可以是叠氮化物、五氟苯基、硅中心、羰基、羧酸、酸酐、异氰酸酯、硫代异氰酸酯、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯、马来酰亚胺、烷基卤化物、烷基假卤化物、环氧化物、环硫化物、氮丙啶、芳基、活化的磷中心和/或活化的硫中心。在一些实施方案中,亲核体可以是任选经取代的烯烃、任选经取代的炔烃、任选经取代的芳基、任选经取代的杂环基、羟基、氨基、烷基氨基、苯胺基和/或硫醇基。

[0478] 在一些实施方案中,接头包含与反应性化学部分(例如,用于点击化学的叠氮化物部分或BCN部分)共价连接的缬氨酸-瓜氨酸序列。在一些实施方案中,包含与反应性化学部分(例如,用于点击化学的叠氮化物部分)共价连接的缬氨酸-瓜氨酸序列的接头包含以下结构:



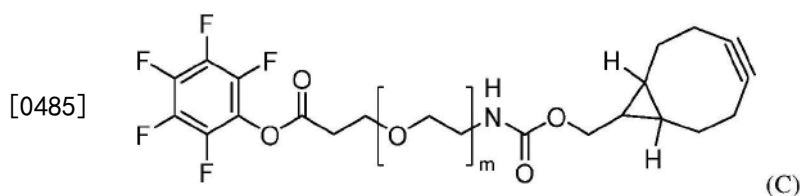
[0480] 其中n是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3。

[0481] 在一些实施方案中,包含式(A)结构的接头与分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接(例如,任选地通过另外的化学部分)。在一些实施方案中,包含式(A)结构的接头与寡核苷酸共价连接,例如通过与胺-L1-寡核苷酸的亲核取代形成氨基甲酸酯键,产生包含以下结构的化合物:



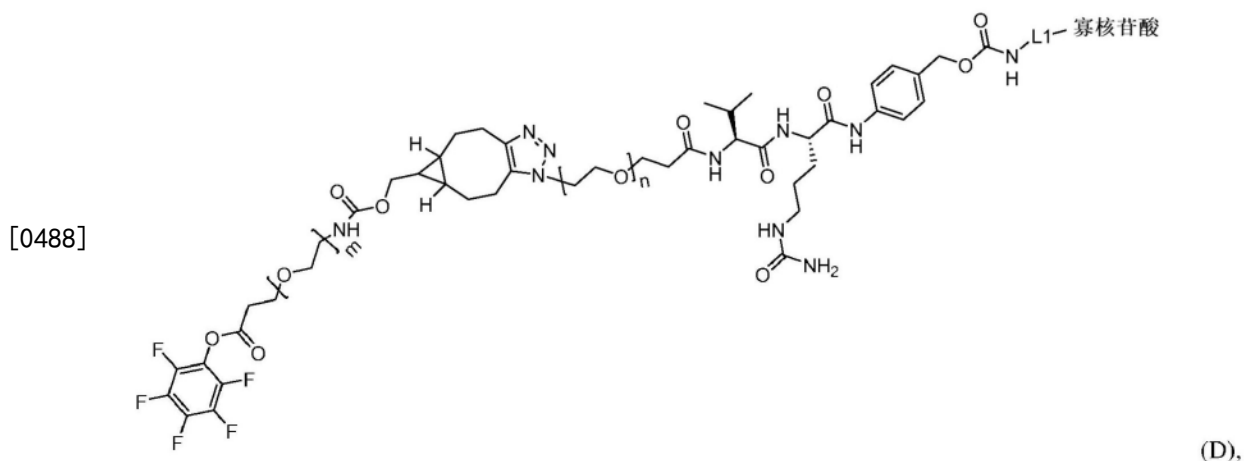
[0483] 其中n是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3。

[0484] 在一些实施方案中,式(B)化合物通过三唑与另外的部分进一步共价连接,其中三唑通过式(A)或式(B)的叠氮化物与双环壬炔上提供的炔烃之间的点击反应形成。在一些实施方案中,包含双环壬炔的化合物包含以下结构:



[0486] 其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,m是4。

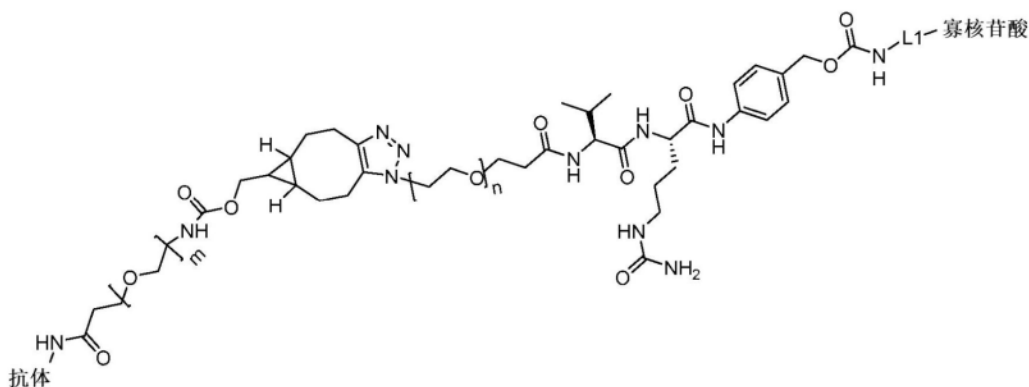
[0487] 在一些实施方案中,结构(B)化合物的叠氮化物通过与结构(C)化合物的炔烃的点击反应形成三唑,形成包含以下结构的化合物:



[0489] 其中n是0至10的任意数字,并且其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3并且m是4。

[0490] 在一些实施方案中,结构(D)的化合物与抗TfR1抗体的赖氨酸进一步共价连接,形成包含以下结构的复合物:

[0491]

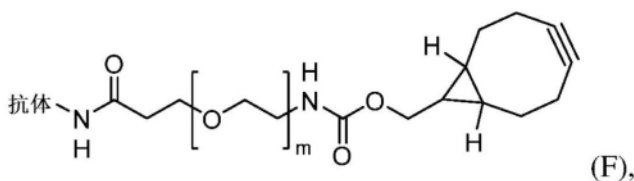


(E),

[0492] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或者(例如,和)m是4。应理解,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0493] 在一些实施方案中,式(C)化合物与抗TfR1抗体的赖氨酸进一步共价连接,形成包含以下结构的化合物:

[0494]

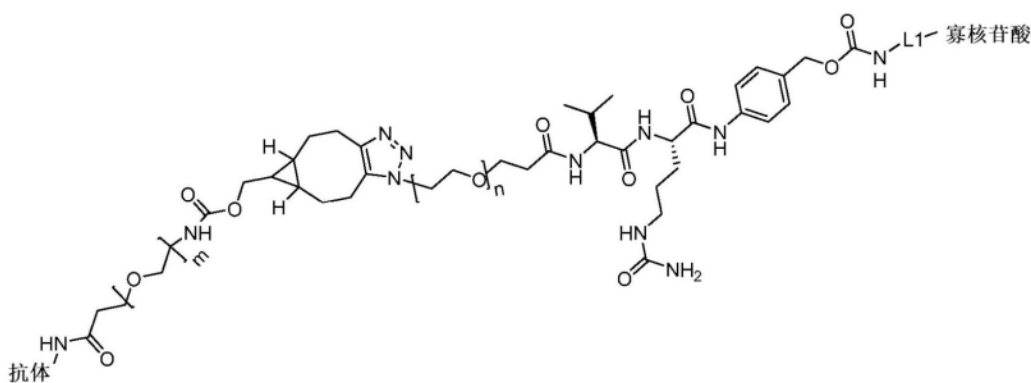


(F),

[0495] 其中m是0至15(例如4)。应理解,在式(F)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0496] 在一些实施方案中,结构(B)化合物的叠氮化物通过与结构(F)化合物的炔烃的点击反应形成三唑,形成包含以下结构的复合物:

[0497]

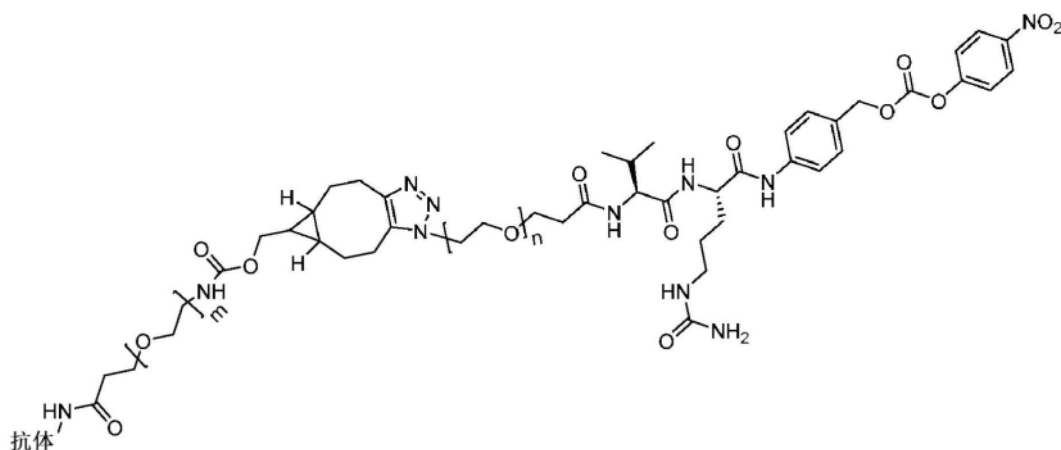


(E),

[0498] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或者(例如,和)m是4。应理解,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0499] 在一些实施方案中,结构(A)化合物的叠氮化物通过与结构(F)化合物的炔烃的点击反应形成三唑,形成包含以下结构的化合物:

[0500]

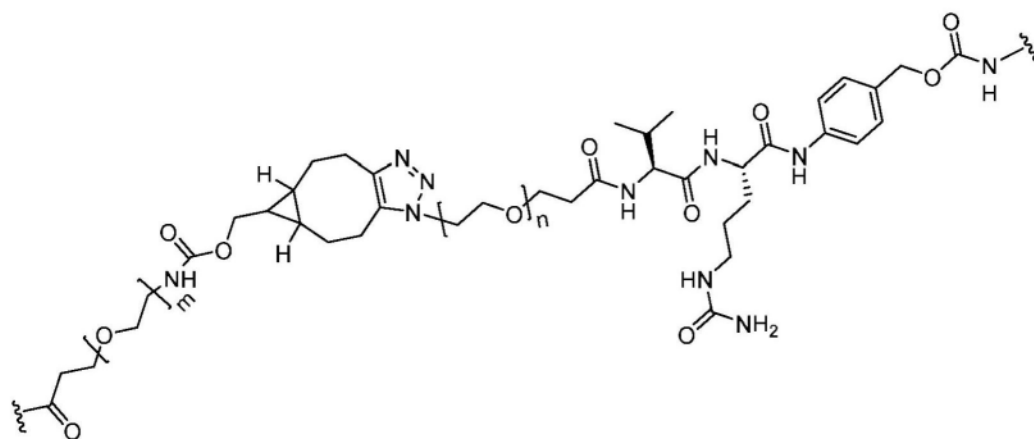


(G),

[0501] 其中 n 是0至10的任意数字,其中 m 是0至10的任意数字。在一些实施方案中, n 是3和/或者(例如,和) m 是4。在一些实施方案中,寡核苷酸与包含式(G)结构的化合物共价连接,从而形成包含式(E)结构的复合物。应理解,在式(G)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸 ϵ 胺)的反应产生的。

[0502] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一种复合物中,抗TfR1抗体通过包含以下结构的接头经由抗TfR1抗体的赖氨酸与分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接:

[0503]

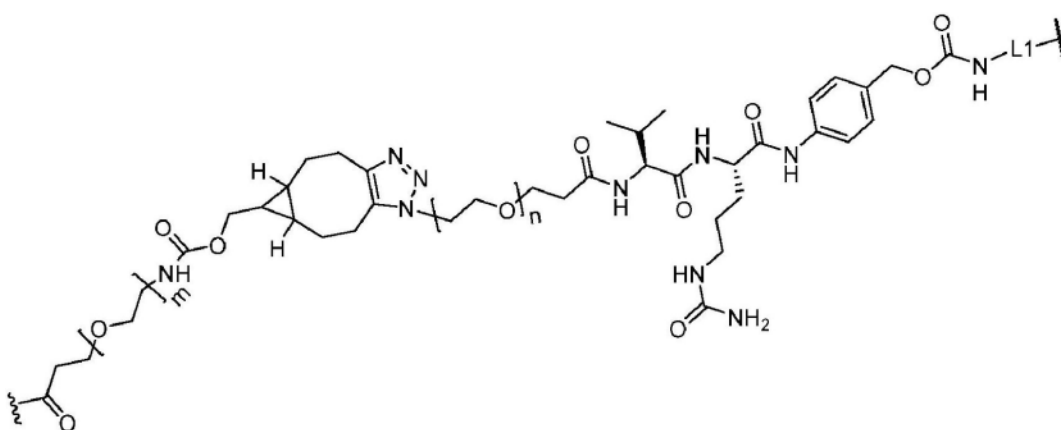


(H),

[0504] 其中 n 是0至10的任意数字,其中 m 是0至10的任意数字。在一些实施方案中, n 是3和/或者(例如,和) m 是4。

[0505] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一种复合物中,抗TfR1抗体通过包含以下结构的接头经由抗TfR1抗体的赖氨酸与分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接:

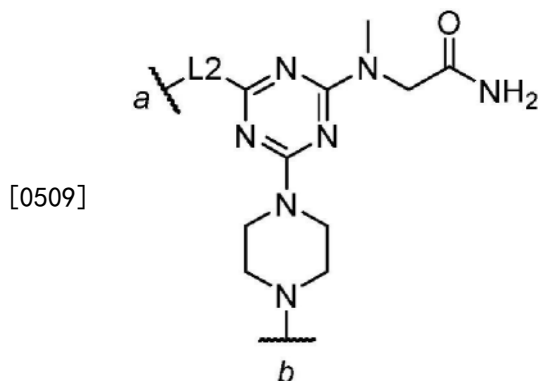
[0506]



