

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-504375
(P2025-504375A)

(43)公表日 令和7年2月12日(2025.2.12)

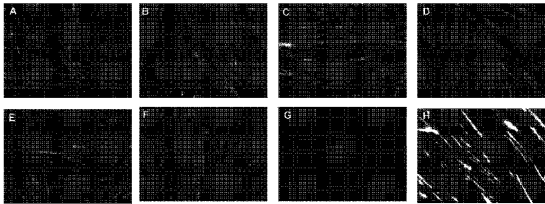
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 4
A 6 1 K	51/10 (2006.01)	A 6 1 K	51/10	2 0 0	4 C 0 8 5
A 6 1 K	49/00 (2006.01)	A 6 1 K	49/00		4 H 0 4 5
A 6 1 K	49/22 (2006.01)	A 6 1 K	49/22		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全101頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-540881(P2024-540881)			(71)出願人	500034653
(86)(22)出願日	令和5年1月6日(2023.1.6)				ジェンザイム・コーポレーション
(85)翻訳文提出日	令和6年8月9日(2024.8.9)				アメリカ合衆国02141マサチューセ
(86)国際出願番号	PCT/US2023/060253				ッツ州ケンブリッジ・ウォーター・スト
(87)国際公開番号	WO2023/133522				リート450
(87)国際公開日	令和5年7月13日(2023.7.13)			(74)代理人	100127926
(31)優先権主張番号	63/297,245				弁理士 結田 純次
(32)優先日	令和4年1月7日(2022.1.7)			(74)代理人	100216105
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				弁理士 守安 智
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV			(72)発明者	ティシャン・ウィリアムズ
	最終頁に続く				アメリカ合衆国メリーランド州2087
					8. ゲイザーズバーグ・クインス・オー
					チャード・ロード704. スイート14
					0. ミレキュール インコーポレイテッド
				(72)発明者	アンソニー・サレ
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 筋細胞表面上で発現されるタンパク質を標的とする組織特異的イメージング及び治療剤

(57)【要約】

治療剤及び診断薬の組織特異的送達のための筋肉を標的とする薬剤が、本明細書に開示される。また、筋肉組織の細胞表面上に発現されるタンパク質を標的とすることによって、組織特異的な方法で、特に筋肉組織に薬剤を送達させる方法が本明細書に開示される。この方法は、病理の検出、イメージング及び／又は治療、並びに診断に使用することができる。

FIGURE 2
Validation of receptor expression in
differentiated human myotubes



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

組織特異的又は組織選択的方法でインビボで筋肉組織に薬剤を送達させる方法であって、前記筋肉組織の筋細胞の表面を、有効量の、前記筋肉組織の前記筋細胞の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する薬剤と接触させ、

前記標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、

前記標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

任意選択で、前記標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 12 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内で内在化され、且つ再利用され、

10

それにより、組織特異的又は組織選択的方法でインビボで筋肉組織に薬剤を送達させることを含む、方法。

【請求項 2】

前記標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及び ACTA1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 3】

前記薬剤が、前記標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

特異的又は選択的結合剤が前記可溶性受容体であり、前記可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、請求項 4 に記載の方法。

30

【請求項 6】

前記可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記薬剤が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 9】

個体における病理を治療する方法であって、前記個体に、治療有効量の、筋肉組織細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する治療用標的化剤を投与し、

前記標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、

前記標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

任意選択で、前記標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 1

50

2 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内に内在化され、且つ再利用され、

それによって、前記個体における前記病理を治療することを含む、方法。

【請求項 10】

前記治療用標的化剤が、活性剤成分と標的化剤成分とを含む薬剤であり、

前記活性剤成分が、放射性核種、化学療法剤、免疫刺激剤、抗腫瘍剤、抗炎症剤、炎症促進剤、アポトーシス促進剤、凝固促進剤、毒素、抗生物質、ホルモン、酵素、タンパク質、担体タンパク質、溶解剤、小分子、アプタマー、細胞、ワクチン誘導細胞又は他の免疫細胞、ナノ粒子、トランスフェリン、免疫グロブリン、多価抗体、脂質、リポタンパク質、リポソーム、変性天然リガンド、遺伝子又は核酸、オリゴヌクレオチド、RNA、siRNA、ncRNA ミミック、ショートヘアピン RNA (shRNA)、dicer 依存性 siRNA (di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO)、ギャップマー、ミキシマー、二本鎖 RNA (dsRNA)、一本鎖 RNA i (ssRNA i)、DNA 依存性 RNA 干渉 (ddRNA i)、RNA 活性化オリゴヌクレオチド (RNAa)、アプタマー、エキソンスキッピングオリゴヌクレオチド、miRNA、miRNA ミミック、mRNA、ガイド RNA、ウイルス又は非ウイルス遺伝子送達ベクター、プロドラッグ、及びプロ分子からなる群から選択され、

前記標的化剤成分が、前記標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記標的化剤成分が、前記標的となるタンパク質に対する特異的又は選択的結合剤を含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記特異的又は選択的結合剤が可溶性受容体であり、前記可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質又はその生物学的に活性なフラグメントである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントを含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 16】

前記抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記活性剤成分がオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであり、

前記標的化剤成分が抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり、

前記活性剤成分が前記標的化剤成分に複合体化され、

前記オリゴヌクレオチドが筋肉組織で発現される疾患遺伝子を標的とする、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 18】

前記標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVI

10

20

30

40

50

L、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される遺伝子によってコードされる、請求項9に記載の方法。

【請求項19】

組織特異的又は組織選択的方法で、イメージング剤を筋肉組織に送達させる方法であって、前記筋肉組織の筋細胞の表面を、有効量の、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤と接触させ、前記標的化剤成分が、前記筋肉組織の前記筋細胞の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合し、

前記標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、

前記標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

任意選択で、前記標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内に内在化され、且つ再利用され、

それによって、組織特異的又は組織選択的方法でイメージング剤を筋肉組織に送達させることを含む、方法。

【請求項20】

前記標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される遺伝子から発現される、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

前記標的化剤成分が、前記標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、請求項19に記載の方法。

【請求項22】

前記特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

前記特異的又は選択的結合剤が可溶性受容体であり、前記可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、請求項22に記載の方法。

【請求項25】

前記標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、請求項19に記載の方法。

【請求項26】

前記抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択される、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

前記イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、請求項19に記載の方法。

【請求項28】

10

20

30

40

50

組織特異的又は選択的な方法でイメージング剤を組織試料に送達させる方法であって、前記方法が、前記組織試料を、有効量の、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤と接触させ、前記標的化剤成分が、前記組織の筋肉細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合し、

前記標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、

前記標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

任意選択で、前記標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され、

それによって、組織特異的又は組織選択的方法でイメージング剤を組織試料に送達させることを含む、方法。

【請求項29】

前記標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される遺伝子から発現される、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記標的化剤成分が、前記標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、請求項28又は29に記載の方法。

【請求項31】

前記特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記特異的又は選択的結合剤が前記可溶性受容体であり、前記可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

前記可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、請求項31又は32に記載の方法。

【請求項34】

前記標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、請求項28～30のいずれか一項に記載の方法。

【請求項35】

前記抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択される、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、請求項28～35のいずれか一項に記載の方法。

【請求項37】

個体の筋肉組織の物理的イメージングを実施する方法であって、前記方法が、前記個体に、有効量の、標的化剤成分とイメージング剤成分とを含むイメージング剤を投与し、前記標的化剤成分が、前記筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合し、

10

20

30

40

50

前記標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、

前記標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

任意選択で、前記標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され、

10

それによって、個体の筋肉組織の物理的イメージングを実施することを含む、方法。

【請求項38】

前記標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される遺伝子から選択され、発現される、請求項37に記載の方法。

【請求項39】

前記イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リボソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、請求項37又は38に記載の方法。

20

【請求項40】

筋肉組織病理の存在又は非存在について個体を評価する方法であって、前記方法が、

a) 前記個体に有効量のイメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤を投与することであって、前記標的化剤成分が、前記筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する、投与することと、

b) MRI若しくは他の医療イメージング、インビトロ診断薬、又はそれらの任意の組み合わせを前記個体において使用することによって、前記イメージング剤の濃度の存在又は非存在について検出することと、

30

c) 前記イメージング剤の濃度の存在又は非存在が、前記病理の存在を示すものであり、

それによって、筋肉組織病理の存在又は非存在について個体を評価することと、を含む、方法。

【請求項41】

前記標的化剤成分が、前記標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、請求項41に記載の方法。

40

【請求項43】

前記特異的又は選択的結合剤が、受容体の細胞外ドメインを含む前記可溶性受容体である、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、請求項42又は43に記載の方法。

【請求項45】

前記標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、請求項40又は41に記載の方法。

【請求項46】

前記抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体

50

、F a b、F a b－F c、F v、一本鎖F v（s c F v）、ダイアボディ、ミニボディ、V N A R、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン（I S V）からなる群から選択される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記標的となるタンパク質が、K L H L 4 1、L M O D 2、E N O 3、F A B P 3、C H R N A 1、S E M A 6 C、X I R P 2、X I R P 1、C A V I N 4、C F L 2、S V I L、M U S K、A R T 1、C A C N A 1 S、C D H 1 5、C L C N 1、M Y M X、及び A C T A 1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、請求項 4 0 ～ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記イメージング剤が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、請求項 4 0 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

治療用標的化剤による治療に対する個体からの筋肉組織の応答を評価する方法であって、前記治療用標的化剤が、前記筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し、前記方法が、

a) 前記治療用標的化剤による治療の前に、前記個体から得られた試料中の前記標的となるタンパク質のレベルを決定することと、

b) M R I 若しくは他の医療イメージング、インビトロ診断薬、又はそれらの任意の組み合わせを使用することによって、前記治療用標的化剤による治療中又は治療後の前記個体から得られた試料中の前記標的となるタンパク質のレベルを検出することと、

c) 任意選択で、コンピュータを使用して、治療前の前記レベルを治療中又は治療後の前記レベルと比較し、

治療前の前記標的となるタンパク質の前記レベルよりも低い治療中又は治療後の前記標的となるタンパク質のレベルが、前記治療用標的化剤による治療の有効性を示し、

前記標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、

前記標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

任意選択で、前記標的となるタンパク質が、約 2 分～約 1 2 時間、約 2 分～約 1 0 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 6 0 分、約 2 分～約 4 0 分、約 2 分～約 2 0 分、約 2 分～約 1 0 分、約 1 0 分～約 1 2 時間、約 2 0 分～約 1 2 時間、約 4 0 分～約 1 2 時間、約 6 0 分～約 1 2 時間、約 2 時間～約 1 2 時間、約 4 時間～約 1 2 時間、約 6 時間～約 1 2 時間、約 8 時間～約 1 2 時間、約 1 0 時間～約 1 2 時間、又は約 1 1 時間～約 1 2 時間以内で内在化され、且つ再利用され、

それによって、治療用標的化剤による治療に対する個体からの筋肉組織の応答を評価することと、を含む、方法。

【請求項 5 0】

前記標的化タンパク質が、K L H L 4 1、L M O D 2、E N O 3、F A B P 3、C H R N A 1、S E M A 6 C、X I R P 2、X I R P 1、C A V I N 4、C F L 2、S V I L、M U S K、A R T 1、C A C N A 1 S、C D H 1 5、C L C N 1、M Y M X、及び A C T A 1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記病理が、筋ジストロフィー又はミオパチーを含む神経筋障害を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記病理が、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（D M D）、筋強直性ジストロフィー（M D）、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（F S H D）、肢体型筋ジストロフィー（L G

10

20

30

40

50

M D)、ベッカー型筋ジストロフィー、眼咽頭型筋ジストロフィー、エメリー・ドレイフス型筋ジストロフィー、又は遠位型筋ジストロフィーである、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記個体がヒトである、請求項 1 ～ 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

投与することが、経口、吸入による、鼻腔内、注射による、皮下、筋肉内、組織若しくは細胞に直接的に投与すること、組織若しくは細胞に間接的に投与すること、静脈内、直腸内、髄腔内、眼内、耳、腹腔内、又は局所を含む、請求項 1 ～ 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記接触させることが個体で行われ、前記接触させることが、薬剤を前記個体に投与することから生じる、請求項 1 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記評価することが、生検を含む、請求項 1 ～ 5 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記薬剤が、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、担体、又はそれらの任意の組み合わせを更に含む医薬組成物の形態で投与される、請求項 1 ～ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記接触させること又は投与することが、1 日 1 回、1 日 2 回、1 日 3 回、1 日 4 回、毎週、週に 2 回、週に 3 回、週に 4 回、毎月、月に 2 回、3 ヶ月毎、四半期毎、年に 2 回、毎年、必要に応じて、又は生涯にわたるものである、請求項 1 ～ 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記医薬組成物が、単位用量形態である、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記薬剤が、約 1 n g ～ 約 2 5 , 0 0 0 m g、約 1 0 n g、約 1 0 0 n g、約 1 マイクログラム、約 1 0 マイクログラム、約 1 0 0 マイクログラム、約 1 m g、約 1 0 m g、約 1 0 0 m g、約 1 0 0 0 m g、約 1 0 0 0 0 m g、又は約 2 5 0 0 0 m g の範囲の量で投与される、請求項 1 ～ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記薬剤が、任意選択で薬学的に許容される塩の形態である、請求項 1 ～ 6 0 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、療法の出願に共通する全ての主題について、2 0 2 2 年 1 月 7 日に出願された米国仮特許出願第 6 3 / 2 9 7 , 2 4 5 号に対する優先権、及びその利益を主張する。当該仮特許出願の開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

参照による組み込み

本明細書に記載される全ての公報、特許、及び特許出願は、各公報、特許、又は特許出願が参照により組み込まれたことが具体的且つ個別に示されている場合、同程度参照により組み込まれる。参照により組み込まれた公報及び特許又は特許出願が、本明細書に含まれる開示と矛盾する程度まで、本明細書は、任意のそのような矛盾する資料に対し、優先 (s u p e r s e d e) 及び／又は優先 (t a k e p r e c e d e n c e o v e r) するものである。

【背景技術】

【0 0 0 3】

10

20

30

40

50

現在、様々な筋肉に関与する障害に対する治療法はなく、治療選択肢も限られている。例えば、筋ジストロフィーの現在の治療法には、エテプリルセン（Eteplirsen）、ビルトラルセン（Viltolarsen）、ゴロジルセン（Golodirsen）、及びカシメルセン（Casimersen）が挙げられ、これらは全て非標的アンチセンスオリゴヌクレオチドである。エテプリルセンは、毎週、 30 mg/kg で静脈内投与される。用量の3分の2は、腎クリアランスのために、投与の24時間以内に失われる。ビルトラルセンもまた、 80 mg/kg で静脈内投与される。カシメルセンの推奨投与量は 30 mg/kg であり、これはインライン0.2ミクロンフィルターを介して、35～60分の静脈内注入として週1回投与される。ゴロジルセンの推奨投与量は 30 mg/kg であり、これはインライン0.2ミクロンフィルターを介して、35～60分の静脈内注入として週1回投与される。

10

【0004】

治療用標的化剤を使用して、治療薬を筋肉組織に選択的に標的化できることは有益であろう。治療用標的化剤の一例は、抗体薬物複合体（ADC）である。ADCは、標的組織への送達を改善するために腫瘍学的障害及び他の障害において有用であることが証明されており、複合体化薬物の効力及び治療指数を増加させ、多くの化合物の安全な使用を可能にする。

【0005】

特に興味深いのは、筋肉特異的又は筋肉濃縮表面抗原に対する抗体への複合体化を介した筋肉組織へのオリゴヌクレオチドの標的化送達である。この標的化送達により、より良好な容量有効性対毒性比を作り出し、治療半減期を増大させ、腎クリアランスによる損失を低減させ、オフターゲット効果を最小化させるはずである。この新たな戦略は、治療の展望を大幅に拡大し、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）、糖尿病又は心筋症などの幅広い筋肉関連疾患を治療するであろう。この分野は、抗体標的化送達を可能にする疾患組織において安定して発現される筋肉特異的受容体の欠乏によって妨げられてきた。更に、多くの筋肉関連疾患は、小さな患者集団の稀な障害である。抗体治療薬の開発には数千から数億米ドルの費用がかかるため、これらの希少疾患の治療法の開発は、複数の障害にわたるADCに使用できる1つ以上の筋肉特異的抗体が利用可能になることによって大幅に向上されるであろう。そのため、疾患組織において安定的に発現される筋肉特異的受容体に対する筋肉特異的治療標的化剤を開発することが必要とされている。

20

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

組織特異的な方法で筋肉組織に薬剤をインビボで送達する方法であって、筋細胞の表面を、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する薬剤と接触させることを含み得る方法が、本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて筋肉組織で濃縮され得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され得る。

40

【0007】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN

50

1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、薬剤は、標的となるタンパク質の特異的結合剤である。いくつかの実施形態では、特異的結合剤は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、Fc融合タンパク質であり得る。

【0008】

いくつかの実施形態では、薬剤は、抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり得る。いくつかの実施形態では、その抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びNANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択され得る。

【0009】

また、筋肉組織細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する治療用標的化剤を個体に投与することを含み得る、個体において病態を治療する方法が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて筋肉組織で濃縮され得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され得る。

【0010】

いくつかの実施形態では、治療標的化剤は、活性剤成分と標的化剤成分とを含む薬剤であり得る。いくつかの実施形態では、活性剤成分は、放射性核種、化学療法剤、免疫刺激剤、抗腫瘍剤、抗炎症剤、炎症促進剤、アポトーシス促進剤、凝固促進剤、毒素、抗生物質、ホルモン、酵素、タンパク質、担体タンパク質、溶解剤、小分子、アプタマー、細胞、ワクチン誘導細胞又は他の免疫細胞、ナノ粒子、トランスフェリン、免疫グロブリン、多価抗体、脂質、リポタンパク質、リポソーム、変性天然リガンド、遺伝子又は核酸、オリゴヌクレオチド、RNA、siRNA、ncRNAミミック、ショートヘアピンRNA(shRNA)、dicer依存性siRNA(di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)、ギャップマー、ミキシマー、二本鎖RNA(dsRNA)、一本鎖RNAi(ssRNAi)、DNA依存性RNA干渉(ddRNAi)、RNA活性化オリゴヌクレオチド(RNAa)、アプタマー、エキソンスキッピングオリゴヌクレオチド、miRNA、miRNAミミック、mRNA、ガイドRNA、ウイルス又は非ウイルス遺伝子送達ベクター、プロドラッグ、及びプロ分子からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、標的となるタンパク質に特異的に結合することができる。

【0011】

いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、標的となるタンパク質の特異的結合剤を含み得る。いくつかの実施形態では、特異的結合剤は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、Fc融合タンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、抗体若しくはその抗原結合フラグメントを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びNANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、活性剤成分は、オリゴヌクレオチドであり得る。いくつかの実施形態では、標的化剤

成分は、抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり得る。いくつかの実施形態では、活性剤成分は、標的化剤成分に複合体化され得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、筋肉組織中で発現される疾患遺伝子を標的とし得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。

【0012】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、LMOD2である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、ENO3である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、FABP3である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CHRNA1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、SEMA6Cである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、XIRP2である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、XIRP1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CAVIN4である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CFL2である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、SVILである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、MUSKである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、ART1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CACNA1Sである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CDH15である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CLCN1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、MYMXである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、ACTA1である。

【0013】

また、組織特異的方法で筋肉組織にイメージング剤を送達する方法であって、筋肉組織の表面を、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含み得るイメージング剤と接触させることを含み得る方法が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて筋肉組織で濃縮され得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され得る。

【0014】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、標的となるタンパク質の特異的結合剤であり得る。いくつかの実施形態では、特異的結合剤は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、Fc融合タンパク質であり得る。

【0015】

いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり得る。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノク

10

20

30

40

50

ローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びNANOBODY (登録商標) 分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、イメージング剤成分は、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択され得る。

【0016】

また、組織特異的方法でイメージング剤を組織試料に送達する方法であって、組織試料を、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含み得るイメージング剤と接触させることを含み得る方法が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、組織の筋細胞表面上に発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて筋肉組織で濃縮され得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され得る。

【0017】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、標的となるタンパク質の特異的結合剤であり得る。いくつかの実施形態では、特異的結合剤は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、Fc融合タンパク質であり得る。

【0018】

いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり得る。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びNANOBODY (登録商標) 分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、イメージング剤成分は、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される。

【0019】

また、個体の筋肉組織の物理的イメージングを実施する方法であって、標的化剤成分とイメージング剤成分とを含み得るイメージング剤を個体に投与することを含み得る方法が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて、筋肉組織中で濃縮され得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定な又は増加した発現を有し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約

2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され得る。

【0020】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、イメージング剤成分は、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リボソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される。

10

【0021】

また、筋肉組織病態の存在又は非存在について個体を評価する方法であって、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含み得るイメージング剤を個体に投与することと、イメージング剤の濃度の存在又は非存在について個体を評価することとを含み得る方法が、本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、イメージング剤の濃度の存在又は非存在は、病態の存在を示し得る。いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、標的となるタンパク質の特異的結合剤であり得る。いくつかの実施形態では、特異的結合剤は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、Fc融合タンパク質であり得る。

20

【0022】

いくつかの実施形態では、標的化剤成分は、抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり得る。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びNANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、イメージング剤成分は、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リボソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される。

30

【0023】

また、治療用標的化剤による治療に対する個体からの筋肉組織の応答を評価する方法であって、治療用標的化剤による治療前に、個体からの試料において標的となるタンパク質のレベルを評価することと、治療用標的化剤による治療中又は治療後に、個体からの試料中の標的となるタンパク質のレベルを評価することと、次いで治療前のレベルを治療中又は治療後のレベルと比較することとを含み得る、方法が開示される。いくつかの実施形態では、治療用標的化剤は、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、治療前の標的となるタンパク質のレベルよりも有意に低い治療中又は治療後の標的となるタンパク質のレベルは、治療用標的化剤による治療の有効性を示し得る。いくつかの実施形態では、治療用標的化剤は、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、治療前の標的となるタンパク質のレベルよりも低い治療中又は治療後の標的となるタンパク質のレベルは、治療用標的化剤による治療の有効性を示し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて筋肉組織で濃縮され得る。いく

40

50

つかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し得る。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され得る。

【0024】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択され得る。

【0025】

例示的な実施形態の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲において特殊性を持って記載されている。特徴及び利点のよりよい理解は、例示的な実施形態の原理が利用される、例示的な実施形態を説明する以下の詳細な説明及びその付属の図面を参照することにより得られる。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】治療用標的化剤に好適な筋肉関連疾患にわたって安定に発現される筋肉特異的標的を同定するために実行された解析戦略の概略を示す。

【図2】筋肉膜受容体発現の免疫蛍光検証及び生分化ヒト筋管における抗体結合に対するアクセス可能性の蛍光顕微鏡像を示す。

【図3】筋肉膜受容体発現の免疫蛍光検証及び生分化マウス筋管における抗体結合に対するアクセス可能性の蛍光顕微鏡像を示す。

【図4A】免疫蛍光による非筋細胞上の選択された受容体の免疫蛍光の低い発現／免疫蛍光の発現がない蛍光顕微鏡像を示す。

【図4B】免疫蛍光による非筋細胞上の選択された受容体の免疫蛍光の低い発現／免疫蛍光の発現がない蛍光顕微鏡像を示す。

【図5A－5B】免疫蛍光による受容体媒介抗体複合体内在化の蛍光顕微鏡像を示す。

【発明を実施するための形態】

【0027】

概説

方法の実施、並びに本明細書に開示される組成物の調製及び使用は、別段の指示がない限り、分子生物学、生化学、クロマチン構造及び解析、計算化学、細胞培養、組換えDNA及び関連分野における従来技術を、当該技術分野の範囲内で使用する。これらの技術は、文献で十分に説明されている。例えば、Sambrook et al. MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 and Third edition, 2001; Ausubel et al., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, New York, 1987 and periodic updates; the series METHODS IN ENZYMOLOGY, Academic Press, San Diego; Wolfe, CHROMATIN STRUCTURE AND FUNCTION, Third edition, Academic Press, San Diego, 1998; METHODS IN ENZYMOLOGY, Vol. 304, "Chromatin" (P. M. Wassarman and A. P. Wolfe, eds.), Academic Press, San Diego, 1999; 及びMETHODS IN M

OLECULAR BIOLOGY, Vol. 119, "Chromatin Protocols" (P. B. Becker, ed.) Humana Press, Totowa, 1999を参照されたい。

【0028】

定義

「本明細書に」という用語は、出願全体を意味する。

【0029】

別途本明細書で定義されない限り、使用される科学用語及び技術用語は、本明細書が属する当該技術分野における当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。一般に、本明細書に記載の化合物、組成物及び方法に関連して使用される命名法は、当該技術分野において周知であり、一般的に使用されるものである。

10

【0030】

本開示の様々な態様下で説明されているもの及び本明細書の様々な部分（実施例でのみ説明されている実施形態を含む）を含む、本明細書に記載されている実施形態のいずれかは、明示的に否定されているか又は不適切でない限り、本明細書に記載されている1つ以上の他の実施形態と組み合わせることができる。実施形態の組み合わせは、複数の従属請求項を通じて主張される特定の組み合わせに限定されない。

【0031】

上記の全て、及び本出願で言及される他のあらゆる刊行物、特許及び公開特許出願は、参照により本明細書に具体的に組み込まれる。矛盾が生じた場合、その特定の定義を含めて本明細書が優先する。

20

【0032】

本明細書の全体を通して、「含む (comprise)」又は「含む (comprises)」若しくは「含んでいる (comprising)」などの変形は、記載されている整数（若しくは構成要素）又は整数群（若しくは構成要素群）を含むことを意味するが、あらゆる他の整数（若しくは構成要素）又は整数群（若しくは構成要素群）を排除することを意味するものではないと理解される。

【0033】

本明細書全体を通して、組成物が特定の構成要素を有している (having)、含んでいる (including)、又は含んでいる (comprising)（若しくはその変形）と記載される場合、組成物は列挙された構成要素から本質的になってもよく、又はそれらからなってもよいことが企図される。同様に、方法又はプロセスが、特定のプロセス工程を有している (having)、含んでいる (including)、又は含んでいる (comprising)と記載される場合、プロセスは、列挙された処理工程を本質的になってもよく、又はそれらからなってもよい。更に、特定の作業を実行するための工程の順序又は順序は、本明細書に記載の組成物及び方法が動作可能である限り、重要ではないことを理解されたい。更に、2つ以上の工程又は作業を同時に実行することができる。

30

【0034】

「含んでいる (including)」という用語は、「含んでいるが、これらに限定されない」ことを意味するために使用される。「含んでいる」と「含んでいるが、これらに限定されない」とは、互換的に使用される。

40

【0035】

本明細書で使用される場合、「約 (about)」又は「約 (approximately)」は、当業者によって決定される特定の値の許容誤差範囲内を意味し、これは、値がどのように測定又は決定されるか、すなわち測定システムの限界に一部は依存する。例えば、「約 (about)」は、当該技術分野の慣行に従って、プラス又はマイナス10%を意味し得る。或いは、「約 (about)」は、所与の値のプラス又はマイナス20%、プラス又はマイナス10%、プラス又はマイナス5%、又はプラス又はマイナス1%の範囲を意味し得る。或いは、特に生物学的システム又はプロセスに関して、この用語は

50

、値の一桁以内、5倍以内、又は2倍以内を意味し得る。特定の値が本出願及び請求項に記載されている場合、特に明記されていない限り、特定の値について許容可能な誤差範囲内を意味する「約 (a b o u t)」という用語が想定されるべきである。また、値の範囲及び／又は部分範囲が提供される場合、範囲及び／又は部分範囲は、範囲及び／又は部分範囲の両端点を含むことができる。

【0036】

本明細書で使用される「実質的に」という用語は、所与の値の100%に近い値を指すことができる。場合によっては、この用語は、合計量の少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、又は99.99%であり得る量を指すことができる。場合によっては、この用語は、合計量の約100%であり得る値を指すことができる。

10

【0037】

要素を説明する文脈における「a」及び「an」及び「the」並びに同様な指示詞の使用は、本明細書で別段の指示があるか、又は文脈によって明確に矛盾しない限り、単数形及び複数形の両方をカバーすると解釈されるべきである。

【0038】

本明細書で使用される「又は」という用語は、文脈が明確に別段の指示をしない限り、「及び／又は」を意味すると理解されるべきである。

【0039】

統計的有意性は、帰無仮説が棄却されるべきか、又は保持されるべきかを決定するために使用される。帰無仮説は、何も起こらなかった、又は変化しなかったというデフォルトの仮定である。すなわち、差分又は偏差、例えば、1つの試料における別の試料と比較して有意に低いタンパク質発現は、帰無仮説が棄却された場合に有意である。帰無仮説を棄却するためには、観察された結果が統計的に有意であること、すなわち、観察されたp値が、事前に指定された有意水準 α 未満であることが必要である。結果が統計的に有意であるかどうかを判定するために、当業者は、帰無仮説が真であるという前提で、同じ大きさ又はより極端な効果を観察する確率であるp値を計算する。帰無仮説は、p値が所定のレベル α 未満（又はそれに等しい）である場合に棄却される。 α は有意水準とも呼ばれ、帰無仮説が真であると仮定した場合に帰無仮説を棄却する確率である（第1種過誤）。 α は5%に設定され得る。 α は1%に設定され得る。 α は0.1%に設定され得る。 α は0.01%に設定され得る。

20

30

【0040】

本明細書における値の範囲の列挙は、別段の指示がない限り、範囲内に入る各別個の値を個別に言及する簡略表記法として機能することを単に意図しており、各別個の値は、本明細書に個別に列挙されたかのように、本明細書中に組み込まれる。本明細書に記載される全ての方法は、本明細書に別段の指示がない限り、又は文脈により明らかに矛盾する場合を除き、任意の好適な順序で実施することができる。本明細書で提供されるありとあらゆる例、又は例示的な言語（例えば、「などの」）の使用は、単に実施形態をよりよく明らかにすることを意図したものであり、別段の記載がない限り、請求項の範囲に制限をもたらすものではない。本明細書中のいかなる言語も、請求されていない要素が必須であることを示すものと解釈されるべきではない。

40

【0041】

「核酸」、「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」という用語は、互換的に使用され、線状配座又は環状配座で、且つ一本鎖又は二本鎖形態のいずれかのデオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチドポリマーを指す。本開示の目的上、これらの用語は、ポリマーの長さに関して限定されるものと解釈されるべきではない。この用語は、天然ヌクレオチドの既知の類似体、並びに塩基、糖及び／又はリン酸部分（例えば、ホスホリチオエート骨格、2'-デオキシ-、2'-O-メチル-、2'-デオキシ-2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、及び3'末端、5'末端、又は3'末端と5'末端の両方にある末端キャップ分子）において修飾されているヌクレオチドを包含し得る。一般に、特定のヌクレオ

50

チドの類似体は、同じ塩基対合特異性を有し、すなわち、Aの類似体はTと塩基対合する。この用語はまた、1つ以上の化学修飾ヌクレオチドを含むポリマーも包含する。ポリヌクレオチドの非限定的な例には、低分子干渉RNA (s i RNA)、マイクロRNA (m i RNA)、m i RNAミミック、ショートヘアピンRNA (s h RNA)、二本鎖RNA (d s RNA)、転移RNA (t RNA)、リボソームRNA (r RNA)、ヘテロ核RNA (h n RNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (エキソンスキッピングASOを含むASO)、メッセンジャーRNA (m RNA)、相補的DNA (c DNA)、プラスミド及びベクター、並びにガイドRNAが挙げられる。

【0042】

オリゴヌクレオチドは、糖修飾を含み得る。オリゴヌクレオチドは、複数の糖修飾を含み得る。糖修飾は、グルコース又はその誘導体を含み得る。糖修飾は、リボース又はデオキシリボースを含み得る。糖修飾は、単糖、二糖、三糖又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。

【0043】

「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために互換的に使用される。この用語はまた、1つ以上のアミノ酸が対応する天然に存在するアミノ酸の化学的類似体又は修飾誘導体であるアミノ酸ポリマーにも適用される。

