

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491144 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.10.28(22) Дата подачи заявки
2022.10.31(51) Int. Cl. *A61K 47/56* (2017.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/50 (2017.01)
A61K 47/54 (2017.01)
A61K 47/55 (2017.01)
A61P 21/00 (2006.01)

(54) НАЦЕЛЕННЫЕ НА МЫШЦЫ КОМПЛЕКСЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИСТРОФИНОПАТИЙ

(31) 63/274,306

(32) 2021.11.01

(33) US

(86) PCT/US2022/078975

(87) WO 2023/077120 2023.05.04

(71) Заявитель:

ДАЙН ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

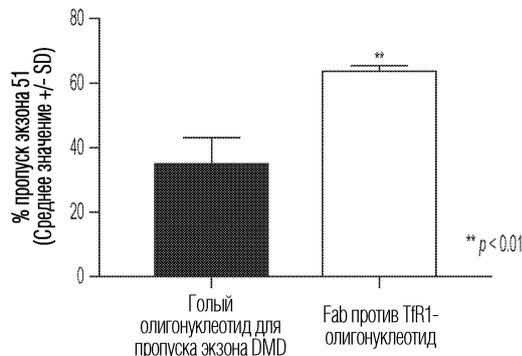
Уиден Тимоти, Визйра Бенжамин,
Дежарден Коди А., Субраманиян
Ромеш Р., Катанани Мохаммед Т.,
Куинн Брендан, Наджим Джон, Шэнь
Пэйи (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Аспекты изобретения относятся к композициям, содержащим множество комплексов, содержащих антитело (например, антитело против TfR1), ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами (например, фосфородиамидат морфолино олигомер), причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где по меньшей мере 80% (например, 80-98%, 80-95%, 80-90%, 85-98%, 85-95%, 85-90%, 90-98% или 90-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

Мышечные трубочки человека с DMD Δ52



A1

202491144

202491144

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580893EA/085

НАЦЕЛЕННЫЕ НА МЫШЦЫ КОМПЛЕКСЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИСТРОФИНОПАТИЙ

РОДСТВЕННАЯ ЗАЯВКА

[0001] Настоящей заявке испрашивается приоритет согласно 35 U.S.C § 119(e) с даты подачи предварительной заявки США № 63/274306, под названием "MUSCLE TARGETING COMPLEXES FOR TREATING DYSTROPHINOPATHIES", поданной 1 ноября 2021 года; содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Настоящая заявка относится к нацеливающим комплексам для доставки эффективного количества олигонуклеотидных молекулярных грузов в клетки и к их применению, в частности, к применениям, касающимся лечения заболеваний.

ССЫЛКА НА ЭЛЕКТРОННЫЙ СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0003] Содержание электронного списка последовательностей (D082470072WO00-SEQ-CBD.xml; размер: 98568 байт; и дата создания: 31 октября 2022 года) включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Дистрофинопатии представляют собой группу различных нейромышечных заболеваний, которые являются результатом мутаций в гене дистрофина. Дистрофинопатии включают мышечную дистрофию Дюшенна, мышечную дистрофию Беккера и X-сцепленную дилатационную кардиомиопатию. Дистрофин (DMD) представляет собой большой ген, содержащий 79 экзонов и всего приблизительно 2,6 миллиона пар оснований. Многочисленные мутации в DMD, включая сдвиг рамки считывания экзона, мутацию с делецией, заменой и дупликацией, способны снижать экспрессию функционального дистрофина, что приводит к дистрофинопатиям.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В соответствии с некоторыми аспектами настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов. В некоторых вариантах осуществления каждый комплекс в композициях, описанных в настоящем описании, содержит антитело (например, против рецептора 1 трансферрина (TfR1)), ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке сцепления, соответствующем K188 (в соответствии с

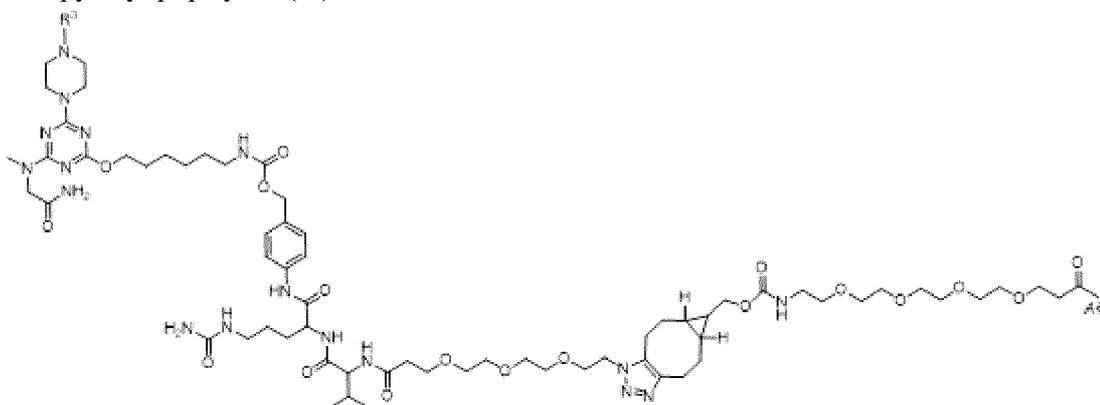
нумерацией Kabat) и/или участке сцепления, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела.

[0006] В соответствии с некоторыми аспектами, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, и где по меньшей мере 80% константных областей легких цепей антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[0007] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[0008] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 37, 43 или 48, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 38, 44 или 49, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 39, 45 или 50, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 40, 46, 51, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 41 или 47, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 42 или 52. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO).