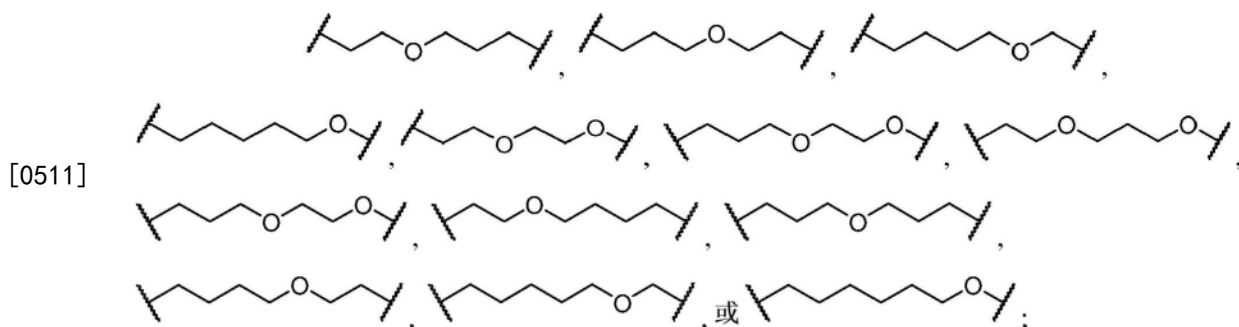
(I),

[0507] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或者(例如,和)m是4。

[0508] 在一些实施方案中,在式(B)、(D)、(E)和(I)中,L1是间隔基,所述间隔基是经取代或未经取代的脂族、经取代或未经取代的杂脂族、经取代或未经取代的亚碳环基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、-O-, -N(R^A)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^AC(=O)R^A-, -C(=O)R^A-, -NR^AC(=O)O-, -NR^AC(=O)N(R^A)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)N(R^A)-, -S(O)₂NR^A-, -NR^AS(O)₂-, 或其组合,其中每个R^A独立地是氢或者经取代或未经取代的烷基。在一些实施方案中,L1是

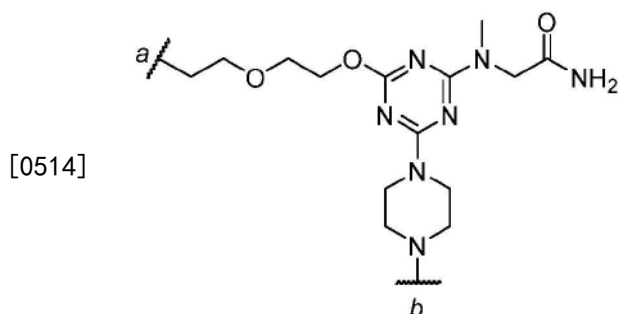


[0510] 其中L2是



[0512] 其中a标记与式(B)、(D)、(E)和(I)的氨基甲酸酯部分直接连接的位点;并且b标记与寡核苷酸共价连接(直接或通过另外的化学部分进行连接)的位点。

[0513] 在一些实施方案中,L1是:



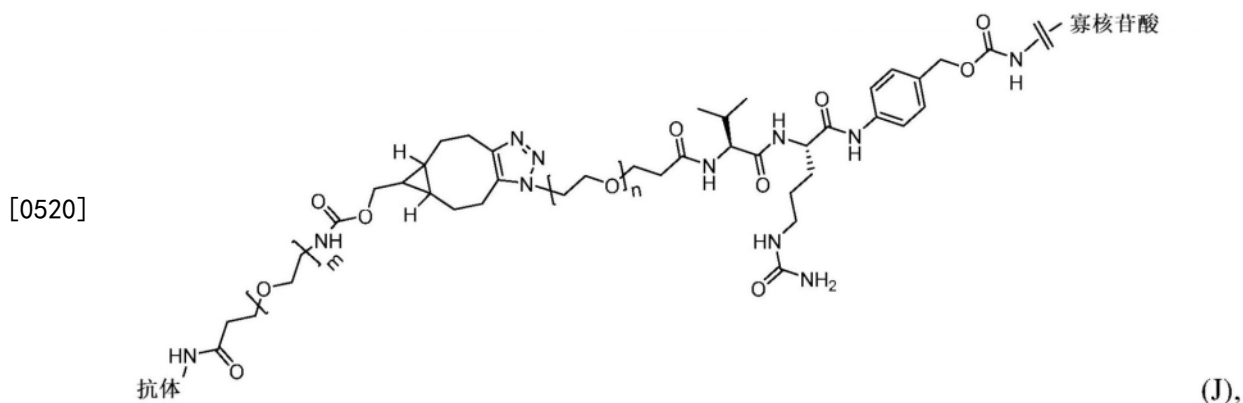
[0515] 其中a标记与式(B)、(D)、(E)和(I)的氨基甲酸酯部分直接连接的位点;并且b标记与寡核苷酸共价连接(直接或通过另外的化学部分进行连接)的位点。

[0516] 在一些实施方案中,L1是。

[0517] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 磷酸的键联在L1与寡核苷酸之间形成磷酸二酯键。

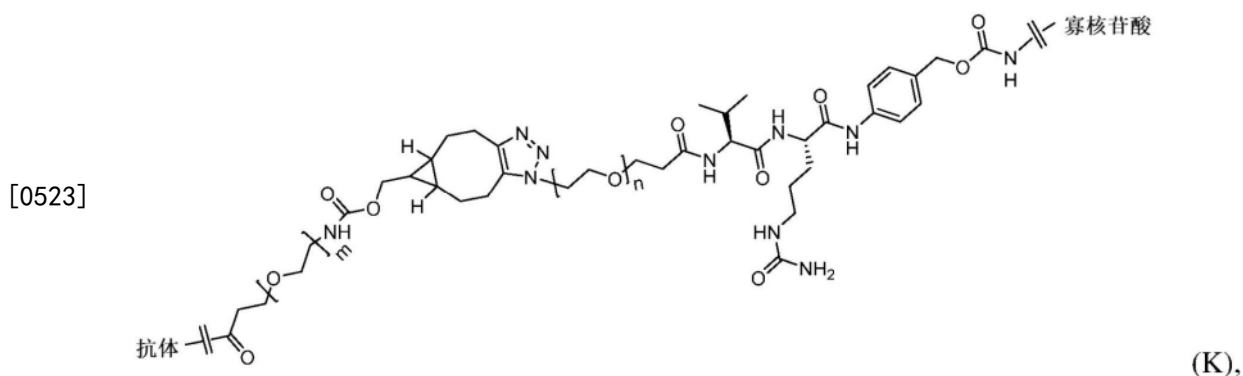
[0518] 在一些实施方案中,L1是任选的(例如,不是必要存在的)。

[0519] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种复合物具有以下结构:



[0521] 其中n是0至15(例如3),并且m是0至15(例如4)。应理解,在式(J)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0522] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种复合物具有以下结构:



[0524] 其中n是0至15(例如3),并且m是0至15(例如4)。

[0525] 在一些实施方案中,在与化合物(例如,式(A)或式(G)的化合物)连接之前,寡核苷酸被修饰为在5' 末端、3' 末端处或在内部包含胺基(例如,作为胺官能化的核碱基)。

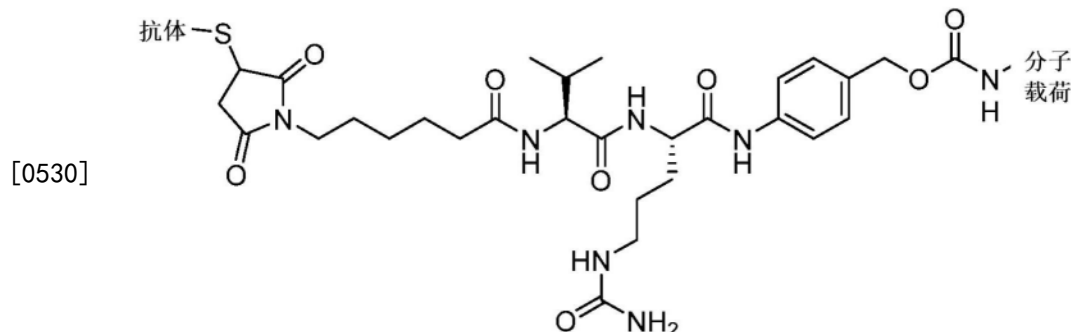
[0526] 尽管接头缀合是在抗TfR1抗体和寡核苷酸分子载荷的背景下描述的,但应理解,可考虑这样的接头缀合在其他肌肉靶向剂(例如其他肌肉靶向抗体)和/或在其他分子载荷上的用途。

[0527] D. 抗体-分子载荷复合物的一些实例

[0528] 本文中还提供了包含与本文中所述的任何分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接的任一种本文中所述的抗TfR1抗体的复合物的一些非限制性实例。在一些实施方案中,抗TfR1抗体(例如,表2至7中提供的任一种抗TfR1抗体)通过接头与分子载荷(例如,寡核苷酸,例如表8、表9和表10中提供的寡核苷酸)共价连接。可使用本文中所述的任何接头。在一些实施方案中,如果分子载荷是寡核苷酸,则接头与寡核苷酸的5' 末端、寡核苷酸的3' 末端或与寡核苷酸的内部位点连接。在一些实施方案中,接头通过硫醇反应性键联(例如,通过抗TfR1抗体中的半胱氨酸)与抗TfR1抗体连接。在一些实施方案中,接头(例如,包含缬氨

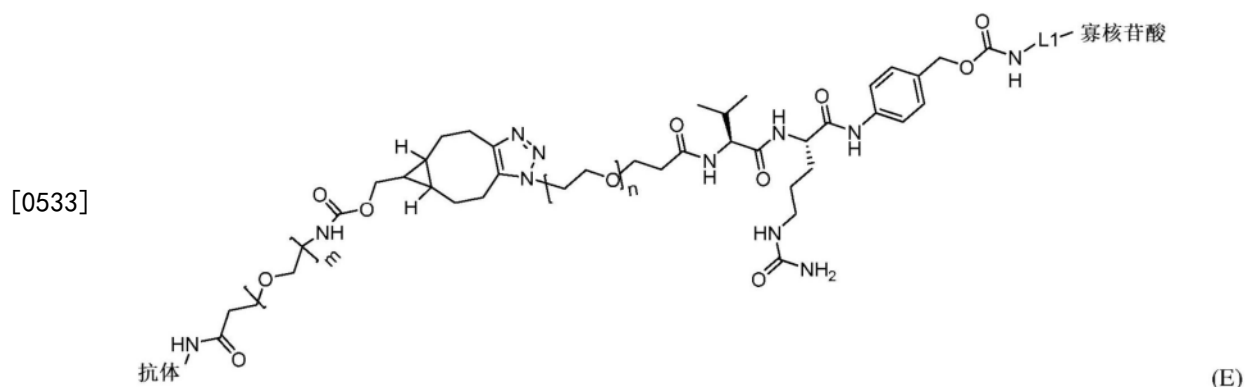
酸-瓜氨酸序列的接头)通过胺基(例如,通过抗体中的赖氨酸)与抗体(例如,本文中所述的抗TfR1抗体)连接。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0529] 下面提供了复合物的结构的一个实例,所述复合物包含通过接头与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体:

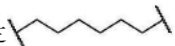


[0531] 其中接头通过硫醇反应性键联(例如,通过抗体中的半胱氨酸)与抗体连接。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0532] 下面提供了复合物的结构的另一个实例,所述复合物包含通过接头与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体:



[0534] 其中n是0至10的数字,其中m是0至10的数字,其中接头通过胺基(例如,在赖氨酸残基上)与抗体连接,和/或(例如,和)其中接头与寡核苷酸(例如,在5'末端、3'末端或内部)连接。在一些实施方案中,接头通过赖氨酸与抗体连接,接头在5'末端与寡核苷酸连接,n是3并且m是4。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0535] 在一些实施方案中,L1是。应理解的是,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0536] 应理解,抗体可与具有不同化学计量的分子载荷连接,该特性可被称为药物抗体比(drug to antibody ratio,DAR),其中“药物”是分子载荷。在一些实施方案中,一个分子载荷与一个抗体连接(DAR=1)。在一些实施方案中,两个分子载荷与一个抗体连接(DAR=2)。在一些实施方案中,三个分子载荷与一个抗体连接(DAR=3)。在一些实施方案中,四个分子载荷与一个抗体连接(DAR=4)。在一些实施方案中,提供了不同复合物的混合物,每种复合物具有不同的DAR。在一些实施方案中,这样的混合物中的复合物的平均DAR可在1至3、

1至4、1至5或更大的范围内。可通过将分子载荷缀合至抗体上的不同位点和/或(例如,和)通过将多聚体缀合至抗体上的一个或更多个位点来提高DAR。例如,可通过将单个分子载荷缀合至抗体上的两个不同位点或通过将二聚体分子载荷缀合至抗体的单个位点来实现DAR为2。

[0537] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的本文中所述的抗TfR1抗体(例如,表2至7中提供的抗体)。在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过接头(例如,包含缬氨酸-瓜氨酸序列的接头)与分子载荷共价连接的本文中所述的抗TfR1抗体(例如,表2至7中提供的抗体)。在一些实施方案中,接头(例如,包含缬氨酸-瓜氨酸序列的接头)通过硫醇反应性键联(例如,通过抗体中的半胱氨酸)与抗体(例如,本文中所述的抗TfR1抗体)连接。在一些实施方案中,接头(例如,包含缬氨酸-瓜氨酸序列的接头)通过胺基(例如,通过抗体中的赖氨酸)与抗体(例如,本文中所述的抗TfR1抗体)连接。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0538] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表2中列出的任一种抗体的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0539] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71或SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0540] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73或SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0541] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73或SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0542] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0543] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77或SEQ ID NO:79的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0544] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID

N0:155的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0545] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:84、SEQ ID N0:86或SEQ ID N0:87的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:85的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0546] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:88或SEQ ID N0:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:89的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0547] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:88或SEQ ID N0:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:90的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0548] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:92或SEQ ID N0:94的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:95的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0549] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:92的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:93的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0550] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:156的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:157的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0551] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:97、SEQ ID N0:98或SEQ ID N0:99的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:85的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0552] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:100或SEQ ID N0:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:89的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0553] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID N0:100或SEQ ID N0:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID N0:90的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

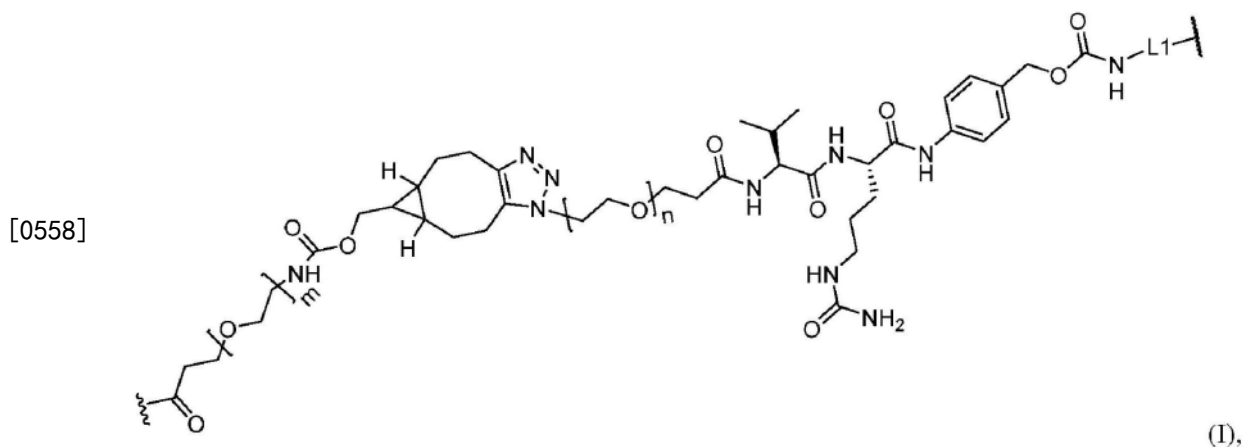
[0554] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗

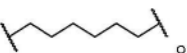
体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

[0555] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102或SEQ ID NO:103的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

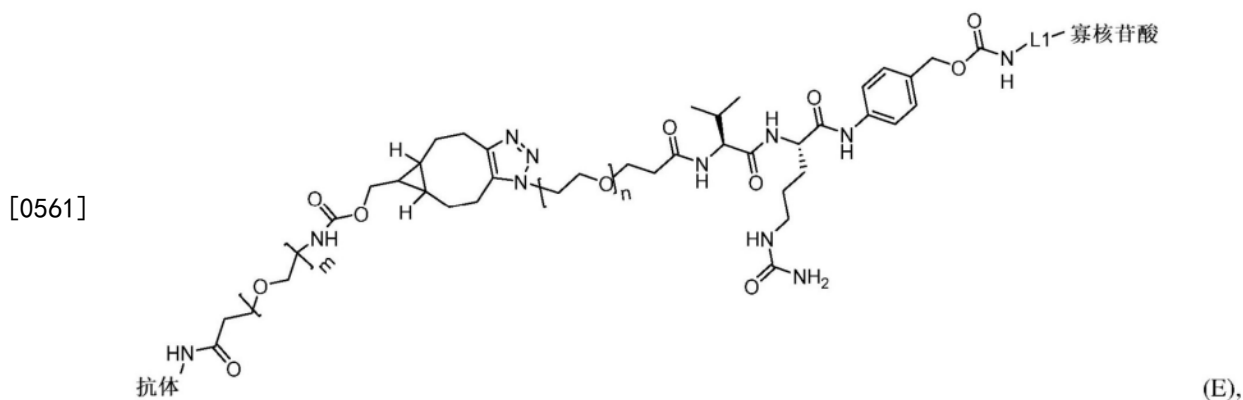
[0556] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:158或SEQ ID NO:159的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)。

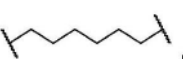
[0557] 在本文中所述的任何示例性复合物中,在一些实施方案中,抗TfR1抗体通过包含以下结构的接头与分子载荷共价连接:



[0559] 其中n是3,m是4,并且L1是 .

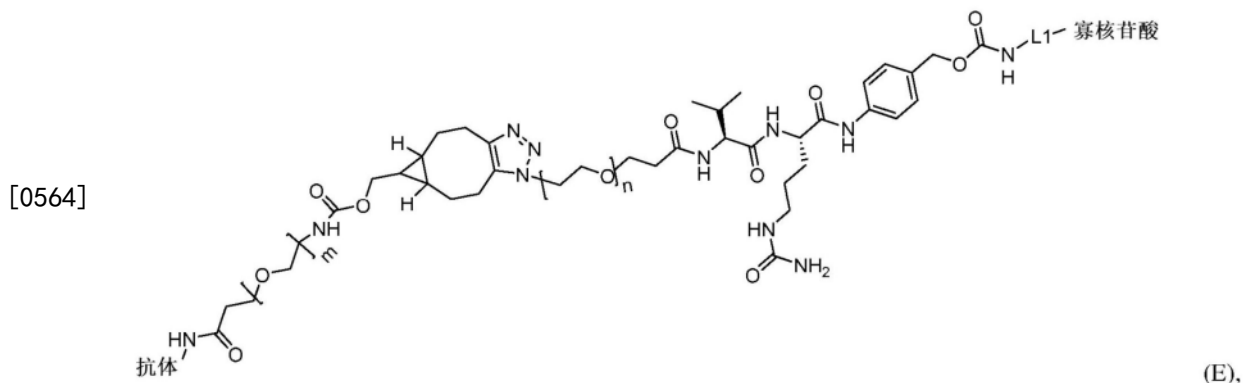
[0560] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表2中列出的任一种抗体的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其中所述复合物具有以下结构:

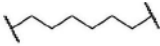


[0562] 其中n是3并且m是4,并且其中L1是 。应理解的是,在式(E)中示出的与

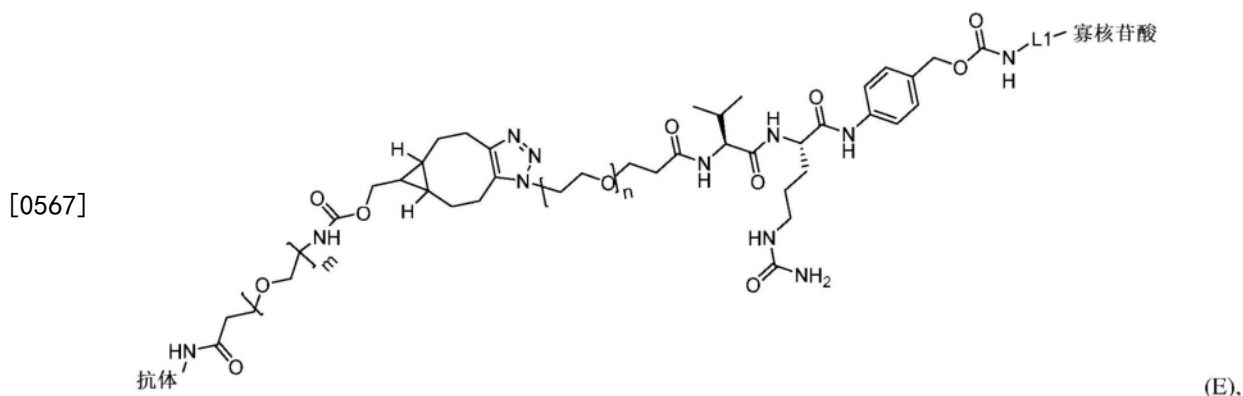
抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸 ϵ 胺)的反应产生的。

[0563] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表3中列出的任一种抗体的VH和VL,其中所述复合物具有以下结构:



[0565] 其中n是3并且m是4,并且其中L1是 。应理解的是,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸 ϵ 胺)的反应产生的。

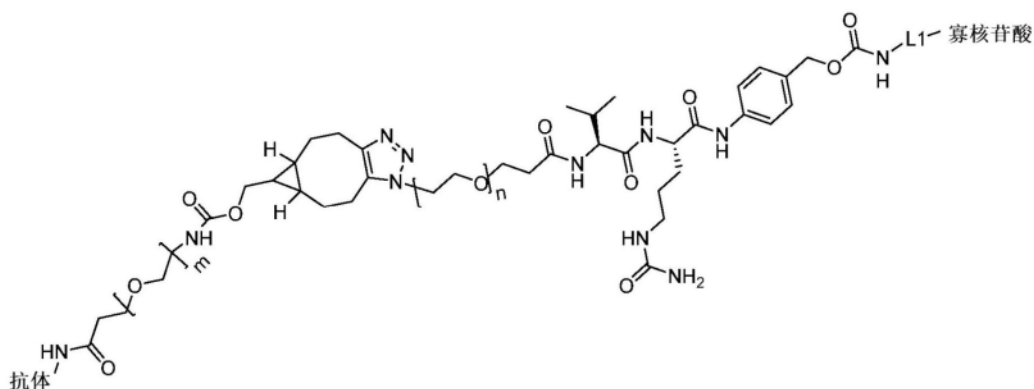
[0566] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表4中列出的任一种抗体的重链和轻链,其中所述复合物具有以下结构:



[0568] 其中n是3并且m是4,并且其中L1是 。应理解的是,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸 ϵ 胺)的反应产生的。

[0569] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与DMPK靶向寡核苷酸(例如,表8、表9或表10中列出的DMPK靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1 Fab,其中所述抗TfR1 Fab包含表5中列出的任一种抗体的重链和轻链,其中所述复合物具有以下结构:

[0570]



[0571] 其中n是3并且m是4,并且其中L1是 。应理解的是,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0572] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酸的键联在L1与寡核苷酸之间形成磷酸二酯键。

[0573] 在一些实施方案中,L1是任选的(例如,不是必要存在的)。

[0574] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物的DMPK靶向寡核苷酸包含选自以下的结构:

[0575]

+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 276),
 x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
 +A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),
 +G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),
 x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),
 xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286),
 xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352), 和
 x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),

[0576] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0577] III. 制剂

[0578] 本文中提供的复合物可以以任何合适的方式配制。通常来说,本文中提供的复合物以适用于药物用途的方式配制。例如,可使用使降解最小化、促进递送和/或(例如,和)摄取或者为制剂中的复合物提供另外的有益特性的制剂将复合物递送至对象。在一些实施方案中,本文中提供了包含复合物和可药用载体的组合物。这样的组合物可适当地配制,使得当施用于对象时,无论是施用至靶细胞的直接环境中或全身性施用,足够量的复合物都能进入靶细胞(例如,肌细胞或CNS细胞)。在一些实施方案中,复合物被配制在缓冲溶液例如磷酸缓冲盐水溶液、脂质体、胶束结构和衣壳中。

[0579] 应理解,在一些实施方案中,组合物可分别包含本文中提供的复合物的一种或更多种组分(例如,肌肉靶向剂、接头、分子载荷或它们中任一者的前体分子)。

[0580] 在一些实施方案中,复合物被配制在水或水溶液(例如,用pH调节的水)中。在一些

实施方案中,复合物被配制在碱性缓冲水溶液(例如,PBS)中。在一些实施方案中,本文中公开的制剂包含赋形剂。在一些实施方案中,赋形剂赋予组合物以改善的稳定性、改善的吸收、改善的溶解性和/或(例如,和)活性成分的治疗性增强。在一些实施方案中,赋形剂是缓冲剂(例如,柠檬酸钠、磷酸钠、tris碱或氢氧化钠)或载剂(例如,缓冲溶液、矿脂(petrolatum)、二甲基亚砷或矿物油)。

[0581] 在一些实施方案中,将复合物或其组分(例如,寡核苷酸或抗体)冻干用于延长其保质期,并随后在使用(例如,施用于对象)之前制成溶液。因此,包含本文中所述的复合物或其组分的组合物中的赋形剂可以是冻干保护剂(例如,甘露醇、乳糖、聚乙二醇或聚乙烯吡咯烷酮)或崩解温度调节剂(例如,右旋糖酐、ficoll或明胶)。

[0582] 在一些实施方案中,药物组合物被配制成与其预期施用途径相容。施用途径的一些实例包括肠胃外施用,例如静脉内、皮内、皮下施用。通常来说,施用途径是静脉内或皮下的。

[0583] 适用于可注射使用的药物组合物包含无菌水溶液(在具有水溶性时)或分散体,以及用于即时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。载体可以是溶剂或分散介质,其包含例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等),及其合适的混合物。在一些实施方案中,组合物中的制剂包含等张剂,例如糖、多元醇例如甘露醇、山梨醇以及氯化钠。无菌可注射溶液可通过将所需量的复合物与以上列举的成分之一或组合(根据需要)一起并入选定的溶剂中,然后过滤灭菌来制备。

[0584] 在一些实施方案中,组合物可包含至少约0.1%的复合物或其组分,或者更多,尽管活性成分的百分比可为总组合物的重量或体积的约1%至约80%或更多。本领域技术人员将考虑制备这样的药物制剂的因素例如溶解性、生物利用度、生物学半衰期、施用途径、产品保质期以及其他药理学考虑因素,并且因此多种剂量和治疗方案可以是期望的。

[0585] IV. 使用/治疗方法

[0586] 包含与本文中所述的分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物在治疗强直性肌营养不良中是有效的。在一些实施方案中,复合物在治疗1型强直性肌营养不良(DM1)中是有效的。在一些实施方案中,DM1与DMPK的3'非编码区中CTG/CUG三核苷酸重复的扩增相关。在一些实施方案中,核苷酸扩增导致能够形成发夹结构的毒性RNA重复,所述发夹结构以高亲和力结合关键的胞内蛋白,例如盲肌样蛋白。

[0587] 在一些实施方案中,对象可以是人对象、非人灵长类对象、啮齿动物对象或任何合适的哺乳动物对象。在一些实施方案中,对象可患有强直性肌营养不良。在一些实施方案中,对象具有可任选地包含疾病相关重复的DMPK等位基因。在一些实施方案中,对象可具有DMPK等位基因,所述DMPK等位基因具有扩增的疾病相关重复,所述扩增的疾病相关重复包含约2至10个重复单元、约2至50个重复单元、约2至100个重复单元、约50至1,000个重复单元、约50至500个重复单元、约50至250个重复单元、约50至100个重复单元、约500至10,000个重复单元、约500至5,000个重复单元、约500至2,500个重复单元、约500至1,000个重复单元或约1,000至10,000个重复单元。在一些实施方案中,对象患有DM1的症状,例如肌肉萎缩或肌肉损失。在一些实施方案中,对象不患有DM1的症状。在一些实施方案中,对象患有先天性强直性肌营养不良。

[0588] 本公开内容的一个方面包括涉及向对象施用有效量的本文中所述的复合物的方

法。在一些实施方案中,可向有治疗需要的对象施用有效量的包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物的药物组合物。在一些实施方案中,可通过合适的途径施用包含如本文中所述的复合物的药物组合物,所述途径可包括静脉内施用,例如作为推注(bolus)或通过在一时间内的连续输注。在一些实施方案中,可通过肌内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内或鞘内途径进行静脉内施用。在一些实施方案中,药物组合物可以是固体形式、水性形式或液体形式。在一些实施方案中,可将水性或液体形式雾化或冻干。在一些实施方案中,雾化或冻干形式可用水溶液或液体溶液重构。

[0589] 用于静脉内施用的组合物可包含多种载体,例如植物油、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、乳酸乙酯、碳酸乙酯、豆蔻酸异丙酯、乙醇以及多元醇(甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)。对于静脉内注射,水溶性抗体可通过滴注方法施用,通过该方法输注包含抗体和生理学上可接受的赋形剂的药物制剂。生理学上可接受的赋形剂可包括,例如5%右旋糖、0.9%盐水、林格溶液(Ringer's solution)或其他合适的赋形剂。可将肌内制剂,例如抗体的合适可溶性盐形式的无菌制剂溶解在药用赋形剂例如注射用水、0.9%盐水或5%葡萄糖溶液中并施用。

[0590] 在一些实施方案中,包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物的药物组合物通过位点特异性或局部递送技术施用。这些技术的一些实例包括复合物的可植入储库源、局部递送导管、位点特异性载体、直接注射或直接应用。