【0044】

「残基」という用語は、本明細書で使用される場合、タンパク質における位置及びそれに関連するアミノ酸同一性を指す。

【0045】

「相同性」という用語は、配列の参照配列に対する%同一性を指すことができる。任意の特定の配列が、本明細書に記載される任意の配列 (本明細書に記載される特定の核酸配列と対応し得る) と少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であり得るかどうかなの実際的な問題として、そのような特定のポリペプチド配列は、Bestfitプログラム (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711) などの既知のコンピュータプログラムを使用して慣例的に決定され得る。Bestfit又は他の配列アラインメントプログラムを使用して、特定の配列が、例えば、参照配列と95%同一であるかどうかを判定する場合、パラメーターは、同一性のパーセンテージが参照配列の完全長にわたって計算され、参照配列全体の最大5%の相同性のギャップが許容されるように設定され得る。

【0046】

例えば、特定の実施形態では、参照配列 (クエリ配列、すなわち、本明細書に記載の配列) と対象配列との間の同一性は、グローバル配列アラインメントとも呼ばれ、Brutlagら (Comp. App. Biosci. 6: 237-245 (1990)) のアルゴリズムに基づいて、FASTDBコンピュータプログラムを使用して判定することができる。場合によっては、同一性が狭義に解釈され、FASTDBアミノ酸アラインメントで使用される特定の実施形態についてのパラメーターには、以下が含まれ得る: スコアリングスキーム = PAM (突然変異許容率) 0、k-タプル = 2、ミスマッチペナルティ = 1、連結ペナルティ = 20、無作為化グループ長 = 0、カットオフ値 = 1、ウィンドウサイズ = 配列長、ギャップペナルティ = 5、ギャップサイズペナルティ = 0.05、ウィンドウサイズ = 500又は対象配列の長さのいずれか短い方。この実施形態によれば、対象配列が、内部欠失によるものではなく、N末端又はC末端の欠失によってクエリ配列よりも短い場合には、結果に対し、手動で補正を行う必要があり、これはFASTDBプログラムが全体的な同一性パーセントを計算するときに、対象配列のN末端及びC末端の切り詰めを考慮しないという事実を考慮に入れるためである。クエリ配列に対して、N末端及

10

20

30

40

50

びC末端で切り詰められた対象配列の場合、同一性パーセントは、対応する対象配列と適合／アラインメントしない対象配列のN末端及びC末端側であるクエリ配列の残基数を、クエリ配列の全塩基のパーセントとして計算することにより修正される。ある残基が適合／アラインメントするか否かの判定は、FASTDB配列アラインメントの結果によって判定することができる。次いで、このパーセンテージを、指定されたパラメーターを使用してFASTDBプログラムによって計算された同一性パーセントから減算して、最終的な同一性パーセントスコアに到達することができる。この最終的な同一性パーセントスコアは、この実施形態の目的に使用され得る。場合によっては、対象配列のN末端及びC末端の残基であって、クエリ配列と適合／アラインメントしない残基のみが、同一性パーセントスコアを手動調整の目的で考慮されることがある。すなわち、対象配列の最も遠いN末端及びC末端残基以外のクエリ残基位置のみが、この手動補正のために考慮される。例えば、90残基の対象配列を、100残基のクエリ配列と整列させて、同一性パーセントを判定することができる。欠失は、対象配列のN末端で発生し、したがって、FASTDBアラインメントは、N末端での最初の10個の残基の適合／アラインメントを示さない。この10個の対合しない残基は、配列の10%（マッチしないN末端及びC末端での残基数／クエリ配列における総残基数）に相当し、そのためFASTDBプログラムによって計算された同一性パーセントスコアから10%が減算される。残りの90個の残基が完全に一致した場合、最終的なパーセント同一性は90%となる。別の例では90残基の対象配列が、100残基のクエリ配列と比較される。今回の欠失は内部欠失であるため、クエリと適合／アラインメントしない対象配列のN末端又はC末端には残基が存在しない。この場合、FASTDBによって計算されたパーセント同一性は、手動では補正されない。繰り返しになるが、FASTDBアラインメントにおいて表示されるように、対象配列のN末端及びC末端以外の残基位置のみが、クエリ配列と適合／アラインメントしないため、手動で補正される。

10

20

30

40

50

【0047】

「フラグメント」という用語は、本明細書に記載される場合、配列の一部、すなわち完全長配列よりも短い部分集合であり得る。フラグメントは、遺伝子の一部であり得る。フラグメントは、ペプチド又はタンパク質の一部であり得る。フラグメントは、アミノ酸配列の一部であり得る。フラグメントは、オリゴヌクレオチド配列の一部であり得る。フラグメントは、約20、30、40、50個未満のアミノ酸の長さであり得る。フラグメントは、約2、5、10、20、30、40、50個未満のオリゴヌクレオチドの長さであり得る。

【0048】

本明細書で使用される場合、「Fc」、「Fc領域」又は「Fcドメイン」という用語は、本明細書では互換的に使用され、場合によっては、第1の定常領域免疫グロブリンドメイン（例えば、CH1）又はその一部を除く、場合によっては、ヒンジの部分を除く抗体の定常領域を含むポリペプチドを指す。したがって、Fcは、IgA、IgD、及びIgGの最後の2つの定常領域免疫グロブリンドメイン（例えば、CH2及びCH3）、IgE及びIgMの最後の3つの定常領域免疫グロブリン、並びにこれらのドメインに対するフレキシブルヒンジN末端を指すことができる。IgA及びIgMの場合、Fcは、J鎖を含み得る。IgGの場合、Fcドメインは、免疫グロブリンドメインC γ 2及びC γ 3（C γ 2及びC γ 3）並びにC γ 1（C γ 1）とC γ 2（C γ 2）との間の下部ヒンジ領域を含む。いくつかの実施形態では、Fcは、免疫グロブリンの切り詰められたCH1ドメイン、並びにCH2及びCH3を指す。Fc領域の境界は様々であり得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、通常、そのカルボキシル末端までの残基E216又はC226又はP230を含むように定義され、番号付けはEUN numberingに従っている。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヒトIgG1重鎖Fcドメインに由来する。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヒトIgG2重鎖Fcドメインに由来する。「Edelmanに規定されているEUフォーマット」又は「EUN numbering」若しくは「EUIDecks」は、Edelman GMら（Proc. Natl. Acad. USA（1

969), 63, 78-85、参照により本明細書に完全に組み込まれる)に記載されているように、ヒトFcドメインの残基番号付けを指す。

【0049】

本明細書で使用される場合、「Fc融合タンパク質」という用語は、一般に(任意選択的にリンカー部分を介して)異なるタンパク質に連結されたFc領域を含むタンパク質を指す。

【0050】

本明細書で使用される場合、「抗体」又は「Ab」という用語は、免疫グロブリン分子の可変領域内に位置する少なくとも1つの抗原認識部位を通して、例えば、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなどの特異的標的又は抗原を認識し、それらに結合することができる免疫グロブリン分子(例えば、完全抗体、抗体フラグメント又は修飾抗体)を指す。本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、所与の抗原に特異的に結合する、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、改変抗体(ヒト化抗体、完全ヒト抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、人工的に選択された抗体、CDR付与抗体などを含む)が挙げられるが、これらに限定されない任意のタイプの抗体を包含し得る。いくつかの実施形態では、「抗体」及び/又は「免疫グロブリン」(Ig)は、任意選択的にジスルフィド結合によって相互接続される、少なくとも2つの重(H)鎖(約50~70 kDa)及び2つの軽(L)鎖(約25 kDa)を含むポリペプチドを指す。軽鎖には、2つのタイプ:λ及びκがある。ヒトでは、λ及びκ軽鎖は類似しているが、各抗体には1つのタイプしか存在しない。重鎖は、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ、又はイプシロンに分類され、抗体のアイソタイプを、それぞれIgM、IgD、IgG、IgA、及びIgEと定義する。一般には、Fundamental Immunology C h . 7 (P a u l , W . , e d . , 2 n d e d . R a v e n P r e s s , N . Y . (1 9 8 9)) (その全体が参照により組み込まれる)を参照されたい。いくつかの実施形態では、抗体は、エフェクター機能を有し、且つ補体を固定することができる。いくつかの実施形態では、抗体は、Fc受容体への結合能が低減されている、又は結合能がない。例えば、抗体は、Fcレセプタへの結合を支援しない、例えば、Fcレセプタ結合領域の突然変異若しくは欠失を有するアイソタイプ若しくはサブタイプ、抗体フラグメント又は突然変異体であり得る。

【0051】

抗体の「抗原結合フラグメント」は、抗原に特異的に結合する能力を保持する(好ましくは実質的に同じ結合親和性で)完全長抗体のフラグメントを指すか、又は言い換えれば、完全長抗体ポリペプチドを含まないが、それは依然として抗原に結合することができる完全長抗体ポリペプチドの少なくとも一部を含む抗体を指す。抗体フラグメントは、全長抗体ポリペプチドの切断部分を含むことができるが、この用語は、そのような切断フラグメントに限定されるものではない。抗原結合フラグメントの例としては、(i) Fabフラグメント、VL、VH、CL及びCH1ドメインからなる一価フラグメント; (ii) F(ab')2フラグメント、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFabフラグメントを含む二価フラグメント; (iii) VH及びCH1ドメインからなるFdフラグメント; (iv) 抗体の単一アームのVL及びVHドメインからなるFvフラグメント、(v) VHドメインからなるdAbフラグメント(Ward et al . , (1989) Nature 341: 544-546); 並びに(vi) 単離された相補性決定領域(CDR)、ジスルフィド結合Fv(dsFv)、及び抗イディオタイプ(抗-Id)抗体及びイントラボディが挙げられる。更に、Fvフラグメントの2つのドメイン、VL及びVHは、別々の遺伝子によってコードされているが、それらはVL及びVH領域が対合して、一価分子(一本鎖Fv(scFv)として知られる)を形成する単一のタンパク質鎖として、それらを作成することを可能にする合成リンカーによって、組換え方法を使用して接合することができ、例えば、Bird et al . Science 242: 423-426 (1988) 及びHouston et al . , Proc . Natl . Acad . Sci . USA 85: 5879-5883 (1988)を参照

10

20

30

40

50

されたい。ダイアボディなどの一本鎖抗体の他の形態も包含される。ダイアボディは二価の二重特異性抗体であり、ここでVH及びVLドメインが単一のポリペプチド鎖上で発現されるが、同じ鎖上の2つのドメインの間で対合されるには短すぎるリンカーを使用しているため、それによりドメインを別の鎖の相補的ドメインと強いて対合させて、2つの抗原結合部位を作り出している（例えば、Holliger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993); Poljak et al., 1994, Structure 2:1121-1123を参照されたい）。有用である抗体フラグメントとしては、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv（一本鎖Fv）フラグメント、線状抗体、単一特異性又は多重特異性抗体フラグメント、例えば、二重特異性、三重特異性、四重特異性、及び多重特異性抗体（例えば、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ）、一価又は多価抗体フラグメント、例えば二価、三価、四価、及び多価の抗体、ミニボディ、キレート化組換え抗体、トリボディ又はビボディ、イントラボディ、NANOBODY（登録商標）分子、小モジュール免疫医薬（SMIP）、結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質、ラクダ化抗体、並びにVHH含有抗体が挙げられる。抗原結合抗体フラグメントの追加の例は、当該技術分野において既知である。

10

20

30

40

50

【0052】

「免疫グロブリン単一可変ドメイン」（ISV）という用語は、「単一可変ドメイン」と互換的に使用され、抗原結合部位が単一の免疫グロブリンドメイン上に存在し、それによって形成される免疫グロブリン分子を定義する。これは、免疫グロブリン単一可変ドメインを「従来の」免疫グロブリン（例えば、モノクローナル抗体）又はそれらの断片（例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、di-scFv）と区別しており、2つの免疫グロブリンドメイン、特に2つの可変ドメインが相互作用して抗原結合部位を形成する。典型的に、従来の免疫グロブリンでは、重鎖可変ドメイン（VH）と軽鎖可変ドメイン（VL）が相互作用して抗原結合部位を形成する。この場合、VHとVLの両方の相補性決定領域（CDR）は抗原結合部位に寄与しており、すなわち合計6のCDRが抗原結合部位の形成に関わる。

【0053】

上述の定義に鑑み、従来の4鎖抗体（例えば、当該技術分野で知られているIgG、IgM、IgA、IgD、若しくはIgE分子）の、又はFab断片、F(ab')₂断片、ジスルフィド結合Fv等のFv断片、若しくはscFv断片、又はこのような従来の4鎖抗体から導き出された二重特異性抗体（すべて当該技術分野で知られている）は通常、免疫グロブリン単一可変ドメインとはみなされず、それは、これらのケースでは、抗原のそれぞれのエピトープへの結合が通常、1つの（単一）免疫グロブリンドメインによってではなく、軽鎖及び重鎖可変ドメイン等の（関連する）免疫グロブリンドメインのペアによって、すなわちそれぞれの抗原のエピトープに共同で結合する免疫グロブリンドメインのVH-VLペアによって起こるからである。

【0054】

それに対して、免疫グロブリン単一可変ドメインは、他の免疫グロブリン可変ドメインとペアにならずに、抗原のエピトープに特異的に結合できる。免疫グロブリン単一可変ドメインの結合部位は、単一VH、単一VHH又は単一VLドメインにより形成される。

【0055】

そのため、単一可変ドメインは、それが単一の抗原結合単位（すなわち、基本的に単一可変ドメインからなり、単一抗原結合ドメインが機能的抗原結合単位を形成するために他の可変ドメインと相互作用する必要がない機能的抗原結合単位）を形成できる限り、軽鎖可変ドメイン配列（例えば、VL-配列）若しくは適当なその断片、或いは重鎖可変ドメイン配列（例えば、VH-配列若しくはVHH配列）又は適当なその断片であり得る。

【0056】

免疫グロブリン単一可変ドメイン（ISV）は例えば、重鎖ISV、例えばラクダ化VH又はヒト化VHHを含むVH、VHHとすることができる。1つの実施形態において、

これは、ラクダ化 V_H 又はヒト化 V_{HH} を含む V_{HH} である。重鎖 ISV は、従来の4鎖抗体から、又は重鎖抗体から導き出すことができる。

【0057】

例えば、免疫グロブリン単一可変ドメインは、単一ドメイン抗体（又は単一ドメイン抗体として使用するのに適したアミノ酸配列）、「 dAb 」若しくは dAb （又は dAb として使用するのに適したアミノ酸配列）、 $NANOBODY$ （登録商標） ISV （本明細書で定義され、 V_{HH} を含むがこれに限定されない）、他の単一可変ドメイン、又はこれらのうちのいずれか1つのあらゆる適当な断片であり得る。

【0058】

特に、免疫グロブリン単一可変ドメインは、 $NANOBODY$ （登録商標） ISV （例えば、ヒト化 V_{HH} 若しくはラクダ化 V_H を含む V_{HH} ）又はそれらの適当な断片であり得る。[注： $NANOBODY$ （登録商標）及び $NANOBODY$ （登録商標）は $Ablynx N.V.$ の登録商標である。]

【0059】

「 V_{HH} ドメイン」は、 V_{HHs} 、 V_{HH} 抗原断片、及び V_{HH} 抗体としても知られ、もともと、「重鎖抗体」の（すなわち、「軽鎖を持たない抗体」の；Hamers-Casterman et al. Nature 363:446-448 (1993))の抗原結合免疫グロブリン可変ドメインとして説明されていた。「 V_{HH} ドメイン」という用語は、これらの可変ドメインを従来の4鎖抗体中に存在する重鎖可変ドメイン（本明細書では「 V_H ドメイン」と呼ばれる）から、及び従来の4鎖抗体中に存在する軽鎖可変ドメイン（本明細書では「 V_L ドメイン」と呼ばれる）から区別するために選択されている。 V_{HH} の更なる説明は、Muyldermans (Reviews in Molecular Biotechnology 74:277-302, 2001)のレビュー論文を参照されたい。）

【0060】

V_{HH} などの免疫グロブリン配列の生成については様々な公開文献の中に広く記載されており、それには国際公開第94/04678号パンフレット、Hamers-Casterman et al. 1993及びMuyldermans et al. 2001 (Reviews in Molecular Biotechnology 74:277-302, 2001)が含まれる。これらの方法においてラクダ科動物 (camelids) は標的抗原で免疫化され、当該標的抗原に対する免疫反応が引き起こされる。当該免疫化から得られる V_{HH} のレパートリーは、標的抗原に結合する V_{HH} について更にスクリーニングされる。

【0061】

これらの例では、抗体の生成には免疫化及び／又はスクリーニングのために精製された抗原が必要である。抗原は天然由来のものから、又は組換え産生の過程で精製し得る。免疫グロブリン配列のための免疫化及び／又はスクリーニングは、このような光源のペプチド断片を使って行うことができる。

【0062】

マウス、ラット、ウサギ、ロバ、ヒト、及びラクダ化免疫グロブリン配列を含む、異なる由来の免疫グロブリン配列は、本明細書に記載の方法で配列決定できる。また、本明細書に記載の方法では、完全ヒト型、ヒト化、又はキメラ配列も配列決定できる。例えば、本明細書に記載の方法では、ラクダ科動物免疫グロブリン配列及びヒト化ラクダ科動物免疫グロブリン配列、又はラクダ化ドメイン抗体、例えばWard et al.により記載されているラクダ化 dAb （例えば、国際公開第94/04678号パンフレット及びRiechmann, Febs Lett., 339:285-290, 1994及びProt. Eng., 9:531-537, 1996も参照）を配列決定できる。更に、 ISV は融合されて多価及び／又は多重特異性コンストラクトを形成する（1つ以上の V_{HH} ドメインを含む多価及び多重特異性ポリペプチド及びそれらの調合物のため、Conrath et al., J. Biol. Chem., Vol. 276. 10. 7346-7

10

20

30

40

50

350, 2001の他、例えば国際公開第96/34103号パンフレット及び国際公開第99/23221号パンフレットも参照のこと）。

【0063】

「ヒト化 V_{HH} 」は、天然に発生する V_{HH} ドメインのアミノ酸配列に対応するが、「ヒト化」された、すなわち前記天然に発生する V_{HH} 配列のアミノ酸配列中（及び特にフレームワーク配列中）の1つ以上のアミノ酸残基を人間の従来の4鎖抗体からの V_H ドメイン内の対応する位置において生じるアミノ酸残基の1つ以上（例えば、前述の通り）と置換されたアミノ酸配列を含む。これは、当業者にとっては明らかであるように、それ自体よく知られている方法で、例えば先行技術（例えば、国際公開第2008/020079号パンフレット）に基づいて実行できる。再び、このようなヒト化 V_{HH} はそれ自体知られているいずれの伝統的な方法でも取得でき、それゆえ開始材料として天然に発生する V_{HH} ドメインを含むポリペプチドを使って取得されたポリペプチドには厳格に限定されないことに留意すべきである。

10

【0064】

「ラクダ化 V_H 」は、天然に発生する V_H ドメインのアミノ酸配列に対応するが、「ラクダ化」されている、すなわち従来の4鎖抗体からの天然に発生する V_H ドメインのアミノ酸配列中の1つ以上のアミノ酸残基を、（ラクダ類）重鎖抗体の V_{HH} ドメイン中の対応する位置において生じるアミノ酸残基の1つ以上と置換されているアミノ酸配列を含む。これは、当業者にとっては明らかであるように、それ自体よく知られている方法で、例えば先行技術（例えば、前述のDavies及びRiechman（1994及び1996））の記載に基づいて実行できる。このような「ラクダ化」置換は、本明細書において定義されているように、 V_H-V_L 界面及び／又はいわゆるラクダ科動物ホールマーク残基を形成する、及び／又はそこに存在するアミノ酸の位置に挿入される（例えば、国際公開第94/04678号パンフレットと、前述のDavies及びRiechmann（1994及び1996）参照）。1つの実施形態において、ラクダ化 V_H を生成又は設計するための開始材料又は開始点として使用される V_H 配列は、哺乳類由来の V_H 配列、例えば人間由来の V_H 配列、例えば V_H3 配列である。しかしながら、このようなラクダ化 V_H は、それ自体知られているいずれの適当な方法でも取得でき、それゆえ開始材料として天然に発生する V_H ドメインを含むポリペプチドを使用して得られたポリペプチドには厳格に限定されないことに留意すべきである。

20

30

【0065】

免疫グロブリン単一可変ドメイン配列の構造は、4つのフレームワーク領域（「FRs」）からなると考えることができ、これらは、当該技術分野及び本明細書において、それぞれ「フレームワーク領域1」（「FR1」）、「フレームワーク領域2」（「FR2」）、「フレームワーク領域3」（「FR3」）、「フレームワーク領域4」（「FR4」）と呼ばれ、これらのフレームワーク領域は3つの「相補性決定領域」（「CDRs」）により中断され、これらは当該技術分野及び本明細書において、それぞれ「相補性決定領域1」（「CDR1」）、「相補性決定領域2」（「CDR2」）、及び「相補性決定領域3」（「CDR3」）と呼ばれる。

【0066】

このような免疫グロブリン配列において、フレームワーク領域はいずれの適当なフレームワーク領域配列であってもよく、適当なフレームワーク配列の例は、当業者にとっては、例えば標準的ハンドブック及び本明細書に記載のさらなる開示及び先行技術に基づき、明らかであろう。

40

【0067】

フレームワーク配列は、免疫グロブリンフレームワーク配列又は免疫グロブリンフレームワーク配列から（例えば、ヒト化又はラクダ化によって）導き出されたフレームワーク配列（の適当な組み合わせ）である。例えば、フレームワーク配列は、軽鎖可変ドメイン（例えば、 V_L -配列）及び／又は重鎖可変ドメイン（例えば、 V_H -配列又は V_{HH} 配列）から導き出されるフレームワーク配列であり得る。1つの特定の態様において、フレ

50

ームワーク配列は、 $V_H H$ 配列から導き出されたフレームワーク配列（その中では前記フレームワーク配列は任意選択的に部分的又は完全にヒト化されている）か、又はラクダ化された（本明細書中で定義）従来の V_H 配列のいずれかである。

【0068】

特に、本明細書に記載の方法で使用されるISV配列中に存在するフレームワーク配列は、ホールマーク残基（本明細書中で定義）の1つ以上を含み得て、ISV配列は、例えば、ヒト化 $V_H H$ 又はラクダ化 V_H を含む $V_H H N A N O B O D Y$ （登録商標）ISVを含み得る。このようなフレームワーク配列（の適当な組み合わせ）の非限定的な例は、本明細書中の以下の開示から明らかとなるであろう。

【0069】

V_H ドメイン及び $V_H H$ ドメイン中のアミノ酸残基の総数は通常、110～120の範囲、多くの場合、112～115であろう。しかしながら、これより短い、及び長い配列もまた、本明細書に記載の目的のために適当であり得ることに留意すべきである。

【0070】

しかしながら、本願の方法で配列決定される多価ISVポリペプチドに含まれるISVは、ISV配列の（又はそれを表現するために使用されるヌクレオチド配列の）由来についても、ISV配列又はヌクレオチド配列が生成又は取得される（又はされた）方法についても限定されないことに留意すべきである。それゆえ、ISV配列は天然に発生する配列（いずれかの適当な種から）でも、合成若しくは半合成配列でもよい。特定の、ただし非限定的な態様において、ISV配列は天然に発生する配列（いずれかの適当な種から）又は、合成若しくは半合成配列であり、これにはヒト化（本明細書中で定義）免疫グロブリン配列（例えば部分的又は完全にヒト化されたマウス又はウサギ免疫グロブリン配列、及び特に部分的又は完全にヒト化された $V_H H$ 配列）、「ラクダ化」（本明細書中で定義）免疫グロブリン配列（及び特にラクダ化 V_H 配列）の他、親和性成熟（例えば、合成、ランダム、又は天然に発生する免疫グロブリン配列から開始）、CDRグラフティング、ベニアリング、異なる免疫グロブリン配列から導き出された断片の結合、オーバーラッププライマを使用したPCTアセンブリ、及びこれらと同様の、当業者の間でよく知られている免疫グロブリン配列エンジニアリング技術等の手法により得られたISV、又は前述のいずれかのあらゆる適当な組み合わせが含まれる。

【0071】

同様に、ヌクレオチド配列は天然に発生するヌクレオチド配列又は合成若しくは半合成配列であり得、例えば、PCRにより適当な天然に発生する鋳型から単離された配列（例えば、細胞から単離されたDNA又はRNA）、ライブラリ（及び特に表現ライブラリ）から単離されたヌクレオチド配列、天然に発生するヌクレオチド配列への（ミスマッチPCR等の、それ自体知られた適当ないずれかの技術を用いた）変異導入により調製されたヌクレオチド配列、オーバーラッププライマを使ってPCRにより調製されたヌクレオチド配列、又はそれ自体知られたDNA合成技術を使って調製されたヌクレオチド配列であり得る。

【0072】

一般に、 $N A N O B O D Y$ （登録商標）ISV（特に、（部分的に）ヒト化された $V_H H$ 配列及びラクダ化された V_H 配列を含む $V_H H$ 配列）は、1つ以上のフレームワーク配列（本明細書に記載の通り）の中の1つ以上の「ホールマーク残基」（同じく本明細書に更に記載の通り）の存在により特徴付けることができる。それゆえ、一般に、 $N A N O B O D Y$ （登録商標）ISVは下記の（一般的）構造を有する免疫グロブリン配列として定義できる：

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～3を指し、ホールマーク残基の1つ以上は本明細書中で更に定義される通りである。

具体的に、 $N A N O B O D Y$ （登録商標）ISVは下記の（一般的）構造を有する免疫グ

10

20

30

40

50

ロブリン配列とすることができる：

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～3を指し、フレームワーク配列は本明細書中で更に定義される通りである。

より具体的に、NANOBODY（登録商標）ISVは下記の（一般的）構造を有する免疫グロブリン配列とすることができる：

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～3を指し、

Kabatナンバリングによる11、37、44、45、47、83、84、103、104、108位におけるアミノ酸残基の1つ以上は、下の表4に記されるホールマーク残基から選択される。

【0073】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 4:NANOBODY®ISV 中のホールマーク残基

位置	ヒト V _H 3	ホールマーク残基
11	L, V;主に L	L, S, V, M, W, F, T, Q, E, A, R, G, K, Y, N, P, I; 好ましくは L
37	V, I, F; 通常は V	F ⁽¹⁾ , Y, V, L, A, H, S, I, W, C, N, G, D, T, P, 好ましくは F ⁽¹⁾ 又は Y
44 ⁽⁸⁾	G	E ⁽³⁾ , Q ⁽³⁾ , G ⁽²⁾ , D, A, K, R, L, P, S, V, H, T, N, W, M, I; 好ましくは G ⁽²⁾ , E ⁽³⁾ 又は Q ⁽³⁾ ;最も好ましくは G ⁽²⁾ 又は Q ⁽³⁾
45 ⁽⁸⁾	L	L ⁽²⁾ , R ⁽³⁾ , P, H, F, G, Q, S, E, T, Y, C, I, D, V; 好ましくは L ⁽²⁾ 又は R ⁽³⁾
47 ⁽⁸⁾	W, Y	F ⁽¹⁾ , L ⁽¹⁾ 又は W ⁽²⁾ G, I, S, A, V, M, R, Y, E, P, T, C, H, K, Q, N, D; 好ましくは W ⁽²⁾ , L ⁽¹⁾ 又は F ⁽¹⁾
83	R 又は K;通常は R	R, K ⁽⁵⁾ , T, E ⁽⁵⁾ , Q, N, S, I, V, G, M, L, A, D, Y, H; 好ましくは K 又は R;最も好ましくは K
84	A, T, D;主に A	P ⁽⁵⁾ , S, H, L, A, V, I, T, F, D, R, Y, N, Q, G, E;好ましくは P
103	W	W ⁽⁴⁾ , R ⁽⁶⁾ , G, S, K, A, M, Y, L, F, T, N, V, Q, P ⁽⁶⁾ , E, C;好ましくは W
104	G	G, A, S, T, D, P, N, E, C, L;好ましくは G
108	L, M 又は T;主に L	Q, L ⁽⁷⁾ , R, P, E, K, S, T, M, A, H;好ましくは Q 又は L ⁽⁷⁾
<u>注記:</u> 特に、しかし排他的ではなく、位置 43-46 で KERE 又は KQRE と組み合わされる。 通常は位置 44-47 で GLEW として。 通常は位置 43-46 で KERE 又は KQRE として、例えば位置 43-47 で KEREL、KEREF、KQREL、KQREF、KEREG、KQREW 又は KQREG として。或いは、TERE(例えば、TEREL)、TQRE(例えば、TQREL)、KECE(例えば、KECEL or KECER)、KQCE(例えば、KQCEL)、RERE(例えば、REREG)、RQRE(例えば、RQREL、RQREF or RQREW)、QERE(例えば、QEREG)、QQRE、(例えば、QQREW、QQREL or QQREF)、KGRE(例えば、KGREG)、KDRE(例えば、KDREV)などの配列も可能である。いくつかの他の可能性があるが、それほど好ましくはない配列には、例えば DECKL 及び NVCEL が含まれる。 位置 44-47 での GLEW 及び位置 43-46 での KERE 又は KQRE の両方が含まれる。 多くの場合、位置 83-84 での KP 又は EP は、天然に存在する V_HH ドメインのものである。 特に、しかし排他的ではなく、位置 44-47 での GLEW と組み合わされる。 位置 44-47 が GLEW である場合、位置 108 は 103 で W も含有する(非ヒト化) V_HH 配列において、位置 108 は常に Q であることを条件とする。 GLEW グループはまた、例えば GVEW、EPEW、GLER、DQEW、DLEW、GIEW、ELEW、GPEW、EWLP、GPER、GLER 及び ELEW などの位置 44-47 での GLEW 様配列を含有する。		

10

20

30

40

【0074】

「マイクロRNA」、「miRNA」及び「miR」という用語は、本明細書では互換的に使用され、NRAサイレンシング及び遺伝子発現の転写後調節において機能する一本鎖ノンコーディングRNAを指す。miRNAは、mRNA分子との相補的塩基対合によって機能し、特に、以下のうちの1つ以上によって、mRNAをサイレンシングする：(a) mRNA鎖の2つの部分への開裂、(b) ポリ(A)テールの短縮を通してのmRNAの不安定化、及び(c) リボソームによるmRNAのタンパク質への効率が低い翻訳。

【0075】

「対象」、「患者」及び「個体」という用語は、互換的に使用され、ヒト患者及び非ヒ

50

ト霊長類、並びにウサギ、イヌ、ネコ、ラット、マウス、及び他の動物が挙げられるが、これらに限定されない哺乳動物を指す。したがって、本明細書で使用される「対象」又は「患者」という用語は、本開示の組成物が投与され得るあらゆる哺乳動物の患者又は対象を意味する。対象には、障害を有するものが含まれる。一実施形態では、対象はヒトである。

【0076】

本明細書で使用される「遺伝性疾患」という用語は、ポリヌクレオチド治療薬で治療可能である疾患又は障害を指す。遺伝疾患の例としては、遺伝子突然変異、癌、及びウイルス感染によって引き起こされるあらゆる疾患又は障害、遺伝子編集（例えば、CRISPR/Cas9、又はジンクフィンガーヌクレアーゼ）を使用して修正され得る突然変異によって引き起こされる疾患又は障害、遺伝子の過剰発現によって引き起こされる疾患又は障害、及び遺伝子の発現の減少若しくは欠如によって引き起こされる疾患又は障害が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0077】

本明細書で使用される「標的化分子」という用語は、特定の標的又は位置で結合又は局在化する分子を指す。この分子は、例えば、抗体若しくはその抗原結合フラグメント、又は結合タンパク質であり得る。標的化分子は、例えば、NANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン（ISV）であってもよい。

【0078】

医薬組成物は、第1の活性成分を含み得る。医薬組成物は、単位用量形態で製剤化され得る。医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、又は担体を含み得る。医薬組成物は、第2、第3、又は第4の活性成分を含み得る。