[0009] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 независимо содержит группу формулы (Ia):

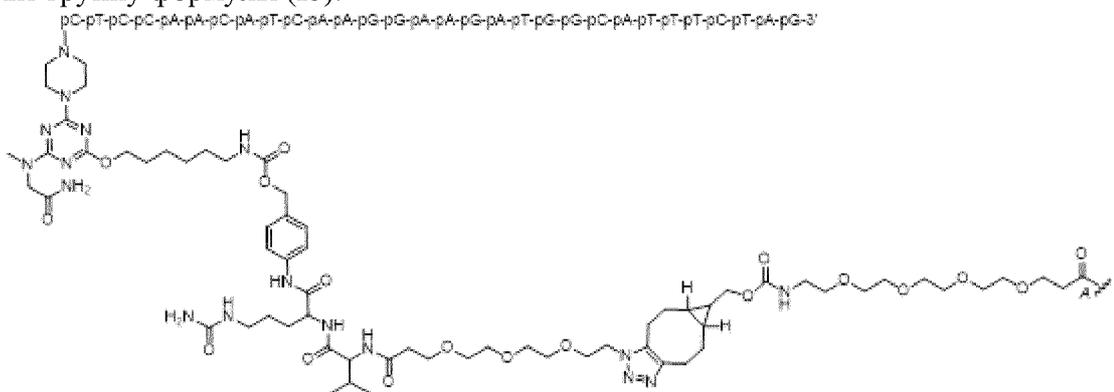


(Ia),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область

тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; R³ содержит фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность нуклеиновых оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21); где каждый R¹ ковалентно связан в точке присоединения A с R² через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

[00010] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов формулы (I): [R¹]_{n1}-R², где каждый R¹ независимо содержит группу формулы (Ib):

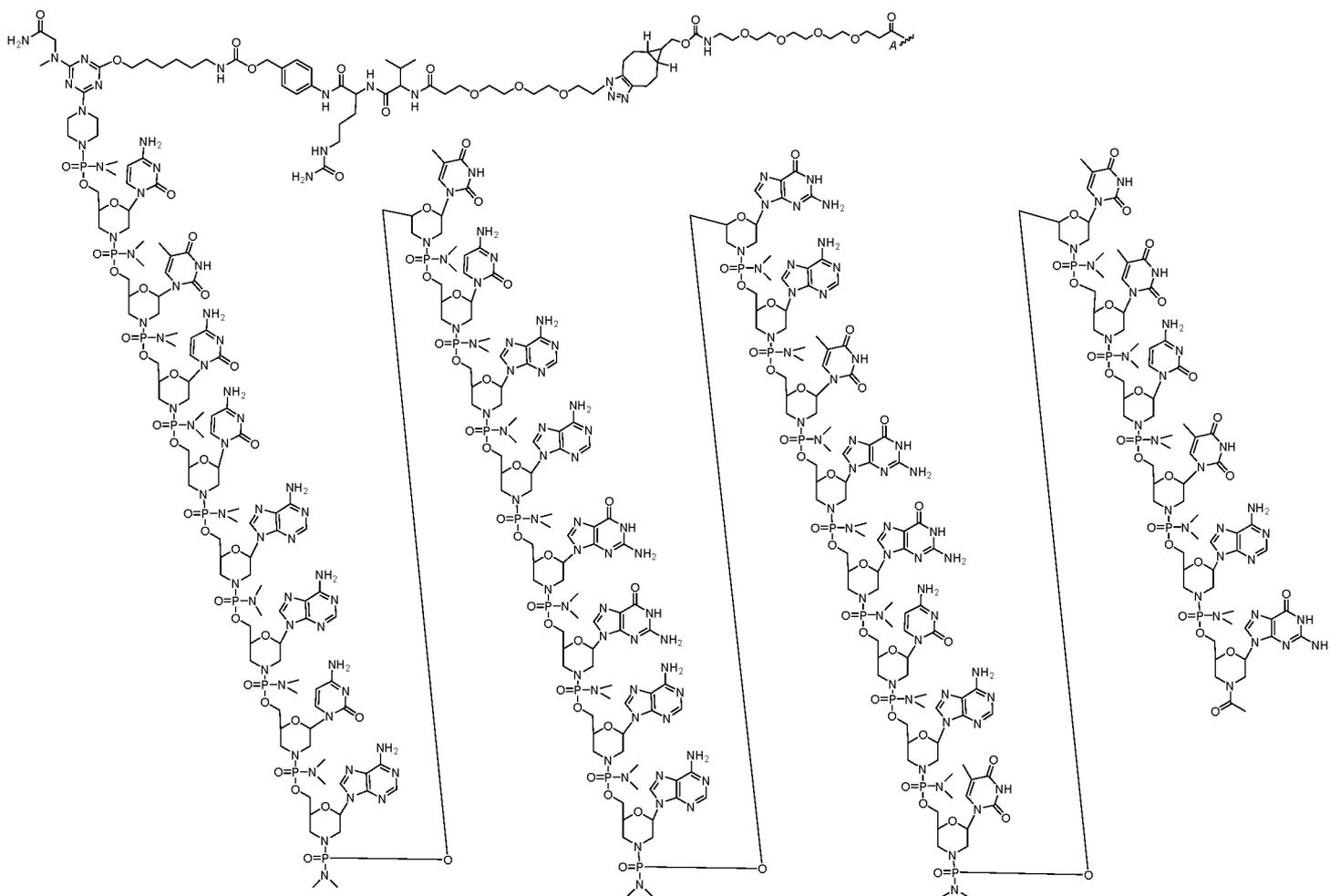


(Ib),

в которой -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21); R² содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую

вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и где каждый R¹ ковалентно связан в точке присоединения A с R² через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

[00011] В некоторых аспектах, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов формулы (I): [R¹]_{n1}-R², где каждый R¹ содержит группу формулы (Ic):