[0591] 在一些实施方案中,包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物的药物组合物以赋予对象治疗作用的有效浓度施用。如本领域技术人员所公认的,有效量根据疾病的严重程度、所治疗对象的独特特征(例如年龄、身体状况、健康或体重)、治疗的持续时间、任何同时治疗的性质、施用途径和相关因素而变化。这些相关因素是本领域技术人员已知的,并且仅通过常规实验即可解决。在一些实施方案中,有效浓度是被认为对患者安全的最大剂量。在一些实施方案中,有效浓度将是提供最大效力的最低的可能浓度。

[0592] 经验考虑因素(例如复合物在对象中的半衰期)通常将有助于确定用于治疗的药物组合物的浓度。施用频率可凭经验确定和调整以使治疗效力最大化。

[0593] 可使用任何合适的方法评估治疗的效力。在一些实施方案中,治疗的效力可如下进行评估:通过对与DM1相关的症状(例如肌肉萎缩或肌无力)的观察结果进行的评价,通过对象的自我报告结局(例如移动性、自我护理、日常活动、疼痛/不适和焦虑/抑郁)的测度,或通过生活质量指标(例如寿命)。

[0594] 在一些实施方案中,将包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的本文中所述的复合物的药物组合物以相对于对照(例如治疗之前基因表达的基线水平)足以抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的靶基因活性或表达的有效浓度施用于对象。

[0595] 另外的实施方案

[0596] 1.复合物,其包含与寡核苷酸共价连接的抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体,所述寡核苷酸被配置用于降低DMPK的表达或活性,其中所述抗TfR1抗体包含表2至7中列出的任何抗TfR1抗体的重链互补决定区1(CDR-H1)、重链互补决定区2(CDR-H2)、重链互补决定区3(CDR-H3)、轻链互补决定区1(CDR-L1)、轻链互补决定区2(CDR-L2)、轻链互补决定区3(CDR-L3),

- [0597] 并且其中所述寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中
- [0598] X包含3至7个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;
- [0599] Y包含6至15个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且
- [0600] Z包含3至7个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷。
- [0601] 2.实施方案1所述的复合物,其中
- [0602] X包含3至5个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;
- [0603] Y包含6至10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞嘧啶任选且独立地是5-甲基-胞嘧啶;并且
- [0604] Z包含3至5个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷。
- [0605] 3.实施方案1或实施方案2所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体包含表3中列出的任何抗TfR1抗体的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)。
- [0606] 4.实施方案1至3中任一项所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体包含含有与SEQ ID NO:76具有至少95%同一性的氨基酸序列的重链可变区(VH)和/或包含含有与SEQ ID NO:75具有至少95%同一性的氨基酸序列的轻链可变区(VL),
- [0607] 任选地,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。
- [0608] 5.实施方案1至3中任一项所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体是Fab,任选地其中所述Fab包含表5中列出的任何抗TfR1 Fab的重链和轻链。
- [0609] 6.实施方案5所述的复合物,其中所述Fab包含含有与SEQ ID NO:101具有至少85%同一性的氨基酸序列的重链和/或包含含有与SEQ ID NO:90具有至少85%同一性的氨基酸序列的轻链,
- [0610] 任选地,其中所述Fab包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。
- [0611] 7.实施方案1至6中任一项所述的复合物,其中所述抗体与所述寡核苷酸通过接头共价连接。
- [0612] 8.实施方案7所述的复合物,其中所述接头是可切割接头。
- [0613] 9.实施方案7或实施方案8所述的复合物,其中所述接头包含缬氨酸-瓜氨酸序列。
- [0614] 10.实施方案1至9中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸的长度为15至25个核苷并且包含针对SEQ ID NO:160至230任一者中至少15个连续核苷的互补区,任选地其中所述核苷酸的长度为15至20个核苷。
- [0615] 11.实施方案1至10中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:231至362中任一者的至少15个连续核苷,其中每个胸腺嘧啶碱基(T)可独立且任选地用尿嘧啶碱基(U)替代,并且每个U可独立且任选地用T替代。
- [0616] 12.实施方案1至11中任一项所述的复合物,其中X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或者Z中的每个核苷是2'-经修饰核苷,任选地其中每个2'-经修饰核苷独立地是2'-4'双环核苷或非双环2'-经修饰核苷。
- [0617] 13.实施方案1至12中任一项所述的复合物,其中X中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷和/或者Z中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷,任选地其中所述非双环2'-经修饰

核苷是2'-MOE修饰的核苷。

[0618] 14. 实施方案1至12中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含以下的5'-X-Y-Z-3' 构型:

	X	Y	Z
	EEEEEE	(D) ₁₀	EEEEEE,
	EEE	(D) ₁₀	EEE,
	EEEEEE	(D) ₁₀	EEEE,
[0619]	EEEEEE	(D) ₁₀	EE,
	LLL	(D) ₁₀	LLL,
	EELL	(D) ₈	LLEE,
	LLEE	(D) ₈	EELL, 或
	LLEEE	(D) ₁₀	EEELL,

[0620] 其中“E”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“L”是LNA;“D”是2'-脱氧核糖核苷;并且“10”或“8”是Y中2'-脱氧核糖核苷的数目。

[0621] 15. 实施方案1至14中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联。

[0622] 16. 实施方案1至15中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸中的每个核苷间键联均是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0623] 17. 实施方案1至15中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含一个或更多个磷酸二酯核苷间键联,任选地其中所述一个或更多个磷酸二酯核苷间键联在X和或Z中。

[0624] 18. 实施方案1至17中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含选自以下的结构:

[0625]

oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),
oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 308),
oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 309),
oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),
oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),
oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),

[0626] oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),
oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
oG*oG*oG*oC*oC*xC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xC*dG*dG*dA*xC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*xC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340), 和
oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*xC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),

[0627] 其中“xC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0628] 19. 实施方案18所述的复合物,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并且包含选自以下的结构:

[0629] NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),

NH₂-(CH₂)₆-oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),

NH₂-(CH₂)₆-oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),

NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),

[0630] NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),

NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),

NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),

NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oU}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{oC}^*\text{oC}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{oC}$ (SEQ ID NO: 337),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{oC}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dC}^*\text{dC}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{oC}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{oC}^*\text{oC}$ (SEQ ID NO: 338),

- [0631] $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oU}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dC}^*\text{oC}^*\text{oC}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{oC}$ (SEQ ID NO: 339),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oC}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{oC}^*\text{oC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 340),
 和
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oC}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{oC}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 341),

[0632] 其中“ x^*dC ”是5-甲基-脱氧胞苷;“ dN ”是2'-脱氧核糖核苷;“ oN ”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“ oC ”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“ oU ”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“ x^*oG ”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“ $*$ ”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0633] 并且任选地,其中在5'- $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-$ 与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0634] 20. 实施方案1至17中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含选自以下的结构:

$\text{x}^*\text{C}^*\text{A}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{G}^*\text{x}^*\text{C}$ (SEQ ID NO: 275),

$\text{x}^*\text{oC}^*\text{oA}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{G}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{oG}^*\text{x}^*\text{oC}$ (SEQ ID NO: 275),

$\text{G}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{oA}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oA}^*\text{A}^*\text{G}^*$ (SEQ ID NO: 276),

$\text{oG}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{A}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 276),

$\text{A}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{A}$ (SEQ ID NO: 342),

$\text{oA}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{G}^*\text{U}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{A}^*\text{G}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 342),

$\text{x}^*\text{C}^*\text{A}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{A}^*\text{G}^*$ (SEQ ID NO: 278),

$\text{A}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{A}^*\text{U}^*$ (SEQ ID NO: 343),

$\text{U}^*\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{A}^*\text{G}^*$ (SEQ ID NO: 344),

- [0635] $\text{G}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{A}^*\text{x}^*\text{C}$ (SEQ ID NO: 281),

$\text{x}^*\text{C}^*\text{A}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oG}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{x}^*\text{C}$ (SEQ ID NO: 345),

$\text{G}^*\text{U}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dC}^*\text{oU}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{A}^*\text{G}^*$ (SEQ ID NO: 346),

$\text{x}^*\text{C}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{U}^*\text{U}^*$ (SEQ ID NO: 347),

$\text{A}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oU}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{U}^*$ (SEQ ID NO: 348),

$\text{x}^*\text{C}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{A}$ (SEQ ID NO: 286),

$\text{x}^*\text{C}^*\text{A}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oU}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{x}^*\text{C}^*\text{A}$ (SEQ ID NO: 349),

$\text{G}^*\text{U}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oG}^*\text{A}^*\text{A}$ (SEQ ID NO: 350),

$\text{G}^*\text{G}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{G}^*\text{A}$ (SEQ ID NO: 289),

$\text{A}^*\text{A}^*\text{oA}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{x}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}^*\text{oC}^*\text{oA}^*\text{G}^*\text{U}^*$ (SEQ ID NO: 351),

$x+C*+U*oU*xoC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*xoC*oA*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 352),
 $+A*+G*oU*oU*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*+G*+U$ (SEQ ID NO: 353),
 $x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U$ (SEQ ID NO: 354),
 $xoC*oA*+A*+A*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*+G*x+C*oA*oG$ (SEQ ID NO: 278),
 $oA*xoC*+U*+U*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*+U*x+C*oA*oU$ (SEQ ID NO: 343),
 $oU*oA*+G*+U*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*+G*+A*oA*oG$ (SEQ ID NO: 344),
 $oG*xoC*x+C*x+C*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*+G*+G*oA*xoC$ (SEQ ID NO: 281),
 $xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA$ (SEQ ID NO: 286),
 $xoC*oA*x+C*+U*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*+U*+U*xoC*oA$ (SEQ ID NO: 349),
 $oG*oU*+A*+G*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*x+C*+G*oA*oA$ (SEQ ID NO: 350),
 $oG*oG*x+C*x+C*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*+A*+G*oG*oA$ (SEQ ID NO: 289),
 [0636] $oA*oA*+A*x+C*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*x+C*+A*oG*oU$ (SEQ ID NO: 351),
 $xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC$ (SEQ ID NO: 352),
 $oA*oG*+U*+U*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*+A*+A*oG*oU$ (SEQ ID NO: 353),
 $xoC*xoC*x+C*+G*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*+G*+A*xoC*oU$ (SEQ ID NO: 354),
 $x+C*x+C*oA*oU*dG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xoC*xoC*+G*x+C$ (SEQ ID NO: 355),
 $+A*+U*oG*oA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xdC*oG*xoC*x+C*+A$ (SEQ ID NO: 356),
 $x+C*+G*oU*xoC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xoC*oU*x+C*+A$ (SEQ ID NO: 357),
 $+U*x+C*oA*xoC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xdC*dT*xoC*oA*+G*x+C$ (SEQ ID NO: 358),
 $+A*x+C*xoC*oA*dG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*oU*oA*+G*+U$ (SEQ ID NO: 359),
 $x+C*+A*oG*oG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 360),
 $x+C*+A*xoC*xoC*dA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xoC*xoC*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 361), 和
 $x+C*x+C*oA*oA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xdC*oU*xoC*+U*x+C$ (SEQ ID NO: 362),

[0637] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0638] 21. 实施方案20所述的复合物,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并且包含选自以下的结构:

$NH_2-(CH_2)_6-x+C*+A*xoC*oG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*oA*oA*+G*x+C$ (SEQ ID NO: 275),
 [0639] $NH_2-(CH_2)_6-xoC*oA*x+C*+G*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*+A*+A*oG*xoC$ (SEQ ID NO: 275),
 $NH_2-(CH_2)_6-+G*x+C*oA*xoC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xoC*oA*+A*+G$ (SEQ ID NO: 276),

NH₂-(CH₂)₆-oG*xoC*+A*x+C*dG*dT*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*x+C*+A*oA*oG (SEQ ID NO: 276),
NH₂-(CH₂)₆-+A*x+C*oG*oU*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO: 342),
NH₂-(CH₂)₆-oA*xoC*+G*+U*dG*dT*dG*dG*xdC*dT*xdC*dA*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 342),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*oA*oA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*oG*xoC*+A*+G (SEQ ID NO: 278),
NH₂-(CH₂)₆-+A*x+C*oU*oU*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*oU*xoC*+A*+U (SEQ ID NO: 343),
NH₂-(CH₂)₆-+U*+A*oG*oU*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*oG*oA*+A*+G (SEQ ID NO: 344),
NH₂-(CH₂)₆-+G*x+C*xoC*xoC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*xdC*dA*oG*oG*+A*x+C (SEQ ID NO: 281),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*oU*oG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xoC*oG*x+C*x+C (SEQ ID NO: 345),
NH₂-(CH₂)₆-+G*+U*xoC*oA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*dC*oU*xoC*+A*+G (SEQ ID NO: 346),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*oA*oG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*oA*oG*+U*+U (SEQ ID NO: 347),
NH₂-(CH₂)₆-+A*x+C*xoC*oA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xoC*oU*x+C*+U (SEQ ID NO: 348),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*oA*oA*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*oA*oG*x+C*+A (SEQ ID NO: 286),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*xoC*oU*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*oU*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 349),
NH₂-(CH₂)₆-+G*+U*oA*oG*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xoC*oG*+A*+A (SEQ ID NO: 350),
NH₂-(CH₂)₆-+G*+G*xoC*xoC*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*oA*oG*+G*+A (SEQ ID NO: 289),
NH₂-(CH₂)₆-+A*+A*oA*xoC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*xoC*oA*+G*+U (SEQ ID NO: 351),
[0640] NH₂-(CH₂)₆-x+C*+U*oU*xoC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*xoC*oA*+U*x+C (SEQ ID NO: 352),
NH₂-(CH₂)₆-+A*+G*oU*oU*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*+G*+U (SEQ ID NO: 353),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*xoC*oG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*oG*oA*x+C*+U (SEQ ID NO: 354),
NH₂-(CH₂)₆-xoC*oA*+A*+A*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*+G*x+C*oA*oG (SEQ ID NO: 278),
NH₂-(CH₂)₆-oA*xoC*+U*+U*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*+U*x+C*oA*oU (SEQ ID NO: 343),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oA*+G*+U*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*+G*+A*oA*oG (SEQ ID NO: 344),
NH₂-(CH₂)₆-oG*xoC*x+C*x+C*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*+G*+G*oA*xoC (SEQ ID NO: 281),
NH₂-(CH₂)₆-xoC*xoC*+A*+A*dA*xdC*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*+A*+G*xoC*oA (SEQ ID NO: 286),
NH₂-(CH₂)₆-xoC*oA*x+C*+U*dT*xdC*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*+U*+U*xoC*oA (SEQ ID NO: 349),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oU*+A*+G*dT*dT*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*x+C*+G*oA*oA (SEQ ID NO: 350),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*x+C*x+C*xdC*dG*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*+A*+G*oG*oA (SEQ ID NO: 289),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oA*+A*x+C*dT*dT*dG*xdC*dT*xdC*dA*dG*x+C*+A*oG*oU (SEQ ID NO: 351),
NH₂-(CH₂)₆-xoC*oU*+U*x+C*dA*dG*xdC*dT*dG*dT*dT*dT*x+C*+A*oU*xoC (SEQ ID NO: 352),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*+U*+U*dG*dA*xdC*dT*dG*dG*xdC*dG*+A*+A*oG*oU (SEQ ID NO: 353),
NH₂-(CH₂)₆-xoC*xoC*x+C*+G*dG*dA*dT*xdC*dA*xdC*dA*dG*+G*+A*xoC*oU (SEQ ID NO: 354),
NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*oA*oU*dG*dA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xoC*xoC*+G*x+C (SEQ ID NO: 355),
NH₂-(CH₂)₆-+A*+U*oG*oA*xdC*dA*dA*dT*xdC*dT*xdC*xdC*oG*xoC*x+C*+A (SEQ ID NO: 356),