20

【0079】

本明細書に記載の組成物は、賦形剤を含み得る。賦形剤は、（組成物の構成成分の酸化又は劣化を最小限にするための）PH剤、（組成物の構成成分の改変又は劣化を防ぐための）安定化剤、（温度安定性を高めるための）緩衝剤、（タンパク質の溶解性を高めるための）可溶化剤、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。賦形剤は、界面活性剤、糖、アミノ酸、抗酸化剤、塩、非イオン性界面活性剤、可溶化剤、トリグリセリド、アルコール、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。賦形剤は、炭酸ナトリウム、酢酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、ポリエチレングリコール（PEG）、ヒト血清アルブミン（HSA）、ソルビトール、スクロース、トレハロース、ポリソルベート80、リン酸ナトリウム、スクロース、リン酸二ナトリウム、マンニトール、ポリソルベート20、ヒスチジン、クエン酸塩、アルブミン、水酸化ナトリウム、グリシン、クエン酸ナトリウム、トレハロース、アルギニン、酢酸ナトリウム、酢酸塩、HCl、エデト酸二ナトリウム、レシチン、グリセリン、キサンタンゴム、大豆イソフラボン、ポリソルベート80、エチルアルコール、水、テブレノン、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。賦形剤は、Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association (1986)に記載されている賦形剤であり得る。

30

【0080】

「薬学的有効量」、「治療有効量」又は「治療有効用量」という用語は、例えば、疾患（例えば、本明細書に記載の遺伝性疾患）に罹患している患者の全般的な健康状態、生理学的応答若しくは状態の治療、治療、阻害又は改善などにおける有益且つ／又は望ましい変化をもたらす、患者の疾患を治療するのに有効な量を指す。完全な治療効果は、1回の用量の投与によって必ずしも生じるものではなく、一連の用量の投与後にのみ起こり得る。したがって、治療有効量は、1回以上の投与で施され得る。対象に必要な正確な有効量は、例えば、対象の寸法、健康状態及び年齢、疾患の性質及び程度、投与のために選択される治療薬又は治療薬の組み合わせ、並びに投与方法に依存するであろう。専門家であれば、日常的な実験によって所与の状況に対する有効量を容易に決定することができる。専門家は、例えば、癌の治療には、限定されないが、癌細胞を殺傷し、新しい癌細胞の増殖

40

50

を防ぎ、腫瘍退縮（腫瘍サイズの減少）を引き起こし、転移の減少を引き起こし、患者の重要な機能を改善させ、患者の健康状態を改善させ、痛みを軽減し、食欲を改善させ、患者の体重を改善させ、及びそれらの任意の組み合わせが含まれることを認識するであろう。「薬学的有効量」、「治療有効量」、又は「治療有効用量」という用語はまた、患者の臨床症状を改善するのに必要な量も指す。本明細書に記載される治療法又は治療する方法は、疾患を「治療する」と解釈されるべきではなく、又は他の方法でこれに限定されるべきではない。

【0081】

本明細書で使用される場合、「治療すること」又は「治療」という用語は、対象の状態を改善又は安定化させる方法で、状態の症状、臨床徴候、及び基礎となる病理を逆転、軽減又は阻止することを含む。本明細書で使

10

用され、且つ当該技術分野においてよく理解されているように、「治療」は、臨床結果を含む有益な又は所望の結果を得るためのアプローチである。有益な又は所望の臨床結果には、状態に関連する1つ以上の症状若しくは状態の軽減、改善、又は進行を遅らせること、疾患の程度を減少、疾患の状態の安定化（すなわち、悪化させないこと）、疾患進行の遅延若しくは減速、疾患状態の改善若しくは緩和、及び寛解（部分的又は全体的のいずれかの）、検出可能又は検出不能のいずれかを挙げることができるが、これらに限定されない。「治療」はまた、治療を受けていない場合に予想される生存期間と比較すると、生存期間が延長することも意味することができる。例示的な有益な臨床結果が、本明細書に記載される。「治療すること」及び「治療」という用語はまた、症状の重症度及び／又は頻度の低減、症状及び／又は基礎疾患の排除、症

20

状及び／又は基礎疾患の発症の予防、並びに／又は損傷の改善若しくは修復にも関連し得る。

【0082】

対象に本明細書に開示されるような組成物を「投与すること」又は組成物の「投与」は、当業者に既知の様々な方法のうちの1つを使用して実行することができる。投与することはまた、例えば、1回、複数回、及び／又は1回以上の長期にわたり実施することができる。いくつかの態様では、投与には、自己投与を含む直接投与、及び薬物を処方する行為を含む関節投与の両方が含まれる。例えば、本明細書で使

30

用される場合、患者に薬物を自己投与するように指示する医師、又は他の医師に薬物を投与させるように指示する医師及び／若しくは薬物の処方箋を患者に提供する医師は、その薬物を患者に投与することである。方法が、2つ以上の医薬組成物又は治療法が関与する治療レジメンの一部である場合、本開示は、医薬組成物が同じ又は異なる時間に、且つ同じ又は異なる投与経路を介して投与され得ることを企図する。

【0083】

本明細書に開示される組成物の投与又は適用は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、又は100日の連続する若しくは連続しない日数の治療期間にわたって実施され得る。場合によっては、治療期間は、約1～約30日、約2～約30日、約3～約30日、約4～約30日、約5～約30日、約6～約30日、約7～約30日、約8～約30日、約9～約30日、約10～約30日、約11～約30日、約12～約30日、約13～約30日、約14～約30日、約15～約30日、約16～約30日、約17～約30日、約18～約30日、約19～約30日、約20～約30日、約21～約30日、約22～約30日、約23～約30日、約24～約30日、約25～約30日、約26～約30日、約27～約30日、約28～約30日、又は約29～約30日であり得る。

40

50

【0084】

本明細書に開示される組成物の投与又は適用は、少なくとも約1週間、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、少なくとも約5年、少なくとも約6年、少なくとも約7年、少なくとも約8年、少なくとも約9年、少なくとも約10年、少なくとも約15年、少なくとも約20年、又はそれ以上の治療期間にわたって実施され得る。投与は、対象の寿命にわたって、毎月1回又は1年に1回など、対象の寿命にわたって繰り返し実施することができる。投与は、毎月1回又は1年に1回、少なくとも約1年、5年、10年、15年、20年、25年、30年、又はそれ以上にわたってなど、対象の寿命のかなりの部分にわたって繰り返し実施され得る。

10

【0085】

本明細書に開示される組成物の投与又は適用は、1日に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、又は24回実施され得る。場合によっては、本明細書に開示される組成物の投与又は適用は、1週間に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又は21回実施され得る。場合によっては、本明細書に開示される組成物の投与又は適用は、1ヶ月に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、又は90回実施され得る。

20

【0086】

場合によっては、組成物は、単回用量として又は分割用量として投与／適用され得る。場合によっては、本明細書に記載の組成物は、第1の時点及び第2の時点で投与され得る。場合によっては、第1の投与が、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、16時間、20時間、1日、2日、4日、7日、2週間、4週間、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、1年以上の投与時間の差で他方よりも先に投与されるように、組成物が投与され得る。

30

【0087】

本明細書で使用される場合、第2の療法は、免疫療法、ホルモン療法、凍結療法、外科的処置又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。第2の療法は、小分子などの医薬組成物の投与を含み得る。第2の療法は、1つ以上の抗生物質などの医薬組成物の投与を含み得る。第2の療法は、筋弛緩剤、抗うつ剤、ステロイド、オピオイド、大麻ベースの治療薬、アセトアミノフェン、非ステロイド性抗炎症薬、神経障害剤、大麻、プロゲスチン、プロゲステロン、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。神経障害剤は、ガバペンチンを含み得る。非ステロイド性抗炎症薬は、ナプロキセン、イブプロフェン、COX-2阻害剤、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。第2の療法は、生物学的薬剤の投与、細胞療法、再生医療療法、組織工学的アプローチ、幹細胞移植又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。第2の療法は、医療処置を含み得る。医療処置は、硬膜外注射（ステロイド注射など）、鍼治療、運動、理学療法、超音波、外科的療法、カイロプラクティック手技、整形外科的手技、化学的髄核融解術、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。第2の療法は、呼吸補助器具又は人工呼吸器の使用を含み得る。第2の療法は、タンパク質、幹細胞、臍帯血細胞、臍帯組織、組織、若しくはそれらの任意の組み合わせなどの再生療法又は免疫療法の投与を含み得る。第2の療法は、バイオ後続品を含み得る。

40

【0088】

診断検査は、イメージング処置、血球数分析、組織病理学分析、バイオマーカー分析、生検、磁気共鳴画像診断、身体検査、尿検査、超音波検査、遺伝子検査、肝機能検査、陽

50

電子放出断層撮影処置、X線、血清検査、血管造影検査、心電図検査、内視鏡検査、診断用ポリメラーゼ連鎖反応検査（PCR）、PAPスメア、ヘマトクリット検査、皮膚アレルギー検査、尿検査、大腸内視鏡検査、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、顕微鏡検査、骨髄検査、迅速診断検査、妊娠検査、臓器機能検査、毒性検査、感染症検査、体液検査、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。

【0089】

本明細書で使用される「組織」という用語は、任意の組織試料であり得る。組織は、疾患又は状態を有することが疑われるか又は確認された組織であり得る。組織は、実質的に健康であり得るか、実質的に良性であり得るか、又はその他実質的に疾患若しくは状態がない試料であり得る。組織は、組織生検、組織切除、吸引物（細針吸引物など）、組織洗浄、細胞診標本、体液、又はそれらの任意の組み合わせなどの対象から除去される組織であり得る。組織は、癌性細胞、腫瘍細胞、非癌性細胞、又はそれらの組み合わせを含み得る。組織は、血液サンプル（例えば、無細胞DNA試料）を含み得る。組織は、遺伝子改変され得る試料であり得る。

【0090】

場合によっては、疾患又は状態は、神経筋障害を含み得る。

【0091】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、（治療用）標的化分子／薬剤に複合体化される。いくつかの実施形態では、標的部分は、アミノ酸、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、抗原、毒素、ホルモン、脂質、ヌクレオチド、ヌクレオシド、糖、炭水化物、ポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコールなどのポリマー、並びにこれら全てのクラスの物質の類似体又は誘導体を含む。標的化部分の追加的な例としては、コレステロールなどのステロイド、リン脂質、ジアシルグリセロール及びトリアシルグリセロール、脂肪酸、炭化水素（例えば、飽和、不飽和、若しくは置換を含む）、酵素基質、ビオチン、ジゴキシゲニン、及び多糖も含まれる。いくつかの実施形態では、標的部分は、抗体又はその結合フラグメントである。標的部分は、本明細書では標的化剤又は標的化分子と互換的に使用される。

【0092】

標的化分子は、抗体若しくはその抗原結合フラグメント、又は結合タンパク質であってもよい。いくつかの実施形態では、標的化分子は、抗体若しくはその抗原結合フラグメント（例えば、ポリヌクレオチド-抗体複合体）である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその結合フラグメントは、ヒト抗体若しくはその抗原結合フラグメント、ヒト化抗体若しくはその抗原結合フラグメント、ネズミ抗体若しくはその抗原結合フラグメント、キメラ抗体若しくはその抗原結合フラグメント、モノクローナル抗体若しくはその抗原結合フラグメント、一価Fab'、二価Fab2、F(ab)'3フラグメント、一本鎖可変フラグメント(scFv)、ビス-scFv、(scFv)2、ダイアボディ、ミニボディ、NANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、単一ドメイン抗体(sdAb)、IgNAR、vNAR、テネイシンC（センチリン分子としても知られる）に基づくムテイン、ラクダ抗体若しくはその抗原結合フラグメント、二重特異性抗体若しくはその抗原結合フラグメント、又はその化学修飾誘導体である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、及びNANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、二重特異性抗体である。二重特異性抗体の非限定的な例は、二重特異性T細胞エンゲージャー(BiTE)及び二重親和性再標的化抗体(DART)を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、三官能性抗体又は二重特異性ミニ抗体である。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、三官能性抗体で

10

20

30

40

50

ある。いくつかの実施形態では、三官能性抗体は、2つの異なる抗原に対する結合部位を含む完全長モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、二重特異性ミニ抗体である。いくつかの実施形態では、二重特異性ミニ抗体は、二価 Fab 2、F(ab)'₃フラグメント、ビス-s c F v、(s c F v)₂、ダイアボディ、ミニボディ、トリアボディ、テトラボディ又は二重特異性 T 細胞エンゲージャー (BiTE) を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性 T 細胞エンゲージャーは、2つの s c F v が 2 つの異なる抗原のエピトープを標的とする 2 つの一本鎖可変フラグメント (s c F v) を含有する融合タンパク質である。

【0093】

いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、Fab である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、Fab-Fc である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、Fv である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、一本鎖 Fv (s c F v) である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合部分が s c F v である場合、ポリヌクレオチドは架橋残基を含まない。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合部分が s c F v である場合、ポリヌクレオチドはシステインを含まない。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、ダイアボディである。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、ミニボディである。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、NANOBODY (登録商標) 分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) である。NANOBODY (登録商標) は、NANOBODY (登録商標) 分子-HSA であってもよい。

【0094】

いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、IgG 分子であるか、又は IgG 分子に由来する。IgG 分子は、IgG1 又は IgG4 分子であってもよい。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、IgG1 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、IgG2 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、IgG3 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、IgG4 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。

【0095】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、結合タンパク質である。結合タンパク質は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであってもよい。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、Fc 融合タンパク質である。

【0096】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、血漿タンパク質である。いくつかの実施形態では、血漿タンパク質はアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、アルブミンは、本明細書に開示される複合体化化学のうちの 1 つ以上によってポリヌクレオチドに複合体化される。いくつかの例では、アルブミンは、ネイティブライゲーション化学によってポリヌクレオチドに複合体化される。いくつかの例では、アルブミンは、ポリヌクレオチドにリシン複合体化される。

【0097】

いくつかの例では、標的化分子はステロイドである。非限定的な例示的ステロイドには、コレステロール、リン脂質、ジアシルグリセロール及びトリアシルグリセロール、脂肪酸、飽和、不飽和、置換を含む炭化水素、又はそれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの実施形態では、ステロイドは、コレステロール又はコレステロール誘導体である。いくつかの実施形態では、標的化分子はコレステロールである。いくつかの実施形態では、ステロイドは、本明細書に開示される複合体化化学のうちの 1 つ以上によってポリヌクレオチドに複合体化される。いくつかの実施形態では、ステロイドは、ネイティブライゲ-

ション化学によってポリヌクレオチドに複合体化される。

【0098】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、細胞上の特異的表面マーカーに結合するポリヌクレオチドアプタマーが挙げられるが、これらに限定されないポリマーである。いくつかの実施形態では、標的化分子は、標的遺伝子又はmRNAにハイブリダイズしないが、代わりに、細胞表面マーカーのその特異的エピトープに結合する抗体と同様に、細胞表面マーカーに選択的に結合することができるポリヌクレオチドである。

【0099】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、ポリペプチドを含むか又はポリペプチドである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、約1～約3kDaのサイズを有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、約1.2～約2.8kDa、約1.5～約2.5kDa、又は約1.5～約2kDaのサイズを有する。いくつかの実施形態では、標的化分子はポリペプチドである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、1～3kDaのサイズを有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、1.2～2.8kDa、1.5～2.5kDa、又は1.5～2kDaのサイズを有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは二環式ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、二環式ポリペプチドは、制約された二環式ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、標的化分子は、二環式ポリペプチド（例えば、Bicycle Therapeuticsからの二環式化合物）である。

【0100】

追加の実施形態では、標的化分子は、小分子を含むか又は小分子である。いくつかの実施形態では、小分子は、抗体動員小分子を含むか又は抗体動員小分子である。いくつかの実施形態では、抗体動員小分子は、標的結合末端及び抗体結合末端を含み、この中で標的結合末端は、細胞表面受容体を認識し、それと相互作用することができる。

【0101】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、治療活性分子又は生物学的活性分子を含むか又はそれらである。

【0102】

いくつかの実施形態では、薬剤（本明細書に記載の治療剤又は治療用標的化剤など）は、ポリヌクレオチドを含む。

【0103】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約5～約100ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約5～約50ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約10～約30、約15～約30、約18～約25、約18～約24、約19～約23、又は約20～約22ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約50ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約49ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約48ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約47ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約46ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約45ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約44ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約43ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約42ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約41ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約40ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約39ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約38ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約37ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、約36ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、

40

50

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、5～100ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、5～50ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、10～30、15～30、18～25、18～24、19～23、又は20～22ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、50ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、49ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、48ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、47ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、46ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、4

40

50

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、RNA、DNA又はそれらの組み合わせ

せを含む。場合によっては、ポリヌクレオチドは、RNAを含む。場合によっては、ポリ
 ヌクレオチドは、DNAを含む。場合によっては、ポリヌクレオチドは、RNA及びDNA
 Aを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DNA、RNA及び／又は人
 工ヌクレオチド類似体の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド
 は、調節ノンコーディングRNA(ncRNA)である。いくつかの実施形態では、nc
 RNAは、哺乳動物細胞中の他の生態分子の発現又は機能を調節するゲノム中で発現され
 る短鎖ノンコーディングRNA配列を含む。ncRNAは、一般に、＜200ヌクレオチ
 ドの長さであり、一本鎖又は二本鎖であり得、非直線状の二次構造又は三次構造を形成し
 得る。ncRNAは、外因性由来の低分子干渉RNA(sRNA)、マイクロRNA(miRNA)、核小体RNA(U-RNA)、核内低分子RNA(snoRNA)、Pi
 wi相互作用RNA(piRNA)、リピート関連低分子干渉RNA(rasRNA)、小さなrDNA由来のRNA(srRNA)、転移RNA由来の低分子RNA(tsR
 NA)、リボソームRNA由来の低分子RNA(rsRNA)、長鎖ノンコーディングR
 NA由来の小分子RNA(lncRNA)、又はメッセンジャーRNA由来の低分子R
 NA(msRNA)を含み得る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、操作さ
 れたポリヌクレオチドである。操作されたポリヌクレオチドは、DNA又はRNAを含ん
 でもよい。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、複数のヌクレオチ
 ドを含む。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、人工ヌクレオチド
 類似体を含む。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、DNAを含む
 。いくつかの実施形態では、DNAは、ゲノムDNA、無細胞DNA、cDNA、胎児D
 NA、ウイルスDNA、又は母体DNAである。いくつかの実施形態では、操作されたポ
 リヌクレオチドは、RNAを含む。いくつかの実施形態では、RNAは、sRNA、n
 cRNAミミック、ショートヘアピンRNA(shRNA)、dicer依存性siRN
 A(di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)、ギャップマー、
 ミキシマー、二本鎖RNA(dsRNA)、一本鎖RNAi(ssRNAi)、DNA依
 存性RNA干渉(ddRNAi)、RNA活性化オリゴヌクレオチド(RNAa)、転移
 RNA(tRNA)、リボソームRNA(rRNA)、ヘテロ核RNA(hnRNA)、
 プロモーター関連RNA、TIP5と相互作用することによってリボソームRNA転写を
 調節するノンコーディングRNAエレメント(NORC RNA)、リボザイム、アンチ
 マイクロRNA(antimiR)、アプタマー、又はエキソンスキッピングオリゴヌク
 レオチドである。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、完全に合成
 されたmiRNAを含む。完全に合成されたmiRNAは、誘導されないか、又はncR
 NAに基づいていないものである。代わりに、完全に合成されたmiRNAは、複数の潜
 在的な標的配列の解析に基づいてもよく、又はncRNAではない単離された天然のノン
 コーディング配列に基づいてもよい。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、s
 iRNA、miRNA、miRNAミミック、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO
)、mRNA、及びガイドRNAからなる群から選択される。ポリヌクレオチドは、s
 iRNAであってもよい。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、miRNAであ
 る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、miRNAミミックである。

10

20

30

40

50

【0106】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ASOである。いくつかの実施形態で
 は、ASOは、DMPK ASOである。いくつかの実施形態では、ASOは、CAPN
 3 ASOである。ASOは、DUX4標的化ASOであってもよい。DUX4標的化A
 SOは、当該技術分野において既知である。それらの各々が、その全体において参照によ
 り本明細書に組み込まれる、国際公開第2021／203043号パンフレット及び米国
 仮特許出願第63／221,568号明細書を参照されたい。DUX4標的化ASOの追
 加の非限定的な例は、下記の表1に提供されている。いくつかの実施形態では、DUX4
 標的化ASOは、ASDX2、ASDX4、ASDX23、ASDX26、及びASDX
 32からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、A
 SDX2である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX4である

。いくつかの実施形態では、DUX4 標的化ASOは、ASDX23である。いくつかの実施形態では、DUX4 標的化ASOは、ASDX26である。いくつかの実施形態では、DUX4 標的化ASOは、ASDX32である。

【0107】

【表2】

表 1.DUX4 標的化アンチセンスオリゴヌクレオチドの配列

オリゴ	配列(5'-3') ²
ASDX1	{G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*g*t*a*g*{C}*{C}
ASDX2	アミノ C6-{G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*g*t*a*g*{C}*{C}
ASDX3	アミノ C6-{T}*{G}*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*{T}*{C}
ASDX4	アミノ C6-{T}{G}t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*{T}{C}
ASDX5	アミノ C6-{T}mp{G}t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*{T}mp{C}
ASDX6	アミノ C6-[T]*[G]*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*[T]*[C]
ASDX7	{G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*g*t*a*g*{C}*{C}
ASDX8	{T}*{C}*c*a*a*a*c*g*a*g*t*c*t*c*{C}*{G}
ASDX9	アミノ C6-{T}*{C}*c*a*a*a*c*g*a*g*t*c*t*c*{C}*{G}
ASDX10	{G}*{A}*t*t*c*t*g*a*a*a*c*c*a*g*{A}*{T}
ASDX11	アミノ C6-{G}*{A}*t*t*c*t*g*a*a*a*c*c*a*g*{A}*{T}
ASDX12	{G}*{C}*g*g*g*c*g*c*c*t*g*c*c*{A}*{C}
ASDX13	アミノ C6-{G}*{C}*g*g*g*c*g*c*c*t*g*c*c*{A}*{C}
ASDX14	{T}*{C}*a*t*c*c*a*g*c*a*g*c*a*g*{G}*{C}
ASDX15	アミノ C6-{T}*{C}*a*t*c*c*a*g*c*a*g*c*a*g*{G}*{C}
ASDX16	{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}

10

20

30

【0108】

40

50

【表 3】

ASDX17	アミノ C6- $\{T\} * \{A\} * g * c * c * a * g * c * c * a * g * g * t * g * \{T\} * \{T\}$
ASDX18	$\{C\} * \{A\} * g * c * g * t * c * g * g * a * a * g * g * t * \{G\} * \{G\}$
ASDX19	アミノ C6- $\{C\} * \{A\} * g * c * g * t * c * g * g * a * a * g * g * t * \{G\} * \{G\}$
ASDX20	$\{T\} * \{A\} * g * a * c * a * g * c * g * t * c * g * g * a * \{A\} * \{G\}$
ASDX21	アミノ C6- $\{T\} * \{A\} * g * a * c * a * g * c * g * t * c * g * g * a * \{A\} * \{G\}$
ASDX22	$\{A\} * \{T\} * a * g * g * a * t * c * c * a * c * a * g * g * \{G\} * \{A\}$
ASDX23	アミノ C6- $\{A\} * \{T\} * a * g * g * a * t * c * c * a * c * a * g * g * \{G\} * \{A\}$
ASDX24	アミノ C6- $[A] * [T] * a * g * g * a * t * c * c * a * c * a * g * g * [G] * [A]$
ASDX25	$\{T\} * \{C\} * t * a * t * a * g * g * a * t * c * c * a * c * \{A\} * \{G\}$
ASDX26	アミノ C6- $\{T\} * \{C\} * t * a * t * a * g * g * a * t * c * c * a * c * \{A\} * \{G\}$
ASDX27	$\{G\} * \{C\} * a * c * t * a * a * t * c * a * t * c * c * a * \{G\} * \{G\}$
ASDX28	アミノ C6- $\{G\} * \{C\} * a * c * t * a * a * t * c * a * t * c * c * a * \{G\} * \{G\}$
ASDX29	$\{C\} * \{A\} * \{G\} * c * g * t * c * g * g * a * a * g * \{G\} * \{T\} * \{G\}$
ASDX30	アミノ C6- $\{C\} * \{A\} * \{G\} * c * g * t * c * g * g * a * a * g * \{G\} * \{T\} * \{G\}$
ASDX31	$(C) * (C) * (A) * (G) * c * g * t * c * g * g * a * a * g * (G) * (T) * (G) * (T)$
ASDX32	アミノ C6- $(C) * (C) * (A) * (G) * c * g * t * c * g * g * a * a * g * (G) * (T) * (G) * (T)$
ASDX33	$\{C\} * \{C\} * t * \{A\} * g * a * c * a * g * c * g * t * c * g * \{G\} * \{A\} * a * g * \{G\} * \{T\}$
ASDX34	$\{A\} * \{T\} * \{A\} * g * g * a * t * c * c * a * c * a * g * g * g * \{A\} * \{G\} * \{G\}$
ASDX35	$\{C\} * \{G\} * \{G\} * c * t * c * t * g * g * g * a * t * c * c * c * \{C\} * \{G\} * \{G\}$
ASDX36	$\{G\} * \{G\} * \{G\} * g * c * g * g * a * g * a * c * a * c * g * \{C\} * \{C\} * \{C\}$
ASDX37	$\{A\} * \{G\} * \{A\} * a * g * g * c * a * g * g * a * a * t * c * c * \{C\} * \{A\} * \{G\}$
ASDX38	$\{G\} * \{C\} * \{A\} * g * g * a * a * t * c * c * a * g * g * c * \{C\} * \{G\} * \{G\}$
ASDX39	$\{G\} * \{G\} * \{A\} * g * t * c * t * c * t * c * a * c * c * g * g * \{G\} * \{C\} * \{C\}$
ASDX40	$\{A\} * \{G\} * \{A\} * g * g * c * c * a * g * c * g * a * g * c * t * \{C\} * \{C\} * \{C\}$
ASDX41	$\{G\} * \{G\} * \{C\} * t * c * t * g * g * g * a * t * c * c * c * c * \{G\} * \{G\} * \{G\}$
ASDX42	$\{C\} * \{A\} * \{G\} * a * g * a * g * g * c * c * a * g * c * g * a * \{G\} * \{C\} * \{T\}$
ASDX43	$\{G\} * \{A\} * \{C\} * a * g * c * g * t * c * g * g * a * a * g * g * \{T\} * \{G\} * \{G\}$
ASDX44	$\{G\} * \{T\} * \{A\} * a * c * t * c * t * a * a * t * c * c * a * g * \{G\} * \{T\} * \{T\}$
ASDX45	$\{A\} * \{C\} * \{A\} * a * g * g * g * c * a * c * a * g * a * g * a * \{G\} * \{G\} * \{C\}$
ASDX46	$\{G\} * \{A\} * \{G\} * c * t * c * c * t * t * g * c * a * c * g * \{T\} * \{C\} * \{A\}$
ASDX47	$\{C\} * \{C\} * \{G\} * t * c * c * a * a * c * c * c * g * c * \{G\} * \{T\} * \{C\}$
ASDX48	$\{C\} * \{C\} * \{T\} * a * a * a * g * c * t * c * c * t * c * c * a * \{G\} * \{C\} * \{A\}$
ASDX49	$\{G\} * \{C\} * \{G\} * a * g * g * c * g * g * c * c * t * c * t * t * \{C\} * \{C\} * \{G\}$

10

20

30

40

【 0 1 0 9 】

【表 4】

ASDX50	{G}*{C}*{C}*t*c*c*a*g*c*t*c*c*c*c*{G}*{G}*{G}
ASDX51	{G}*{G}*{T}*g*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*{C}*{A}*{T}
ASDX52	{C}*{T}*{G}*g*g*c*c*a*g*c*c*g*t*t*c*{T}*{C}*{T}
ASDX53	{G}*{G}*{G}*c*c*a*g*c*c*g*t*t*c*t*c*{T}*{G}*{G}
ASDX54	{C}*{A}*a*t*t*t*c*a*g*g*c*t*t*t*{T}*t*{C}*{T}
ASDX55	{T}*{G}*{C}*c*t*a*c*a*g*a*a*g*g*c*t*{T}*{T}*{G}
ASDX56	{A}*{T}*c*t*c*t*g*c*a*c*t*c*a*t*{C}*a*{C}*{A}
ASDX57	{C}*{T}*g*a*t*c*a*c*c*g*a*a*g*t*{T}*c*{T}*{G}
ASDX58	{A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*a*{G}*{G}
ASDX59	{C}*{C}*a*g*g*a*g*a*t*g*t*a*a*c*{T}*c*{T}*{A}
ASDX60	{G}*{A}*{A}*a*g*a*g*a*g*g*c*c*a*c*c*{G}*{C}*{C}
ASDX61	{G}*{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}*{C}
ASDX62	{G}*{C}*{C}*c*c*t*c*c*g*t*a*g*c*c*a*{G}*{C}*{C}
ASDX63	{T}*{G}*{C}*t*g*t*c*c*g*a*g*g*g*t*g*{T}*{C}*{G}
ASDX64	{A}*{G}*{G}*g*g*t*g*c*t*t*c*c*a*g*c*{G}*{A}*{G}
ASDX65	{T}*{T}*{C}*t*t*c*c*t*c*g*c*t*g*a*g*{G}*{G}*{G}
ASDX66	{C}*{G}*{G}*t*a*t*t*c*t*t*c*c*t*c*g*{C}*{T}*{G}
ASDX67	{T}*{C}*{C}*t*c*c*a*g*c*a*g*a*g*c*c*{C}*{G}*{G}
ASDX68	{C}*{C}*{T}*g*g*g*c*c*g*g*c*t*c*t*g*{G}*{G}*{A}
ASDX69	{T}*{G}*{C}*t*g*g*t*a*c*c*t*g*g*g*c*{C}*{G}*{G}
ASDX70	{T}*{C}*{T}*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}

²{N}はロックド核酸(LNA)であり;(C)は 2'メトキシエチルであり;[N]は分岐核酸(BNA)であり;*はホスホチオネート修飾骨格である。(m)p はメチルホスホネートである

【0110】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ジストロフィン、DUX4、DMPK又はCAPN3を標的とするsiRNA、miRNA、miRNAミミック、ASO、又はガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするmiRNAミミックを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするASOを含む。

【0111】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、コーディングRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、mRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ノンコーディングRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、長鎖ノンコーディングRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ガイドRNAである。

【0112】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、1つ以上の人工ヌクレオチド類似体を含む。いくつかの例では、人工ヌクレオチド類似体は、リボース部分、リン酸部分、ヌクレオシド部分、又はそれらの組み合わせのうちの1つ以上で修飾を含む。いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体のうちの1つ以上は、天然ポリヌクレオチドと比較した場合、例えば、RNAアーゼなどのリボヌクレアーゼ、DNAアーゼなどのデオキシリボヌクレアーゼ、又は5' - 3' エキソヌクレアーゼ及び3' - 5' エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼなどのヌクレアーゼに対して耐性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル (2' - O - MOE)、2' - O - アミノプロピル、2' - デオキシ、T - デオキシ - 2' - フルオロ、2' - O - アミノプロピル (2' - O - AP)、2' - O - ジメチルアミノエチル (2' - O - DMAOE)、2' - O - ジメチルアミノプロピル (2' - O - DMAP)、T - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル (2' - O - DMAEOE)、若しくは2' - O - N - メチルアセトアミド (2' - O - NMA) 修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、BNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2' - フルオロN3 - P5' - ホスホルアミダイト、又はそれらの組み合わせを含む人工ヌクレオチド類似体は、例えば、RNAアーゼなどのリボヌクレアーゼ、DNAアーゼなどのデオキシリボヌクレアーゼ、又は5' - 3' エキソヌクレアーゼ及び3' - 5' エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼなどのヌクレアーゼに対して耐性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - メチル修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - メトキシエチル (2' - O - MOE) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - アミノプロピル修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - デオキシ修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、T - デオキシ - 2' - フルオロ修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - アミノプロピル (2' - O - AP) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - ジメチルアミノエチル (2' - O - DMAOE) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - ジメチルアミノプロピル (2' - O - DMAP) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、T - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル (2' - O - DMAEOE) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - N - メチルアセトアミド (2' - O - NMA) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNAアーゼ、DNAアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'