(Ic),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо

ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5. В некоторых вариантах осуществления 85%-95% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 90-95% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 15-45% константных областей тяжелой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00012] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 17; и/или VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

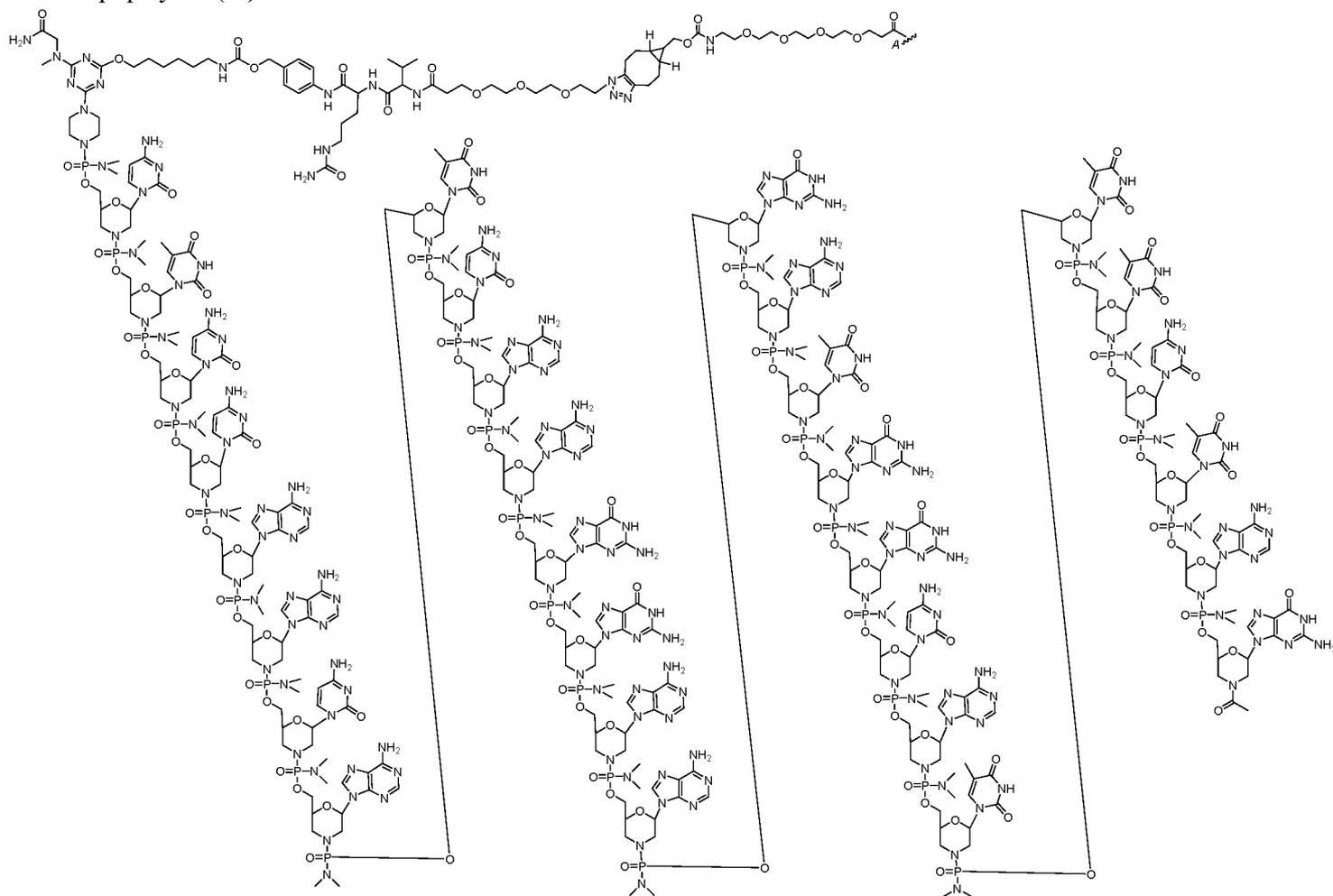
[00013] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам способствования экспрессии или активности белка дистрофина у индивидуума, включающим введение индивидууму эффективного количества композиции, описанной в настоящем описании. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам лечения мышечной дистрофии Дюшенна (DMD) у индивидуума, причем способ включает

введение индивидууму эффективного количества композиции, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет мутантный аллель дистрофина, содержащий мутацию, обеспечивающую пропуск экзона 51. В некоторых вариантах осуществления мутантный аллель дистрофина содержит мутацию со сдвигом рамки считывания в экзона 51. В некоторых вариантах осуществления комплексы способствуют экспрессии или активности белка дистрофина у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления белок дистрофин представляет собой укороченный белок дистрофин.

[00014] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам определения диапазона соотношений лекарственного средства и антитела (DAR) для первого множества комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, причем способ включает: (i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазой в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами; (ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i); (iii) определение масс комплексов, полученных на стадии (ii), посредством масс-спектрометрии; и (iv) определение диапазона DAR комплексов, полученных на стадии (ii); где масса, определенная посредством масс-спектрометрии, соответствующая массе антитела плюс масса неполных линкеров $n1$, указывает на $DAR\ n1$, где $n1$ представляет собой целое число, составляющее один или более.