- NH₂-(CH₂)₆-x+C*+G*oU*xC*dA*xdC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xC*oU*x+C*+A (SEQ ID NO: 357),
- NH₂-(CH₂)₆-+U*x+C*oA*xC*xdC*dT*xdC*dG*dG*xdC*xdC*dT*xC*oA*+G*x+C (SEQ ID NO: 358),
- NH₂-(CH₂)₆-+A*x+C*xC*oA*dG*dG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*oU*oA*+G*+U (SEQ ID NO: 359),
- [0641] NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*oG*oG*dT*dA*xdC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*+U*x+C (SEQ ID NO: 360),
- NH₂-(CH₂)₆-x+C*+A*xC*xC*dA*dA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xC*xC*+U*x+C (SEQ ID NO: 361), 和
- NH₂-(CH₂)₆-x+C*x+C*oA*oA*xdC*dA*xdC*dG*dT*xdC*xdC*xdC*oU*xC*+U*x+C (SEQ ID NO: 362),
- [0642] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,
- [0643] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。
- [0644] 22.降低肌细胞中DMPK表达的方法,所述方法包括使所述肌细胞与有效量的实施方案1至21中任一项所述的复合物接触以降低所述肌细胞中的DMPK表达。
- [0645] 23.实施方案22所述的方法,其中降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK RNA的量,任选地其中所述DMPK RNA量在所述肌细胞的核中降低。
- [0646] 24.实施方案22或实施方案23所述的方法,其中降低所述肌细胞中的DMPK表达包括降低所述肌细胞中DMPK蛋白的量。
- [0647] 25.治疗1型强直性肌营养不良(DM1)的方法,所述方法包括向有此需要的对象施用有效量的实施方案1至21中任一项所述的复合物,其中所述对象具有包含疾病相关CTG重复的突变体DMPK等位基因。
- [0648] 26.实施方案25所述的方法,其中所述施用导致所述对象中肌细胞中的DMPK mRNA降低至少30%。
- [0649] 27.实施方案25或实施方案26所述的方法,其中所述施用导致所述对象中肌细胞的核中的DMPK mRNA降低。
- [0650] 28.寡核苷酸,其包含选自以下的结构:

oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),
oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 308),
oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 309),
oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),
oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
[0651] oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),
oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),
oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),
oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),

oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
[0652] oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340), 和
oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),

[0653] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。

[0654] 29. 实施方案28所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并且包含选自以下的结构:

NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oG*dC*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dT*dG*oG*oC*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 302),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oC*oA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*dT*oC*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 303),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oC*oA*oC*oC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*dC*dC*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 304),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oU*dC*dA*dC*dC*dA*dA*dC*dA*xdC*dG*oU*oC*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 305),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oA*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*dA*oU*oC*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 306),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oU*oA*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dG*dT*dT*dC*dT*dC*oA*oU*oC*oC*oU (SEQ ID NO: 307),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oC*oC*oA*oG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*dG*oU*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 308),
[0655] NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oC*oC*oA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*dA*oG*oU*oU*oC*oU (SEQ ID NO: 309),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oC*dA*dG*dG*dT*dA*dC*dA*dG*dG*dT*oA*xoG*oU*oU*oC (SEQ ID NO: 310),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oC*oA*oA*dA*dC*dT*dT*dG*dC*dT*dC*dA*dG*oC*oA*oG*oU*oG (SEQ ID NO: 311),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oA*oC*oA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*dA*oG*oG*oU*oA*oG (SEQ ID NO: 312),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oU*oG*oA*oC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*dC*oA*oG*oG*oU*oA (SEQ ID NO: 313),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oG*oA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*dC*oC*oA*oG*oG*oU (SEQ ID NO: 314),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oU*oG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*dG*oC*oC*oA*oG*oG (SEQ ID NO: 315),

NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oC*oA*oU*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*xdC*oG*oC*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 316),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oC*oA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*dC*oC*oG*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 246),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dT*dG*dA*dC*dA*dA*dT*dC*dT*oC*oC*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 317),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oU*oG*oC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*dA*oG*oC*oC*oG*oG (SEQ ID NO: 318),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oG*oU*oG*dC*dA*xdC*dG*dT*dA*dG*dC*dC*dA*oA*oG*oC*oC*oG (SEQ ID NO: 319),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oC*oA*oG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*dA*dG*dC*dA*oG*oG*oA*oU*oG (SEQ ID NO: 320),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oC*oC*dA*dC*dA*dG*xdC*dG*dG*dT*dC*dC*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 321),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*dA*oC*oA*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 322),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oG*oC*oG*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*dC*oA*oC*oA*oC*oU (SEQ ID NO: 323),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oG*oC*dG*dC*dC*dC*dA*dC*dC*dA*dG*dT*oC*oA*oC*oA*oC (SEQ ID NO: 254),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oA*oA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dA*dG*xdC*oG*oC*oC*oC*oA (SEQ ID NO: 255),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oC*oG*oA*dA*dT*dA*dC*dA*dC*dC*dA*dG*oC*oG*oC*oC*oC (SEQ ID NO: 256),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oU*oA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*dC*oU*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 324),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oU*oU*oG*oU*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*dT*oC*oU*oU*oG*oC (SEQ ID NO: 325),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oU*oU*oG*dT*dA*dG*dT*dG*dG*dA*xdC*dG*dA*oU*oC*oU*oU*oG (SEQ ID NO: 326),
[0656] NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oG*oA*oG*dA*dC*dC*dA*dT*dC*dC*dC*dA*dG*oU*oC*oG*oA*oG (SEQ ID NO: 327),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oA*oA*oU*oG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*dG*oU*oC*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 328),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oA*oA*oU*dG*dT*dC*xdC*dG*dA*dC*dA*dG*dT*oG*oU*oC*oU*oC (SEQ ID NO: 329),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*dT*dG*dG*dG*dA*dC*dC*dT*dC*dA*oC*oU*oG*oU*oC (SEQ ID NO: 330),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oC*oA*oC*dG*dT*dG*dT*dG*dG*dC*dT*dC*dA*oA*oG*oC*oA*oG (SEQ ID NO: 331),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oC*oA*oC*oU*dT*dC*dA*dG*dC*dT*dG*dT*dT*dT*oC*oA*oU*oC*oC (SEQ ID NO: 332),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oG*oU*oC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*dT*oC*oA*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 333),
NH₂-(CH₂)₆-oA*oG*oC*oG*oU*dC*dA*dC*dC*dT*xdC*dG*dG*dC*dC*oU*oC*oA*oG*oC (SEQ ID NO: 334),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oG*oU*oA*oG*dT*dT*dG*dA*dC*dT*dG*dG*xdC*dG*oA*oA*oG*oU*oU (SEQ ID NO: 335),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oG*oC*oC*xdC*dG*dG*dA*dT*dC*dA*dC*dA*dG*oG*oA*oC*oU*oG (SEQ ID NO: 336),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oU*oG*oC*oC*dC*dA*dT*dC*dC*dA*xdC*dG*dT*dC*oA*oG*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 337),
NH₂-(CH₂)₆-oG*oG*oA*oC*oG*dG*dC*dC*xdC*dG*dG*dC*dT*dT*dG*oC*oU*oG*oC*oC (SEQ ID NO: 338),
NH₂-(CH₂)₆-oU*oG*oG*oA*oA*dC*dA*xdC*dG*dG*dA*xdC*dG*dG*dC*oC*oC*oG*oG*oC (SEQ ID NO: 339),
NH₂-(CH₂)₆-oC*oA*oU*oC*oC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*dA*oU*oU*oG*oG*oG (SEQ ID NO: 340),
和
NH₂-(CH₂)₆-oG*oC*oA*oU*oC*dC*dA*dA*dA*xdC*dG*dT*dG*dG*oA*oU*oU*oG*oG (SEQ ID NO: 341),

[0657] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“xoG”是7-甲基-2'-MOE-鸟苷;并且“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0658] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0659] 30.寡核苷酸,其包含选自以下的结构:

$x+C^*+A^*x_oC^*oG^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*oA^*oA^*+G^*x+C$ (SEQ ID NO: 275),
 $x_oC^*oA^*x+C^*+G^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*+A^*+A^*oG^*x_oC$ (SEQ ID NO: 275),
 $+G^*x+C^*oA^*x_oC^*dG^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dT^*x_oC^*oA^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 276),
 $oG^*x_oC^*+A^*x+C^*dG^*dT^*dG^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dT^*x+C^*+A^*oA^*oG$ (SEQ ID NO: 276),
 $+A^*x+C^*oG^*oU^*dG^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*dA^*oA^*oG^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 342),
 $oA^*x_oC^*+G^*+U^*dG^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*dA^*+A^*+G^*x_oC^*oA$ (SEQ ID NO: 342),
 $x+C^*+A^*oA^*oA^*xdC^*dT^*dT^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*dA^*oG^*x_oC^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 278),
 $+A^*x+C^*oU^*oU^*xdC^*dA^*dG^*xdC^*dT^*dG^*dT^*dT^*oU^*x_oC^*+A^*+U$ (SEQ ID NO: 343),
 $+U^*+A^*oG^*oU^*dT^*dG^*dA^*xdC^*dT^*dG^*dG^*xdC^*oG^*oA^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 344),
 $+G^*x+C^*x_oC^*x_oC^*dG^*dG^*dA^*dT^*dC^*dA^*xdC^*dA^*oG^*oG^*+A^*x+C$ (SEQ ID NO: 281),
 $x+C^*+A^*oU^*oG^*dA^*xdC^*dA^*dA^*dT^*xdC^*dT^*xdC^*x_oC^*oG^*x+C^*x+C$ (SEQ ID NO: 345),
 $+G^*+U^*x_oC^*oA^*xdC^*xdC^*dT^*xdC^*dG^*dG^*xdC^*dC^*oU^*x_oC^*+A^*+G$ (SEQ ID NO: 346),
 $x+C^*x+C^*oA^*oG^*dG^*dT^*dA^*xdC^*dA^*dG^*dG^*dT^*oA^*oG^*+U^*+U$ (SEQ ID NO: 347),
 [0660] $+A^*x+C^*x_oC^*oA^*dA^*xdC^*dA^*xdC^*dG^*dT^*xdC^*xdC^*x_oC^*oU^*x+C^*+U$ (SEQ ID NO: 348),
 $x+C^*x+C^*oA^*oA^*dA^*xdC^*dT^*dT^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*oA^*oG^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 286),
 $x+C^*+A^*x_oC^*oU^*dT^*xdC^*dA^*dG^*xdC^*dT^*dG^*dT^*oU^*oU^*x+C^*+A$ (SEQ ID NO: 349),
 $+G^*+U^*oA^*oG^*dT^*dT^*dG^*dA^*xdC^*dT^*dG^*dG^*x_oC^*oG^*+A^*+A$ (SEQ ID NO: 350),
 $+G^*+G^*x_oC^*x_oC^*xdC^*dG^*dG^*dA^*dT^*xdC^*dA^*xdC^*oA^*oG^*+G^*+A$ (SEQ ID NO: 289),
 $+A^*+A^*oA^*x_oC^*dT^*dT^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*dA^*dG^*x_oC^*oA^*+G^*+U$ (SEQ ID NO: 351),
 $x+C^*+U^*oU^*x_oC^*dA^*dG^*xdC^*dT^*dG^*dT^*dT^*dT^*x_oC^*oA^*+U^*x+C$ (SEQ ID NO: 352),
 $+A^*+G^*oU^*oU^*dG^*dA^*xdC^*dT^*dG^*dG^*xdC^*dG^*oA^*oA^*+G^*+U$ (SEQ ID NO: 353),
 $x+C^*x+C^*x_oC^*oG^*dG^*dA^*dT^*xdC^*dA^*xdC^*dA^*dG^*oG^*oA^*x+C^*+U$ (SEQ ID NO: 354),
 $x_oC^*oA^*+A^*+A^*xdC^*dT^*dT^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*dA^*+G^*x+C^*oA^*oG$ (SEQ ID NO: 278),
 $oA^*x_oC^*+U^*+U^*xdC^*dA^*dG^*xdC^*dT^*dG^*dT^*dT^*+U^*x+C^*oA^*oU$ (SEQ ID NO: 343),
 $oU^*oA^*+G^*+U^*dT^*dG^*dA^*xdC^*dT^*dG^*dG^*xdC^*+G^*+A^*oA^*oG$ (SEQ ID NO: 344),
 $oG^*x_oC^*x+C^*x+C^*dG^*dG^*dA^*dT^*dC^*dA^*dC^*dA^*+G^*+G^*oA^*x_oC$ (SEQ ID NO: 281),
 $x_oC^*x_oC^*+A^*+A^*dA^*xdC^*dT^*dT^*dG^*xdC^*dT^*xdC^*+A^*+G^*x_oC^*oA$ (SEQ ID NO: 286),

- $\text{xOC}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xOC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 349),
 $\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 350),
 $\text{oG}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{xC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{oG}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 289),
 $\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{xOC}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oU}^*\text{xOC}$ (SEQ ID NO: 352),
 $\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dG}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{xOC}^*\text{xOC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{xOC}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 354),
 [0661] $\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 355),
 $+\text{A}^*+\text{U}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{xC}^*\text{oG}^*\text{xOC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 356),
 $\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oU}^*\text{xOC}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{xOC}^*\text{oU}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 357),
 $+\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xOC}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 358),
 $+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 359),
 $\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 360),
 $\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 361), 和
 $\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{xC}^*\text{xC}^*\text{oU}^*\text{xOC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 362),
 [0662] 其中“xC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联。
 [0663] 31. 实施方案30所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸在其5'末端处与胺基缀合并且包含选自以下的结构:
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xOC}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 275),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-xOC}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{xOC}$ (SEQ ID NO: 275),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-+G}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xOC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xOC}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 276),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-oG}^*\text{xOC}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 276),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-+A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 342),
 [0664] $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-oA}^*\text{xOC}^*+\text{G}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{xOC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 342),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{xOC}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 278),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-+A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{xOC}^*+\text{A}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 343),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-+U}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xC}^*\text{oG}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 344),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-+G}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xOC}^*\text{xOC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oG}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 281),
 $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oU}^*\text{oG}^*\text{dA}^*\text{xC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{dT}^*\text{xC}^*\text{xOC}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 345),