エキソヌクレアーゼ耐性)である。いくつかの実施形態では、LNA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)である。いくつかの実施形態では、ENA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)である。いくつかの実施形態では、HNA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)である。モルホリノは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)であり得る。いくつかの実施形態では、PNA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼに対して耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)を有する。いくつかの実施形態では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)である。いくつかの実施形態では、チオールホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)である。いくつかの実施形態では、2' - フルオロN3 - P5' - ホスホルアミダイトを含むポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3'エキソヌクレアーゼ又は3' - 5'エキソヌクレアーゼ耐性)である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の5'複合体は、5' - 3'エキソヌクレアーゼ的切断を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の3'複合体は、3' - 5'エキソヌクレアーゼ的切断を阻害する。

【0113】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の人工ヌクレオチド類似体のうちの1つ以上は、等価な天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体は、リボース部分の2'ヒドロキシル基で修飾を有する核酸を含む。いくつかの実施形態では、修飾は、H、OR、R、ハロ、SH、SR、NH₂、NHR、NR₂、又はCNを含み、式中、Rはアルキル部分である。例示的なアルキル部分としては、ハロゲン、硫黄、チオール、チオエーテル、チオエステル、アミン(一級、二級、又は三級)、アミド、エーテル、エステル、アルコール及び酸素が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、アルキル部分は、修飾を更に含む。いくつかの実施形態では、修飾は、アゾ基、ケト基、アルデヒド基、カルボキシル基、ニトロ基、ニトロソ基、ニトリル基、複素環(例えば、イミダゾール、ヒドラジノ又はヒドロキシルアミノ)基、イソシアネート若しくはシアネート基、又は硫黄含有基(例えば、スルホキシド、スルホン、スルフィド、又はジスルフィド)を含む。いくつかの実施形態では、アルキル部分は、ヘテロ置換を更に含む。いくつかの実施形態では、複素環式基の炭素は、窒素、酸素又は硫黄によって置換されている。いくつかの実施形態では、複素環の置換には、モルホリノ、イミダゾール、及びピロリジノが挙げられるが、これらに限定されない。2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル(2' - O - MOE)、2' - O - アミノプロピル、2' - デオキシ、T - デオキシ、2' - フルオロ、2' - O - アミノプロピル(2' - O - AP)、2' - O - ジメチルアミノエチル(2' - O - DMAOE)、2' - O - ジメチルアミノプロピル(2' - O - DMA P)、T - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル(2' - O - DMAEOE)、若しくは2' - O - N - メチルアセトアミド(2' - O - NMA)修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、又は2' - フルオロN3 - P5' - ホスホルアミダイトを含む人工ヌクレオチド類似体のうちの1つ以上は、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有し得る。いくつかの実施形態では、2' - O - メチル修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - メトキ

シエチル（2'-O-MOE）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-アミノプロピル修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-デオキシ修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、T-デオキシ-2'-フルオロ修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-アミノプロピル（2'-O-AP）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-ジメチルアミノエチル（2'-O-DMAOE）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-ジメチルアミノプロピル（2'-O-DMAP）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、T-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル（2'-O-DMAEOE）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-N-メチルアセトアミド（2'-O-NMA）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、LNA修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ENA修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、PNA修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、HNA修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、モルホリノ修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、チオールホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-フルオロN3-P5'-ホスホルアミダイトを含むポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、増加した親和性は、より低いKd、より高い溶融温度（Tm）、又はそれらの組み合わせで例証される。

【0114】

いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体は、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル（2'-O-MOE）、2'-O-アミノプロピル、2'-デオキシ、T-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル（2'-O-AP）、2'-O-ジメチルアミノエチル（2'-O-DMAOE）、2'-O-ジメチルアミノプロピル（2'-O-DMAP）、T-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル（2'-O-DMAEOE）、若しくは2'-O-N-メチルアセトアミド（2'-O-NMA）修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2'-フルオロN3-P5'-ホスホルアミダイト、又はそれらの組み合わせを含む。

【0115】

いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体は、限定されないが、5-プロピニ

ルウリジン、5-プロピニルシチジン、6-メチルアデニン、6-メチルグアニン、N，N，-ジメチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-プロピルグアニン、2-アミノアデニン、1-メチルイノシン、3-メチルウリジン、5-メチルシチジン、5-メチルウリジン及び5位に修飾を有する他のヌクレオチド、5-(2-アミノ)プロピルウリジン、5-ハロシチジン、5-ハロウリジン、4-アセチルシチジン、1-メチルアデノシン、2-メチルアデノシン、3-メチルシチジン、6-メチルウリジン、2-メチルグアノシン、7-メチルグアノシン、2，2-ジメチルグアノシン、5-メチルアミノエチルウリジン、5-メチルオキシウリジン、デアザヌクレオチド（7-デアザーアデノシン、6-アゾウリジン、6-アゾシチジン、又は6-アゾチミジンなど）、5-メチル-2-チオウリジン、他のチオ塩基（2-チオウリジン、4-チオウリジン、及び2-チオシチジンなど）、ジヒドロウリジン、シュドウリジン、クエオシン、アルケオシン、ナフチル基及び置換ナフチル基、任意のO-及びN-アルキル化プリン及びピリミジン（N 6-メチルアデノシン、5-メチルカルボニルメチルウリジン、ウリジン5-オキシ酢酸、ピリジン-4-オン又はピリジン-2-オンなど）、アミノフェノール又は2，4，6-トリメトキシベンゼンなどのフェニル基及び修飾フェニル基、G-c l a m pヌクレオチドとして作用する修飾シトシン、8-置換アデニン及びグアニン、5-置換ウラシル及びチミン、アザピリミジン、カルボキシヒドロキシアリルヌクレオチド、カルボキシアリルアミノアリルヌクレオチド、並びにアリルカルボニルアリル化ヌクレオチドなどの修飾塩基を含む。修飾ヌクレオチドはまた、糖部分に関して修飾されているヌクレオチド、並びにリボシルではない糖又はその類似体を有するヌクレオチドも含まれる。例えば、糖部分は、いくつかの実施形態では、マンノース、アラビノース、グルコピラノース、ガラクトピラノース、4'-チオリボース、及び他の糖、複素環、又は炭素環であるか、又はこれらに基づいている。ヌクレオチドという用語はまた、ユニバーサル塩基として当該技術分野において知られているものを含む。例として、ユニバーサル塩基としては、3-ニトロピロール、5-ニトロインドール、又はネブラリンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0116】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、1つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、2'-5'ヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態では、2'-5'ヌクレオチド間結合は、一方又は両方の配列鎖の3'末端、5'末端、又は3'末端と5'末端の両方にある。いくつかの実施形態では、2'-5'ヌクレオチド間結合は、一方又は両方の配列鎖内の様々な他の位置に存在する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、3'末端、5'末端、又は3'末端と5'末端の両方で末端キャップ分子を含む。

【0117】

いくつかの実施形態では、標的化分子とポリヌクレオチドが組み合わされて、相乗的な治療効果又は生物学的効果を提供する。

【0118】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、標的化分子に直接複合体化される。ポリヌクレオチドは、リンカーを介して標的化分子に複合体化されてもよい。ポリヌクレオチドを標的化分子に複合体化するために好適なリンカーは、当該技術分野において既知である。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第2017/173408号パンフレットを参照されたい。いくつかの実施形態では、リンカーは、疎水性リンカーである。リンカーは、ペプチドリンカーであってもよい。いくつかの実施形態では、リンカーは、化学リンカーである。化学リンカーは、ポリマーリンカーであってもよい。いくつかの実施形態では、化学リンカーは、直線状である。いくつかの実施形態では、化学リンカーは、環状である。

【0119】

いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、PEG、糖、脂肪酸、リン酸、ピロリン酸又はポリサルコシンを含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、PEG

10

20

30

40

50

[illegible]

いくつかの実施形態では、低分子量 PEG リンカーは、PEG 99 である。いくつかの実施形態では、低分子量 PEG リンカーは、PEG 100 である。

【0121】

いくつかの実施形態では、リンカーは切断不可能である。いくつかの実施形態では、リンカーは切断可能である。リンカーは、インビボで切断可能であり得る。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、ジスルフィドリンカー、自壊性 (self-immolative) ペプチドポリマーハイブリッド、及びスルファターゼ促進アリアル硫酸リンカーからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、ジスルフィドリンカーである。切断可能リンカーは、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドであってもよい。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、スルファターゼ促進アリアル硫酸リンカーである。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、グルクロン酸、パラアミノベンゾイルオキシ (PAB)、7-アミノ-3-ヒドロキシエチル-クマリン (7-AHC)、又は Fe (II) 反応性 1, 2, 4-トリオキソラン足場 (TRX) を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、グルクロン酸を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、パラアミノベンゾイルオキシ (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、7-アミノ-3-ヒドロキシエチル-クマリン (7-AHC) を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、Fe (II) 反応性 1, 2, 4-トリオキソラン足場 (TRX) を含む。

10

20

【0122】

いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、還元、加水分解、タンパク質分解、光切断、化学切断、酵素的切断、又はバイオ直交型切断を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、還元を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、加水分解を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、タンパク質分解を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、光切断を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、化学切断を通して切断される。化学切断は、TRX の Fe II 媒介 β 除去によるものであり得る。いくつかの実施形態では、セル断可能リンカーは、酵素的切断を通して切断される。酵素的切断は、非タンパク質分解性スルファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ/グルクロニダーゼ又はピロホスファターゼによるものであり得る。いくつかの実施形態では、酵素的切断は、非タンパク質分解性スルファターゼによる。いくつかの実施形態では、酵素的切断は、 β -ガラクトシダーゼ/グルクロニダーゼによる。いくつかの実施形態では、酵素的切断は、ピロホスファターゼによる。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、バイオ直交型切断を通して切断される。バイオ直交型切断は、Cu I-BTTA A 又は遊離銅イオン媒介切断によるものであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、酸切断可能リンカーである。

30

40

【0123】

いくつかの実施形態では、リンカーは、C₁~C₆ アルキル基 (例えば、C₅、C₄、C₃、C₂、又は C₁ アルキル基) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ホモ二官能性クロスリンカー、ヘテロ二官能性クロスリンカーなどを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、トレースレスリンカー (又はゼロ長リンカー) である。いくつかの実施形態では、リンカーは、非ポリマーリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、非ペプチドリンカー又はアミノ酸残基を含有しないリンカーである。

【0124】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ホモ二官能性リンカーを含む。例示的なホモ二官能性リンカーとしては、ロマント試薬のジチオビス (スクシンイミジルプロピオン酸) DSP、3, 3'-ジチオビス (スルホスクシンイミジルプロピオン酸 (DTSSP)、スベリン酸ジスクシンイミジル (DSS)、スベリン酸ビス (スルホスクシンイミジル) (BS)、酒石酸ジスクシンイミジル (DST)、酒石酸ジスルホスクシンイミジル (スルホ DST)、エチレングリコビス (スクシンイミジルスクシナート) (EGS)、グル

50

タル酸ジスクシンイミジル (DSG)、炭酸N, N'-ジスクシンイミジル (DSC)、アジポイミド酸ジメチル (DMA)、ピメリミド酸ジメチル (DMP)、スベリミド酸ジメチル (DMS)、3, 3'-ジチオビスプロピオンイミド酸ジメチル (DTBP)、1, 4-ジ-3'-(2'-ピリジルジチオ)プロピオンアミド)ブタン (DPDPB)、ビスマレイミドヘキサン (BMH)、ハロゲン化アリール含有化合物 (DFDNB)、例えば、1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン又は1, 3-ジフルオロ-4, 6-ジニトロベンゼンなど、4, 4'-ジフルオロ-3, 3'-ジニトロフェニルスルホン (DFDNPS)、ビス-[2-(4-アジドサリチルアミド)エチル]ジスルフィド (BASED)、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、1, 4-ブタンジオールジグリシジルエーテル、アジピン酸ジヒドラジド、カルボヒドラジド、o-トルイジン、3, 3'-ジメチルベンジジン、ベンジジン、 α 、 α' -p-ジアミノジフェニル、ジヨード-p-キシレンスルホン酸、N, N'-エチレン-ビス(ヨードアセトアミド)、又はN, N'-ヘキサメチレン-ビス(ヨードアセトアミド)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0125】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ヘテロ二官能性リンカーを含む。例示的なヘテロ二官能性リンカーとしては、アミン反応性及びスルフヒドリルクロスリンカー、例えば、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート (sPDP)、長鎖N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート (LC-sPDP)、水溶性長鎖N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート (スルホ-LC-sPDP)、スクシンイミジロキシカルボニル-a-メチル-a-(2-ピリジルジチオ)トルエン (sMPT)、スルホスクシンイミジル-6-[a-メチル-a-(2-ピリジルジチオ)トルアミド]ヘキサノエート (スルホ-LC-sMPT)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート (sMCC)、スルホスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート (スルホ-sMCC)、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (MBS)、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシルホスクシンイミドエステル (スルホ-MBS)、N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート (sIAB)、スルホスクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート (スルホ-sIAB)、スクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル)ブチレート (sMPB)、スルホスクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル)ブチレート (スルホ-sMPB)、N-(γ -マレイミドブチリルオキシ)スクシンイミドエステル (GMBs)、N-(γ -マレイミドブチリルオキシ)スルホスクシンイミドエステル (スルホ-GMBs)、スクシンイミジル6-((ヨードアセチル)アミノ)ヘキサノエート (sIAX)、スクシンイミジル6-[6-((ヨードアセチル)アミノ)ヘキサノイル)アミノ]ヘキサノエート (sIAXX)、スクシンイミジル4-((ヨードアセチル)アミノ)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート (sIAC)、スクシンイミジル6-(((4-ヨードアセチル)アミノ)メチル)シクロヘキサン-1-カルボニル)アミノ)ヘキサノエート (sIACX)、p-ニトロフェニルヨードアセテート (NPiA) など、カルボニル反応性及びスルフヒドリル反応性クロスリンカー、例えば、4-(4-N-マレイミドフェニル)酪酸ヒドラジド (MPBH)、4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシル-ヒドラジド-8 (M2C2H)、3-(2-ピリジルジチオ)プロピオニルヒドラジド (PDPH) など、アミン反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミジル-4-アジドサリチル酸 (NHs-AsA)、N-ヒドロキシルホスクシンイミジル-4-アジドサリチル酸 (スルホ-NHs-AsA)、スルホスクシンイミジル-(4-アジドサリチルアミド)ヘキサノエート (スルホ-NHs-LC-AsA)、スルホスクシンイミジル-2-(p-アジドサリチルアミド)エチル-1, 3'-ジチオプロピオネート (sAsD)、N-ヒドロキシスクシンイミジル-4-アジドベンゾエート (HsAB)、N-ヒドロキシルホスクシンイミジル-4-アジドベンゾエート (スルホ-HsAB)

、N-スクシンイミジル-6-(4'-アジド-2'-ニトロフェニルアミノ)ヘキサノエート(sANPAH)、スルホスクシンイミジル-6-(4'-アジド-2'-ニトロフェニルアミノ)ヘキサノエート(スルホ-sANPAH)、N-5-アジド-2-ニトロベンゾイルオキシスクシンイミド(ANB-NOs)、スルホスクシンイミジル-2-(m-アジド-o-ニトロベンズアミド)-エチル-L, 3'-ジチオプロピオネート(sAND)、N-スクシンイミジル-4-(4-アジドフェニル)1, 3'-ジチオプロピオネート(sADP)、N-スルホスクシンイミジル(4-アジドフェニル)-1, 3'-ジチオプロピオネート(スルホ-sADP)、スルホスクシンイミジル4-(p-アジドフェニル)ブチレート(スルホ-sAPB)、スルホスクシンイミジル2-(7-アジド-4-メチルクマリン-3-アセトアミド)エチル-L, 3'-ジチオプロピオネート(sAED)、スルホスクシンイミジル7-アジド-4-メチルクマリン-3-アセテート(スルホ-sAMCA)、p-ニトロフェニルジアゾビルベート(pNPDP)、p-ニトロフェニル-2-ジアゾ-3, 3, 3-トリフルオロプロピオネート(PNP-DTP)など、スルフヒドリル反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、L-(p-アジドサリチルアミド)-4-(ヨードアセトアミド)ブタン(AsIB)、N-[4-(p-アジドサリチルアミド)ブチル]-3'-(2'-ピリジルジチオ)プロピオンアミド(APDP)、ベンゾフェノン-4-ヨードアセトアミドなど、ベンゾフェノン-4-マレイミドカルボニル反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、p-アジドベンゾイルヒドラジド(ABH)、カルボキシレート反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、4-(p-アジドサリチルアミド)ブチルアミン(AsBA)、並びにアルギニン反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、p-アジドフェニルグリオキサール(APG)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0126】

いくつかの実施形態では、リンカーは、反応性官能基を含む。いくつかの実施形態では、反応性官能基は、結合部分に存在する求電子基に反応する求核基を含む。例示的な求電子基には、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エステル、アミド、エノン、ハロゲン化アシル又は酸無水物などのカルボニル基が含まれる。いくつかの実施形態では、反応性官能基はアルデヒドである。例示的な求核基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート及びアリアルヒドラジドが含まれる。

【0127】

いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基を含む。いくつかの実施形態では、マレイミド基は、マレイミドスパーサーとも呼ばれる。いくつかの実施形態では、マレイミド基はカブロン酸を更に包含し、マレイミドカプロイル(mc)を形成する。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミドカプロイル(mc)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミドカプロイル(mc)である。他の例では、マレイミド基は、前述のスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(sMCC)又はスルホスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(スルホ-sMCC)などのマレイミドメチル基を含む。

【0128】

いくつかの実施形態では、マレイミド基は、自己安定化マレイミドである。いくつかの実施形態では、自己安定化マレイミドは、ジアミノプロピオン酸(DPR)を利用して、マレイミドに隣接する塩基性アミノ基を組み込み、チオスクシンイミド環加水分解の分子内触媒作用を提供し、それによってマレイミドがレトロマイケル反応による除去反応を受けることを排除する。いくつかの実施形態では、自己安定化マレイミドは、Lyon, et al, "Self-hydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates," Nat. Biotechnol 32(10):1059-1062(2014)に記載されるマレイミ

ド基である。いくつかの実施形態では、リンカーは、自己安定化マレイミドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、自己安定化マレイミドである。

【0129】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチド部分を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8個、又はそれ以上のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、切断可能なペプチド部分（例えば、酵素的に又は化学的のいずれかの）である、いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、切断不可能なペプチド部分である。いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、Val-Cit（バリン-シトルリン）、Gly-Gly-Phe-Gly、Phe-Lys、Val-Lys、Gly-Phe-Lys、Phe-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Arg、Phe-Cit、Phe-Arg、Leu-Cit、Ile-Cit、Tφ-Cit、Phe-Ala、Ala-Leu-Ala-Leu、又はGly-Phe-Leu-Glyなどのペプチド部分を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Cit（バリン-シトルリン）、Gly-Gly-Phe-Gly、Phe-Lys、Val-Lys、Gly-Phe-Lys、Phe-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Arg、Phe-Cit、Phe-Arg、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Ala-Leu-Ala-Leu、又はGly-Phe-Leu-Glyなどのペプチド部分を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Citを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Citである。

10

20

【0130】

いくつかの実施形態では、リンカーは、安息香酸基、又はその誘導体を含む。いくつかの実施形態では、安息香酸基又はその誘導体は、パラアミノ安息香酸（PABA）を含む。いくつかの実施形態では、安息香酸基又はその誘導体は、ガンマーアミノ酪酸（GABA）を含む。

【0131】

いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基、ペプチド部分、及び／又は安息香酸基のうちの1つ以上を任意の組み合わせで含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基、ペプチド部分、及び／又は安息香酸基の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、マレイミド基は、マレイミドカプロイル（mc）である。いくつかの実施形態では、ペプチド基は、val-citである。いくつかの実施形態では、安息香酸基は、PABAである。いくつかの実施形態では、リンカーは、mc-val-cit基を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、val-cit-PABA基を含む。追加の場合には、リンカーは、mc-val-cit-PABA基を含む。

30

【0132】

いくつかの実施形態では、リンカーは、自壊性又は自己排除リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、自壊性リンカーである。他の場合には、リンカーは、自己排除リンカー（例えば、環化自己排除リンカー）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、それらの各々がその全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第9,089,614号明細書又はPCT国際公開第2015038426号パンフレットに記載されるリンカーを含む。

40

【0133】

いくつかの実施形態では、リンカーは、樹状型リンカーである。いくつかの実施形態では、樹状型リンカーは、分岐、多官能性リンカー部分を含む。いくつかの実施形態では、樹状型リンカーは、ポリヌクレオチドBの結合部分Aに対するモル比を増加させるために使用される。いくつかの実施形態では、樹状型リンカーは、PAMAMデンドリマーを含む。

【0134】

いくつかの実施形態では、リンカーは、トレースレスリンカー又は切断後にポリヌクレオチド又は標的化分子にリンカー部分（例えば、原子又はリンカー基）を残さないリンカ

50

ーである。例示的なトレースレスリンカーとしては、ゲルマニウムリンカー、ケイ素リンカー、硫黄リンカー、セレンリンカー、窒素リンカー、リンリンカー、ホウ素リンカー、クロムリンカー、又はフェニルヒドラジンリンカーが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、リンカーは、Hejlesen, et al., "A traceless aryl-triazene linker for DNA-directed chemistry," *Org. Biomol. Chem.* 11 (15): 2493-2497 (2013) に記載されるようなトレースレスアリアルトリアゼンリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、Blaney, et al., "Traceless solid-phase organic synthesis," *Chem. Rev.* 102: 2607-2024 (2002) に記載されるトレースレスリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第6,821,783号明細書に記載されるようなトレースレスリンカーである。

10

【0135】

いくつかの実施形態では、リンカーは、リンカーと複合体化部分（例えば、本明細書に開示されるポリヌクレオチド又は標的化分子）との間の結合の部位で立体障害を及ぼす官能基を含む。いくつかの実施形態では、立体障害は、ジスルフィド結合周辺の立体障害である。立体障害を示す例示的なリンカーは、上述したヘテロ二官能性リンカーなどのヘテロ二官能性リンカーを含む。いくつかの実施形態では、立体障害を示すリンカーは、SMCC及びSPDBを含む。

20

【0136】

いくつかの実施形態では、リンカーは、酸切断可能リンカーである。いくつかの実施形態では、酸切断可能リンカーは、加水分解切断の影響を受けやすいヒドラゾン結合を含む。いくつかの実施形態では、酸切断可能リンカーは、チオマレアミド酸リンカーを含む。いくつかの実施形態では、酸切断可能リンカーは、Castaneda, et al., "Acid-cleavable thiomaleamic acid linker for homogeneous antibody-drug conjugation," *Chem. Commun.* 49: 8187-8189 (2013) に記載されるようなチオマレアミド酸リンカーである。

【0137】

いくつかの実施形態では、リンカーは、これらの各々がその全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第6,884,869号明細書、同第7,498,298号明細書、同第8,288,352号明細書、同第8,609号明細書、同第105号明細書、若しくは同第8,697,688号明細書；米国特許出願公開第2014/0127239号パンフレット、同第2013/028919号パンフレット、同第2014/286970号パンフレット、同第2013/0309256号パンフレット、同第2015/037360号パンフレット、若しくは同第2014/0294851号パンフレット；又はPCT国際公開第2015057699号パンフレット、同第2014080251号パンフレット、同第2014197854号パンフレット、同第2014145090号パンフレット、若しくは同第2014177042号パンフレットに記載されるリンカーである。

30

40

【0138】

いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のリジン残基、システイン残基、ヒスチジン残基、又は非天然アミノ酸残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のリジン残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のシステイン残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のヒスチジン残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中の非天然アミノ酸残基に複合体化される。

【0139】

いくつかの実施形態では、リンカーは、化学的複合体化又は酵素的複合体化によって標

50

的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、化学的複合体化によって標的化分子に複合体化される。化学的複合体化は、アシル化及びクリックケミストリーを含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、酵素的複合体化によって標的化分子に複合体化される。酵素的複合体化は、ソルターゼ又はトランスフェラーゼ酵素を介してもよい。

【0140】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、化学ライゲーションプロセスによって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ネイティブライゲーションによって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、複合体化は、Dawson, et al. "Synthesis of proteins by native chemical ligation," Science 1994, 266, 776-779; Dawson, et al. "Modulation of Reactivity in Native Chemical Ligation through the Use of Thiol Additives," J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 4325-4329; Hackeng, et al. "Protein synthesis by native chemical ligation: Expanded scope by using straightforward methodology," Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 1999, 96, 10068-10073; 又は Wu, et al. "Building complex glycopeptides: Development of a cysteine-free native chemical ligation protocol," Angew. Chem. Int. Ed. 2006, 45, 4116-4125 に記載される通りである。いくつかの実施形態では、複合体化は、米国特許第 8,936,910 号明細書に記載される通りである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ネイティブライゲーション化学を介して、部位特異的又は非特異的のいずれかで標的化分子に複合体化される。

10

20

【0141】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、「トレースレス」カップリング技術 (Philochem) を利用する部位指向法によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、「トレースレス」カップリング技術は、標的化分子上の N 末端 1, 2-アミノチオール基を利用し、次いでこれが、アルデヒド基を含有するポリヌクレオチドと複合体化される。(Casi et al., "Site-specific traceless coupling of potent cytotoxic drugs to recombinant antibodies for pharmacodelivery," JACS 134 (13): 5887-5892 (2012) を参照されたい)

30

【0142】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、標的化分子に組み込まれた非天然アミノ酸を利用する部位指向法によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、非天然アミノ酸は、p-アセチルフェニルアラニン (pAcPhe) を含む。いくつかの実施形態では、pAcPhe のケト基は、アルコキシ-アミン誘導化複合体化部分に選択的に結合して、オキシム結合を形成する。(Axup et al., "Synthesis of site-specific antibody-drug conjugates using unnatural amino acids," PNAS 109 (40): 16101-16106 (2012) を参照されたい)。

40

【0143】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、酵素触媒プロセスを利用する部位指向法によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、部位指向法は、SMARTag (商標) 技術 (RedWood) を利用する。いくつかの実施形態では、SMARTag (商標) 技術は、アルデヒドタグの存在下での酸化プロセスを通して、ホルミ

50

ルグリシン生成酵素（FGE）によってシステインからホルミルグリシン（FGly）残基を生成し、その後、ヒドラジノーピクテースペングラー（HIPS）ライゲーションを介してFGlyをアルキルヒドラジン官能化ポリヌクレオチドに複合体化させることを含む。（Wu et al., “Site-specific chemical modification of recombinant proteins produced in mammalian cells by using the genetically encoded aldehyde tag,” PNAS 106 (9): 3000–3005 (2009); Agarwal, et al., “A Pictet-Spengler ligation for protein chemical modification,” PNAS 110 (1): 46–51 (2013)を参照されたい）

10

【0144】

いくつかの実施形態では、酵素触媒プロセスは、微生物トランスグルタミナーゼ（mTG）を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、微生物トランスグルタミナーゼ触媒プロセスを利用して標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、mTGは、認識配列内のグルタミンのアミド側鎖と官能化ポリヌクレオチドの一級アミンとの間の共有結合の形成を触媒する。いくつかの実施形態では、mTGは、ストレプトマイセス・モバレンシス（*Streptomyces mobarensis*）から産生される。（Strop et al., “Location matters: site of conjugation modulates stability and pharmacokinetics of antibody drug conjugates,” Chemistry and Biology 20 (2) 161–167 (2013)を参照されたい）

20

【0145】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列特異的トランスペプチダーゼを利用する、PCT国際公開第2014/140317号パンフレット（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるような方法によって、ポリヌクレオチドは標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、それらの各々が、その全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2015/0105539号明細書及び同第2015/0105540号明細書に記載されるような方法によって、ポリヌクレオチドは標的化分子に複合体化される。

30

【0146】

いくつかの実施形態では、各標的化分子は、1個のポリヌクレオチド分子～8個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（すなわち、薬物：抗体比（DAR）が、1～8）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、1個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（1のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、2個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（2のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、3個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（3のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、4個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（4のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、5個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（5のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、6個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（6のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、7個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（7のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、8個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（8のDAR）。

40

【0147】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約30 kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約40 kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約50 kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約60 kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では

50

、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約 7, 500 kDa 以下の分子量を有する。

【0148】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、30 kDa 超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、40 kDa 超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、50 kDa 超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、60 kDa 超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、7, 500 kDa 以下の分子量を有する。

【0149】

ポリヌクレオチド複合体

本開示の別の態様は、ポリヌクレオチド複合体を提供する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体は、標的化分子に複合体化されたポリヌクレオチドを含む。そのような態様では、標的化分子はまた、標的化剤成分と呼ばれてもよく、これに対してポリヌクレオチドは活性剤成分の例と呼ばれてもよい。すなわち、活性剤成分と標的化剤成分とを含む（治療用）標的化剤が、本明細書に開示される。

【0150】

いくつかの実施形態では、標的化部分（態様では、標的化剤成分とも呼ばれる）は、アミノ酸、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、抗原、毒素、ホルモン、脂質、ヌクレオチド、ヌクレオシド、糖、炭水化物、ポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコールなどのポリマー、並びにこれら全てのクラスの物質の類似体又は誘導体を含む。標的化部分の追加的な例としては、コレステロールなどのステロイド、リン脂質、ジアシルグリセロール及びトリアシルグリセロール、脂肪酸、炭化水素（例えば、飽和、不飽和、若しくは置換を含む）、酵素基質、ビオチン、ジゴキシゲニン、及び多糖も含まれる。いくつかの実施形態では、標的化部分は、抗体若しくはその結合フラグメントである。

【0151】

標的化分子（態様では、標的化剤成分とも呼ばれる）は、抗体若しくはその抗原結合フラグメント、又は結合タンパク質である。いくつかの実施形態では、標的化分子は、抗体若しくはその抗原結合フラグメント（例えば、ポリヌクレオチド-抗体複合体）である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその結合フラグメントは、ヒト抗体若しくはその抗原結合フラグメント、ヒト化抗体若しくはその抗原結合フラグメント、ネズミ抗体若しくはその抗原結合フラグメント、キメラ抗体若しくはその抗原結合フラグメント、モノクローナル抗体若しくはその抗原結合フラグメント、一価 Fab'、二価 Fab2、Fab'3 フラグメント、一本鎖可変フラグメント (scFv)、ビス-scFv、(scFv)2、ダイアボディ、ミニボディ、NANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV)、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質 (dsFv)、単一ドメイン抗体 (sdAb)、IgNAR、vNAR、テネイシン C（センチリン分子としても知られる）に基づくムテイン、ラクダ抗体若しくはその抗原結合フラグメント、二重特異性抗体若しくはその抗原結合フラグメント、又はその化学修飾誘導体である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、及び NANOBODY（登録商標）分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、二重特異性抗体である。二重特異性抗体の非限定的な例は、二重特異性 T 細胞エンゲージャー (BiTE) 及び二重親和性再標的化抗体 (DART) を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、三官能性抗体又は二重特異性ミニ抗体である。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、三官能性抗体である。いくつかの実施形態では、三官能性抗体は、2 つの異なる抗原に対する結合部位を含む完全長モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、二重特異性ミニ抗体である。いくつかの実施形態では、

10

20

30

40

50

二重特異性ミニ抗体は、二価 Fab_2 、 $F(ab)'$ 3フラグメント、ビス- $scFv$ 、 $(scFv)_2$ 、ダイアボディ、ミニボディ、トリアボディ、テトラボディ又は二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE) を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性T細胞エンゲージャーは、2つの $scFv$ が2つの異なる抗原のエピトープを標的とする2つの一本鎖可変フラグメント ($scFv$) を含有する融合タンパク質である。