[00015] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам анализа первого множества комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, причем каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, при этом способ включает: (i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами, и где антитело остается интактным; (ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i); (iii) расщепление антител комплексов, полученных на (ii), протеазой с получением фрагментов антител; и (iv) определение массы фрагментов антител, полученных на стадии (iii), посредством масс-спектрометрии для идентификации фрагментов, ковалентно связанных с одним или несколькими неполными

линкерами. В некоторых вариантах осуществления каждый комплекс первого множества комплексов содержит структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где: каждый R^1 содержит группу формулы (Ic):



(Ic),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий

остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5. В некоторых вариантах осуществления расщепление на стадии (i) проводят посредством папаина. В некоторых вариантах осуществления расщепление на стадии (iii) проводят с использованием химотрипсина.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[00016] На **фиг.1А-1В** представлена активность конъюгата Fab против TfR1-олигонуклеотид в отношении индукции пропуска экзона 51 DMD в мышечных трубочках пациентов с DMD. Конъюгат Fab против TfR1-олигонуклеотид содержит Fab против TfR1, имеющий последовательности VH/VL, представленные в таблице 2, ковалентно связанный (посредством конъюгации с лизином) через линкер, содержащий последовательность валин-цитруллин, с олигонуклеотидом DMD с пропуском экзона 51 (SEQ ID NO: 21). На **фиг. 1А** показано, что композиция, содержащая конъюгат Fab против TfR1-олигонуклеотид, приводила к усиленному пропуску экзонов по сравнению с тем же олигонуклеотидом DMD с пропуском экзона 51, который не связан ковалентно с Fab в мышечных трубочках пациентов с DMD. На **фиг.1В** показано, что конъюгат Fab против TfR1-олигонуклеотид приводил к дозозависимому пропуску экзона 51 после обработки конъюгатом Fab против TfR1 в конечной концентрации эквивалента нуклеотида 2,5 мкМ (низкая), 5 мкМ (средняя) и 10 мкМ (высокая).

[00017] На **фиг.2** представлен спектр масс, указывающий на интактную массу несвязанных Fab против TfR1, имеющих последовательности, представленные в таблице 2.

[00018] На **фиг.3** представлен спектр масс, указывающий на массы комплексов антитело против TfR1-линкер композиций, описанных в настоящем описании, после расщепления олигонуклеотида папаином. Антитело против TfR1 имеет последовательности, представленные в таблице 2.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00019] В соответствии с некоторыми аспектами настоящее изобретение относится к композициям, содержащим множество комплексов. В некоторых вариантах осуществления каждый комплекс композиций, описанных в настоящем описании, содержит антитело (например, против рецептора трансферрина 1 (TfR1)), ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой

цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи.

[00020] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00021] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих

остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00022] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам способствования экспрессии или активности белка дистрофина (например, укороченный белок дистрофина) и/или способам лечения мышечной дистрофии Дюшенна (DMD) у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей комплексы, описанные в настоящем описании.

[00023] В некоторых аспектах настоящее изобретение, кроме того, относится к способам определения диапазона соотношений лекарственного средства и антитела (DAR) в композиции или к способам анализа комплексов в композиции.

[00024] Следующие аспекты изобретения, включая описание определенных терминов, приводятся ниже.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[00025] Введение: как используют в рамках изобретения, термины "проведение введения" или "введение" означает предоставление комплекса индивидууму способом, который является физиологически и/или (например, и) фармакологически полезным (например, для лечения состояния у индивидуума).

[00026] Приблизительно: как используют в рамках изобретения, термин "приблизительно" или "примерно", применяемый к одной или нескольким представляющим интерес величинам, относится к величине, которая сходна с указанной эталонной величиной. В определенных вариантах осуществления термин "приблизительно" или "примерно" относится к диапазону величин, который попадает в пределы 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее в любом направлении (более или менее) от указанной эталонной величины, если нет иных указаний или если иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, где такое количество будет превышать 100% от возможной величины).

[00027] Антитело: как используют в рамках изобретения, термин "антитело" относится к полипептиду, который включает по меньшей мере один переменный домен иммуноглобулина или по меньшей мере одну антигенную детерминанту, например паратоп, которая специфически связывается с антигеном. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизованное антитело. Однако в некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент,

Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, F_v-фрагмент или scF_v-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой нанотело, происходящее из антитела животного семейства верблюдовых, или нанотело, происходящее из антитела акулы. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой диатело. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит каркасную область, имеющую последовательность зародышевого типа человека. В другом варианте осуществления антитело содержит константный домен тяжелой цепи, выбранный из группы, состоящей из константных доменов IgG, IgG1, IgG2, IgG2A, IgG2B, IgG2C, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgM и IgE. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой (H) цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как VH), и/или (например, и) переменную область легкой (L) цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как VL). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константный домен, например, Fc-область. Константный домен иммуноглобулина относится к константному домену тяжелой или легкой цепи. Аминокислотные последовательности константных доменов тяжелой цепи и легкой цепи IgG человека и их функциональные варианты известны. Что касается тяжелой цепи, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела, описанного в настоящем описании, может представлять собой тяжелую цепь альфа (α), дельта (Δ), эpsilon (ε), гамма (γ) или мю (μ). В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела, описанного в настоящем описании, может включать тяжелую цепь альфа (α), дельта (Δ), эpsilon (ε), гамма (γ) или мю (μ) человека. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в настоящем описании, содержит домен CH1, CH2 и/или (например, и) CH3 гамма 1 человека. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность домена VH содержит аминокислотную последовательность константной области тяжелой цепи гамма (γ) человека, такую как любая из известных в данной области. Неограничивающие примеры последовательностей константной области человека описаны в данной области, например, см. патент США № 5693780 и Kabat E A et al., (1991), выше. В некоторых вариантах осуществления VH-домен содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из константных областей переменного домена тяжелой цепи, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело является модифицированным, например, модифицированным посредством гликозилирования, фосфорилирования, сумоилирования и/или (например, и) метилирования. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гликозилированное антитело, которое конъюгировано с одной или несколькими молекулами сахара или углевода. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько молекул сахара или углевода конъюгированы с антителом посредством N-гликозилирования, O-гликозилирования, C-гликозилирования, глипации (присоединение GPI-якоря) и/или (например, и) фосфогликозилирования. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько молекул сахаров или углеводов представляют собой