$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{G}^*+\text{U}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dC}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*+\text{A}^*+\text{G}$ (SEQ ID NO: 346),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 347),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{x}+\text{C}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{oU}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 348),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 286),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{oU}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 349),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{G}^*+\text{U}^*\text{oA}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xoC}^*\text{oG}^*+\text{A}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 350),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{G}^*+\text{G}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{G}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 289),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 352),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{G}^*\text{oU}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xoC}^*\text{oG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 354),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 278),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 343),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{oA}^*\text{oG}$ (SEQ ID NO: 344),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{dC}^*\text{dA}^*\text{dC}^*\text{dA}^*+\text{G}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 281),
[0665] $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 286),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{U}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{xoC}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 349),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oA}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 350),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oG}^*\text{oG}^*\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*+\text{A}^*+\text{G}^*\text{oG}^*\text{oA}$ (SEQ ID NO: 289),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{oA}^*+\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 351),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dT}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oU}^*\text{xoC}$ (SEQ ID NO: 352),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{oA}^*\text{oG}^*+\text{U}^*+\text{U}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*+\text{A}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 353),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*+\text{G}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{oU}$ (SEQ ID NO: 354),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oU}^*\text{dG}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 355),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*+\text{U}^*\text{oG}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oG}^*\text{xoC}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 356),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{G}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{oU}^*\text{x}+\text{C}^*+\text{A}$ (SEQ ID NO: 357),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{U}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{xoC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{dT}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*+\text{G}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 358),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{A}^*\text{x}+\text{C}^*\text{xoC}^*\text{oA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{oU}^*\text{oA}^*+\text{G}^*+\text{U}$ (SEQ ID NO: 359),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{oG}^*\text{oG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{dG}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{dA}^*\text{oG}^*\text{oU}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 360),
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*+\text{A}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*\text{dA}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xoC}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 361), 和
 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{x}+\text{C}^*\text{x}+\text{C}^*\text{oA}^*\text{oA}^*\text{xdC}^*\text{dA}^*\text{xdC}^*\text{dG}^*\text{dT}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{xdC}^*\text{oU}^*\text{xoC}^*+\text{U}^*\text{x}+\text{C}$ (SEQ ID NO: 362),

[0666] 其中“xdC”是5-甲基-脱氧胞苷;“dN”是2'-脱氧核糖核苷;“oN”是2'-MOE修饰的核糖核苷;“xoC”是5-甲基-2'-MOE-胞苷;“x+C”是5-甲基LNA胞苷;“+N”是LNA核苷;“oU”是5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”是5-甲基LNA尿苷;“*”表示硫代磷酸酯(PS)核苷间键联,

[0667] 并且任选地,其中在5'-NH₂-(CH₂)₆-与所述寡核苷酸之间存在磷酸二酯键联或其他部分。

[0668] 32. 组合物, 其包含钠盐形式的实施方案28至31中任一项所述的寡核苷酸。

[0669] 实施例

[0670] 实施例1. DMPK靶向寡核苷酸 (ASO) 的体外活性

[0671] 产生了用于靶向DMPK的间隔聚体反义寡核苷酸 (ASO)。以两种剂量即500pM (低剂量) 和50nM (高剂量) 评价每种单独的寡核苷酸靶向细胞中的DMPK的能力。

[0672] 简言之, 将DM1 C15永生化成肌细胞在T-75烧瓶中培养直至接近汇合 (约80% 汇合)。然后将成肌细胞用胰蛋白酶破坏, 并以50,000个细胞/孔的密度接种到96孔微板中。允许细胞恢复过夜, 随后洗掉生长培养基并用无血清培养基替代以诱导分化为肌管。进行分化持续7天, 随后用DMPK靶向寡核苷酸处理。

[0673] 在诱导分化之后的第七天, 使用0.3μL Lipofectamine MessengerMax/孔用单独的寡核苷酸转染DM1 C15肌管。在500pM和50nM两种最终浓度下生物学一式三份地测试所有寡核苷酸。在用寡核苷酸处理之后, 将细胞孵育72小时, 随后收获总RNA。由总RNA提取物合成cDNA, 并技术上一式四份地进行qPCR以确定DMPK的表达水平。所有qPCR数据均使用传统 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析并相对于基于板的阴性对照进行归一化, 所述阴性对照包含用载剂对照 (0.3μL/孔的Lipofectamine MessengerMax, 不含任何寡核苷酸) 处理的细胞。来自这些实验的结果在表11中示出。表11中每种反义寡核苷酸的‘剩余转录物’是指相对于阴性对照载剂处理的细胞中的表达 (其中该阴性对照的表达水平归一化至等于1.00), 用所述ASO处理的细胞中DMPK的表达水平。

[0674] 大多数受试的DMPK靶向间隔聚体ASO在受试的低和高剂量浓度二者下均表现出在分化的肌管中DMPK表达降低。这些数据表明表9中所示的ASO能够靶向细胞中的DMPK, 表明包含这些反义寡核苷酸 (例如, 本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸) 的肌肉靶向复合物将能够在体内靶向肌肉组织中的DMPK。

[0675] 表11. CL5细胞中的DMPK敲低

[0676]

ASO [†]	CL5细胞中的效力	
	50 nM	500 pM
	剩余转录物	剩余转录物
ASO1	0.26	0.68
ASO2	0.18	0.62
ASO3	0.16	0.53
ASO4	0.13	0.61
ASO5	0.27	0.8
ASO6	0.34	0.68
ASO7	0.23	0.84
ASO8	0.29	0.57
ASO9	0.36	0.78
ASO10	0.38	0.63
ASO11	0.33	0.61
ASO12	0.4	0.58
ASO13	0.29	0.71
ASO14	0.24	0.65
ASO15	0.19	0.69
ASO16	0.25	0.58
ASO17	0.27	0.7
ASO18	0.25	0.75
ASO19	0.3	0.74
ASO20	0.4	0.93
ASO21	0.31	0.7
ASO22	0.36	0.7
ASO23	0.35	0.63
ASO24	0.29	0.64
ASO25	0.3	0.93
ASO26	0.31	0.8
ASO27	0.19	0.83
ASO28	0.11	0.76
ASO29	0.34	0.83
ASO30	0.2	0.86
ASO31	0.37	0.7
ASO32	0.36	0.6
ASO33	0.23	0.63
ASO34	0.36	0.89
ASO35	0.36	0.78
ASO36	0.19	0.8
ASO37	0.35	0.78
ASO38	0.38	0.75
ASO39	0.38	0.42
ASO40	0.33	0.78
ASO41	0.31	0.42
ASO42	0.39	1.02
ASO43	0.22	0.81
ASO44	0.27	0.97

[0677] †ASO具有如表9中所示的结构。

[0678] 实施例2. 包含与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1 Fab的缀合物在表达人TfR1的小鼠中的体内活性

[0679] 在表达人TfR1的小鼠模型中测试包含与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3的缀合物。抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3通过具有式(I)结构的可切割接头与DMPK靶向寡核苷酸共价连接。在第0天和第7天将缀合物以相当于10mg/kg寡核苷酸的剂量施用于小鼠。在第14天处死小鼠,并收集不同的肌肉组织并分析组织中的小鼠Dmpk mRNA水平和寡核苷酸浓度。缀合物将胫骨前肌中的小鼠野生型Dmpk降低79% (图1A),将腓肠肌中的小鼠野生型Dmpk降低76% (图1B),将心脏中的小鼠野生型Dmpk降低70% (图1C),以及将膈肌中的小鼠野生型Dmpk降低88% (图1D)。胫骨前肌、腓肠肌、心脏和膈肌中的寡核苷酸分布在图1E至1H中示出。

[0680] 这些数据表明,在体内小鼠模型中,抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3使得缀合物能够细胞内化到肌肉组织中,从而允许DMPK靶向寡核苷酸降低DMPK的表达。类似地,抗TfR1抗体(例如,抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3)可使得包含与另一DMPK靶向寡核苷酸(例如,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸)缀合的抗TfR1抗体的缀合物能够细胞内化以降低DMPK的表达。

[0681] 实施例3. 包含与DMPK靶向反义寡核苷酸(ASO)共价连接的抗TfR1 Fab的缀合物的体外活性

[0682] 进行体外实验以确定表9中列出的DMPK靶向反义寡核苷酸(ASO)在降低横纹肌肉瘤细胞(RD; ATCC, Manassas, VA)和表达含380个CUG重复的突变体DMPK mRNA的DM1-32F原代细胞(32F细胞; Cook MyoSite, Pittsburg, PA)中的DMPK mRNA表达以及校正DM1-32F细胞中的BIN1外显子11剪接缺陷中的活性。所有ASO均与抗TfR1 Fab抗体(3M12-VH4/Vκ3)共价连接以形成包含式(E)结构的复合物。

[0683] 将RD细胞扩增并以10,000个细胞/孔的密度接种到384孔板中。将细胞在37°C下恢复过夜。第二天,更换培养基,并将细胞用1,000nM ASO当量的Fab-ASO复合物处理并允许其孵育72小时。在72小时之后,提取总RNA,并使用TaqMan Fast-Advanced Cells-to-Ct试剂盒(ThermoFisher Scientific, Waltham, MA)产生cDNA。使用特定的TaqMan PCR测定(ThermoFisher Scientific)用cDNA来评估总DMPK敲低。将数据归一化为PPIB表达,并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法来确定与载体处理的对照细胞相比的剩余DMPK表达(表12)。

[0684] 将DM1-32F原代细胞解冻,允许其恢复,并随后以10,000个细胞/孔的密度接种在384孔板中的生长培养基中。第二天,将生长培养基更换为低血清分化培养基,并将细胞用10、100或1,000nM ASO当量的Fab-ASO复合物中的任一者处理。将细胞与复合物一起孵育10天,然后提取总RNA,并使用TaqMan Fast-Advanced Cells-to-Ct试剂盒产生cDNA。

[0685] 使用特定的TaqMan PCR测定用cDNA来评估总DMPK敲低。将数据归一化为PPIB表达,并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法来确定与仅载体对照相比的DMPK敲低。数据表示为与载体处理的对照细胞相比的剩余DMPK表达(表12)。另外,使用多重TaqMan qPCR测定(ThermoFisher Scientific)评价DM1介导的异常剪接的修饰,以评价异常剪接的和正常的转录物。对包含外显子11的BIN1转录物进行测量,因为从BIN1中排除外显子11是与DM1相关的。这些数据表示为与载体处理的细胞相比,异常剪接与正常的平均比率(表13)。比率为1表示当与用载体对照处理的DM1患者肌管相比,未观察到异常剪接的变化。比率大于1表示更多的转录物具有野生型剪接模式。比率小于1表示更多的转录物具有DM1相关的剪接模式。

[0686] 这些数据表明,抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3使得Fab-ASO复合物能够细胞内化到细胞中,从而允许DMPK靶向ASO降低DMPK mRNA的表达,并促进对BIN1外显子11剪接缺陷的校

正。类似地,抗TfR1抗体(例如,抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3)可使得包含与另一DMPK靶向寡核苷酸(例如,本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸)缀合的抗TfR1抗体的缀合物能够细胞内化以降低DMPK的表达并促进其下游效应(例如,对DM1相关剪接缺陷的校正)。

[0687] 表12. 用抗TfR1 Fab-ASO复合物或载剂对照处理的RD细胞和32F细胞中的DMPK mRNA水平

[0688]

ASO [†]	RD 细胞 DMPK 表达 vs. 载剂	32F 细胞 DMPK 表达 vs. 载剂			
	1000 nM ASO	1000 nM ASO	100 nM ASO	10 nM ASO	
ASO1	0.72	0.18	0.76	1.12	
ASO2	0.86	0.23	0.70	0.80	
ASO3	0.77	0.18	0.53	0.82	
ASO4	0.84	0.20	0.78	0.77	
ASO5	0.63	0.27	0.74	0.84	

[0689]

ASO6	0.56	0.40	0.58	0.58
ASO7	0.56	0.26	0.63	0.69
ASO8	0.59	0.19	0.47	0.67
ASO9	0.61	0.32	0.61	0.76
ASO10	0.64	0.21	0.47	0.55
ASO11	0.87	0.40	0.69	0.74
ASO12	0.75	0.23	0.72	0.76
ASO13	0.79	0.30	0.67	0.76
ASO14	0.75	0.16	0.55	0.59
ASO15	0.73	0.14	0.55	0.64
ASO16	0.67	0.18	0.45	0.61
ASO17	0.83	0.32	0.54	0.76
ASO18	0.77	0.59	0.56	0.65
ASO19	0.74	0.24	0.66	0.77
ASO20	0.69	0.14	0.53	0.62
ASO21	0.86	0.15	0.54	0.74
ASO22	0.72	0.17	0.47	0.56
ASO23	0.67	0.11	0.58	0.69
ASO24	0.68	0.10	0.44	0.62
ASO25	0.77	0.16	0.56	0.75
ASO26	0.76	0.51	0.60	0.67
ASO27	0.68	0.29	0.73	0.76
ASO28	0.71	0.24	0.62	0.72
ASO29	0.77	0.23	0.75	0.78
ASO30	0.76	0.37	0.68	0.74
ASO31	0.76	0.19	0.58	0.74
ASO32	0.71	0.17	0.49	0.69
ASO33	0.87	0.10	0.71	0.83
ASO34	0.57	0.12	0.37	0.56
ASO35	0.63	0.25	0.56	0.67
ASO36	0.64	0.15	0.57	0.67
ASO37	0.84	0.21	0.68	0.84
ASO38	0.64	0.21	0.57	0.72
ASO39	0.77	0.12	0.65	0.69
ASO40	0.81	0.50	0.65	0.89
ASO41	0.97	0.42	0.82	0.89
ASO42	0.82	0.15	0.69	0.84
ASO43	0.82	0.25	0.70	1.02
ASO44	0.86	0.12	0.68	0.82

[0690] 表13. 对用抗TfR1 Fab-ASO复合物处理的32F细胞中BIN1剪接缺陷的校正

[0691]

ASO [†]	32F 细胞 BIN1外显子 11包涵vs.载剂		
	1000 nM ASO	100 nM ASO	10 nM ASO
ASO1	2.11	1.44	1.05

[0692]