【0152】

いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 Fab である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 $Fab-Fc$ である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 Fv である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、一本鎖 Fv ($scFv$) である。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合部分が $scFv$ である場合、ポリヌクレオチドは架橋残基を含まない。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合部分が $scFv$ である場合、ポリヌクレオチドはシステインを含まない。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、ダイアボディである。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、ミニボディである。いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 $NANOBODY$ (登録商標) 分子などの免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) である。 $NANOBODY$ (登録商標) は、 $NANOBODY$ (登録商標) 分子-HSAであってもよい。

【0153】

いくつかの実施形態では、抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 IgG 分子であるか、又は IgG 分子に由来する。 IgG 分子は、 $IgG1$ 又は $IgG4$ 分子であってもよい。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 $IgG1$ 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 $IgG2$ 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 $IgG3$ 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。抗体若しくはその抗原結合フラグメントは、 $IgG4$ 分子であり得るか、又はそれらに由来し得る。

【0154】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、結合タンパク質である。結合タンパク質は、可溶性受容体又は可溶性リガンドであってもよい。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、受容体の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、 Fc 融合タンパク質である。

【0155】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、血漿タンパク質である。いくつかの実施形態では、血漿タンパク質はアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、アルブミンは、本明細書に開示される複合体化化学のうちの1つ以上によってポリヌクレオチドに複合体化される。いくつかの例では、アルブミンは、ネイティブライゲーション化学によってポリヌクレオチドに複合体化される。いくつかの例では、アルブミンは、ポリヌクレオチドにリシン複合体化される。

【0156】

いくつかの例では、標的化分子はステロイドである。非限定的な例示的ステロイドには、コレステロール、リン脂質、ジアシルグリセロール及びトリアシルグリセロール、脂肪酸、飽和、不飽和、置換を含む炭化水素、又はそれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの実施形態では、ステロイドは、コレステロール又はコレステロール誘導体である。いくつかの実施形態では、標的化分子はコレステロールである。いくつかの実施形態では、ステロイドは、本明細書に開示される複合体化化学のうちの1つ以上によってポリヌクレオチドに複合体化される。いくつかの実施形態では、ステロイドは、ネイティブライゲーション化学によってポリヌクレオチドに複合体化される。

【0157】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、細胞上の特異的表面マーカーに結合するポリ

10

20

30

40

50

ヌクレオチドアプタマーが挙げられるが、これらに限定されないポリマーである。いくつかの実施形態では、標的化分子は、標的遺伝子又はmRNAにハイブリダイズしないが、代わりに、細胞表面マーカーのその特異的エピトープに結合する抗体と同様に、細胞表面マーカーに選択的に結合することができるポリヌクレオチドである。

【0158】

いくつかの実施形態では、標的化分子はポリペプチドである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、約1～約3 kDaのサイズを有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、約1.2～約2.8 kDa、約1.5～約2.5 kDa、又は約1.5～約2 kDaのサイズを有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは二環式ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、二環式ポリペプチドは、制約された二環式ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、標的化分子は、二環式ポリペプチド（例えば、Bicycle Therapeuticsからの二環式化合物）である。

10

【0159】

追加の実施形態では、標的化分子は、小分子である。いくつかの実施形態では、小分子は、抗体動員小分子である。いくつかの実施形態では、抗体動員小分子は、標的結合末端及び抗体結合末端を含み、この中で標的結合末端は、細胞表面受容体を認識し、それと相互作用することができる。

【0160】

いくつかの実施形態では、標的化分子は、治療活性分子又は生物学的に活性な分子である。

20

【0161】

いくつかの実施形態では、活性剤成分は、ポリヌクレオチドである。

【0162】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、RNA、DNA又はそれらの組み合わせを含む。場合によっては、ポリヌクレオチドは、RNAを含む。場合によっては、ポリヌクレオチドは、DNAを含む。場合によっては、ポリヌクレオチドは、RNA及びDNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DNA、RNA及び／又は人工ヌクレオチド類似体の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、調節ノンコーディングRNA（ncRNA）である。いくつかの実施形態では、ncRNAは、哺乳動物細胞中の他の生態分子の発現又は機能を調節するゲノム中で発現される短鎖ノンコーディングRNA配列を含む。ncRNAは、一般に、＜200ヌクレオチドの長さであり、一本鎖又は二本鎖であり得、非直線状の二次構造又は三次構造を形成し得る。ncRNAは、外因性由来の低分子干渉RNA（siRNA）、マイクロRNA（miRNA）、核小体RNA（U-RNA）、核内低分子RNA（snRNA）、Pilot相互作用RNA（piRNA）、リピート関連低分子干渉RNA（rasRNA）、小さなrDNA由来のRNA（srRNA）、転移RNA由来の低分子RNA（tsRNA）、リボソームRNA由来の低分子RNA（rsRNA）、長鎖ノンコーディングRNA由来の小分子RNA（lncRNA）、又はメッセンジャーRNA由来の低分子RNA（msRNA）を含み得る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、操作されたポリヌクレオチドである。操作されたポリヌクレオチドは、DNA又はRNAを含んでもよい。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、複数のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、人工ヌクレオチド類似体を含む。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、DNAを含む。いくつかの実施形態では、DNAは、ゲノムDNA、無細胞DNA、cDNA、胎児DNA、ウイルスDNA、又は母体DNAである。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、RNAを含む。いくつかの実施形態では、RNAは、siRNA、ncRNAミミック、ショートヘアピンRNA（shRNA）、dicer依存性siRNA（di-siRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、ギャップマー、ミキシマー、二本鎖RNA（dsRNA）、一本鎖RNA（ssRNA）、DNA依存性RNA干渉（ddRNA）、RNA活性化オリゴヌクレオチド（RNAa）、アプ

30

40

50

タマー、又はエキソンスキッピングオリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、操作されたポリヌクレオチドは、完全に合成されたmiRNAを含む。完全に合成されたmiRNAは、誘導されないか、又はncRNAに基づいていないものである。代わりに、完全に合成されたmiRNAは、複数の潜在的な標的配列の解析に基づいてもよく、又はncRNAではない単離された天然のノンコーディング配列に基づいてもよい。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、siRNA、miRNA、miRNAミミック、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)、mRNA、及びガイドRNAからなる群から選択される。ポリヌクレオチドは、siRNAであってもよい。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、miRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、miRNAミミックである。

10

【0163】

いくつかの実施形態では、活性剤成分は、ASOである。いくつかの実施形態では、ASOは、障害に関連する複数の遺伝子を標的とし、抑制することができる。いくつかの実施形態では、ASOは、遺伝的障害を引き起こす常染色体優性変異体遺伝子を標的とする。いくつかの実施形態では、ASOは、DMPKを標的とする。いくつかの実施形態では、ASOは、CAPN3を標的とする。ASOは、DUX4を標的とし得る。DUX4標的化ASOは、当該技術分野において既知である。それらの各々が、その全体において参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第2021/203043号パンフレット及び米国仮特許出願第63/221,568号明細書を参照されたい。DUX4標的化ASOの追加の非限定的な例は、前述の表1に提供する。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX2、ASDX4、ASDX23、ASDX26、及びASDX32からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX2である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX4である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX23である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX26である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX32である。

20

【0164】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、siRNA、miRNA、miRNAミミック、ASO、又はDUX4、DMPK若しくはCAPN3を標的とするガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするASOを含む。

30

40

【0165】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、コーディングRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、mRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ノンコーディングRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、長鎖ノンコーディングRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ガイドRNAである。

【0166】

50

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、1つ以上の人工ヌクレオチド類似体を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される人工ヌクレオチド類似体のうちの1つ以上は、天然のポリヌクレオチドと比較した場合、例えば、RNアーゼなどのリボヌクレアーゼ、DNアーゼなどのデオキシリボヌクレアーゼ、又は5' - 3' エキソヌクレアーゼ及び3' - 5' エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼに対して耐性を有するいくつかの実施形態では、2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル (2' - O - MOE)、2' - O - アミノプロピル、2' - デオキシ、T - デオキシ - 2' - フルオロ、2' - O - アミノプロピル (2' - O - AP)、2' - O - ジメチルアミノエチル (2' - O - DMAOE)、2' - O - ジメチルアミノプロピル (2' - O - DMAP)、T - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル (2' - O - DMAEOE)、若しくは2' - O - N - メチルアセトアミド (2' - O - NMA) 修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2' - フルオロ N3 - P5' - ホスホルアミダイト、又はそれらの組み合わせを含む人工ヌクレオチド類似体は、RNアーゼなどのリボヌクレアーゼ、DNアーゼなどのデオキシリボヌクレアーゼ、又は5' - 3' エキソヌクレアーゼ及び3' - 5' エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼに対して耐性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - メチル修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - メトキシエチル (2' - O - MOE) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - アミノプロピル修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - デオキシ修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、T - デオキシ - 2' - フルオロ修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - アミノプロピル (2' - O - AP) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - ジメチルアミノエチル (2' - O - DMAOE) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - ジメチルアミノプロピル (2' - O - DMAP) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、T - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル (2' - O - DMAEOE) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、2' - O - N - メチルアセトアミド (2' - O - NMA) 修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、LNA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、ENA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。いくつかの実施形態では、HNA修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) である。モルホリノは、ヌクレアーゼ耐性 (例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性) であり得る。いくつかの実施形態では、PNA修飾

ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼに対して耐性（例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの実施形態では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性）である。いくつかの実施形態では、チオールホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性）である。いくつかの実施形態では、2' - フルオロN3 - P5' - ホスホルアミダイトを含むポリヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNアーゼ、DNアーゼ、5' - 3' エキソヌクレアーゼ又は3' - 5' エキソヌクレアーゼ耐性）である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の5' 複合体は、5' - 3' エキソヌクレアーゼ的切断を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の3' 複合体は、3' - 5' エキソヌクレアーゼ的切断を阻害する。

【0167】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の人工ヌクレオチド類似体のうちの1つ以上は、等価な天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体は、リボース部分の2' ヒドロキシル基で修飾を有する核酸を含む。いくつかの実施形態では、この修飾は、H、OR、R、ハロ、SH、SR、NH₂、NHR、NR₂、又はCNを含み、式中、Rはアルキル部分である。例示的なアルキル部分としては、ハロゲン、硫黄、チオール、チオエーテル、チオエステル、アミン（一級、二級、又は三級）、アミド、エーテル、エステル、アルコール及び酸素が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、アルキル部分は、修飾を更に含む。いくつかの実施形態では、修飾は、アゾ基、ケト基、アルデヒド基、カルボキシル基、ニトロ基、ニトロソ基、ニトリル基、複素環（例えば、イミダゾール、ヒドラジノ又はヒドロキシルアミノ）基、イソシアネート若しくはシアネート基、又は硫黄含有基（例えば、スルホキシド、スルホン、スルフィド、又はジスルフィド）を含む。いくつかの実施形態では、アルキル部分は、ヘテロ置換を更に含む。いくつかの実施形態では、複素環式基の炭素は、窒素、酸素又は硫黄によって置換されている。いくつかの実施形態では、複素環の置換には、モルホリノ、イミダゾール、及びピロリジノが挙げられるが、これらに限定されない。2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル（2' - O - MOE）、2' - O - アミノプロピル、2' - デオキシ、T - デオキシ - 2' - フルオロ、2' - O - アミノプロピル（2' - O - AP）、2' - O - ジメチルアミノエチル（2' - O - DMAOE）、2' - O - ジメチルアミノプロピル（2' - O - DMAPE）、T - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル（2' - O - DMAEOE）、若しくは2' - O - N - メチルアセトアミド（2' - O - NMA）修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、又は2' - フルオロN3 - P5' - ホスホルアミダイトを含む人工ヌクレオチド類似体のうちの1つ以上は、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有し得る。いくつかの実施形態では、2' - O - メチル修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - メトキシエチル（2' - O - MOE）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - アミノプロピル修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2' - デオキシ修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、T - デオキシ - 2' - フルオロ修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2' - O - アミノプロピル（2' - O - AP）修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらのmRNA標的に対する増加した結合親

和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-ジメチルアミノエチル (2'-O-DMAOE) 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-ジメチルアミノプロピル (2'-O-DMAP) 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、T-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル (2'-O-DMAEOE) 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-O-N-メチルアセトアミド (2'-O-NMA) 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、LNA 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ENA 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、PNA 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、HNA 修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、モルホリノ修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、チオールホスホネートヌクレオチド修飾ポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、2'-フルオロ N3-P5'-ホスホルアミダイトを含むポリヌクレオチドは、等価の天然ポリヌクレオチドと比べて、それらの mRNA 標的に対する増加した結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、増加した親和性は、より低い Kd、より高い溶融温度 (Tm)、又はそれらの組み合わせで例証される。

10

20

【0168】

いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体は、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル (2'-O-MOE)、2'-O-アミノプロピル、2'-デオキシ、T-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル (2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル (2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル (2'-O-DMAP)、T-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル (2'-O-DMAEOE)、若しくは 2'-O-N-メチルアセトアミド (2'-O-NMA) 修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2'-フルオロ N3-P5'-ホスホルアミダイト、又はそれらの組み合わせを含む。

30

【0169】

いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチド類似体は、限定されないが、5-プロピニルウリジン、5-プロピニルシチジン、6-メチルアデニン、6-メチルグアニン、N₁, N₁-ジメチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-プロピルグアニン、2-アミノアデニン、1-メチルイノシン、3-メチルウリジン、5-メチルシチジン、5-メチルウリジン及び5位に修飾を有する他のヌクレオチド、5-(2-アミノ)プロピルウリジン、5-ハロシチジン、5-ハロウリジン、4-アセチルシチジン、1-メチルアデノシン、2-メチルアデノシン、3-メチルシチジン、6-メチルウリジン、2-メチルグアノシン、7-メチルグアノシン、2, 2-ジメチルグアノシン、5-メチルアミノエチルウリジン、5-メチルオキシウリジン、デアザヌクレオチド (7-デアザーアデノシン、6-アゾウリジン、6-アゾシチジン、又は6-アゾチミジンなど)、5-メチル-2-チオウリジン、他のチオ塩基 (2-チオウリジン、4-チオウリジン、及び2-チオシチジン

40

50

など)、ジヒドロウリジン、シュードウリジン、クエオシン、アルケオシン、ナフチル基及び置換ナフチル基、任意のO-及びN-アルキル化プリン及びピリミジン(N6-メチルアデノシン、5-メチルカルボニルメチルウリジン、ウリジン5-オキシ酢酸、ピリジン-4-オン又はピリジン-2-オンなど)、アミノフェノール又は2,4,6-トリメトキシベンゼンなどのフェニル基及び修飾フェニル基、G-c l a m pヌクレオチドとして作用する修飾シトシン、8-置換アデニン及びグアニン、5-置換ウラシル及びチミン、アザピリミジン、カルボキシヒドロキシアリルヌクレオチド、カルボキシアリルアミノアルキルヌクレオチド、並びにアルキルカルボニルアルキル化ヌクレオチドなどの修飾塩基を含む。修飾ヌクレオチドはまた、糖部分に関して修飾されているヌクレオチド、並びにリボシルではない糖又はその類似体を有するヌクレオチドも含まれる。例えば、糖部分は、いくつかの実施形態では、マンノース、アラビノース、グルコピラノース、ガラクトピラノース、4'-チオリボース、及び他の糖、複素環、又は炭素環であるか、又はこれらに基づいている。ヌクレオチドという用語はまた、ユニバーサル塩基として当該技術分野において知られているものを含む。例として、ユニバーサル塩基としては、3-ニトロピロール、5-ニトロインドール、又はネブラリンが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0170】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、1つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、2'-5'ヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態では、2'-5'ヌクレオチド間結合は、一方又は 20 両方の配列鎖の3'末端、5'末端、又は3'末端と5'末端の両方にある。いくつかの実施形態では、2'-5'ヌクレオチド間結合は、一方又は両方の配列鎖内の様々な他の位置に存在する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、3'末端、5'末端、又は3'末端と5'末端の両方で末端キャップ分子を含む。

【0171】

いくつかの実施形態では、標的化分子とポリヌクレオチドが組み合わされて、相乗的な治療効果又は生物学的効果を提供する。

【0172】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、標的化分子(本明細書に記載の標的化剤成分など)に直接複合体化される。ポリヌクレオチドは、リンカーを介して標的化分子に複合体化されてもよい。ポリヌクレオチドを標的化分子に複合体化するために好適なリンカーは、当該技術分野において既知である。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第2017/173408号パンフレットを参照されたい。いくつかの実施形態では、リンカーは、疎水性リンカーである。リンカーは、ペプチドリリンカーであってもよい。いくつかの実施形態では、リンカーは、化学リンカーである。化学リンカーは、ポリマーリンカーであってもよい。いくつかの実施形態では、化学リンカーは、直線状である。いくつかの実施形態では、化学リンカーは、環状である。

30

【0173】

いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、PEG、糖、脂肪酸、リン酸、ピロリン酸又はポリサルコシンを含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、PEG 40 を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、糖を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、リン酸を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、ピロリン酸を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーリンカーは、ポリサルコシンを含む。リンカーは、高分子量PEGリンカーであってもよい。いくつかの実施形態では、高分子量PEGリンカーは1,000~5,000個のPEGモノマーを含む(すなわち、PEG1k~PEG5kである)。いくつかの実施形態では、高分子量PEGリンカーは、PEG1kである。いくつかの実施形態では、高分子量PEGリンカーは、PEG1.5kである。いくつかの実施形態では、高分子量PEGリンカーは、PEG2kである。いくつかの実施形態では、高分子量PEGリンカーは、PEG3kである。いくつかの実施形態では、高分子

40

50

【 0 1 7 4 】

50

40

50

いくつかの実施形態では、リンカーは切断不可能である。いくつかの実施形態では、リンカーは切断可能である。リンカーは、インビボで切断可能であり得る。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、ジスルフィドリンカー、自壊性 (self-immolative) ペプチドポリマーハイブリッド、及びスルファターゼ促進アリアル硫酸リンカーからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、ジスルフィドリンカーである。切断可能リンカーは、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドであってもよい。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、スルファターゼ促進アリー

ル硫酸リンカーである。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、グルクロン酸、パラアミノベンゾイルオキシ（PAB）、7-アミノ-3-ヒドロキシエチル-クマリン（7-AHC）、又はFe（II）反応性1, 2, 4-トリオキソラン足場（TRX）を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、グルクロン酸を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、パラアミノベンゾイルオキシ（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、7-アミノ-3-ヒドロキシエチル-クマリン（7-AHC）を含む。いくつかの実施形態では、自壊性ペプチドポリマーハイブリッドは、Fe（II）反応性1, 2, 4-トリオキソラン足場（TRX）を含む。

【0176】

いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、還元、加水分解、タンパク質分解、光切断、化学切断、酵素的切断、又はバイオ直交型切断を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、還元を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、加水分解を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、タンパク質分解を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、光切断を通して切断される。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、化学切断を通して切断される。化学切断は、TRXのFe II媒介β除去によるものであり得る。いくつかの実施形態では、セル断可能リンカーは、酵素的切断を通して切断される。酵素的切断は、非タンパク質分解性スルファターゼ、β-ガラクトシダーゼ／グルクロニダーゼ又はピロホスファターゼによるものであり得る。いくつかの実施形態では、酵素的切断は、非タンパク質分解性スルファターゼによる。いくつかの実施形態では、酵素的切断は、β-ガラクトシダーゼ／グルクロニダーゼによる。いくつかの実施形態では、酵素的切断は、ピロホスファターゼによる。いくつかの実施形態では、切断可能リンカーは、バイオ直交型切断を通して切断される。バイオ直交型切断は、Cu I-BTTA又は遊離銅イオン媒介切断によるものであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、酸切断可能リンカーである。

【0177】

いくつかの実施形態では、リンカーは、C1～C6アルキル基（例えば、C5、C4、C3、C2、又はC1アルキル基）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ホモニ官能性クロスリンカー、ヘテロニ官能性クロスリンカーなどを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、トレースレスリンカー（又はゼロ長リンカー）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、非ポリマーリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、非ペプチドリナー又はアミノ酸残基を含有しないリンカーである。

【0178】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ホモニ官能性リンカーを含む。例示的なホモニ官能性リンカーとしては、ロマンツ試薬のジチオビス（スクシンイミジルプロピオン酸）DSP、3, 3'-ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオン酸（DTSSP）、スベリン酸ジスクシンイミジル（DSS）、スベリン酸ビス（スルホスクシンイミジル）（BS）、酒石酸ジスクシンイミジル（DST）、酒石酸ジスルホスクシンイミジル（スルホDST）、エチレングリコビス（スクシンイミジルスクシナート）（EGS）、グルタル酸ジスクシンイミジル（DSG）、炭酸N, N'-ジスクシンイミジル（DSC）、アジポイミド酸ジメチル（DMA）、ピメリミド酸ジメチル（DMP）、スベリイミド酸ジメチル（DMS）、3, 3'-ジチオビスプロピオンイミド酸ジメチル（DTBP）、1, 4-ジ-3'-（2'-ピリジルジチオ）プロピオンアミド）ブタン（DPDPB）、ビスマレイミドヘキサン（BMH）、ハロゲン化アリール含有化合物（DFDNB）、例えば、1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン又は1, 3-ジフルオロ-4, 6-ジニトロベンゼンなど、4, 4'-ジフルオロ-3, 3'-ジニトロフェニルスルホン（DFDNPS）、ビス-〔2-（4-アジドサリチルアミド）エチル〕ジスルフィド（BASED）、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、1, 4-ブタンジオールジグリシジルエーテル、アジピン酸ジヒドラジド、カルボヒドラジド、o-トルイジン、3, 3'

10

20

30

40

50

ージメチルベンジジン、ベンジジン、 α 、 α' － p －ジアミノジフェニル、ジヨード－ p －キシレンスルホン酸、 N ， N' －エチレンービス（ヨードアセトアミド）、又は N ， N' －ヘキサメチレンービス（ヨードアセトアミド）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0179】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ヘテロ二官能性リンカーを含む。例示的なヘテロ二官能性リンカーとしては、アミン反応性及びスルフィドリルクロスリンカー、例えば、 N －スクシンイミジル 3－（2－ピリジルジチオ）プロピオネート（ $sPDP$ ）、長鎖 N －スクシンイミジル 3－（2－ピリジルジチオ）プロピオネート（ $LC-sPDP$ ）、水溶性長鎖 N －スクシンイミジル 3－（2－ピリジルジチオ）プロピオネート（スルホー $LC-sPDP$ ）、スクシンイミジルオキシカルボニル－ α －メチル－ α －（2－ピリジルジチオ）トルエン（ $sMPT$ ）、スルホスクシンイミジル－6－[α －メチル－ α －（2－ピリジルジチオ）トルアミド]ヘキサノエート（スルホー $LC-sMPT$ ）、スクシンイミジル－4－（ N －マレイミドメチル）シクロヘキサノール－1－カルボキシレート（ $sMCC$ ）、スルホスクシンイミジル－4－（ N －マレイミドメチル）シクロヘキサノール－1－カルボキシレート（スルホー $sMCC$ ）、 m －マレイミドベンゾイル－ N －ヒドロキシスクシンイミドエステル（ MBs ）、 m －マレイミドベンゾイル－ N －ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル（スルホー MBs ）、 N －スクシンイミジル（4－ヨードアセチル）アミノベンゾエート（ $sIAB$ ）、スルホスクシンイミジル（4－ヨードアセチル）アミノベンゾエート（スルホー $sIAB$ ）、スクシンイミジル－4－（ p －マレイミドフェニル）ブチレート（ $sMPB$ ）、スルホスクシンイミジル－4－（ p －マレイミドフェニル）ブチレート（スルホー $sMPB$ ）、 N －（ γ －マレイミドブチリルオキシ）スクシンイミドエステル（ $GMBs$ ）、 N －（ γ －マレイミドブチリルオキシ）スルホスクシンイミドエステル（スルホー $GMBs$ ）、スクシンイミジル 6－（（ヨードアセチル）アミノ）ヘキサノエート（ $sIAX$ ）、スクシンイミジル 6－[6－（（ヨードアセチル）アミノ）ヘキサノイル）アミノ]ヘキサノエート（ $sIAXX$ ）、スクシンイミジル 4－（（（ヨードアセチル）アミノ）メチル）シクロヘキサノール－1－カルボキシレート（ $sIAC$ ）、スクシンイミジル 6－（（（（4－ヨードアセチル）アミノ）メチル）シクロヘキサノール－1－カルボニル）アミノ）ヘキサノエート（ $sIACX$ ）、 p －ニトロフェニルヨードアセテート（ $NPIA$ ）など、カルボニル反応性及びスルフィドリル反応性クロスリンカー、例えば、4－（4－ N －マレイミドフェニル）酪酸ヒドラジド（ $MPBH$ ），4－（ N －マレイミドメチル）シクロヘキサノール－1－カルボキシル－ヒドラジド－8（ $M2C2H$ ）、3－（2－ピリジルジチオ）プロピオニルヒドラジド（ $PDPH$ ）など、アミン反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、 N －ヒドロキシスクシンイミジル－4－アジドサリチル酸（ $NHs-AsA$ ）、 N －ヒドロキシスルホスクシンイミジル－4－アジドサリチル酸（スルホー $NHs-AsA$ ）、スルホスクシンイミジル－（4－アジドサリチルアミド）ヘキサノエート（スルホー $NHs-LC-AsA$ ）、スルホスクシンイミジル－2－（ p －アジドサリチルアミド）エチル－1，3'－ジチオプロピオネート（ $sAsD$ ）、 N －ヒドロキシスクシンイミジル－4－アジドベンゾエート（ $HsAB$ ）、 N －ヒドロキシスルホスクシンイミジル－4－アジドベンゾエート（スルホー $HsAB$ ）、 N －スクシンイミジル－6－（4'－アジド－2'－ニトロフェニルアミノ）ヘキサノエート（ $sANPAH$ ）、スルホスクシンイミジル－6－（4'－アジド－2'－ニトロフェニルアミノ）ヘキサノエート（スルホー $sANPAH$ ）、 N －5－アジド－2－ニトロベンゾイルオキシスクシンイミド（ $ANB-NOs$ ）、スルホスクシンイミジル－2－（ m －アジド－ o －ニトロベンズアミド）－エチル－1，3'－ジチオプロピオネート（ $sAND$ ）、 N －スクシンイミジル－4（4－アジドフェニル）1，3'－ジチオプロピオネート（ $sADP$ ）、 N －スルホスクシンイミジル（4－アジドフェニル）－1，3'－ジチオプロピオネート（スルホー $sADP$ ）、スルホスクシンイミジル 4－（ p －アジドフェニル）ブチレート（スルホー $sAPB$ ）、スルホスクシンイミジル 2－（7－アジド－4－メチルクマリン－3－アセトアミド）エチル－1，3'－ジチオプロピオネート（ s

10

20

30

40

50

A E D)、スルホスクシンイミジル7-アジド-4-メチルクマリル-3-アセテート (スルホ-s A M C A)、p-ニトロフェニルジアゾピルベート (p N P D P)、p-ニトロフェニル-2-ジアゾ-3, 3, 3-トリフルオロプロピオネート (P N P-D T P) など、スルフヒドリル反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、L- (p-アジドサリチルアミド)-4- (ヨードアセトアミド) ブタン (A s I B)、N- [4- (p-アジドサリチルアミド) ブチル]-3'- (2'-ピリジルジチオ) プロピオンアミド (A P D P)、ベンゾフェノン-4-ヨードアセトアミドなど、ベンゾフェノン-4-マレイミドカルボニル反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、p-アジドベンゾイルヒドラジド (A B H)、カルボキシレート反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、4- (p-アジドサリチルアミド) ブチルアミン (A s B A)、並びにアルギニン反応性及び光反応性クロスリンカー、例えば、p-アジドフェニルグリオキサール (A P G) が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0180】

いくつかの実施形態では、リンカーは、反応性官能基を含む。いくつかの実施形態では、反応性官能基は、結合部分に存在する求電子基に反応する求核基を含む。例示的な求電子基には、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エステル、アミド、エノン、ハロゲン化アシル又は酸無水物などのカルボニル基が含まれる。いくつかの実施形態では、反応性官能基はアルデヒドである。例示的な求核基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート及びアリアルヒドラジドが含まれる。

20

【0181】

いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基を含む。いくつかの実施形態では、マレイミド基は、マレイミドスパーサーとも呼ばれる。いくつかの実施形態では、マレイミド基はカプロン酸を更に包含し、マレイミドカプロイル (m c) を形成する。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミドカプロイル (m c) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミドカプロイル (m c) である。他の例では、マレイミド基は、前述のスクシンイミジル-4- (N-マレイミドメチル) シクロヘキサン-1-カルボキシレート (s M C C) 又はスルホスクシンイミジル-4- (N-マレイミドメチル) シクロヘキサン-1-カルボキシレート (スルホ-s M C C) などのマレイミドメチル基を含む。

30

【0182】

いくつかの実施形態では、マレイミド基は、自己安定化マレイミドである。いくつかの実施形態では、自己安定化マレイミドは、ジアミノプロピオン酸 (D P R) を利用して、マレイミドに隣接する塩基性アミノ基を組み込み、チオスクシンイミド環加水分解の分子内触媒作用を提供し、それによってマレイミドがレトロマイケル反応による除去反応を受けることを排除する。いくつかの実施形態では、自己安定化マレイミドは、L y o n, e t a l, " S e l f - h y d r o l y z i n g m a l e i m i d e s i m p r o v e t h e s t a b i l i t y a n d p h a r m a c o l o g i c a l p r o p e r t i e s o f a n t i b o d y - d r u g c o n j u g a t e s, " N a t. B i o t e c h n o l 3 2 (1 0) : 1 0 5 9 - 1 0 6 2 (2 0 1 4) に記載されるマレイミド基である。いくつかの実施形態では、リンカーは、自己安定化マレイミドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、自己安定化マレイミドである。

40

【0183】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチド部分を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8個、又はそれ以上のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、切断可能なペプチド部分 (例えば、酵素的に又は化学的のいずれかの) である、いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、切断不可能なペプチド部分である。いくつかの実施形態では、ペプチド部分は、V a l - C i t (バリン-シトルリン)、G l y - G l y - P h e - G l y、P h e - L y s、V a l - L y s、G l y - P h e - L y s、P h e - P h e - L y s、A l a - L y s

50

、Val-Arg、Phe-Cit、Phe-Arg、Leu-Cit、Ile-Cit、
、Tφ-Cit、Phe-Ala、Ala-Leu-Ala-Leu、又はGly-Phe-
Leu-Glyなどのペプチド部分を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、
Val-Cit（バリン-シトルリン）、Gly-Gly-Phe-Gly、Phe-Lys、
Val-Lys、Gly-Phe-Lys、Phe-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Arg、
Phe-Cit、Phe-Arg、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、
Ala-Leu-Ala-Leu、又はGly-Phe-Leu-Glyなどのペプチド部分を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Citを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Citである。

10

【0184】

いくつかの実施形態では、リンカーは、安息香酸基、又はその誘導体を含む。いくつかの実施形態では、安息香酸基又はその誘導体は、パラアミノ安息香酸（PABA）を含む。いくつかの実施形態では、安息香酸基又はその誘導体は、ガンマーアミノ酪酸（GABA）を含む。

【0185】

いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基、ペプチド部分、及び／又は安息香酸基のうちの1つ以上を任意の組み合わせで含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基、ペプチド部分、及び／又は安息香酸基の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、マレイミド基は、マレイミドカプロイル（mc）である。いくつかの実施形態では、ペプチド基は、val-citである。いくつかの実施形態では、安息香酸基は、PABAである。いくつかの実施形態では、リンカーは、mc-val-cit基を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、val-cit-PABA基を含む。追加の場合には、リンカーは、mc-val-cit-PABA基を含む。