моносахариды, дисахариды, олигосахариды или гликаны. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько молекул сахаров или углеводов представляют собой разветвленный олигосахарид или разветвленный гликан. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько молекул сахаров или углеводов включает элемент маннозы, элемент глюкозы, элемент N-ацетилглюкозамина, элемент N-ацетилгалактозамина, элемент галактозы, элемент фукозы или фосфолипидный элемент. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой конструкцию, которая содержит полипептид, содержащий один или несколько антигенсвязывающих фрагментов по изобретению, связанных с линкерным полипептидом или константным доменом иммуноглобулина. Линкерные полипептиды содержат два или более аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями, и они используются для соединения одной или нескольких антигенсвязывающих частей. Примеры линкерных полипептидов описаны (см. например, Holliger, P., et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) *Structure* 2:1121-1123). Кроме того, антитело может быть частью молекулы иммуноадгезии большего размера, образованной посредством ковалентной или нековалентной ассоциации антитела или части антитела с одним или несколькими другими белками или пептидами. Примеры таких молекул иммуноадгезии включают применение коровой области стрептавидина для получения тетрамерной молекулы scFv (Kipriyanov, S. M., et al. (1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101) и применение остатка цистеина, маркерного пептида и С-концевой полигистидиновой метки для получения двухвалентных и биотинилированных молекул scFv (Kipriyanov, S. M., et al. (1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058).

[00028] CDR: Как используют в рамках изобретения, термин "CDR" относится к определяющей комплементарность области в переменных последовательностях антител. Типичная молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), которые обычно вовлечены в связывание антигена. Области VH и VL могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, также известные как "определяющие комплементарность области" ("CDR"), между которыми находятся области, которые являются более консервативными, которые известны как "каркасные области" ("FR"). Каждая VH и VL, как правило, состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от N-конца к С-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Протяженность каркасной области и CDR может быть точно идентифицирована с использованием методологии, известной в данной области, например, посредством определения по Kabat, определения IMGT, определения по Chothia, определения AbM и/или (например, и) определения Contact, все из которых хорошо известны в данной области. См., например, Kabat, E.A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition*, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; IMGT®, The international ImMunoGeneTics information system® <http://www.imgt.org>, Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 27:209-212 (1999); Ruiz, M. et al., *Nucleic Acids Res.*, 28:219-221 (2000); Lefranc, M.-P., *Nucleic Acids Res.*, 29:207-209

(2001); Lefranc, M.-P., *Nucleic Acids Res.*, 31:307-310 (2003); Lefranc, M.-P. et al., *In Silico Biol.*, 5, 0006 (2004) [Epub], 5:45-60 (2005); Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 33:D593-597 (2005); Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 37:D1006-1012 (2009); Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 43:D413-422 (2015); Chothia et al., (1989) *Nature* 342:877; Chothia, C. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917, Al-lazikani et al (1997) *J. Molec. Biol.* 273:927-948; и Almagro, J. *Mol. Recognit.* 17:132-143 (2004). Также см. hgmp.mrc.ac.uk и bioinf.org.uk/abs. Как используют в рамках изобретения, CDR может относиться к CDR, определяемой любым способом, известным в данной области. Два антитела, имеющих одинаковые CDR, означают, что эти два антитела имеют одинаковую аминокислотную последовательность в этой CDR при определении одним и тем же способом, например, при определении способом IMGT.

[00029] В каждой из переменных областей тяжелой цепи и легкой цепи существует три CDR, которые обозначаются как CDR1, CDR2 и CDR3 для каждой из переменных областей. Термин "набор CDR", как используют в рамках изобретения, относится к группе из трех CDR, которая встречается в одной переменной области, способной связывать антиген. Точные границы этих CDR определяются по-разному в соответствии с разными системами. Система, описанная Kabat (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) и (1991)) не только обеспечивает недвусмысленную систему нумерации остатков, применимую к любой переменной области антитела, но также предоставляет точное определение границ остатков в трех CDR. Эти CDR могут упоминаться как CDR по Kabat. Подфрагменты CDR могут обозначаться как L1, L2 и L3 или H1, H2 и H3, где "L" и "H" обозначают области легкой цепи и тяжелой цепи, соответственно. Эти области могут упоминаться как CDR по Chothia, которые имеют границы, которые перекрываются с CDR по Kabat. Другие границы, определяющие CDR, перекрывающиеся с CDR по Kabat, описаны Padlan (FASEB J. 9:133-139 (1995)) и MacCallum (*J Mol Biol* 262(5):732-45 (1996)). Другие определения границ CDR могут не строго соответствовать одной из указанных выше систем, но, тем не менее, перекрываются с CDR по Kabat, хотя они могут быть укорочены или удлинены ввиду прогнозирования или экспериментальных данных, что конкретные остатки или группы остатков или даже целые CDR не оказывают значительного влияния на связывание антигена. В способах, описанных в настоящем описании, могут использоваться CDR, определенные в соответствии с любой из этих систем. Примеры систем определения CDR приведены в таблице 1.