ASO2	2.19	1.63	1.42
ASO3	1.92	1.17	1.20
ASO4	1.63	1.48	1.15
ASO5	2.10	1.36	1.15
ASO6	1.38	1.58	1.40
ASO7	1.55	1.24	1.31
ASO8	1.60	1.56	1.34
ASO9	1.90	1.37	1.19
ASO10	1.47	1.86	1.49
ASO11	2.00	1.18	1.43
ASO12	1.47	1.51	1.33
ASO13	2.06	1.31	1.13
ASO14	1.62	1.61	1.43
ASO15	1.99	1.39	1.42
ASO16	1.86	1.81	1.40
ASO17	1.89	1.46	1.26
ASO18	1.83	1.66	1.37
ASO19	2.33	1.22	1.35
ASO20	2.06	1.66	1.37
ASO21	1.77	1.36	1.26
ASO22	1.95	1.73	1.41
ASO23	2.10	1.48	1.43
ASO24	3.00	1.97	1.34
ASO25	2.41	1.50	1.14
ASO26	1.63	1.41	1.20
ASO27	2.01	1.17	1.36
ASO28	1.96	1.58	1.40
ASO29	1.44	1.31	1.18
ASO30	1.66	1.41	1.22
ASO31	2.10	1.30	1.34
ASO32	2.11	1.64	1.31
ASO33	1.84	1.15	1.18
ASO34	2.25	1.76	1.34
ASO35	2.06	1.31	1.37
ASO36	2.75	1.60	1.35
ASO37	2.59	1.29	1.12
ASO38	2.56	1.64	1.22
ASO39	2.97	1.87	1.55
ASO40	1.42	1.23	1.14
ASO41	1.52	1.12	1.15
ASO42	2.53	1.38	1.19
ASO43	1.96	1.26	0.96
ASO44	1.20	1.57	1.01

[0693] †表12和13中的ASO具有如表9中所示的结构。

[0694] 实施例4. 包含与DMPK靶向反义寡核苷酸 (ASO) 共价连接的抗TfR1Fab的缀合物的体外活性

[0695] 进行体外实验以确定包含与抗TfR1 Fab (3M12-VH4/V κ 3) 抗体共价连接的表10中所列DMPK靶向反义寡核苷酸 (ASO) 的缀合物在降低横纹肌肉瘤细胞 (RD; ATCC, Manassas, VA) 和表达含380个CUG重复的突变体DMPK mRNA的DM1-32F原代细胞 (32F细胞; Cook MyoSite, Pittsburg, PA) 中的DMPK mRNA表达以及校正DM1-32F细胞中的BIN1外显子11剪接缺陷中的活性。所有ASO均与抗TfR1 Fab抗体 (3M12-VH4/V κ 3) 共价连接以形成包含式 (E) 结构的复合物。

[0696] 将RD细胞扩增并以10,000个细胞/孔的密度接种到384孔板中。将细胞在37°C下恢复过夜。第二天, 更换培养基, 并将细胞用100nM ASO当量的Fab-ASO复合物处理并允许其孵育72小时。在72小时之后, 提取总RNA, 并使用TaqMan Fast-Advanced Cells-to-Ct试剂盒 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) 产生cDNA。使用特定的TaqMan PCR测定 (ThermoFisher Scientific) 用cDNA来评估总DMPK敲低。将数据归一化为PPIB表达, 并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法来确定与载剂处理的对照细胞相比的缀合物处理的细胞中的DMPK表达 (表14)。数据表示为敲低百分比, 其中更高的正值表示更大的DMPK表达敲低。

[0697] 将DM1 32F原代细胞解冻, 允许其恢复, 并随后以10,000个细胞/孔的密度接种在384孔板中的生长培养基中。第二天, 将生长培养基更换为低血清分化培养基, 并将细胞用10、100或1,000nM ASO当量的Fab-ASO复合物中的任一者处理。将细胞与复合物一起孵育10天, 然后提取总RNA, 并使用TaqMan Fast-Advanced Cells-to-Ct试剂盒产生cDNA。

[0698] 使用特定的TaqMan PCR测定用cDNA来评估总DMPK敲低。将数据归一化为PPIB表达, 并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法来确定与载剂处理的对照细胞相比的缀合物处理的细胞中的DMPK表达 (表14)。数据表示为敲低百分比, 其中更高的正值表示更大的DMPK表达敲低, 而负值表示与相应的载剂处理的对照细胞相比, 在缀合物处理的细胞中未检测到DMPK敲低。

[0699] 另外, 使用多重TaqMan qPCR测定 (ThermoFisher Scientific) 评价DM1介导的异常剪接的修饰, 以评价用100nM ASO当量的Fab-ASO复合物处理的DM1 32F原代细胞中异常剪接的和正常的BIN1转录物。这些数据表示为与载剂处理的细胞相比, Fab-ASO复合物处理的细胞中异常剪接的与正常BIN1的平均比率 (表14)。比率为1表示当与用载剂对照处理的DM1患者肌管相比, 未观察到异常剪接的变化。比率大于1表示与用载剂对照处理的细胞相比, 在用Fab-ASO复合物处理的细胞中, 更多的转录物具有野生型剪接模式。比率小于1表示更多的转录物具有DM1相关的剪接模式。

[0700] 所有受试复合物均在至少一种受试细胞类型中实现了DMPK敲低, 并且在一定程度上均促进了对DM1介导的异常剪接的校正。其中, 包含AS047、AS055、AS058、AS061、AS066、AS071、AS076和AS081的复合物表现最好。

[0701] 这些数据表明, 抗TfR1 Fab 3M12-VH4/V κ 3使得Fab-ASO复合物能够细胞内化到细胞中, 从而允许DMPK靶向ASO降低DMPK mRNA的表达, 并促进对BIN1外显子11剪接缺陷的校正。类似地, 抗TfR1抗体 (例如, 抗TfR1 Fab 3M12-VH4/V κ 3) 可使得包含与另一DMPK靶向寡核苷酸 (例如, 本文中提供的DMPK靶向寡核苷酸) 缀合的抗TfR1抗体的缀合物能够细胞内化以降低DMPK的表达并促进其下游效应 (例如, 对DM1相关剪接缺陷的校正)。

[0702] 表14. 用抗TfR1 Fab-ASO复合物或载剂对照处理的RD细胞和32F细胞中的DMPK敲低 (KD) 和对BIN1剪接缺陷的校正

[0703]

ASO [‡]	RD 细胞 % DMPK KD vs. 载剂	32F 细胞 % DMPK KD vs. 载剂				32F 细胞 BIN1 外显子11包涵 vs. 载剂
	100 nM ASO	1000 nM ASO	100 nM ASO	10 nM ASO	100 nM ASO	
ASO46	41.60	89.87	65.36	11.78	3.76	
ASO47	34.78	80.33	54.14	15.81	2.89	
ASO51	37.60	43.40	-28.00	-62.20	2.10	
ASO52	40.80	65.29	24.40	-29.40	1.88	
ASO53	34.47	70.43	-32.10	-49.60	2.67	
ASO55	33.98	83.69	23.04	-7.90	2.64	
ASO56	34.74	66.30	8.88	-59.90	1.99	
ASO57	36.61	44.69	-49.70	-56.90	1.81	
ASO58	34.49	88.17	31.39	-8.70	2.84	
ASO59	36.95	13.34	-21.70	-23.20	2.20	
ASO60	46.90	94.91	46.75	-6.40	2.58	
ASO61	24.95	62.54	-9.30	-24.40	2.59	
ASO62	34.70	55.34	-12.50	-41.00	3.14	
ASO63	25.03	-12.70	-40.40	-45.20	2.04	
ASO64	46.09	62.62	24.94	4.31	2.24	

[0704]

ASO65	24.39	43.68	-36.10	-39.00	1.98	
ASO66	33.09	77.42	10.42	-14.20	3.91	
ASO67	23.93	-8.10	-40.10	-23.40	1.78	
ASO68	45.84	51.87	29.95	-24.70	2.16	
ASO69	26.02	-0.90	-13.30	-20.00	2.15	
ASO71	34.49	16.07	-9.80	-14.20	2.56	
ASO72	40.07	74.84	38.06	6.43	2.19	
ASO73	31.34	19.53	-1.70	-7.60	2.61	
ASO74	33.57	43.95	-16.60	0.00	2.11	
ASO75	30.30	-17.40	-48.50	-42.50	1.91	
ASO76	44.42	61.32	30.99	-3.70	2.25	
ASO77	29.74	12.56	-23.00	-46.40	1.92	
ASO78	27.06	68.05	1.06	-7.40	2.75	
ASO79	27.89	53.43	-5.80	-15.00	2.60	
ASO80	32.07	28.15	-11.30	-16.40	2.13	
ASO81	24.22	77.30	16.34	-48.30	3.36	
ASO82	21.60	60.64	2.16	-42.50	2.14	
ASO83	21.66	41.81	-45.90	-66.20	1.93	
ASO84	28.64	9.13	-23.10	-49.20	1.82	
ASO85	20.62	53.14	24.08	-26.50	2.26	
ASO86	27.95	47.30	23.21	-9.50	2.21	

[0705] ‡表14中的ASO具有如表10中所示的结构。表10中列出但表14中未示出的ASO未在本实验中测试。

[0706] 实施例5.hTfR1/DMSXL半合子小鼠中DMPK靶向寡核苷酸(ASO)的敲低活性

[0707] 在表达人TfR1和表达含有扩增的CTG重复的突变体人DMPK转基因二者的小鼠(hTfR1/DMSXL小鼠)中测试了包含与DMPK靶向寡核苷酸(ASO58、ASO47、ASO61或ASO66)共价连接的抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3的缀合物。抗TfR1 Fab通过具有式(I)结构的可切割接头与每个ASO共价连接。在第0天和第7天,向小鼠施用载剂对照(PBS)或7.5mg/kg(ASO58缀合

物)、8.8mg/kg (AS047缀合物)、8.1mg/kg (AS061缀合物)或5.6mg/kg (AS066缀合物)AS0等同剂量的抗TfR1Fab-AS0缀合物。在第14天(在施用第一剂的缀合物之后两周)处死小鼠,并收集组织。提取RNA,并对RNA样品进行逆转录-定量聚合酶链式反应(reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction,RT-qPCR)以测量人DMPK和小鼠Ppib(肽基脯氨酰基异构酶)作为内部对照。

[0708] 缀合物将心脏中的毒性人DMPK降低了37%至63%(图2A),将膈肌中的毒性人DMPK降低了34%至59%(图2B),将腓肠肌中的毒性人DMPK降低了28%至46%(图2C),以及将胫骨前肌中的毒性人DMPK降低了6%至45%(图2D)。

[0709] 这些数据表明,在体内小鼠模型中,抗TfR1 Fab 3M12-VH4/Vκ3使得缀合物能够细胞内化到肌肉组织中,从而允许数种DMPK靶向寡核苷酸降低毒性人DMPK的表达。

[0710] 等同方案和术语

[0711] 本文中举例说明性地描述的公开内容可在不存在本文中未具体公开的任何一个或更多个要素、一个或更多个限制的情况下适当地实践。因此,例如,在本文中的每种情况下,术语“包含/包括”、“基本上由.....组成”和“由.....组成”中任一者可用其他两个术语中任一者替代。已采用的术语和表达作为描述而非限制的术语使用,并且使用这样的术语和表达不旨在排除所示出和所描述的特征的任何等同形式或其一部分,而是应认识到,在所公开内容的范围内可进行多种修改。因此,应理解,尽管已通过一些优选的实施方案、任选的特征具体公开了本公开内容,但是本领域技术人员可获取本文中所公开概念的修改和变化,并且这样的修改和变化被认为是在本公开内容的范围内。

[0712] 另外,在根据马库什组(Markush group)或其他替代组描述本公开内容的特征或方面的情况下,本领域技术人员将认识到,本公开内容也因此以马库什组或其他组的任何个体成员或成员亚组的方式描述。

[0713] 应理解,在一些实施方案中,在描述寡核苷酸或其他核酸的结构时可参考序列表中所示的序列。在这样的实施方案中,实际的寡核苷酸或其他核酸与指定序列相比可具有一个或更多个替代核苷酸或核苷(例如,DNA核苷的RNA对应物或RNA核苷的DNA对应物)、和/或者(例如,和)一个或更多个经修饰核苷酸/核苷、和/或者(例如,和)一个或更多个经修饰核苷间键联和/或者(例如,和)一个或更多个其他修饰,同时保留与指定序列基本相同或相似的互补特性。

[0714] 除非在本文中另外指明或与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中(尤其是在所附权利要求的上下文中)使用没有数量词修饰的名词将被解释为一个/种或更多个/种。除非另有说明,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”将被解释为开放式术语(即,意指“包括但不限于”)。除非本文中另外指明,否则本文中值范围的记载仅旨在用作分别指代落入该范围内的每个单独值的速记方法,并且每个单独值均被并入说明书中,如同其在本文中被单独记载一样。除非在本文中另外指明或在其他情况下与上下文明显矛盾,否则本文中所述的所有方法均可以以任何合适的顺序进行。除非另有说明,否则本文中提供的任何和所有实例或示例性语言(如“例如”)的使用仅仅旨在更好地说明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。说明书中的语言均不应被解释为表示对本发明的实践必要的任何未要求保护的要素。

[0715] 本文中描述了本发明的一些实施方案。在阅读前述说明之后,那些实施方案的变

化方案对于本领域普通技术人员可变得明显。

[0716] 本发明人预期技术人员在适当时采用这样的变化方案,并且本发明人希望以除本文中具体描述的之外的方式实践本发明。因此,如适用法律所允许的,本发明包括在此所附权利要求中记载的主题的所有修改方案和等同方案。此外,除非在本文中另外指明或在其他情况下与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖其所有可能变化方案中的上述要素的任何组合。本领域技术人员将认识到或仅使用常规实验就能够确定本文中所述的本发明的具体实施方案的许多等同方案。这样的等同方案旨在由所附权利要求书涵盖。