20

【0186】

いくつかの実施形態では、リンカーは、自壊性又は自己排除リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、自壊性リンカーである。他の場合には、リンカーは、自己排除リンカー（例えば、環化自己排除リンカー）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、それらの各々がその全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第9,089,614号明細書又はPCT国際公開第2015038426号パンフレットに記載されるリンカーを含む。

30

【0187】

いくつかの実施形態では、リンカーは、樹状型リンカーである。いくつかの実施形態では、樹状型リンカーは、分岐、多官能性リンカー部分を含む。いくつかの実施形態では、樹状型リンカーは、ポリヌクレオチドBの結合部分Aに対するモル比を増加させるために使用される。いくつかの実施形態では、樹状型リンカーは、PAMAMデンドリマーを含む。

【0188】

いくつかの実施形態では、リンカーは、トレースレスリンカー又は切断後にポリヌクレオチド又は標的化分子にリンカー部分（例えば、原子又はリンカー基）を残さないリンカーである。例示的なトレースレスリンカーとしては、ゲルマニウムリンカー、ケイ素リンカー、硫黄リンカー、セレンリンカー、窒素リンカー、リンリンカー、ホウ素リンカー、クロムリンカー、又はフェニルヒドラジンリンカーが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、リンカーは、Hejlesen, et al., “A traceless aryl-triazene linker for DNA-directed chemistry,” Org Biomol Chem 11(15): 2493-2497 (2013)に記載されるようなトレースレスアリアルートリアゼンリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、Blaney, et al., “Traceless solid-phase organic synthesis,” Chem. Rev. 102: 2607-2024 (2002)に記載されるトレースレ

40

50

スリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第 6, 821, 783 号明細書に記載されるようなトレースレスリンカーである。

【0189】

いくつかの実施形態では、リンカーは、リンカーと複合体化部分（例えば、本明細書に開示されるポリヌクレオチド又は標的化分子）との間の結合の部位で立体障害を及ぼす官能基を含む。いくつかの実施形態では、立体障害は、ジスルフィド結合周辺の立体障害である。立体障害を示す例示的なリンカーは、上述したヘテロ二官能性リンカーなどのヘテロ二官能性リンカーを含む。いくつかの実施形態では、立体障害を示すリンカーは、SMCC 及び SPDB を含む。

10

【0190】

いくつかの実施形態では、リンカーは、酸切断可能リンカーである。いくつかの実施形態では、酸切断可能リンカーは、加水分解切断の影響を受けやすいヒドラゾン結合を含む。いくつかの実施形態では、酸切断可能リンカーは、チオマレアミド酸リンカーを含む。いくつかの実施形態では、酸切断可能リンカーは、Castaneda, et al, “Acid-cleavable thiomaleamic acid linker for homogeneous antibody-drug conjugation,” Chem. Commun. 49: 8187-8189 (2013) に記載されるようなチオマレアミド酸リンカーである。

【0191】

いくつかの実施形態では、リンカーは、これらの各々がその全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第 6, 884, 869 号明細書、同第 7, 498, 298 号明細書、同第 8, 288, 352 号明細書、同第 8, 609, 105 号明細書、若しくは同第 8, 697, 688 号明細書；米国特許出願公開第 2014/0127239 号明細書、同第 2013/028919 号明細書、同第 2014/286970 号明細書、同第 2013/0309256 号明細書、同第 2015/037360 号明細書、若しくは同第 2014/0294851 号明細書；又は PCT 国際公開第 2015057699 号パンフレット、同第 2014080251 号パンフレット、同第 2014197854 号パンフレット、同第 2014145090 号パンフレット、若しくは同第 2014177042 号パンフレットに記載されるリンカーである。

20

30

【0192】

いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のリジン残基、システイン残基、ヒスチジン残基、又は非天然アミノ酸残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のリジン残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のシステイン残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中のヒスチジン残基に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、標的化分子中の非天然アミノ酸残基に複合体化される。

【0193】

いくつかの実施形態では、リンカーは、化学的複合体化又は酵素的複合体化によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、リンカーは、化学的複合体化によって標的化分子に複合体化される。化学的複合体化は、アシル化及びクリックケミストリーを含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、酵素的複合体化によって標的化分子に複合体化される。酵素的複合体化は、ソルターゼ又はトランスフェラーゼ酵素を介してもよい。

40

【0194】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、化学ライゲーションプロセスによって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ネイティブライゲーションによって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、複合体化は、Dawson, et al. “Synthesis of proteins by native chemical ligation,” Science 1994,

50

266, 776-779; Dawson, et al. "Modulation of Reactivity in Native Chemical Ligation through the Use of Thiol Additives," J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 4325-4329; Hackeng, et al. "Protein synthesis by native chemical ligation: Expanded scope by using straightforward methodology," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 10068-10073; 又は Wu, et al. "Building complex glycopeptides: Development of a cysteine-free native chemical ligation protocol," Angew. Chem. Int. Ed. 2006, 45, 4116-4125 に記載される通りである。いくつかの実施形態では、複合体化は、米国特許第 8,936,910 号明細書に記載される通りである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ネイティブライゲーション化学を介して、部位特異的又は非特異的のいずれかで標的化分子に複合体化される。

10

【0195】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、「トレースレス」カップリング技術 (Philochem) を利用する部位指向法によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、「トレースレス」カップリング技術は、標的化分子上の N 末端 1, 2-アミノチオール基を利用し、次いでこれが、アルデヒド基を含有するポリヌクレオチドと複合体化される。(Casi et al., "Site-specific traceless coupling of potent cytotoxic drugs to recombinant antibodies for pharmacodelivery," JACS 134 (13): 5887-5892 (2012) を参照されたい)

20

【0196】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、標的化分子に組み込まれた非天然アミノ酸を利用する部位指向法によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、非天然アミノ酸は、p-アセチルフェニルアラニン (pAcPhe) を含む。いくつかの実施形態では、pAcPhe のケト基は、アルコキシ-アミン誘導化複合体化部分に選択的に結合して、オキシム結合を形成する。(Axup et al., "Synthesis of site-specific antibody-drug conjugates using unnatural amino acids," PNAS 109 (40): 16101-16106 (2012) を参照されたい)。

30

【0197】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、酵素触媒プロセスを利用する部位指向法によって標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、部位指向法は、SMARTag (商標) 技術 (RedWood) を利用する。いくつかの実施形態では、SMARTag (商標) 技術は、アルデヒドタグの存在下での酸化プロセスを通して、ホルミルグリシン生成酵素 (FGE) によってシステインからホルミルグリシン (FGly) 残基を生成し、その後、ヒドラジノーピクテースペングラー (HIPS) ライゲーションを介して FGly をアルキルヒドラジン官能化ポリヌクレオチドに複合体化させることを含む。(Wu et al., "Site-specific chemical modification of recombinant proteins produced in mammalian cells by using the genetically encoded aldehyde tag," PNAS 106 (9): 3000-3005 (2009); Agarwal, et al., "A Pictet-Spengler ligation for protein chemical modification," PNAS 110 (1): 46-51 (2013) を参照されたい)

40

50

【0198】

いくつかの実施形態では、酵素触媒プロセスは、微生物トランスグルタミナーゼ（mTG）を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、微生物トランスグルタミナーゼ触媒プロセスを利用して標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、mTGは、認識配列内のグルタミンのアミド側鎖と官能化ポリヌクレオチドの一級アミンとの間の共有結合の形成を触媒する。いくつかの実施形態では、mTGは、ストレプトマイセス・モバレンシス（*Streptomyces mobarensis*）から産生される。（Strop et al., "Location matters: site of conjugation modulates stability and pharmacokinetics of antibody drug conjugates," *Chemistry and Biology* 20(2) 161-167 (2013)を参照されたい）

10

【0199】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列特異的トランスペプチダーゼを利用する、PCT国際公開第2014/140317号パンフレット（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるような方法によって、ポリヌクレオチドは標的化分子に複合体化される。いくつかの実施形態では、それらの各々が、その全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2015/0105539号明細書及び同第2015/0105540号明細書に記載されるような方法によって、ポリヌクレオチドは標的化分子に複合体化される。

20

【0200】

いくつかの実施形態では、各標的化分子は、1個のポリヌクレオチド分子～8個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（すなわち、薬物：抗体比（DAR）が、1～8）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、1個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（1のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、2個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（2のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、3個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（3のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、4個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（4のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、5個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（5のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、6個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（6のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、7個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（7のDAR）。いくつかの実施形態では、各標的化分子は、8個のポリヌクレオチド分子に複合体化される（8のDAR）。

30

【0201】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約30kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約40kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約50kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約60kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、約7,500kDa以下の分子量を有する。

40

【0202】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、30kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、40kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、50kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、60kDa超の分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド複合体化標的化分子は、7,500kDa以下の分子量を有する。

【0203】

本開示は、個体における病理を治療する方法であって、個体に筋肉組織細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する治療用標的化剤を投与することを含む

50

、方法に更に関する。「病理」及び「疾患」は、本明細書では互換的に使用される。病理は、遺伝性疾患であり得る。本開示の別の態様は、遺伝性疾患の治療を必要としている対象において、遺伝性疾患を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、対象に、治療有効量の、本明細書に開示されるポリヌクレオチドを送達するための組成物のいずれかを投与することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、対象に、治療有効量の、本明細書に開示されるポリヌクレオチド複合体のいずれかを投与することを含む。

【0204】

本明細書に開示されるような遺伝性疾患は、癌、神経障害、線維症疾患、瘢痕化疾患、自己免疫疾患、又は遺伝性障害であり得る。

【0205】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、神経障害である。いくつかの実施形態では、神経障害は、後天性てんかん性失語、急性散在性脳脊髄炎、副腎白質ジストロフィー、脳梁欠損症、失認症、アイカルディ症候群、アレキサンダー病、アルパース病、交代性片麻痺、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（運動ニューロン疾患を参照されたい）、無脳症、アンジェルマン症候群、血管腫症、無酸素症、失語症、失行症、くも膜嚢胞、くも膜炎、アーノルド・キアリ奇形、脳動静脈奇形、アスペルガー症候群、毛細血管拡張性運動失調症、注意欠如・多動症、自閉症、聴覚情報処理障害、自律神経機能障害、背痛、バッテン病、ベーチェット病、ベル麻痺、良性本態性眼瞼けいれん、良性局所性筋萎縮症、良性頭蓋内圧亢進症、両側性前頭頭頂多少脳回、ピンスワンガー病、眼瞼けいれん、ブロッホ・サルツバーガー症候群、腕神経叢損傷、脳膿瘍、脳傷害、脳損傷、脳腫瘍、ブラウン・セカール症候群、カナバン病、手根管症候群（CTS）、カウザルギー、中枢痛症候群、橋中心髄鞘崩壊症、中心核ミオパチー、頭部障害、脳動脈瘤、脳動脈硬化症、大脳萎縮症、脳性巨人症、脳性麻痺、シャルコー・マリー・トゥース病、キアリ奇形、舞蹈病、慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIPD）、慢性疼痛、慢性局所疼痛症候群、コフィン・ローリー症候群、遷延性植物状態を含む昏睡、先天性眼筋麻痺、大脳皮質基底核変性症、頭蓋動脈炎、頭蓋縫合早期癒合症、クロイツフェルト・ヤコブ病、累積性外傷性障害、クッシング症候群、巨大細胞性封入体症（CIBD）、サイトメガロウイルス感染症、ダンディー・ウォーカー症候群、ドーソン病、ドモルシア症候群、デジュリン・クルンプケ麻痺、デジュリン・ソッタス病、睡眠相後退症候群、認知症、皮膚筋炎、神経失行、糖尿病神経障害、広汎性硬化症、自律神経障害、算数障害、書字障害、失読症、筋失調症、早期乳児てんかん性脳症、トルコ鞍空洞症候群、脳炎、脳ヘルニア、脳三叉神経領域血管腫症、遺糞症、てんかん、エルブ麻痺、肢端紅痛症、本態性振戦、ファブリー病、ファール症候群、失神、家族性痙攣性麻痺、熱性痙攣、フィッシャー症候群、フリードライヒ運動失調症、FART症候群、ゴーシェ病、ゲルストマン症候群、巨細胞性動脈炎、巨細胞性封入体病、グロバイド細胞白質ジストロフィー、異所性灰白質、ギラン・バレー症候群、HTLV-1関連脊髄症、ハレルフォルデン・スパッツ症候群、頭部損傷、頭痛、片側顔面痙攣、遺伝性痙攣性対麻痺、遺伝性多発神経炎性失調、耳性帯状疱疹、帯状疱疹、平山症候群、全前脳胞症、ハンチントン病、水無脳症、水頭症、副腎皮質機能亢進症、肥大型心筋症、低酸素症、免疫介在性脳脊髄炎、封入体筋炎、色素失調症、乳児フィタン酸蓄積症、乳児レフサム病、點頭てんかん、炎症性筋疾患、頭蓋内嚢胞、頭蓋内圧亢進症、ジュベール症候群、カーズ・セイヤー症候群、ケネディ病、キンスボーン症候群、クリッペル・ファイル症候群、クラッペ病、クーゲルベルグ・ウェランダー病、クーラー病、ラフォラ病、ランバート・イートン筋無力症候群、ランドウ・クレフナー症候群、延髄外側（ワレンベルグ）症候群、学習障害、リー病、レノックス・ガストー症候群、レッシュ・ナイハン症候群、白質ジストロフィー、レビー小体型認知症、滑脳症、閉じ込め症候群、ルー・ゲーリック病、腰椎椎間板症、ライム病—神経学的続発症、マシャド・ジョセフ病（脊髄小脳失調症3型）、巨大脳髄症、メーブルシロップ尿症、マルファン症候群、巨脳症、メルカーソン・ローゼンタール症候群、メニエール病、髄膜炎、メンケス病、異染性白質ジストロフィー、小頭症、片頭痛、ミラー・フィッシャー症候群、軽度脳卒中、ミトコンド

10

20

30

40

50

リア筋症、メビウス症候群、一側下腿筋萎縮症、運動ニューロン疾患、運動能力障害、もやもや病、ムコ多糖症、多発梗塞性認知症、多巣性運動ニューロパチー、多発性硬化症、多系統萎縮症、筋ジストロフィー、筋痛性脳脊髄炎、重症筋無力症、髄鞘破壊性広汎性硬化症、乳幼児発達性てんかん性脳症、ミオクロヌス、ミオパチー、筋細管ミオパチー、先天性ミオトニー、ナルコレプシー、神経線維腫症、神経遮断薬悪性症候群、A I D S の神経学的症状、ルーパスの神経学的続発症、神経ミオトニー、神経セロイドリポフスチン症、神経細胞移動障害、ニーマン・ピック病、非24時間睡眠覚醒症候群、非言語的学習障害、オサリバン・マクレオド症候群、後頭神経痛、潜在性脊椎癒合不全の後発、大田原症候群、オリーブ橋小脳萎縮症、オプソクロヌス・ミオクロヌス症候群、視神経炎、起立性低血圧症、オーバーユース症候群、反復視、知覚異常、パーキンソン病、先天性パラミオトニア、腫瘍随伴疾患、発作、パリー・ロンベルグ症候群、ロンベルグ症候群、ペリツェウス・メルツバッハー病、周期性四肢麻痺、末梢性ニューロパチー、遷延性植物状態、広汎性神経障害、光くしゃみ反射、フィタン酸蓄積症、ピック病、神経圧迫、下垂体腫瘍、PMG、ポリオ、多小脳回症、多発性筋炎、孔脳症、ポストポリオ症候群、帯状疱疹後神経痛(PHN)、感染後脳脊髄炎、起立性低血圧症、プラダー・ウィリ症候群、原発性側索硬化症、プリオン病、ロンベルグ症候群としても知られる進行性顔面片側萎縮症、進行性多巣性白質脳症、進行性硬化性灰白異栄養症、進行性核上性麻痺、偽脳腫瘍、ラムゼイ・ハント症候群(I型及びII型)、ラスムッセン脳炎、反射性交感神経性ジストロフィー、レフサム病、反復運動障害、反復ストレス傷害、レストレスレッグス症候群、レトロウイルス関連脊髄症、レット症候群、ライ症候群、ロンベルグ症候群、狂犬病、舞踏病、サンドホフ病、統合失調症、シルダー病、裂脳症、感覚統合機能障害、中隔視神経異形成症、ゆさぶられっ子症候群、帯状疱疹、シャイ・ドレーガー症候群、シェーグレン症候群、睡眠時無呼吸、睡眠病、スナチエーション(S n a t i a t i o n)、ソトス症候群、痙縮、二分脊椎症、脊髄損傷、脊髄腫瘍、脊髄性筋萎縮症、脊柱狭窄症、スティール・リチャードソン・オルスゼフスキー症候群(進行性核上性麻痺を参照されたい)、脊髄小脳変性症、スティッフパーソン症候群、脳卒中、スタージ・ウェーバー症候群、亜急性硬化性全脳炎、皮質下動脈硬化性脳症、脳表ヘモジデリン沈着症、シデナム舞踏病、失神、共感覚、脊髄空洞症、遅発性ジスキネジア、テイ・サックス病、側頭動脈炎、脊髄係留症候群、トムセン病、胸郭出口症候群、疼痛性チック、トッド麻痺、トゥレット症候群、一過性脳虚血発作、伝達性海綿状脳症、横断性脊髄炎、外傷性脳損傷、振戦、三叉神経痛、熱帯性痙性麻痺、トリパノソーマ症、結節性硬化症、側頭動脈炎を含む血管炎、フォン・ヒッペル・リンドウ病(VHL)、ヴィリュイスク(V i l i u i s k)脳脊髄炎(VE)、ワレンベルグ症候群、ウェルドニヒ・ホフマン病、ウエスト症候群、むち打ち、ウィリアムズ症候群、ウィルソン病、X連鎖球脊髄性筋萎縮症、並びにツェルウェガー症候群からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、神経障害は、運動障害、例えば多系統萎縮症(MSA)である。

【0206】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、自己免疫疾患である。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、急性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、円形脱毛症、アミロイド症、強直性脊椎炎、抗GBM抗体/抗TBM抗体型腎炎、抗リン脂質抗体症候群(APS)、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全病、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性心筋炎、自己免疫性脾炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病(ATP)、自己免疫性甲状腺疾患、軸索&神経ニューロパチー、バロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャッスルマン病、セリアックスプルー(非熱帯性)、シャーガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP)、慢性再発性多発性骨髄炎(CRMO)、チャグ・ストラウス症候群、癬痕性類天疱瘡/良性粘膜類天疱瘡、クロン病、コーガン症候群、寒冷凝集素病、先天性心ブロック、コクッサキーウィルス性心筋炎、CREST病、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性ニューロパチー、皮

膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円板状皮疹、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー脳脊髄炎、エヴァンス症候群、線維筋痛症、線維化性肺肺炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェンライン紫斑病、妊娠性疱疹、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、IgA腎症、免疫調節性リポタンパク質障害、封入体筋炎、インスリン依存性糖尿病（1型）、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性糖尿病、川崎病、ランバート・イートン症候群、白血球破砕性血管炎、扁平苔癬、硬化性萎縮性苔癬、木質結膜炎、線状IgA水疱症（LAD）、ループス（SLE）、ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合性結合組織病（MCTD）、モーレン潰瘍、ムッカ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎（デビック病）、好中球減少症、眼類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS（小児自己免疫性溶連菌感染関連性精神神経障害）、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、パリー・ロンベルグ症候群、パーソネイジ・ターナー症候群、扁平部炎（末梢ぶどう膜炎）、天疱瘡、末梢性ニューロパチー、静脈周囲性脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、I、II & III型多腺性自己免疫症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、赤芽球癆、レイノー現象、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発軟骨炎、レストレスレッグス症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、Slogren症候群、精子及び精巣自己免疫障害、スティッフパーソン症候群、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病（TPP）、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、潰瘍性大腸炎、未分化の結合組織疾患（UCTD）、ぶどう膜炎、血管炎、小水疱水疱性皮膚病、白斑又はウェゲナー肉芽腫症又は慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、拡張型心筋症、心筋炎、自己免疫性多内分泌腺症候群I型（APS-I）、嚢胞性線維性血管炎、後天性副甲状腺機能低下症、冠動脈疾患、落葉状天疱瘡、尋常性天疱瘡、ラスムッセン脳炎、自己免疫性胃炎、インスリン低血糖症候群（平田病）、B型インスリン抵抗症、表皮腫、全身性エリテマトーデス（SLE）、悪性貧血、治療抵抗性ライム関節炎、多発神経炎、脱髄疾患、アトピー性皮膚炎、自己免疫性甲状腺機能低下症、白斑、甲状腺眼症、自己免疫性セリアック病、ACTH欠損症、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、全身性強皮症、進行性全身性強皮症、限局性強皮症、原発性抗リン脂質抗体症候群、慢性特発性蕁麻疹、結合組織症候群、壊死性半月体形成性糸球体腎炎（NCGN）、全身性血管炎、レイノー症候群、慢性肝疾患、内臓のリーシュマニア症、自己免疫性C1インヒビター欠損症、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）、凝固時間延長、免疫不全、アテローム性動脈硬化症、ニューロン症、腫瘍随伴性天疱瘡、傍腫瘍性スティッフマン症候群、傍腫瘍性脳脊髄炎、亜急性自律神経症、癌関連網膜症、傍腫瘍性オプソクロノス・ミオクロノス運動失調症、下位運動ニューロン症候群並びにランバート・イートン筋無力症候群からなる群から選択される。

10

20

30

40

50

【0207】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、AIDS、炭疽、ボツリヌス症、ブルセラ症、軟性下疳、クラミジア感染症、コレラ、コクシジオイデス症、クリプトスポリジウム症、サイクロスポーラ症、ジフテリア、エーリキア症、アルボウイルス脳炎、腸管出血性大腸菌感染症、ジアルジア症、淋菌感染症、デング熱、インフルエンザ菌感染症、ハンセン病（らい病）、ハンタウイルス肺症候群、溶血性尿毒症症候群、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、ヒト免疫不全ウイルス感染症、レジオネラ症、リステリア症、ライム病、マラリア、麻疹からなる群から選択され得る。髄膜炎菌感染症、おたふく風邪、百日咳（pertussis）（百日咳（whooping cough））、ペスト、麻痺型ポリオ、オウム病、Q熱、狂犬病、ロッキー山紅斑熱、風疹、先天性風疹症候群、細菌性赤痢、天然痘、レンサ球菌感染症（侵襲性A群）、劇症型溶血性レンサ球菌感染症、肺炎球菌感染

症、梅毒、破傷風、毒素性ショック症候群、旋毛虫病、結核、野兔病、腸チフス、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症、水痘、黄熱病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（*vCJD*）、エボラ出血熱、エキノコックス症、ヘンドラウイルス感染症、ヒトサル痘、A型インフルエンザ、B型インフルエンザ、H5N1、ラッサ熱、マールブルグ出血熱、ニパウイルス感染症、オニオンニオン熱、リフトバレー熱、ヘルペス、HIV、HCV遺伝子型1、HCV遺伝子型2、HCV遺伝子型3、HCV遺伝子型4、HCV遺伝子型5、HCV遺伝子型6、SARS-CoV-2（COVID-19）、SARS-CoV（SARS）、MERS-CoV（MERS）、229Eコロナウイルス感染症、NL63コロナウイルス感染症、OC43コロナウイルス感染症、CoV-HKU1（HKU1）、アルファコロナウイルス感染症、ベータコロナウイルス感染症、ベネズエラウマ脳炎並びにウエストナイルウイルス感染症である。

10

【0208】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、線維症疾患、瘢痕疾患、又はそれらの両方である。いくつかの実施形態では、線維症疾患又は瘢痕疾患は、肺線維症、嚢胞性線維症、特発性肺線維症、放射線誘発性線維症、心筋線維症、架橋線維症、肝硬変、神経膠症、動脈壁の硬化、線維性関節疾患、クローン病、デュピュイトラン拘縮、ケロイド、縦隔線維症、骨髄線維症、ペイロニー病、腎性全身性線維症、進行性広汎性線維化病変、後腹膜線維症、強皮症／全身性強皮症、及び癒着性関節包炎からなる群から選択される。

【0209】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、肉腫などの筋肉関連癌である。

20

【0210】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、遺伝子又は染色体の異常によって引き起こされる遺伝性障害である。遺伝性障害は、2つのカテゴリー：単一遺伝子障害と多因子性及び多遺伝子性（複合）障害とに分類することができる。単一遺伝子障害は、単一の変異型遺伝子の結果であり得る。単一遺伝子障害は、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝、X連鎖優性遺伝、X連鎖劣性遺伝、Y連鎖遺伝及びミトコンドリア遺伝が挙げられるが、これらに限定されない方法で引き継がれる。いくつかの実施形態では、遺伝子の1つの変異型コピーは、常染色体優性障害の影響を受ける人には必要である。常染色体優性型の障害の例としては、ハンチントン病、神経線維腫症1、マルファン症候群、遺伝性非ポリポーシス大腸癌、又は遺伝性多発性外骨腫が挙げられるが、これらに限定されない。常染色体劣性障害では、常染色体劣性障害の影響を受ける対象について、遺伝子の2つの変異型コピーが必要である。この種の障害の例としては、嚢胞性線維症、鎌状赤血球症（また部分的鎌状赤血球症）、テイ・サックス病、ニーマン・ピック病、又は脊髄筋萎縮症が挙げられ得るが、これらに限定されない場合がある。X連鎖優性障害は、X染色体連鎖性低リン血症性くる病などのX染色体上の遺伝子の突然変異によって引き起こされる。レット症候群、色素失調症2型及びアイカルディ症候群などの一部のX連鎖優性状態は、致命的であり得る。X連鎖劣性障害はまた、X染色体上の遺伝子の突然変異によっても引き起こされる。この種の障害の例としては、血友病Aデュシェンヌ型筋ジストロフィー、赤緑色盲、筋ジストロフィー及び男性型脱毛症が挙げられ得るが、これらに限定されない。Y連鎖障害は、Y染色体上の突然変異によって引き起こされる。例としては、男性不妊症及び耳介多毛症（*hypertrichosis pinnae*）が挙げられるが、これらに限定されない。母性遺伝としても知られるミトコンドリア遺伝の遺伝性障害は、ミトコンドリアDNA内の遺伝子に適用されることができ、これらには、レーベル遺伝性視神経症がある。

30

40

【0211】

遺伝性障害はまた、複合型、多因子性又は多遺伝子性であり得る。多遺伝子性遺伝性障害は、生活様式及び環境因子と組み合わせられた複数の遺伝子の影響と関連し得る。複合型遺伝性障害は家族内で多発するが、それらは明確な遺伝パターンを有していない。多因子性又は多遺伝子性障害には、心疾患、糖尿病、喘息、自閉症、多発性硬化症などの自己免疫疾患。癌、織毛病、口蓋裂、高血圧症、炎症性腸疾患、精神遅滞又は肥満症が挙げられ

50

るが、これらに限定されない。

【0212】

他の例示的な遺伝性障害としては、1 p 3 6 欠失症候群、2 1 水酸化酵素欠損症、2 2 q 1 1 . 2 欠失症候群、無セルロプラスミン血症、軟骨無発生症ⅠⅠ型、軟骨無形成症、急性間欠性ポルフィリン症、アデニロコハク酸リアーゼ欠損症、副腎白質ジストロフィー、アレキサンダー病、アルカプトン尿症、アルファー1アンチトリプシン欠損症、アルストレーム症候群、アルツハイマー病（1型、2型、3型、及び4型）、エナメル質形成不全症、筋萎縮性側索硬化症、筋萎縮性側索硬化症2型、筋萎縮性側索硬化症4型、筋萎縮性側索硬化症4型、アンドロゲン不応症候群、貧血、アンジェルマン症候群、アペール症候群、毛細血管拡張性運動失調症、ベア・スティーブンソン脳回状頭皮症候群、ベンジャミン症候群、ベータサラセミア、ピオチニダーゼ欠損症、バート・ホッグ・デュベ症候群、膀胱癌、ブルーム症候群、骨疾患、乳癌、屈曲肢異形成症、カナバン病、癌、セリアック病、慢性肉芽腫症（CGD）、シャルコー・マリー・トゥース病、シャルコー・マリー・トゥース病1型、シャルコー・マリー・トゥース病4型、シャルコー・マリー・トゥース病2型、シャルコー・マリー・トゥース病4型、コケイン症候群、コフィン・ローリー症候群、ⅠⅠ型及びⅠⅠ型コラーゲン異常症、結腸直腸癌、先天性精管欠損症、先天性両側精管欠損症、先天性糖尿病、先天性骨髄性ポルフィリン症、先天性赤芽球性ポルフィリン症、先天性心疾患、先天性甲状腺機能低下症、結合組織病、カウデン症候群、クリ・デュ・チャット症候群、クローン病、線維性狭窄症、クルーゾン症候群、クルーゾン皮膚骨格症候群、嚢胞性線維症、ド・グルーシー症候群、神経変性疾患、デント病、発達障害、ディジョージ症候群、遠位型脊髄性筋萎縮症Ⅴ型、ダウン症候群、低身長症、エーラス・ダンロス症候群、エーラス・ダンロス症候群多発関節弛緩型、エーラス・ダンロス症候群古典型、エーラス・ダンロス症候群皮膚弛緩型、エーラス・ダンロス症候群後側彎型、血管型、赤芽球性プロトポルフィリン症、ファブリー病、顔面損傷及び顔面障害、第Ⅴ因子ライデン栓友病、家族性大腸ポリポーシス、家族性自律神経失調症、ファンコニ貧血、F G 症候群、脆弱X症候群、フリードライヒ運動失調症、フリードライヒの運動失調症、G 6 P D 欠損症、ガラクトース血症、ゴーシェ病（1型、2型、及び3型）、遺伝性脳障害、グリシン脳症、ヘモクロマトーシス2型、ヘモクロマトーシス4型、道化師様魚鱗癬、頭部及び脳の奇形、聴覚障害及び聴覚消失、小児聴覚障害、ヘモクロマトーシス（新生児、2型及び3型）、血友病、肝性赤芽球性ポルフィリン症、遺伝性コプロポルフィリン症、遺伝性多発性外骨腫症、遺伝性圧脆弱性ニューロパチー、遺伝性非ポリポーシス大腸癌、ホモシスチン尿症、ハンチントン病、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群、原発性高シュウ酸尿症、高フェニルアラニン血症、軟骨低発生症、軟骨低形成症、i d i c 1 5、色素失調症、乳児ゴーシェ病、乳児発症上行性痙攣性麻痺、不妊症、ジャクソン・ワイズ症候群、ジュベール症候群、若年性原発性側索硬化症、ケネディ病、クラインフェルター症候群、クニースト骨異形成症、クラッペ病、学習障害、レッシュ・ナイハン症候群、白質ジストロフィー、リ・フラウメニ症候群、家族性リポタンパク質リパーゼ欠損症、男性生殖器障害、マルファン症候群、マッキューン・オルブライト症候群、マクロード症候群、家族性地中海熱、メンケス病、メンケス症候群、代謝障害、ベータグロビン型メトヘモグロビン血症、メトヘモグロビン血症、先天性メトヘモグロビン血症、メチルマロン酸血症、ミクロ症候群、小頭症、運動障害、モワット・ウィルソン症候群、ムコ多糖症（MPS Ⅰ）、ムエンケ症候群、デュシェンヌ型及びベッカー型筋ジストロフィー、デュシェンヌ型及びベッカー型筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー1型及び2型、肢帯型筋ジストロフィー、ポンペ病、新生児ヘモクロマトーシス、神経線維腫症、神経線維腫症1型、神経線維腫症2型、神経線維腫症Ⅰ型、神経線維腫症ⅠⅠ型、神経疾患、神経筋障害、ニーマン・ピック病、非ケトーシス型高グリシン血症、非症候性難聴、常染色体劣性非症候性難聴、ヌーナン症候群、骨形成不全症（Ⅰ型及びⅠⅠⅠ型）、耳脊椎巨大骨端異形成症、パントテン酸キナーゼ関連神経変性症、パトウ症候群（トリソミー13）、ペンドレッド症候群、ポイツ・ジェガース症候群、ファイファー症候群、ファイファー症候群、フェニルケトン尿症、ポルフィリン症、晩発性皮