Таблица 1. Определения CDR

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

CDR-L3	105-116/117	89-97	91-96
--------	-------------	-------	-------

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

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

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

[00030] Комплементарный: как используют в рамках изобретения, термин "комплементарный" относится к способности к точному образованию пар между двумя нуклеотидами или двумя наборами нуклеотидов. В частности, "комплементарный" представляет собой термин, который характеризует степень образования водородных связей, которые обеспечивают связывание между двумя нуклеотидами или двумя наборами нуклеотидов. Например, если основание в одном положении олигонуклеотида способно к образованию водородных связей с основанием в соответствующем положении нуклеиновой кислоты-мишени (например, мРНК), тогда основания считаются комплементарными друг другу в этом положении. Образование пар оснований может включать как каноническое образование пар по принципу Уотсона-Крика, так и образование пар оснований не по принципу Уотсона-Крика (например, образование неоднозначных пар или образование пар по Хугстену). Например, в некоторых вариантах осуществления для комплементарного образования пар оснований основания аденозинового типа (А) комплементарны основаниям тимидинового типа (Т) или основаниям урацилового типа (U), основания цитозинового типа (С) комплементарны основаниям гуанозинового типа (G), и универсальные основания, такие как 3-нитропиррол или 5-нитроиндол, могут гибридизоваться и считаться комплементарными любым из А, С, U или Т. Инозин (I) также считается в данной области универсальным основанием и считается комплементарным любому из А, С, U или Т.

[00031] Ковалентно связанный: как используют в рамках изобретения, термин "ковалентно связанный" относится к характеристике, состоящей в том, что две или более молекул связаны через по меньшей мере одну ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления две молекулы могут быть ковалентно связаны посредством одинарной связи, например, дисульфидной связи или дисульфидного мостика, которая служит в качестве линкера между молекулами. Однако в некоторых вариантах осуществления две или более молекул могут быть ковалентно связаны вместе через молекулу, которая служит в качестве линкера, который соединяет две или более молекул вместе через множество ковалентных связей. В некоторых вариантах осуществления линкер может представлять собой расщепляемый линкер. Однако в некоторых вариантах осуществления линкер может представлять собой нерасщепляемый линкер.

[00032] DMD: как используют в рамках изобретения, термин "DMD" относится к гену, который кодирует белок дистрофин, ключевой компонент дистрофин-гликопротеинового комплекса, который соединяет внутренний цитоскелет и внеклеточный матрикс в мышечных клетках, в частности, мышечных волокнах. Делеции, дубликации и

точковые мутации в DMD могут вызывать дистрофинопатии, такие как мышечная дистрофия Дюшенна, мышечная дистрофия Беккера или кардиомиопатия. Использование альтернативного промотора и альтернативный сплайсинг приводят к многочисленным разным вариантам транскриптов и изоформам белков для этого гена. В некоторых вариантах осуществления ген дистрофина может представлять собой ген человека (Gene ID: 1756), не являющегося человеком примата (например, Gene ID: 465559) или грызуна (например, Gene ID: 13405; Gene ID: 24907). Кроме того, охарактеризовано множество вариантов транскриптов человека (например, как аннотировано под номерами доступа GenBank RefSeq: NM_000109.3, NM_004006.2 (SEQ ID NO: 24), NM_004009.3, NM_004010.3 и NM_004011.3), которые кодируют разные изоформы белков.

[00033] Аллель DMD: как используют в рамках изобретения, термин "аллель DMD" относится к любой из альтернативных форм (например, форма дикого типа или мутантная форма) гена DMD. В некоторых вариантах осуществления аллель DMD может кодировать дистрофин, который сохраняет его нормальные и типичные функции. В некоторых вариантах осуществления аллель DMD может содержать одну или несколько мутаций, которые приводят к мышечной дистрофии. Распространенные мутации, которые приводят к мышечной дистрофии Дюшенна, вовлекают мутацию со сдвигом рамки считывания, делецию, замену и дубликацию одного или нескольких из 79 экзонов, присутствующих в аллеле дистрофина, например, экзоне 8, экзоне 23, экзоне 41, экзоне 44, экзоне 50, экзоне 51, экзоне 52, экзоне 53 или экзоне 55. Следующие примеры мутаций DMD описаны, например, в Flanigan KM, et al., *Mutational spectrum of DMD mutations in dystrophinopathy patients: application of modern diagnostic techniques to a large cohort*. Hum Mutat. 2009 Dec; 30 (12):1657-66, содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

[00034] Дистрофинопатия: как используют в рамках изобретения, термин "дистрофинопатия" относится к мышечному заболеванию, которое является результатом одного или нескольких мутантных аллелей DMD. Дистрофинопатии включают спектр состояний (в диапазоне от мягких до тяжелых), который включает мышечную дистрофию Дюшенна, мышечную дистрофию Беккера и DMD-ассоциированную дилатационную кардиомиопатию (DCM). В некоторых вариантах осуществления на одном конце спектра дистрофинопатия фенотипически ассоциируется с бессимптомным повышением сывороточной концентрации креатинфосфокиназы (СК) и/или (например, и) мышечными судорогами с миоглобинурией. В некоторых вариантах осуществления на другом конце спектра дистрофинопатия фенотипически ассоциируется с прогрессирующими мышечными заболеваниями, которые, как правило, классифицируют как мышечную дистрофию Дюшенна или Беккера, когда происходит первичное поражение скелетных мышц, и как DMD-ассоциированную дилатационную кардиомиопатию (DCM), когда происходит первичное поражение сердца. Симптомы мышечной дистрофии Дюшенна включают дистрофию или дегенерацию мышечной ткани, снижение мышечной функции, псевдогипертрофию языка и икроножных мышц, более высокий риск неврологических

аномалий и укороченную продолжительность жизни. Мышечная дистрофия Дюшенна ассоциирована с записью онлайн-каталога генетических маркеров у человека (OMIM) # 310200. Мышечная дистрофия Беккера ассоциирована с записью OMIM # 300376. Дилатационная кардиомиопатия ассоциирована с записью OMIM # 302045.