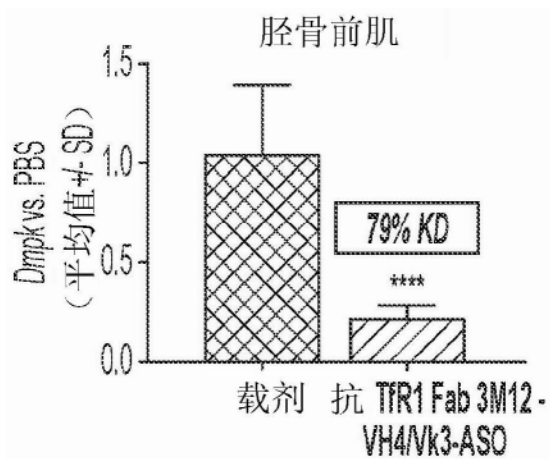


图1A

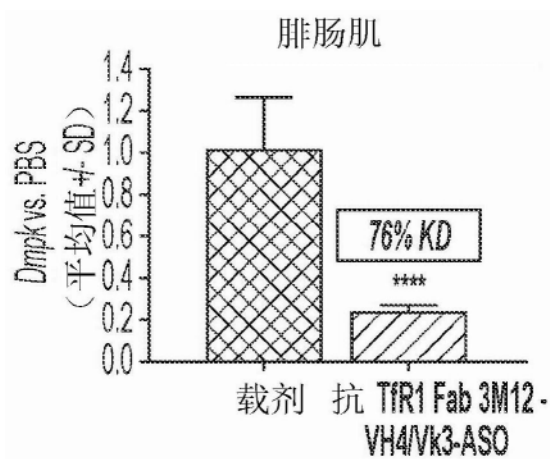


图1B

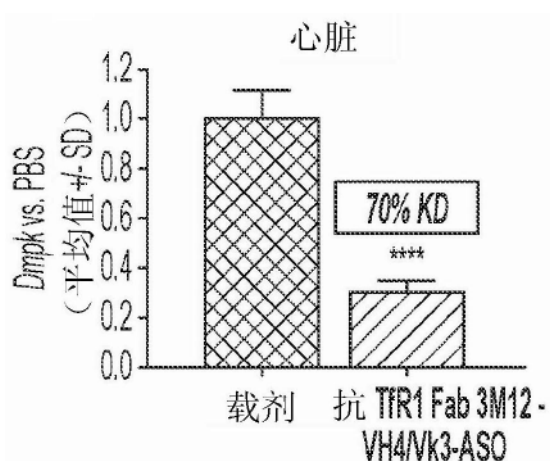


图1C

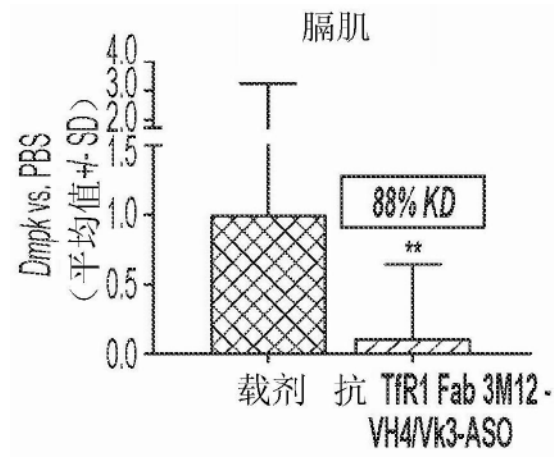


图1D

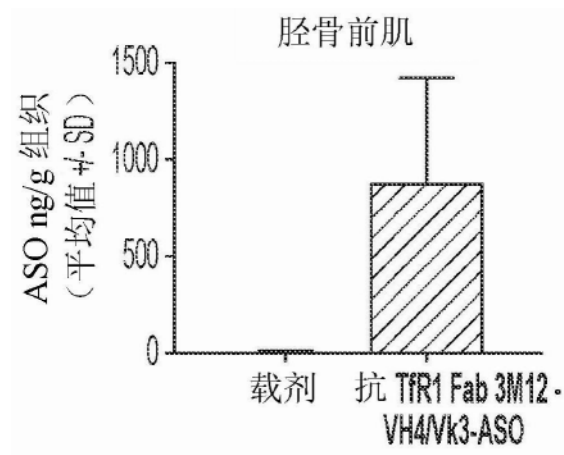


图1E

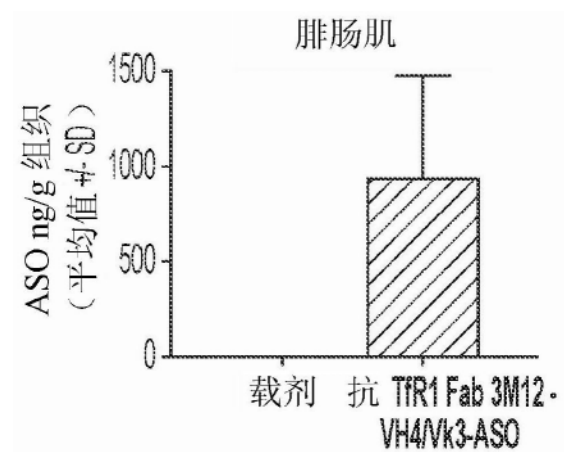


图1F

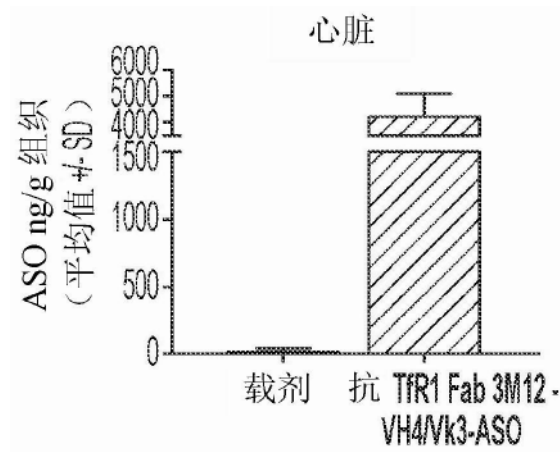


图1G

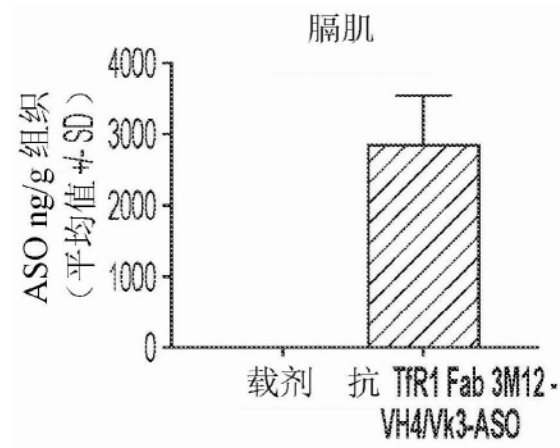


图1H

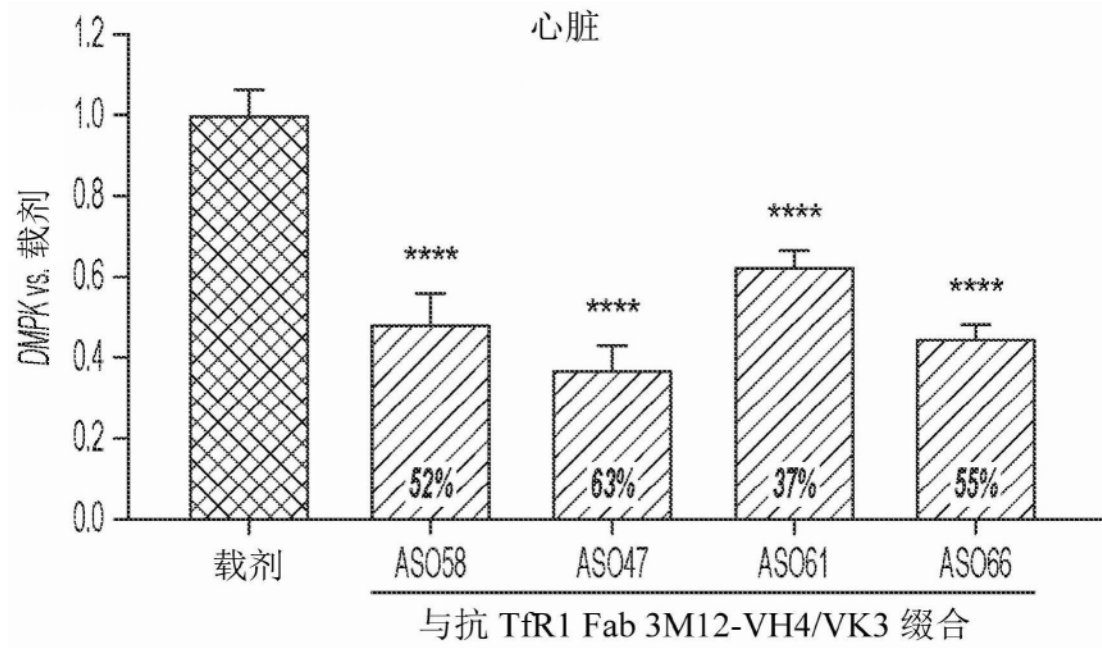


图2A

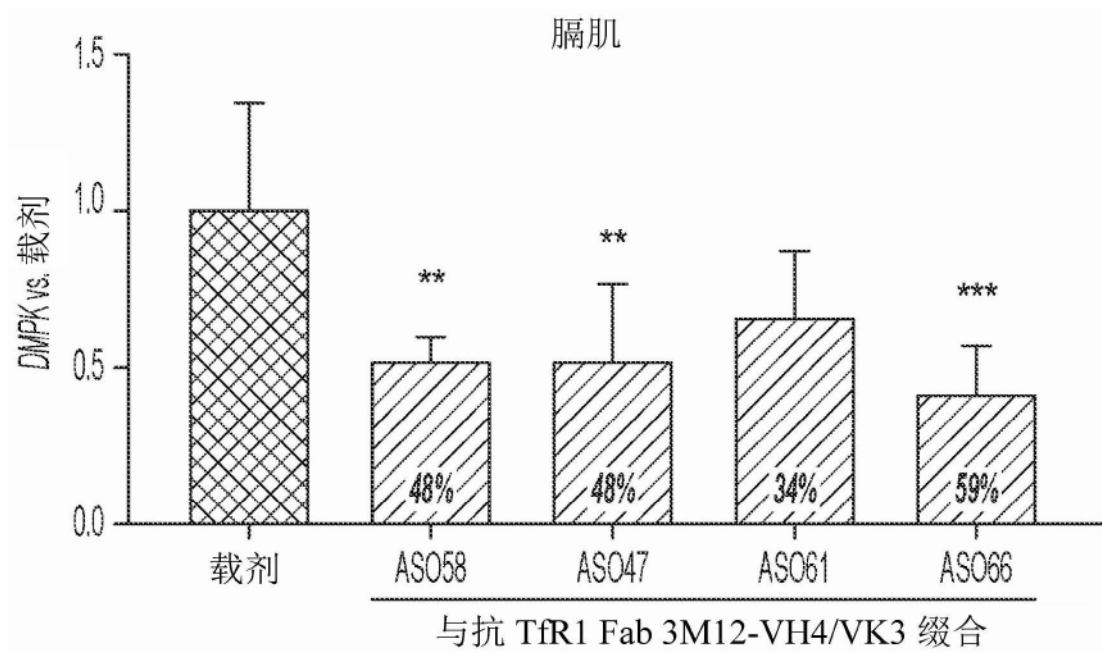


图2B

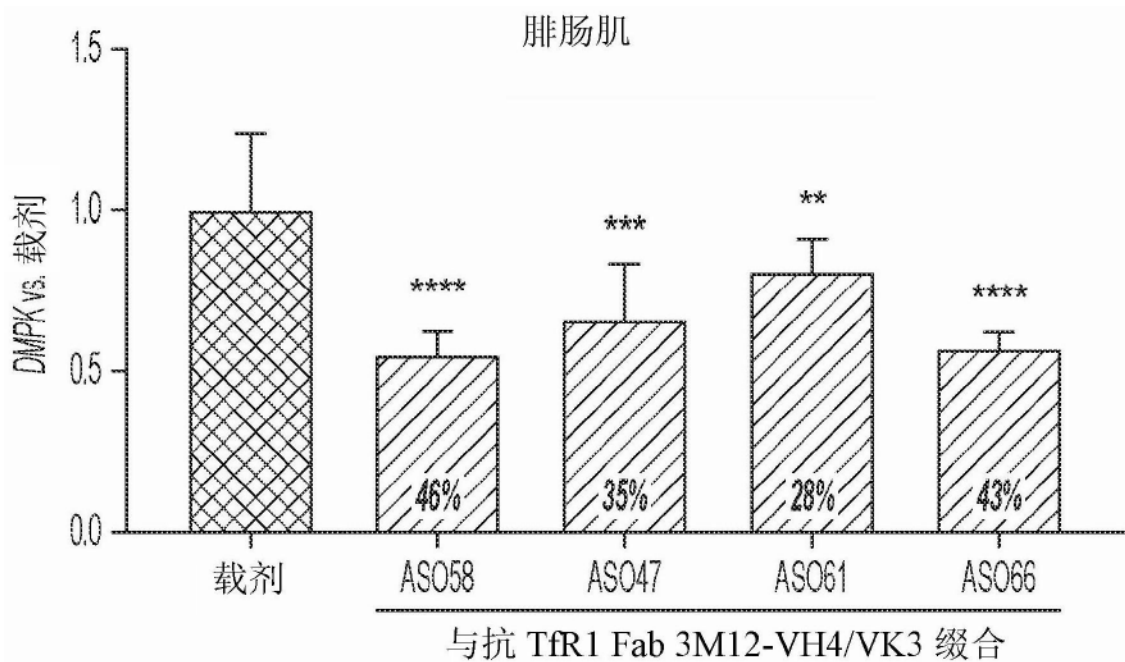


图2C

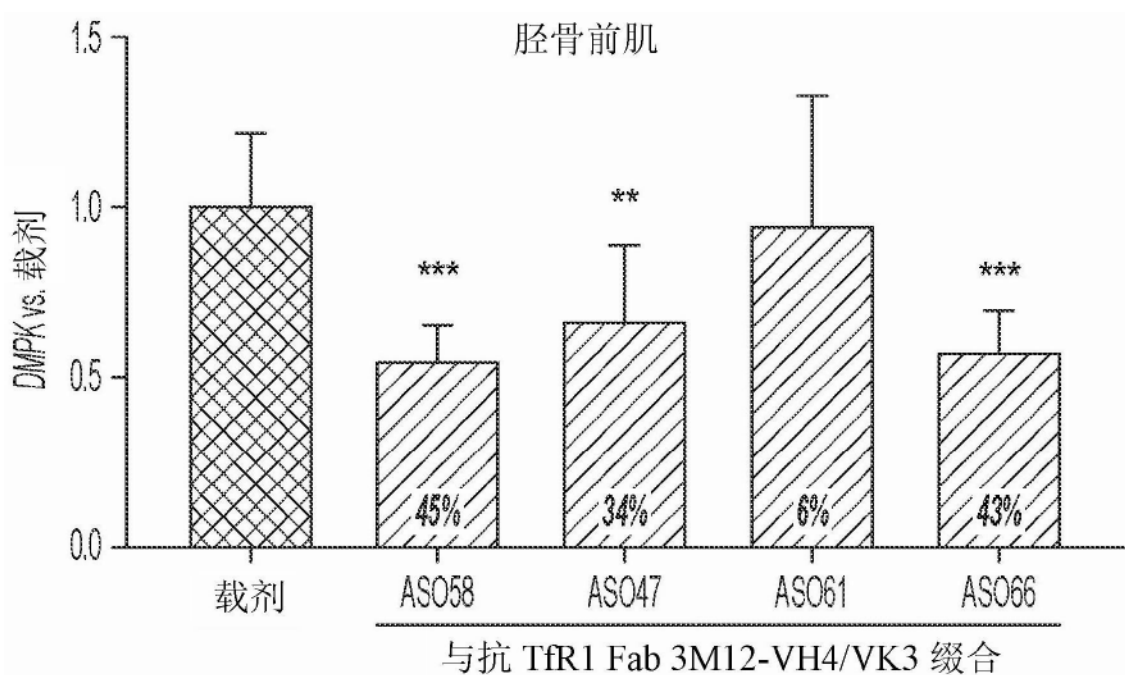


图2D