10

20

30

40

50

膚ポルフィリン症、ブラダー・ウィリ症候群、原発性肺高血圧症、プリオン病、早老症、プロピオン酸血症、プロテインC欠損症、プロテインS欠損症、偽性ゴーシェ病、弾性線維性仮性黄色腫、網膜障害、網膜芽細胞腫、網膜芽腫、F A -フリードライヒ運動失調症、レット症候群、ルビンスタイン・テイビ症候群、サンドホフ病、感覚性自律神経性ニューロパチーⅠⅠⅠ型、鎌状赤血球貧血、骨格筋再生、皮膚色素異常症、スミス・レムリ・オピッツ症候群、発話障害及びコミュニケーション障害、脊髄性筋萎縮症、球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳変性症、ストラドウィック型脊椎骨端骨幹端異形成症、先天性脊椎骨端骨幹端異形成症、スティックラー症候群、スティックラー症候群C O L 2 A 1、テイ・サックス病、テトラヒドロピオプテリン欠損症、致死性骨異形成症、真正糖尿病及び感音難聴を伴うチアミン反応性巨赤芽球性貧血、甲状腺疾患、トゥレット症候群、トリチャー・コリンズ症候群、トリプルX症候群、結節性硬化症、ターナー症候群、アッシャー症候群、異型ポルフィリン症、フォン・ヒッペル・リンドウ病、ワールデンブルグ症候群、ヴァイセンバッシャー・ツヴァイミューラー症候群、ウィルソン病、ウォルフ・ヒルシュホーン症候群、色素性乾皮症、X連鎖重症複合免疫不全症、X連鎖鉄芽球性貧血、又はX連鎖球脊髄性筋萎縮症が挙げられるが、これらに限定されない場合もある。

10

【0213】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患はウイルス感染である。ウイルス感染は、アデノウイルス、アネロウイルス、アリーナウイルス、アストロウイルス、ブニヤウイルス、カリシウイルス、コロナウイルス、フィロウイルス、フラビウイルス、ヘパドナウイルス、ヘルペスウイルス、オルトミクソウイルス、パピローマウイルス、パラミクソウイルス、パルボウイルス、ピコルナウイルス、肺炎ウイルス、ポリオーマウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、及びトガウイルスからなる群から選択されるウイルスによるものであり得る。いくつかの実施形態では、ウイルスは、アデノ随伴ウイルス、アイチウイルス、オーストラリアコウモリリッサウイルス、BKポリオーマウイルス、バンナウイルス、バーマ森林ウイルス、ブニヤムウェラウイルス、ラクロスブニヤウイルス (Bunyavirus La Crosse)、カンジキウサギブニヤウイルス (Bunyavirus snowshoe hare)、オナガザルヘルペスウイルス (Cercopithecine herpesvirus)、チャンディブラウイルス、チクングニアウイルス、コサウイルス (Cosavirus) A、牛痘ウイルス、コクサッキーウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、デング熱ウイルス、ドーリウイルス、ジューグベウイルス、デュベンヘイジウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、エボラウイルス、エコーウイルス、脳心筋炎ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヨーロップコウモリリッサウイルス、GBウイルスC/G型肝炎ウイルス、ハンタウイルス、ヘンドラウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、E型型肝炎ウイルス、デルタ肝炎ウイルス、馬痘ウイルス、ヒトアデノウイルス、ヒトアストロウイルス、ヒトコロナウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、ヒトエンテロウイルス68、ヒトエンテロウイルス70、ヒトヘルペスウイルス1、ヒトヘルペスウイルス2、ヒトヘルペスウイルス6、ヒトヘルペスウイルス7、ヒトヘルペスウイルス8、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトパピローマウイルス1、ヒトパピローマウイルス2、ヒトパピローマウイルス16、ヒトパピローマウイルス18、ヒトパラインフルエンザ、ヒトパルボウイルスB19、ヒト呼吸器合胞体ウイルス、ヒトライノウイルス、ヒトSARSコロナウイルス、ヒトスプーマレトロウイルス、ヒトTリンパ球向性ウイルス、ヒトトロウイルス、A型インフルエンザウイルス、B型インフルエンザウイルス、C型インフルエンザウイルス、イスファハンウイルス、JCポリオーマウイルス、日本脳炎ウイルス、フニンアレナウイルス、KEポリオーマウイルス、クンジンウイルス、ラゴスコウモリウイルス、ピクトリア湖マールブルグウイルス、ランガットウイルス、ラッサウイルス、ローズデイルウイルス (Lordsdale virus)、跳躍病ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、マチュポウイルス、マヤロウイルス、MERSCORONAウイルス、麻疹ウイルス、メンゴ脳心筋炎ウイルス、メルケル細胞ポリオーマウイルス、モコラウイルス、伝染性軟属腫ウイルス、サル痘ウイルス、おたふく風邪ウイルス、マレー溪谷脳炎ウイルス、ニューヨ

20

30

40

50

ークウイルス、ニバウイルス、ノーウォークウイルス、オニオンニオンウイルス、オルフウイルス、オロプーシェウイルス、ピチンデウイルス、ポリオウイルス、プンタ・トロ・フレボウイルス (Punta toro phlebovirus)、プーマラウイルス、狂犬病ウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ロサウイルス (Rosavirus) A、ロスリバーウイルス、ロタウイルスA、ロタウイルスB、ロタウイルスC、風疹ウイルス、サギヤマウイルス (Sagiyama virus)、サリウイルス (Salivirus) A、シチリア型サシチヨウバエ熱ウイルス、サッポロウイルス、SARSコロナウイルス2、セムリキ森林ウイルス、ソウルウイルス、サル泡沫状ウイルス、シミアンウイルス5、シンドビスウイルス、サウサンプトンウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ダニ媒介性ポワッサンウイルス、トルクテノウイルス、トスカナウイルス、ウークニエミウイルス、ワクシニアウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、天然痘ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、WUポリオーマウイルス、西ナイルウイルス、ヤバサル腫瘍ウイルス、ヤバ類似疾患ウイルス、黄熱病ウイルス及びジカウイルスからなる群から選択される。

10

20

30

40

50

【0214】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス遺伝子を標的とする siRNA、miRNA、miRNAミミック、ASO、又はガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス遺伝子を標的とする siRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス遺伝子を標的とする miRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス遺伝子を標的とする miRNAミミックを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス遺伝子を標的とする ASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス遺伝子を標的とするガイドRNAを含む。ポリヌクレオチドは、ウイルスタンパク質又はウイルスのための宿主細胞の表面上のタンパク質に特異的に結合する標的化分子に複合体化され得る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド及び標的化分子は、ウイルス感染の治療において相乗効果を生み出す。

【0215】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、癌遺伝子の過剰発現によって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、癌遺伝子を標的とする siRNA、miRNA、miRNAミミック、ASO、又はガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、癌遺伝子を標的とする siRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、癌遺伝子を標的とする miRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、癌遺伝子を標的とする miRNAミミックを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、癌遺伝子を標的とする ASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、癌遺伝子を標的とするガイドRNAを含む。

【0216】

いくつかの実施形態では、癌は、腫瘍抑制遺伝子の低減された発現によって特徴付けられる。ポリヌクレオチドは、腫瘍抑制遺伝子をコードする mRNA 分子を含み得る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、腫瘍抑制遺伝子の発現を回復させるガイドRNAを含む。

【0217】

いくつかの実施形態では、遺伝性疾患は、神経筋障害である。神経筋障害は、筋ジストロフィーであり得る。いくつかの実施形態では、筋肉ジストロフィーは、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) である。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4、DMPK若しくはCAPN3を標的とする siRNA、miRNA、miRNAミミック、ASO、又はガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とする siRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とする miRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とする miRNAミミックを含む。いくつかの実施形態では

、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DUX4を標的とするガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、DUXを標的とするASOは、表1に開示されるDUX4標的化ASOからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX2、ASDX4、ASDX23、ASDX26、及びASDX32からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX2である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX4である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX23である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX26である。いくつかの実施形態では、DUX4標的化ASOは、ASDX32である。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするmiRNAミミックを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、DMPKを標的とするASOを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするmiRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするmiRNAミミックを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、CAPN3を標的とするASOを含む。

10

【0218】

いくつかの実施形態では、筋ジストロフィーは、デュシェンヌ型筋ジストロフィーである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ジストロフィン又はウトロフィンをコードするmRNAである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ジストロフィン又はウトロフィンの発現を回復させるガイドRNAである。

20

【0219】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、対象の筋細胞の表面上のマーカー（標的となるタンパク質）に特異的に結合する標的化分子に複合体化される。マーカーは、筋肉組織上で選択的に発現され、薬剤有効性を可能にする時間スケール（数日ではなく数分／時間）で内在化／再利用され、その発現は疾患進行によって悪影響を受けない。標的化分子は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、又はACTA1に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、標的分子は、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、又はACTA1に特異的に結合し、このポリヌクレオチドは、DUX4標的化ASOである。

30

【0220】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド及び標的化分子は、筋ジストロフィーの治療において相乗効果を生み出す。

【0221】

本明細書の方法では、薬剤は、筋細胞表面上で発現されるタンパク質に特異的に結合する薬剤を利用して、組織特異的な方法で送達される。本明細書で使用される用語であるように、標的となるタンパク質に「特異的に結合する」薬剤は、その標的となるタンパク質に優先的に又は選択的に結合する薬剤である。特異的に結合する薬剤と標的となるタンパク質との間にある程度の非特異的相互作用が起こり得るが、それにもかかわらず、特異的結合は、標的となるタンパク質の全体又は一部の特異的認識を通じて媒介されるものとして区別され得る。典型的には、特異的結合により、薬剤と標的となるタンパク質との間には、薬剤と他のタンパク質、例えば、他の筋肉タンパク質との間よりもはるかに強力な関連がもたらされる。その同族体に対する薬剤の親和性定数（ K_d とは対照的に K_a ）は、少なくとも 10^6 又は 10^7 であり、通常少なくとも 10^8 、代替的に少なくとも 10^9

40

50

、代替的に少なくとも 10^{-10} 、又は代替的に少なくとも 10^{-11} M である。「特異的」結合が、効果的に「特異的」であるのに十分に部位特異的である結合であり得ることに留意されたい。例えば、結合の程度がより高い程度（例えば、10 倍以上、20 倍以上、又は更には 100 倍以上）である場合、結合は、特定の位置で標的となるタンパク質のみに結合することと機能的に等価になり得る。指向性の有効な結合は、他の組織への送達が最小限であるか、又は全くない状態で起こる。したがって、特異的結合と機能的に等価である量は、薬剤の有効送達の目標が他の組織への結合が最小限であるか、又は全くないかを評価することによって決定することができる。

【0222】

標的となるタンパク質は、ある特定の実施形態では組織特異的であり、標的となるタンパク質は 1 つの組織にのみ存在してもよく、その結果、標的となるタンパク質に結合する薬剤と標的となるタンパク質自体との間に組織特異的相互作用をもたらす。

【0223】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、他の組織と比べて筋肉組織中で濃縮される。「他の組織と比べて筋肉組織中で濃縮される」とは、他の非筋肉組織での表面発現よりも高い標的となるタンパク質の表面発現に関するものである。1 つの特定の例では、標的となるタンパク質は、任意の非筋肉組織に含まれる細胞の細胞表面上で発現されない（すなわち、当業者によって検出できない量で）。非筋肉組織は、アクチンアルファ 1、ミオシン重鎖 I V（MYH4）、ミオシン重鎖 V I（MYH6）、ミオシン I A（Myo1A）、又はカベオリン 3（CAV3）のうちの 1 つ以上の検出不能な発現によって特徴付けられ得る。

【0224】

本明細書で使用される筋肉組織（又は筋組織（muscular tissue））は、動物における様々な種類の筋肉を構成し、筋肉が収縮する能力を与える軟部組織に関するものである。筋肉組織は、胚発生中に、筋形成として知られるプロセスで形成される。筋肉組織は、アクチン及びミオシンと呼ばれる収縮性タンパク質を含有しており、これらは収縮及び弛緩して運動を引き起こす。存在する他の多くの筋肉タンパク質の中には、2 つの調節タンパク質、すなわちトロポニン及びトロポミオシンがある。筋肉組織は、体内の機能と位置によって様々である。哺乳動物では、3 つのタイプ：骨格筋組織若しくは横紋筋組織；平滑筋（横紋なし）筋；及び心筋がある。一実施形態では、筋肉組織は、骨格筋組織である。骨格筋組織は、筋肉線維とも呼ばれる細長い筋細胞からなり、体の動きを担っている。骨格筋の他の組織には、腱及び筋周膜が含まれる。意識的な介入なしに、平滑筋及び心筋は不随意に収縮する。これらの筋肉タイプは、中枢神経系の相互作用を通して、並びに末梢神経叢又は内分泌（ホルモン）活性化からの神経支配を受けることによって活性化され得る。横紋筋又は骨格筋は、中枢神経系の影響に応じて、自発的に収縮するだけである。

【0225】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、正常組織と比べて、疾患組織において安定した発現又は増加した発現を有する。「安定した発現」は、疾患（又は病理）の進行の各段階中に標的となるタンパク質の細胞表面発現が減少しないことを必要とする。正常組織は、疾患又は病理の影響を受けない（筋肉）組織に関するものである。当該正常組織は、治療される対象又は疾患若しくは病理の影響を受けていない任意の他の対象に由来し得る。

【0226】

いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、KLHL41 である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、LMOD2 である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、ENO3 である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、FABP3 である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CHRNA1 である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、SEMA6C である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、XIRP2 である。いくつかの実

施形態では、標的となるタンパク質は、XIRP1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CAVIN4である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CFL2である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、SVILである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、MUSKである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、ART1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CACNA1Sである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CDH15である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CLCN1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、CLCN1である。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、MYMXである。いくつかの実施形態では、標的となるタンパク質は、ACTA1である。

10

【0227】

いくつかの実施形態では、本明細書の方法は、検出すること、比較すること、評価すること、又はそれらの任意の組み合わせの工程を含む。場合によっては、検出することは、コンピュータ上でコンピュータプログラムを実行することを含み得る。場合によっては、比較することは、コンピュータ上でコンピュータプログラムを実行することを含み得る。場合によっては、評価することは、コンピュータ上でコンピュータプログラムを実行することを含み得る。いくつかの実施形態では、検出すること、比較すること、評価すること、又はそれらの任意の組み合わせは、コンピュータプロセッサを使用する。いくつかの実施形態では、検出すること、比較すること、評価すること、又はそれらの任意の組み合わせは、コンピュータ可読メモリを使用する。いくつかの実施形態では、検出すること、比較すること、評価すること、又はそれらの任意の組み合わせは、コンピュータ可読命令を使用する。場合によっては、コンピュータプログラムは同じコンピュータプログラムであり得る。場合によっては、コンピュータプログラムは異なるコンピュータプログラムであり得る。場合によっては、本明細書におけるコンピュータは、グラフィカルユーザーインターフェースを含み得る。場合によっては、本明細書におけるコンピュータは、電子ディスプレイを含み得る。

20

【0228】

場合によっては、本明細書における方法を実行するためのコンピュータシステムは、シングルコア若しくはマルチコアプロセッサ、又は並列処理のための複数のプロセッサであり得る中央処理装置（CPU、本明細書においても「プロセッサ」及び「コンピュータプロセッサ」）を含む。コンピュータシステムはまた、メモリ若しくはメモリ位置（ランダムアクセスメモリ、読み取り専用メモリ、フラッシュメモリ）、電子記憶装置（ハードディスク）、1つ以上の他のシステムと通信するための通信インターフェース（例えば、ネットワークアダプター）、並びにキャッシュ、他のメモリ、データストレージ及び／又は電子ディスプレイアダプターなどの周辺デバイスを含み得る。メモリ、ストレージユニット、インターフェース及び周辺デバイスは、マザーボードなどの通信バスを介してCPUと通信し得る。ストレージユニットは、データを記憶するためのデータストレージユニット（又はデータリポジトリ）であり得る。コンピュータシステムは、通信インターフェースの助けを借りて、コンピュータネットワーク（「ネットワーク」）に動作可能に結合することができる。ネットワークは、インターネット、インターネット、及び／若しくはエクストラネット、又はインターネットと通信するイントラネット及び／若しくはエクストラネットであり得る。ネットワークは、場合によっては、電気通信及び／又はデータネットワークである。ネットワークは、クラウドコンピューティングなどの分散コンピューティングを可能にする、1つ以上のコンピュータサーバーを含み得る。ネットワークは、場合によってはコンピュータシステムの助けを借りて、ピアツーピアネットワークを実装することができ、これにより、コンピュータシステムに結合されたデバイスがクライアント又はサーバとして動作することができる。CPUは、プログラム又はソフトウェアに具現化され得る機械可読命令のシーケンスを実行することができる。命令は、メモリなどのメモリ位置に記憶され得る。命令はCPUに向けられることができ、その後、CPUが本開示の方法を実装するために、プログラムされるか又は他の方法で構成され得る。

30

40

50

【0229】

番号付き実施形態

種々の方法が、本明細書に開示される。これらの方法の具体的な例示的实施形態を、以下に開示する。以下の実施形態は、本明細書に開示される特徴の組み合わせの非限定的な順列を列挙する。特徴の組み合わせの他の順列も企図される。特に、これらの番号付けされた実施形態の各々は、列挙されている順序とは無関係に、前又は後続の全ての番号付けされた実施形態に依存するか、又は関連するものと考えられる。

【0230】

実施形態セクション1：

実施形態1．組織特異的な方法で筋肉組織に薬剤をインビボで送達する方法であって、筋肉細胞の表面を、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する薬剤と接触させることを含み、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織内で濃縮され、標的となるタンパク質が正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用される、方法。

10

20

【0231】

実施形態2．標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態1に記載の方法。

【0232】

実施形態3．薬剤が、標的となるタンパク質の特異的結合剤である、実施形態1又は2のいずれか1つに記載の方法。

【0233】

実施形態4．特異的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態3に記載の方法。

30

【0234】

実施形態5．可溶性受容体が、受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態4に記載の方法。

【0235】

実施形態6．可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、実施形態4又は5のいずれか1つに記載の方法。

【0236】

実施形態7．薬剤が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態1～6のいずれか1つに記載の方法。

40

【0237】

実施形態8．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びナノボディからなる群から選択される、実施形態7に記載の方法。

【0238】

実施形態9．個体における病理を治療する方法であって、個体に、筋肉組織細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する治療用標的化剤を投与することを含み、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織において濃縮され、標的となるタンパク質が正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、

50

標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 12 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内に内在化され、且つ再利用される、方法。

【0239】

実施形態 10．治療用標的化剤が、活性剤成分と標的化剤成分とを含む薬剤であり、活性剤成分が、放射性核種、化学療法剤、免疫刺激剤、抗腫瘍剤、抗炎症剤、炎症促進剤、アポトーシス促進剤、凝固促進剤、毒素、抗生物質、ホルモン、酵素、タンパク質、担体タンパク質、溶解剤、小分子、アプタマー、細胞、ワクチン誘導細胞又は他の免疫細胞、ナノ粒子、トランスフェリン、免疫グロブリン、多価抗体、脂質、リポタンパク質、リポソーム、変性天然リガンド、遺伝子又は核酸、オリゴヌクレオチド、RNA、siRNA、ncRNA ミミック、ショートヘアピン RNA (shRNA)、dicer 依存性 siRNA (di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO)、ギャップマー、ミキシマー、二本鎖 RNA (dsRNA)、一本鎖 RNAi (ssRNAi)、DNA 依存性 RNA 干渉 (ddRNAi)、RNA 活性化オリゴヌクレオチド (RNAa)、アプタマー、エキソスキッピングオリゴヌクレオチド、miRNA、miRNA ミミック、mRNA、ガイド RNA、ウイルス又は非ウイルス遺伝子送達ベクター、プロドラッグ、及びプロ分子からなる群から選択され、標的化剤成分が、標的となるタンパク質に特異的に結合する、実施形態 9 に記載の方法。

10

20

【0240】

実施形態 11．標的化剤成分が、標的となるタンパク質の特異的結合剤を含む、実施形態 10 に記載の方法。

【0241】

実施形態 12．特異的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態 11 に記載の方法。

【0242】

実施形態 13．可溶性受容体が、受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態 12 に記載の方法。

30

【0243】

実施形態 14．可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質である、実施形態 12 又は 13 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0244】

実施形態 15．標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントを含む、実施形態 10 又は 11 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0245】

実施形態 16．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びナノボディからなる群から選択される、実施形態 15 に記載の方法。

40

【0246】

実施形態 17．活性剤成分がオリゴヌクレオチドであり、標的化剤成分が抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり、活性剤成分が標的化剤成分に複合体化され、オリゴヌクレオチドが筋肉組織中で発現される疾患遺伝子を標的とする、実施形態 10 に記載の方法。

【0247】

実施形態 18．標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYM

50

X、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態9～17のいずれか1つに記載の方法。

【0248】

実施形態19．組織特異的方法でイメージング剤を筋肉組織に送達させる方法であって、筋細胞の表面を、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤と接触させることを含み、標的化剤成分が、組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用される、方法。

10

【0249】

実施形態20．標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態19に記載の方法。

20

【0250】

実施形態21．標的化剤成分が、標的となるタンパク質の特異的結合剤である、実施形態19又は20のいずれか1つに記載の方法。

【0251】

実施形態22．特異的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態21に記載の方法。

【0252】

実施形態23．可溶性受容体が、受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態22に記載の方法。

【0253】

実施形態24．可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、実施形態22又は23のいずれか1つに記載の方法。

30

【0254】

実施形態25．標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態19～21のいずれか1つに記載の方法。

【0255】

実施形態26．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びナノボディからなる群から選択される、実施形態25に記載の方法。

40

【0256】

実施形態27．イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態19～26のいずれか1つに記載の方法。

【0257】

実施形態28．組織特異的方法でイメージング剤を組織試料に送達させる方法であって、組織試料を、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤と接触させることを含み、標的化剤成分が、組織の筋細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的

50

となるタンパク質が正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用される、方法。

【0258】

実施形態29．標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態28に記載の方法。

10

【0259】

実施形態30．標的化剤成分が、標的となるタンパク質の特異的結合剤である、実施形態28又は29のいずれか1つに記載の方法。

【0260】

実施形態31．特異的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態30に記載の方法。

【0261】

実施形態32．可溶性受容体が、受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態31に記載の方法。

20

【0262】

実施形態33．可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、実施形態31又は32のいずれか1つに記載の方法。

【0263】

実施形態34．標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態28～30のいずれか1つに記載の方法。

【0264】

実施形態35．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びナノボディからなる群から選択される、実施形態34に記載の方法。

30

【0265】

実施形態36．イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態28～35のいずれか1つに記載の方法。

【0266】

実施形態37．個体の筋肉組織の物理的イメージングを実施する方法であって、個体に、標的化剤成分とイメージング剤成分とを含むイメージング剤を投与することを含み、標的化剤成分が、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用される、方法。

40

【0267】

50

実施形態 38. 標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態 37に記載の方法。

【0268】

実施形態 39. イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態 37又は38のいずれか1つに記載の方法。

【0269】

実施形態 40. 筋肉組織病理の存在又は非存在について個体を評価する方法であって、a) 個体に、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤を投与することであって、標的化剤成分が、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合する、投与することと、b) イメージング剤の濃度の存在又は非存在について個体を評価することと、を含み、c) イメージング剤の濃度の存在又は非存在が病理の存在を示す、方法。

【0270】

実施形態 41. 標的化剤成分は、標的となるタンパク質の特異的結合剤である、実施形態 40に記載の方法。

【0271】

実施形態 42. 特異的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態 41に記載の方法。

【0272】

実施形態 43. 可溶性受容体が、受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態 42に記載の方法。

【0273】

実施形態 44. 可溶性受容体が、Fc融合タンパク質である、実施形態 42又は43のいずれか1つに記載の方法。

【0274】

実施形態 45. 標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態 40又は41のいずれか1つに記載の方法。

【0275】

実施形態 46. 抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及びナノボディからなる群から選択される、実施形態 45に記載の方法。

【0276】

実施形態 47. 標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態 40～46のいずれか1つに記載の方法。

【0277】

実施形態 48. イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態 40～47のいずれか1つに記載の方法。

【0278】

実施形態 49. 個体からの筋肉組織の治療用標的化剤による治療に対する応答を評価する方法であって、治療用標的化剤が、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタン

10

20

30

40

50

パク質に特異的に結合し、a) 治療用標的化剤による治療の前に、個体からの試料中の標的となるタンパク質のレベルを評価することと、b) 治療用標的化剤による治療中又は治療後に、個体からの試料中の標的となるタンパク質のレベルを評価することと、c) 治療前のレベルを治療中又は治療後のレベルと比較することと、を含み、標的となるタンパク質の治療前のレベルよりも有意に低い治療中又は治療後の標的となるタンパク質のレベルが、治療用標的化剤による治療の有効性を示し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用される、方法。

10

【0279】

実施形態50. 標的化タンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される、実施形態49に記載の方法。

20

【0280】

実施形態セクション2:

実施形態1. 組織特異的又は組織選択的方法で薬剤をインビボで筋肉組織に送達させる方法であって、方法が、筋肉組織の筋細胞の表面を、有効量の、筋肉組織の筋細胞の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する薬剤と接触させ、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が他の点では同等の正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、任意選択で、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用される、それによって、薬剤を組織特異的又は組織選択的方法でインビボで筋肉組織に送達させることを含む、方法。

30

【0281】

実施形態2. 標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される遺伝子から発現される、実施形態1に記載の方法。

40

【0282】

実施形態3. 薬剤が、標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、実施形態1又は2のいずれか1つに記載の方法。

【0283】

実施形態4. 特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態3に記載の方法。

【0284】

実施形態5. 特異的又は選択的結合剤が可溶性受容体であり、可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態4に記載の方法。

【0285】

50

実施形態 6 . 可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質である、実施形態 4 又は 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0286】

実施形態 7 . 薬剤が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態 1 ～ 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0287】

実施形態 8 . 抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される、実施形態 7 に記載の方法。

【0288】

実施形態 9 . 個体における病理を治療する方法であって、個体に、有効量の、筋肉組織細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する治療用標的化剤を投与し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が他の点では同等の正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、任意選択で、標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 12 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内で内在化され、且つ再利用され、それによって、個体における病理を治療することを含む、方法。

【0289】

実施形態 10 . 治療用標的化剤が活性剤成分と標的化剤成分とを含む薬剤であり、活性剤成分が、放射性核種、化学療法剤、免疫刺激剤、抗腫瘍剤、抗炎症剤、炎症促進剤、アポトーシス促進剤、凝固促進剤、毒素、抗生物質、ホルモン、酵素、タンパク質、担体タンパク質、溶解剤、小分子、アプタマー、細胞、ワクチン誘導細胞又は他の免疫細胞、ナノ粒子、トランスフェリン、免疫グロブリン、多価抗体、脂質、リポタンパク質、リポソーム、変性天然リガンド、遺伝子又は核酸、オリゴヌクレオチド、RNA、siRNA、ncRNA ミミック、ショートヘアピン RNA (shRNA)、dicer 依存性 siRNA (di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO)、ギャップマー、ミキシマー、二本鎖 RNA (dsRNA)、一本鎖 RNA i (ssRNAi)、DNA 依存性 RNA 干渉 (ddRNAi)、RNA 活性化オリゴヌクレオチド (RNAa)、アプタマー、エキソスキッピングオリゴヌクレオチド、miRNA、miRNA ミミック、mRNA、ガイド RNA、ウイルス又は非ウイルス遺伝子送達ベクター、プロドラッグ、及びプロ分子からなる群から選択され、標的化剤成分が、標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する、実施形態 9 に記載の方法。

【0290】

実施形態 11 . 標的化剤成分が、標的となるタンパク質に対する特異的又は選択的結合剤を含む、実施形態 10 に記載の方法。

【0291】

実施形態 12 . 特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態 11 に記載の方法。

【0292】

実施形態 13 . 特異的又は選択的結合剤が可溶性受容体であり、可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態 12 に記載の方法。

【0293】

実施形態 14 . 可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質又はその生物学的に活性なフラグメントである、実施形態 12 又は 13 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0294】

10

20

30

40

50

実施形態 15 . 標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントを含む、実施形態 10 又は 11 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0295】

実施形態 16 . 抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される、実施形態 15 に記載の方法。

【0296】

実施形態 17 . 活性剤成分がオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであり、標的化剤成分が抗体若しくはその抗原結合フラグメントであり、活性剤成分が標的化剤成分に複合体化され、オリゴヌクレオチドが筋肉組織で発現される疾患遺伝子を標的とする、実施形態 10 に記載の方法。

【0297】

実施形態 18 . 標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1 からなる群から選択される遺伝子によってコードされる、実施形態 9 又は 10 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0298】

実施形態 19 . 組織特異的又は組織選択的方法でイメージング剤を筋肉組織に送達させる方法であって、筋肉組織の筋細胞の表面を、有効量の、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤と接触させ、標的化剤成分が筋肉組織の筋細胞の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が他の点では同等の正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、任意選択で、標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 12 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内に内在化され、且つ再利用され、それによって、イメージング剤を組織特異的又は組織選択的方法で筋肉組織に送達させることを含む、方法。

【0299】

実施形態 20 . 標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、実施形態 19 に記載の方法。

【0300】

実施形態 21 . 標的化剤成分が、標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、実施形態 19 又は 20 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0301】

実施形態 22 . 特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態 21 に記載の方法。

【0302】

実施形態 23 . 特異的又は選択的結合剤が可溶性受容体であり、可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態 22 に記載の方法。

【0303】

実施形態 24 . 可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質である、実施形態 22 又は 23 の

10

20

30

40

50

いずれか 1 つに記載の方法。

【0304】

実施形態 25．標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態 19～21 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0305】

実施形態 26．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される、実施形態 25 に記載の方法。

【0306】

実施形態 27．イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態 19～26 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0307】

実施形態 28．組織特異的又は選択的方法でイメージング剤を組織試料に送達させる方法であって、方法が、組織試料を有効量の、イメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤と接触させ、標的化剤成分が、組織の筋細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合し、標的となるタンパク質が他の点では同等の正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、任意選択で、標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 12 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内で内在化され、且つ再利用され、それによって、組織特異的又は選択的方法でイメージング剤を組織試料に送達させることを含む、方法。

【0308】

実施形態 29．標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、実施形態 28 に記載の方法。

【0309】

実施形態 30．標的化成分が、標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、実施形態 28 又は 29 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0310】

実施形態 31．特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態 30 に記載の方法。

【0311】

実施形態 32．特異的又は選択的結合剤が可溶性受容体であり、可溶性受容体が受容体の細胞外ドメインを含む、実施形態 31 に記載の方法。

【0312】

実施形態 33．可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質である、実施形態 31 又は 32 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0313】

実施形態 34．標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態 28～30 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0314】

実施形態 35．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重

10

20

30

40

50

特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン(ISV)からなる群から選択される、実施形態34に記載の方法。

【0315】

実施形態36. イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態28～35のいずれか1つに記載の方法。

【0316】

実施形態37. 個体の筋肉組織の物理的イメージングを実施する方法であって、方法が、個体に、有効量の、標的化剤成分とイメージング剤成分とを含むイメージング剤を投与し、標的化剤成分が、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が他の点では同等な正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、任意選択で、標的となるタンパク質が、約2分～約12時間、約2分～約10時間、約2分～約8時間、約2分～約6時間、約2分～約4時間、約2分～約2時間、約2分～約60分、約2分～約40分、約2分～約20分、約2分～約10分、約10分～約12時間、約20分～約12時間、約40分～約12時間、約60分～約12時間、約2時間～約12時間、約4時間～約12時間、約6時間～約12時間、約8時間～約12時間、約10時間～約12時間、又は約11時間～約12時間以内で内在化され、且つ再利用され、それによって、個体の筋肉組織の物理的イメージングを実施することを含む、方法。