[00035] Энкхансер сплайсинга экзонов (ESE): как используют в рамках изобретения, термин "энхансер сплайсинга экзонов" или "ESE" относится к мотиву последовательности нуклеиновой кислоты в экзоне гена, пре-мРНК или мРНК, который направляет или усиливает сплайсинг пре-мРНК в мРНК, например, как описано в Blencowe et al., Trends Biochem Sci 25, 106-10. (2000), включенной в настоящее описание посредством ссылки. ESE являются элементами сплайсинга. ESE могут направлять или усиливать сплайсинг, например, для удаления одного или нескольких интронов и/или одного или нескольких экзонов из транскрипта гена. Мотивы ESE, как правило, имеют длину 6-8 оснований нуклеиновых кислот. SR-белки (например, белки, кодируемые геном SRSF1, SRSF2, SRSF3, SRSF4, SRSF5, SRSF6, SRSF7, SRSF8, SRSF9, SRSF10, SRSF11, SRSF12, TRA2A или TRA2B) связываются с ESE через их область мотива распознавания РНК для облегчения сплайсинга. Мотивы ESE могут быть идентифицированы рядом способов, включая способы, описанные в Cartegni et al., Nucleic Acids Research, 2003, Vol. 31, No. 13, 3568-3571, включенную в настоящее описание посредством ссылки.

[00036] Каркасная область: как используют в рамках изобретения, термин "каркасная область" или "каркасная последовательность" относится к оставшимся последовательностям вариабельной области после вычитания CDR. Поскольку точное определение последовательностей CDR может быть осуществлено с использованием разных систем, каркасную последовательность, соответственно, интерпретируют по-разному. Шесть CDR (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи и CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи) также делят каркасные области легкой цепи и тяжелой цепи на четыре подобласти (FR1, FR2, FR3 и FR4) на каждой цепи, где CDR1 находится между FR1 и FR2, CDR2 находится между FR2 и FR3, и CDR3 находится между FR3 и FR4. Без указания конкретных подобластей как FR1, FR2, FR3 или FR4, каркасная область, как обозначается другими авторами, обозначает объединенные FR в вариабельной области одной из встречающихся в природе цепей иммуноглобулина. Как используют в рамках изобретения, (одна) FR обозначает одну из четырех подобластей и (несколько) FR обозначают две или более подобластей, составляющих каркасную область. Акцепторные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи человека известны в данной области. В одном варианте осуществления в антителах, описанных в настоящем описании, могут использоваться акцепторные последовательности, известные в данной области.

[00037] Антитело человека: термин "антитело человека", как используют в рамках изобретения, включает антитела, имеющие вариабельные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулинов зародышевого типа человека. Антитела человека по изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевого типа человека

(например, мутации, внесенные путем случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR, и, в частности, в CDR3. Однако термин "антитело человека", как используют в рамках изобретения, не подразумевает включение антител, в которых последовательности CDR, происходящие из последовательности зародышевого типа другого вида млекопитающих, трансплантированы в каркасные последовательности человека.

[00038] Гуманизованное антитело: термин "гуманизованное антитело" относится к антителам, которые содержат последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей из не являющегося человеком вида (например, мышь), но в которых по меньшей мере часть последовательности VH и/или (например, и) VL изменена так, чтобы она была более "подобной человеческой", т.е. более сходной с переменными последовательностями зародышевого типа человека. Одним типом гуманизованного антитела является антитело с трансплантированной CDR, в котором последовательности CDR человека внесены в не являющиеся человеческими последовательности VH и VL для замены соответствующих не являющихся человеческими последовательностей CDR. В одном варианте осуществления предусматриваются гуманизованные антитела против рецептора трансферрина и антигенсвязывающие части. Такие антитела могут быть получены путем получения моноклональных антител мыши против рецептора трансферрина с использованием традиционной технологии гибридом с последующей гуманизацией с использованием способов генной инженерии *in vitro*, таких как способы, описанные в публикации РСТ № WO 2005/123126 A2, Kasaian et al.

[00039] Нумерация по Kabat: термины "нумерация по Kabat", "определение по Kabat" и "обозначение по Kabat" используют в настоящем описании взаимозаменяемо. Эти термины, которые являются общепризнанными в данной области, относятся к системе нумерации аминокислотных остатков, которые являются более переменными (т.е. гиперпеременными), чем другие аминокислотные остатки в переменных областях тяжелой и легкой цепей антитела или их антигенсвязывающих частях (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 и Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, публикация NIH № 91-3242). Для переменной области тяжелой цепи гиперпеременная область находится в диапазоне аминокислотных положений от 31 до 35 для CDR1, в диапазоне аминокислотных положений от 50 до 65 для CDR2 и в диапазоне аминокислотных положений от 95 до 102 для CDR3. Для переменной области легкой цепи гиперпеременная область находится в диапазоне аминокислотных положений от 24 до 34 для CDR1, в диапазоне аминокислотных положений от 50 до 56 для CDR2 и в диапазоне аминокислотных положений от 89 до 97 для CDR3.

[00040] Морфолино: как используют в рамках изобретения, термин "морфолино", также упоминаемый как "фосфородиамидат морфолино олигомер", относится к молекулярной структуре, которая содержит основания нуклеиновых кислот, присоединенные к основной цепи колец метилморфолина, соединенных через

фосфородиамидатную группу. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может представлять собой соединение на основе морфолино. Олигомерные соединения на основе морфолино описаны в Dwaine A. Braasch and David R. Corey, *Biochemistry*, 2002, 41(14), 4503-4510); Genesis, volume 30, issue 3, 2001; Heasman, J., *Dev. Biol.*, 2002, 243, 209-214; Nasevicius et al., *Nat. Genet.*, 2000, 26, 216-220; Lacerra et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000, 97, 9591-9596; и патенте США № 5034506, выданном 23 июля 1991 года. В некоторых вариантах осуществления олигомерное соединение на основе морфолино представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO) (например, как описано в Iverson, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 3:235-238, 2001; и Wang et al., *J. Gene Med.*, 12:354-364, 2010; содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылок в полном объеме).