【0317】

実施形態38. 標的となるタンパク質が、KLHL41、LMO2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及びACTA1からなる群から選択される遺伝子から選択され、発現される、実施形態37に記載の方法。

【0318】

実施形態39. イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態37又は38のいずれか1つに記載の方法。

【0319】

実施形態40. 筋肉組織病理の存在又は非存在について個体を評価する方法であって、方法が、a) 個体に、有効量のイメージング剤成分と標的化剤成分とを含むイメージング剤を投与することであって、標的化剤成分が、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的又は選択的に結合する、投与することと、b) MRI若しくは他の医療イメージング、インビトロ診断薬、又はそれらの任意の組み合わせを使用することによって、イメージング剤の濃度の存在又は非存在について個体において検出することと、を含み、c) イメージング剤の濃度の存在又は非存在が病理の存在を示し、それにより筋肉組織病理の存在又は非存在について個体を評価することを含む、方法。

【0320】

実施形態41. 標的化剤成分が、標的となるタンパク質の特異的又は選択的結合剤である、実施形態40に記載の方法。

【0321】

実施形態42. 特異的又は選択的結合剤が、可溶性受容体又は可溶性リガンドである、実施形態41に記載の方法。

【0322】

実施形態43. 特異的又は選択的結合剤が、受容体の細胞外ドメインを含む可溶性受容

10

20

30

40

50

体である、実施形態 42 に記載の方法。

【0323】

実施形態 44．可溶性受容体が、Fc 融合タンパク質である、実施形態 42 又は 43 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0324】

実施形態 45．標的化剤成分が、抗体若しくはその抗原結合フラグメントである、実施形態 40 又は 41 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0325】

実施形態 46．抗体若しくはその抗原結合フラグメントが、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、Fab、Fab-Fc、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、VNAR、及び免疫グロブリン単一可変ドメイン (ISV) からなる群から選択される、実施形態 45 に記載の方法。

【0326】

実施形態 47．標的となるタンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及び ACTA1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、実施形態 40～46 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0327】

実施形態 48．イメージング剤成分が、放射性薬剤、放射性同位体又は放射性医薬品、造影剤、磁気剤又は常磁性剤、リポソーム、超音波剤、検出剤を誘導する遺伝子ベクター又はウイルス、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、及び生物発光材料からなる群から選択される、実施形態 40～47 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0328】

実施形態 49．治療用標的化剤による治療に対する個体からの筋肉組織の応答を評価する方法であって、治療用標的化剤が、筋肉組織の細胞表面上で発現される標的となるタンパク質に特異的に結合し、方法が、a) 治療用標的化剤による治療前に個体から得られた試料における標的となるタンパク質のレベルを決定することと、b) MRI 若しくは他の医療イメージング、インビトロ診断薬、又はそれらの任意の組み合わせを使用することによって、治療用標的化剤による治療中又は治療後に個体から得られた試料における標的となるタンパク質のレベルを検出することと、c) 任意選択で、コンピュータを使用して、治療前のレベルを治療中又は治療後のレベルと比較し、治療前の標的となるタンパク質のレベルよりも低い治療中又は治療後の標的となるタンパク質のレベルが、治療用標的化剤による治療の有効性を示し、標的となるタンパク質が他の組織と比べて、筋肉組織で濃縮され、標的となるタンパク質が他の点では同等の正常組織と比べて、疾患組織において安定した又は増加した発現を有し、任意選択で、標的となるタンパク質が、約 2 分～約 12 時間、約 2 分～約 10 時間、約 2 分～約 8 時間、約 2 分～約 6 時間、約 2 分～約 4 時間、約 2 分～約 2 時間、約 2 分～約 60 分、約 2 分～約 40 分、約 2 分～約 20 分、約 2 分～約 10 分、約 10 分～約 12 時間、約 20 分～約 12 時間、約 40 分～約 12 時間、約 60 分～約 12 時間、約 2 時間～約 12 時間、約 4 時間～約 12 時間、約 6 時間～約 12 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 12 時間、又は約 11 時間～約 12 時間以内で内在化され、且つ再利用され、それによって、治療用標的化剤による治療に対する個体からの筋肉組織の応答を評価することと、を含む、方法。

【0329】

実施形態 50．標的化タンパク質が、KLHL41、LMOD2、ENO3、FABP3、CHRNA1、SEMA6C、XIRP2、XIRP1、CAVIN4、CFL2、SVIL、MUSK、ART1、CACNA1S、CDH15、CLCN1、MYMX、及び ACTA1 からなる群から選択される遺伝子から発現される、実施形態 49 に記載の方法。

【0330】

実施形態 51. 病理が、筋ジストロフィー又はミオパチーを含む神経筋障害を含む、実施形態 9 に記載の方法。

【0331】

実施形態 52. 病理が、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD)、筋強直性ジストロフィー (MD)、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD)、肢体型筋ジストロフィー (LGMD)、ベッカー型筋ジストロフィー、眼咽頭型筋ジストロフィー、エメリー・ドレイフス型筋ジストロフィー、又は遠位型筋ジストロフィーである、実施形態 51 に記載の方法。

【0332】

実施形態 53. 個体が、ヒトである、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【0333】

実施形態 54. 投与することが、経口、吸入による、鼻腔内、注射による、皮下、筋肉内、組織若しくは細胞に直接的に投与すること、組織若しくは細胞に間接的に投与すること、静脈内、直腸内、髄腔内、眼内、耳、腹腔内、又は局所を含む、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

【0334】

実施形態 55. 接触させることは個体で行われ、接触させることは、薬剤を個体に投与することから生じる、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

【0335】

実施形態 56. 評価することは、生検を含む、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【0336】

実施形態 57. 薬剤は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、担体、又はそれらの任意の組み合わせを更に含む医薬組成物の形態で投与される、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

【0337】

実施形態 58. 接触させること又は投与することが、1 日 1 回、1 日 2 回、1 日 3 回、1 日 4 回、毎週、週に 2 回、週に 3 回、週に 4 回、毎月、月に 2 回、3 ヶ月毎、四半期毎、年に 2 回、毎年、必要に応じて、又は生涯にわたるものである、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

30

【0338】

実施形態 59. 医薬組成物が、単位用量形態である、実施形態 57 に記載の方法。

【0339】

実施形態 60. 薬剤が、約 1 ng ~ 約 25,000 mg、約 10 ng、約 100 ng、約 1 マイクログラム、約 10 マイクログラム、約 100 マイクログラム、約 1 mg、約 10 mg、約 100 mg、約 1000 mg、約 10000 mg、又は約 25000 mg の範囲の量で投与される、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

【0340】

実施形態 61. 薬剤が、任意選択で薬学的に許容される塩の形態である、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

40

【実施例】

【0341】

実施例 1: 筋肉特異的送達のための標的の同定

A DC の筋肉特異的送達を可能にするための理想的な標的を同定するために、21 の異なる筋肉関連生涯からの 28 のデータセットからのヒト疾患及び健康な筋肉組織に由来する転写産物遺伝子発現を実施した。これらを、以下の表 2 に列挙する。

【0342】

【表 5】

表 2.筋肉関連障害のデータセット

疾患	公開データセット
DMD	PMID_11121445
DMD	PMID_12415109
DMD	GSE38417
FSHD	PMID_14519683
FSHD	PMID: 22988124
FSHD	PMID: 24861551
ジスフェリン異常症	PMID: 12471055
若年性皮膚筋炎	PMID_11937576
皮膚筋炎	PMID: 23171592
カベオリノパチー	PMID: 23171592
ネマリン・ミオパチー	PMID_12677001
筋強直性ジストロフィー1 型	PMID: 20066428
筋強直性ジストロフィー1 型	PMID: 22758909
筋強直性ジストロフィー2 型	PMID: 20971734
痙性対麻痺	PMID_15079007
斜視	PMID: 22786898
虚血性心筋症	PMID: 20332183
家族性心筋症	GSE1145
肥大型心筋症	GSE1145
特発性心筋症	GSE1145
分娩後心筋症	GSE1145
拡張型心筋症	PMID: 20460602
家族性 2 型糖尿病	PMID: 21393865
非家族性 2 型糖尿病	PMID: 27689005
2 型糖尿病 DM2 又は IGT	PMID: 21803291
冬眠心筋	AE_SERIES_E-MIMR-27
パーキンソニズム及び運動失調	GSE18715
ポンペ病	PMID: 22658377

10

20

30

40

50

【0343】

この分析の概要を図 1 に標示する。最初に、対照筋肉組織と比べて、疾患筋肉組織において、安定した又は増加した発現を有する遺伝子を、データセット及び各研究からの統計的方法を使用して同定した。このデータを重ね合わせ、分析した全ての筋肉障害にわたって安定して発現されたままである約 17,000 個の遺伝子を同定した。次に、GTEX (<https://gtexportal.org/home/>) 及び FANTOM5 (PMID: 24670764) データベースからの RNA 発現データを利用して、非筋肉組織と対比して、筋肉組織（骨格筋、平滑筋、心筋及び舌筋）に有意に濃縮された遺伝子を同定した。リストを安定に発現された疾患遺伝子だけにフィルター処理して、約 600 個の遺伝子の同定をもたらした。抗体標的化に好適である遺伝子を同定するために、遺伝子オントロジーデータベース (PMID: 10802651) を使用して、細胞外として

リストされ、外側細胞膜に関連する遺伝子を同定し、約 120 個の遺伝子のリストを得た。

【0344】

最後に、ヒトタンパク質アトラス（PMID：25613900）を使用して、RNA 発現データをタンパク質発現レベルで検証し、それによってタンパク質及び RNA 発現データの両方が細胞外発現及び筋肉特異性を示した。このデータを、ヒトタンパク質アトラスにおいて入手可能な免疫組織化学スコアリングデータに従って、タンパク質レベルで高度に発現された遺伝子、すなわち発現レベル 2 又は 3（利用可能な場合は中程度から高程度まで）で発現された遺伝子についてフィルター処理した。その結果、以下の表 3 に標示された 19 個の遺伝子のリストが得られた。

【0345】

【表 6】

表 3.筋肉関連障害のための理想的な筋肉特異的 ADC 標的：

KLHL41
LMOD2
ENO3
FABP3
CHRNA1
SEMA6C
XIRP2
XIRP1
CAVIN4
CFL2
SVIL
MUSK
ART1
CACNA1S
CDH15
CLCN1
MYMX
ACTA1
SLC2A4 (GLUT4)

【0346】

このアプローチの健全性の検証として、以前の研究では、SLC2A4（GLUT4）が筋肉特異的送達のための良好な標的であることが示唆されていることに留意されたい。このリストから、更なる検証のために、ART-1、CDH15、MUSK、CACNA1S、及び SLC2A4 を選択した。

【0347】

実施例 2：筋肉発現及び抗体アクセシビリティの検証。

図 2 は、分化した筋管における選択された受容体発現の蛍光顕微鏡の検証を示す。分化したヒト筋管を 4 %の PFA で固定化し、PBS + 5 %の血清 + 1 %の BSA で室温にて 1 時間にわたってブロックした。細胞を、A - ALK2、B - GLUT4、C - CDH15、D - MuSK、E - ART1、F - CHRND、G - N/A（陰性対照としての二次抗体のみで一次抗体なし）及び H - MYHC4 に対する一次抗体で、ブロッキング溶液中

5 u g / m L にて室温で1時間又は4℃で一晩染色し、次いでP B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄した。次に、細胞を、H o e c h s t 3 3 3 4 2 及びA F 6 4 7 複合体化二次抗体で室温にて1時間共染色した。P B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄した後、D A P I 及びC y 5 チャンネル（図示）で細胞を検出するためにイメージングした。

【0348】

図3は、分化したマウス筋管における受容体発現の蛍光顕微鏡の検証を示す。分化したC 2 C 1 2 筋管を4%のP F A で固定化し、P B S + 5 % の血清 + 1 % のB S A で室温にて1時間ブロックした。細胞を、A - G L U T 4、B - C D H 1 5、C - M u S K、D - A R T 1、E - C H R N D、F - C A C N A 1 S、及びG - N / A（陰性対照としての二次抗体のみで一次抗体なし）に対する一次抗体で、ブロッキング溶液中5 u g / m L にて室温で1時間又は4℃で一晩染色し、次いでP B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄した。次に、細胞を、H o e c h s t 3 3 3 4 2 及びA F 6 4 7 複合体化二次抗体で室温にて1時間共染色した。P B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄した後、D A P I 及びC y 5 チャンネル（図示）で細胞を検出するためにイメージングした。パネルHは、パネルGと同じ処置の代表的な画像であるが、染色された核を示すためにD A P I チャンネル内にある。

10

【0349】

図4A～4Bは、非筋肉細胞における受容体の低い発現／非発現の蛍光顕微鏡を示す。図4Aは、4%のP F A で固定化され、P B S + 5 % の血清 + 1 % のB S A で室温にて1時間ブロックされたH u V E C 細胞を示す。細胞を、A - A L K 2、B - C H R N D、C - G L U T 4、D - C D H 1 5、E - M u S K、F - A R T 1、及びG - N / A に対する一次抗体で、ブロッキング溶液中2 u g / m L にて室温で1時間又は4℃で一晩染色し、次いでP B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄した。次に、細胞を、H o e c h s t 3 3 3 4 2 及びA F 6 4 7 複合体化二次抗体で室温にて1時間共染色した。P B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄後、細胞をD A P I 及びC y 5（図示）チャンネル上で検出するためにイメージングした。パネルHは、パネルGと同じ処置を表すが、染色された核を示すためにD A P I チャンネル内にある。

20

【0350】

図4Bは、4%のP F A で固定化され、P B S + 5 % の血清 + 1 % のB S A で室温にて1時間ブロックされたH e p G 2 細胞を示す。細胞を、A - A L K 2、B - C H R N D、C - G L U T 4、D - C D H 1 5、E - M u S K、F - A R T 1、G - N / A に対する一次抗体で、ブロッキング溶液中2 u g / m L にて室温で1時間又は4℃で一晩染色し、次いでP B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄した。次に、細胞を、H o e c h s t 3 3 3 4 2 及びA F 6 4 7 複合体化二次抗体で室温にて1時間共染色した。P B S + 0 . 1 % の t w e e n 2 0 で3回洗浄後、細胞をD A P I 及びC y 5（図示）チャンネル上で検出するためにイメージングした。パネルHは、パネルGと同じ処置を表すが、染色された核を示すためにD A P I チャンネル内にある。

30

【0351】

実施例3：筋細胞に複合体化された抗体の内在化及び送達。

40

抗体の内在化は、p H r o d o などのp H 感受性フルオロフォアによる抗体の標識付けによって観察することができる。p H r o d o は、細胞培養培地中に存在する場合、又は細胞表面上の抗原に結合する場合、中性のp H で非蛍光性である。より低いp H が存在するエンドソーム又はリソソーム区画への細胞内在化後、p H r o d o は赤色スペクトル（R F P チャンネル）で蛍光放出光となる。したがって、細胞を標識抗体で処理、蛍光を蛍光顕微鏡又は蛍光強度の測定により経時的に観察し、定量化することができる。このデータを使用して、抗体結合後の受容体の内在化に要する時間を決定することができる。蛍光抗体による処理後の受容体の再利用を測定するために、遊離抗体を除去し、細胞を洗浄し、タンパク質合成及び分解を阻害するための試薬を添加する。次いで、経時的な蛍光強度を測定して、受容体の再利用を計算することができる。図5A～5Bは、筋肉特異的受容体

50

についての受容体媒介抗体内在化の蛍光顕微鏡の例を示す。分化したヒト筋管を、pHrodo色素で標識された筋肉発現受容体に対する抗体で処理した。細胞を、氷上でpHrodo抗体（5ug/mL）と1時間インキュベートし、次いでPBSで洗浄して、非結合抗体を除去した。次いで、細胞を37℃でインキュベートして内在化を可能にし、更に1時間後にイメージングした。内在化された抗体をRFPチャネル（5Aで図示）で検出し、いくつかのウェルの+低内在化、++中等度の内在化、+++高内在化の目視検査によりスコアリングした。（A-ALK2+++、B-GLUT4++、C-CDH15+++、D-MUSK+）トランスフェリン-pHrodo+++（パネルE）及び二次Ab-pHrodo（パネルF）を、それぞれ陽性及び陰性対照として含めた。図5Bは、DAPIチャネル（青）で検出された図5A（Hoechst 33342で染色された）と同じウェルからの細胞核を示す。

10

【0352】

健康な組織及び疾患組織からのRNA及びタンパク質発現プロファイルの広範なマイニングにより、疾患の進行に伴って発現が安定したままである多数の筋肉選択的表面抗原が明らかにされた。本明細書に記載の表面受容体は、以下の基準に基づいて選択された：

- ・細胞膜局在化；
- ・細胞外空間を介したアクセシビリティ；
- ・筋肉組織における発現；
- ・他の組織タイプと比較して、筋肉における選択的／濃縮された発現；並びに
- ・細胞表面への内在化及び再利用のための所要時間。

20

【0353】

本開示に記載される表面抗原としては、ALK2、KLHL41、SLC2A4、FABP3、LMOD2、CDH15、MUSK、ART1、CACNA1S、CLCN1、ENO3、KLHL41、ACTA1、MYMX、CHARNA1、SEMA6C、XIRP1、XIRP2、CFL2、SVIL、及びCAVIN4が含まれる。

【0354】

DMDを治療するために中和モノクローナル抗体を使用する以前の試みは、承認された治療法（ドマグロズマブ／抗ミオスタチン／Pfizer）には至らなかった。記載された受容体の構造解析及びバイオインフォマティクス解析により、抗体の開発に有用な配列の同定が可能となった。開発された抗体は、内因性受容体機能に悪影響を及ぼすことなく、表面抗原に結合し、治療薬を骨格筋に送達するそれらの能力に基づいて選択された。

30

【0355】

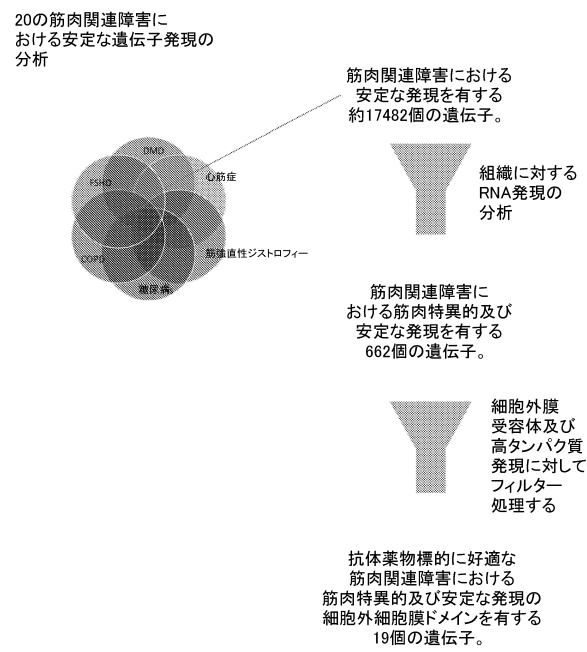
例示的な実施形態が本明細書で示され、説明されてきたが、そのような実施形態は例示的なものに過ぎない。例示的な実施形態には、多数の変形、変化、及び置換を実施することができる。本明細書に記載の実施形態に対する様々な代替案が使用されてもよいことを理解されたい。

40

50

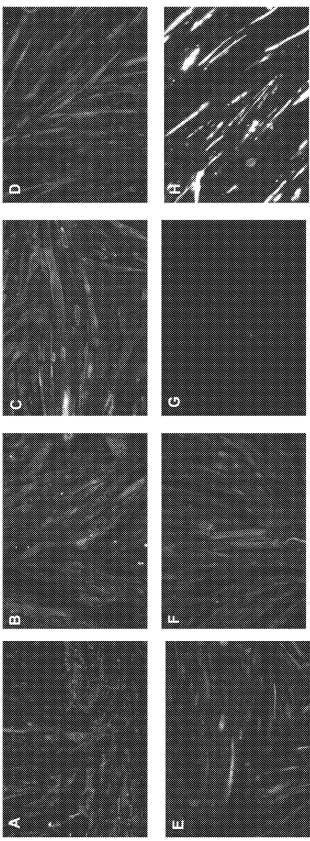
【図面】

【図 1】



【図 2】

図2
分化したヒト筋管における受容体発現の検証



10

20

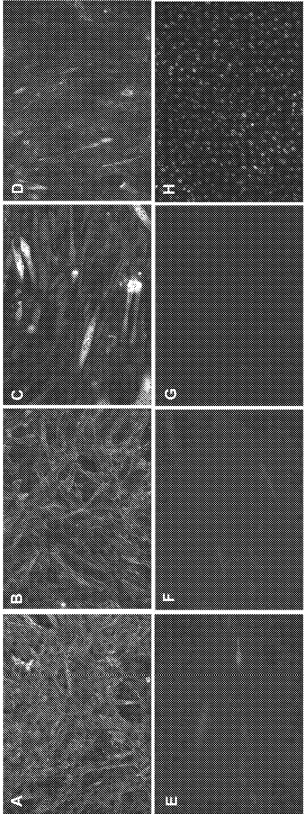
30

40

50

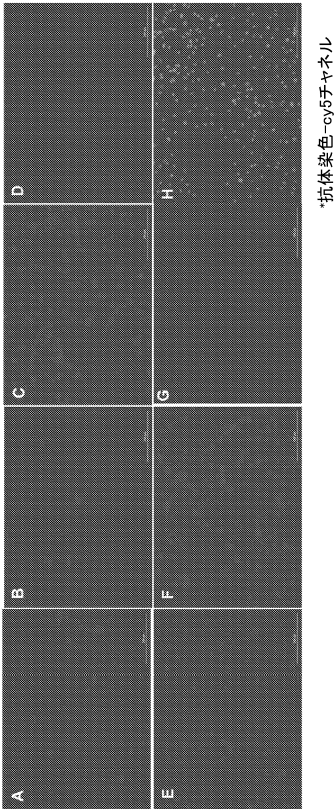
【図 3】

図3
分化したマウス筋管における
受容体の発現及び細胞膜局在化の
検証



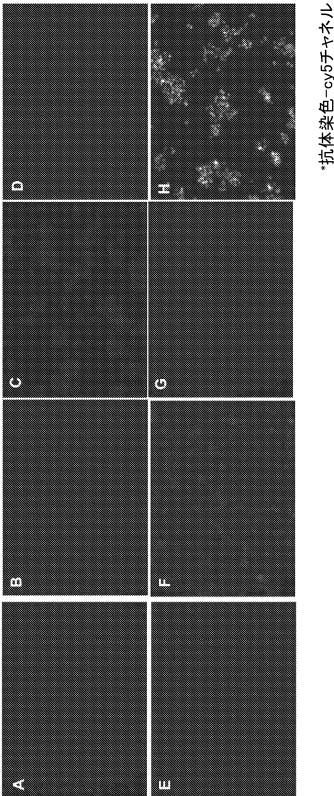
【図 4 A】

図 4A
非筋肉HuVEC細胞中の低い受容体発現。



【図 4 B】

図 4B. 非筋肉HepG2細胞における
受容体の低発現/非発現。



【図 5 A – 5 B】

図 5A
分化した筋管における筋肉標的化
抗体複合体の受容体媒介内在化

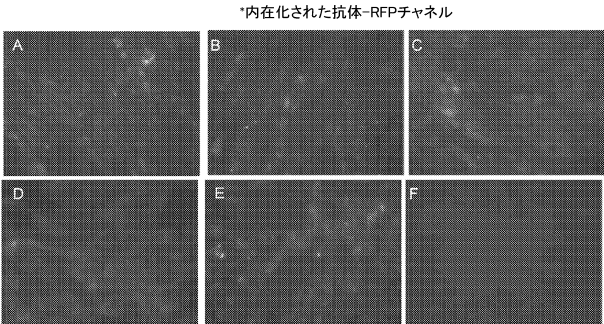
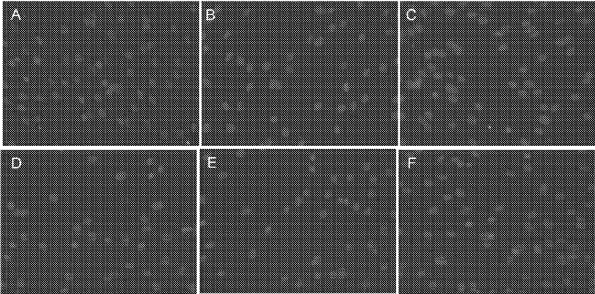


図 5B
染色された核-DAPIチャンネル



10

20

30

40

50

【配列表】

2025504375000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/060253

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - INV. - A61K 47/68; A61B 6/00; A61K 39/395; A61K 51/10; C07K 16/28 (2023.01) ADD. - A61P 21/00 (2023.01) CPC - INV. - A61K 47/6803; A61B 6/4057; A61K 39/39533; A61K 51/088; A61K 51/1027; C07K 16/46 (2023.05) ADD. - C07K 2319/30; C07K 2317/70; A61P 21/00 (2023.05) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/0287151 A1 (GLASS) 29 December 2005 (29.12.2005) entire document	1-4, 7, 8
Y		5, 6
X	WO 2021/142275 A1 (DYNE THERAPEUTICS INC.) 15 July 2021 (15.07.2021) entire document	9-12, 15-18
Y		13, 14
Y	US 2002/0184702 A1 (VALENZUELA et al.) 07 November 2002 (07.11.2002) entire document	5, 6, 13, 14
A	US 2021/0261680 A1 (DYNE THERAPEUTICS INC.) 26 August 2021 (26.08.2021) entire document	1-18
A	WO 2019/074489 A1 (FLAGSHIP BIOSCIENCES INC.) 18 April 2019 (18.04.2019) entire document	1-18
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 May 2023		Date of mailing of the international search report JUL 07 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/080253

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter:1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/080283

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 33-36, 47, 48, 53-61
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-18

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/060253

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I: claims 1-18 are drawn to methods for delivering agents to muscle tissue in vivo or to muscle tissue in an individual, comprising administering to the individual a therapeutically effective amount of a therapeutic targeting agent that specifically or selectively binds a targeted protein expressed on muscle tissue cell surface; wherein the targeted protein is enriched in muscle tissue relative to other tissues; wherein the targeted protein has stable or increased expression in diseased tissue relative to otherwise comparable normal tissue.

Group II: claims 19-32 and 37-39 are drawn to methods of delivering an imaging agent to muscle tissue in a tissue-specific or tissue-selective manner, comprising contacting the surface of muscle cell(s) of the muscle tissue with an effective amount of an imaging agent that comprises an imaging agent component and a targeting agent component, wherein the targeting agent component specifically or selectively binds to a targeted protein expressed on the cell surface of the muscle cells of the muscle tissue; wherein the targeted protein is enriched in muscle tissue relative to other tissues; wherein the targeted protein has stable or increased expression in diseased tissue relative to otherwise comparable normal tissue; and thereby delivering an imaging agent to muscle tissue.

Group III: claims 40-46 and 49-52 are drawn to a method of assessing response of muscle tissue from an individual to treatment with a therapeutic targeting agent, wherein the therapeutic targeting agent specifically binds a targeted protein expressed on the cell surface of the muscle tissue, the method comprising: a) determining a level of the targeted protein in a sample obtained from the individual before treatment with the therapeutic targeting agent; b) detecting by using an MRI or other medical imaging, an in vitro diagnostic, or any combination thereof, the level of the targeted protein in a sample obtained from the individual during or after treatment with the therapeutic targeting agent; c) optionally, comparing using a computer the level before treatment with the level during or after treatment, wherein a level of the targeted protein during or after treatment that is lower than the level of the targeted protein before treatment, is indicative of efficacy of treatment with the therapeutic targeting agent; wherein the targeted protein is enriched in muscle tissue relative to other tissues; wherein the targeted protein has stable or increased expression in diseased tissue relative to otherwise comparable normal tissue; and thereby assessing response of muscle tissue from an individual to treatment with a therapeutic targeting agent.

The inventions listed in Groups I-III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical features of Group I, in vivo, are not present in either of Groups II or III; the special technical features of Group II, delivering an imaging agent to muscle tissue, are not present in either of Groups I or III; the special technical features of Group III, detecting by an in vitro diagnostic, are not present in either of Groups I or II.

Groups I-III share the technical features of delivering a targeting agent to muscle tissue, wherein the targeting agent specifically binds a targeted protein expressed on the cell surface of the muscle tissue; wherein the targeted protein is enriched in muscle tissue relative to other tissues; wherein the targeted protein has stable or increased expression in diseased tissue relative to otherwise comparable normal tissue; and a therapeutic targeting agent, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art, as disclosed by US 2021/021680 to Dyne Therapeutics Inc. (hereinafter, "Dyne") and WO 2019/074489 to Flagship Biosciences Inc. (hereinafter, "Flagship").

Specifically, Dyne teaches delivering a targeting agent to muscle tissue (muscle-specific delivery of molecular payloads that target muscle disease ... comprise muscle-targeting agents (e.g., muscle targeting antibodies) that specifically bind to receptors on the surface of muscle cells, Para. [0005]), wherein the targeting agent specifically binds a targeted protein expressed on the cell surface of the muscle tissue (molecular payloads that target muscle disease ... comprise muscle-targeting agents (e.g., muscle targeting antibodies) that specifically bind to receptors on the surface of muscle cells, Para. [0005]); wherein a targeted protein is enriched in muscle tissue relative to other tissues (muscle-specific cell surface recognition elements, Para. [0090]); and a therapeutic targeting agent (molecular payloads that target muscle disease ... comprise muscle-targeting agents (e.g., muscle targeting antibodies) that specifically bind to receptors on the surface of muscle cells, Para. [0005]).

Further, Flagship teaches wherein the targeted protein has stable or increased expression in diseased tissue relative to otherwise comparable normal tissue (assessing muscular dystrophy-linked protein expression in muscle fibers, Para. [0011]; Figure 25 demonstrates ... image analysis-derived dystrophin expression ... cumulative distribution of a feature value is plotted graphically ... the distributions can be qualitatively assessed ... to derive a score of the dystrophin status of a patient or mathematically assessed to derive a quantitative score, Para. [0087]; See Figs. 25a which illustrates a significantly higher proportion of dystrophin feature values for DMD patients vs. controls).

The inventions listed in Groups I-III therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 K	9/72	(2006.01)	A 6 1 K	9/72	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
C 0 7 K	16/18	(2006.01)	C 0 7 K	16/18	
C 0 7 K	14/705	(2006.01)	C 0 7 K	14/705	
A 6 1 K	49/06	(2006.01)	A 6 1 K	49/06	
A 6 1 K	51/00	(2006.01)	A 6 1 K	51/00	
A 6 1 K	50/00	(2006.01)	A 6 1 K	51/00	2 0 0
C 1 2 N	15/113	(2010.01)	A 6 1 K	50/00	2 0 0
			C 1 2 N	15/113	Z

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

アメリカ合衆国メリーランド州 2 0 8 7 8 . ゲイザーズバーグ . クインス・オーチャード・ロード 7 0 4 . スイート 1 4 0 . ミレキユール インコーポレイテッド

(72)発明者 クリスチャン・キニー

アメリカ合衆国メリーランド州 2 0 8 7 8 . ゲイザーズバーグ . クインス・オーチャード・ロード 7 0 4 . スイート 1 4 0 . ミレキユール インコーポレイテッド

F ターム (参考) 4C076 AA95 BB01 BB11 BB13 BB15 BB16 BB24 BB25 BB26 BB29
CC09 EE41 EE59
4C084 AA17 MA52 MA55 MA57 MA58 MA59 MA60 MA63 MA66 NA13
ZA941 ZA942 ZC781 ZC782
4C085 AA14 BB11 BB42 DD62 EE01 GG01 GG02 GG04 GG06 GG08
HH01 HH11 JJ05 KA27 KA29 KB91 KB99 LL17
4H045 AA10 AA11 BA10 BA41 BA70 BA71 BA72 CA40 DA50 DA76
EA20 EA50 FA74