[00041] Олигонуклеотид: как используют в рамках изобретения, термин "олигонуклеотид" относится к олигомерному соединению нуклеиновой кислоты длиной вплоть до 200 нуклеотидов. Примеры олигонуклеотидов включают, но не ограничиваются ими, олигонуклеотиды РНК-*i* (например, миРНК, кшРНК), микроРНК, гэдмеры, миксмеры, фосфородиамидатные морфолино, пептидно-нуклеиновые кислоты, аптамеры, гидовые нуклеиновые кислоты (например, гидовые РНК Cas9) и т.д. Олигонуклеотиды могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать один или несколько модифицированных нуклеозидов (например, 2'-О-метил-модификации сахара, модификации пуринов или пиримидинов). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать одну или несколько модифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать одну или несколько фосфоротиоатных связей, которые могут быть в стереохимической конформации Rp или Sp.

[00042] Область комплементарности: как используют в рамках изобретения, термин "область комплементарности" относится к нуклеотидной последовательности, например, олигонуклеотида, которая достаточно комплементарна когнатной нуклеотидной последовательности, например, нуклеиновой кислоты-мишени, так что две нуклеотидных последовательности способны к отжигу друг с другом в физиологических условиях (например, в клетке). В некоторых вариантах осуществления область комплементарности является полностью комплементарной когнатной нуклеотидной последовательности нуклеиновой кислоты-мишени. Однако в некоторых вариантах осуществления область комплементарности частично комплементарна когнатной нуклеотидной последовательности нуклеиновой кислоты-мишени (например, комплементарность по меньшей мере 80%, 90%, 95% или 99%). В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит 1, 2, 3 или 4 несоответствия по сравнению с когнатной нуклеотидной последовательностью нуклеиновой кислоты-мишени.

[00043] Специфически связывается: как используют в рамках изобретения, термин "специфически связывается" относится к способности молекулы связываться с партнером по связыванию со степенью аффинности или авидности, которая позволяет

использовать молекулу, чтобы отличить партнера по связыванию от соответствующего контроля в анализе связывания или другом контексте связывания. Что касается антитела, термин "специфически связывается" относится к способности антитела связываться со специфическим антигеном с некоторой степенью аффинности или авидности по сравнению с соответствующим эталонным антигеном или антигенами, которая позволяет использовать антитело, чтобы отличить специфический антиген от других, например, со степенью, которая позволяет предпочтительное нацеливание на определенные клетки, например, мышечные клетки, через связывание с антигеном, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с мишенью, если антитело имеет K_D для связывания мишени по меньшей мере приблизительно 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, 10^{-12} М, 10^{-13} М или менее. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с рецептором трансферрина, например, эпитопом апикального домена рецептора трансферрина.

[00044] Индивидуум: как используют в рамках изобретения, термин "индивидуум" относится к млекопитающему. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является не являющийся человеком примат или грызун. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является пациент, например, пациент-человек, который имеет или предположительно имеет заболевание. В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой пациента-человека, который имеет или предположительно имеет заболевание в результате мутантной последовательности гена DMD, например, мутацию в экзоне последовательности гена DMD. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет, например, дистрофинопатию, например, мышечную дистрофию Дюшенна.

[00045] Рецептор трансферрина: как используют в рамках изобретения, термин "рецептор трансферрина" (также известный как TFR, CD71, p90, TFR или TFR1) относится к интернализирующемуся рецептору на клеточной поверхности, который связывает трансферрин, облегчая поглощение железа посредством эндоцитоза. В некоторых вариантах осуществления рецептор трансферрина может происходить из человека (NCBI Gene ID 7037), не являющегося человеком примата (например, NCBI Gene ID 711568 или NCBI Gene ID 102136007) или грызуна (например, NCBI Gene ID 22042). Кроме того, было characterized множество вариантов транскриптов человека, которые кодировали разные изоформы рецептора (например, аннотированные под номерами доступа GenBank RefSeq: NP_001121620.1, NP_003225.2, NP_001300894.1 и NP_001300895.1).

[00046] Диапазоны: все диапазоны, приведенные в настоящем описании, включают конечные точки.

Комплексы

[00047] Предусматриваются композиции, содержащие множество комплексов. В некоторых вариантах осуществления каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K)

антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30%, или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00048] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 4 в мотиве с последовательностью DYKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 6 в мотиве с последовательностью DYKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с

олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К в положении 4, и в участке присоединения, соответствующем К в положении 6 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) в мотиве VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00049] Комплексы композиций, описанных в настоящем описании, как правило, содержат линкер, который ковалентно связывает антитело (например, антитело против TfR1), описанное в настоящем описании, с олигонуклеотидом (например, РМО) в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) антитела. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участке присоединения, соответствующем отличающемуся остатку лизина (К) антитела. Линкер содержит по меньшей мере одну ковалентную связь.

[00050] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, в которой каждый R^1 независимо содержит соединение, содержащее олигонуклеотид (например, РМО), и R^2 содержит антитело (например, антитело против TfR1), и где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 независимо содержит группу, содержащую олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 независимо содержит группу, которая содержит дополнительные элементы, в дополнение к олигонуклеотиду. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело (например, антитело против TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 ковалентно связан с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (К) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует К188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого

антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 ковалентно связан с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой Fab против TfR1.

[00051] В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, составляющее один или более. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит определяющую

комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9, или 14; и/или содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержит переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или an Fv. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент.

[00052] В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, составляющее один или более. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность, как указано в таблице 3. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 37, 43 или 48, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 38, 44 или 49, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 39, 45 или 50; и/или содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 40, 46 или 51, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую

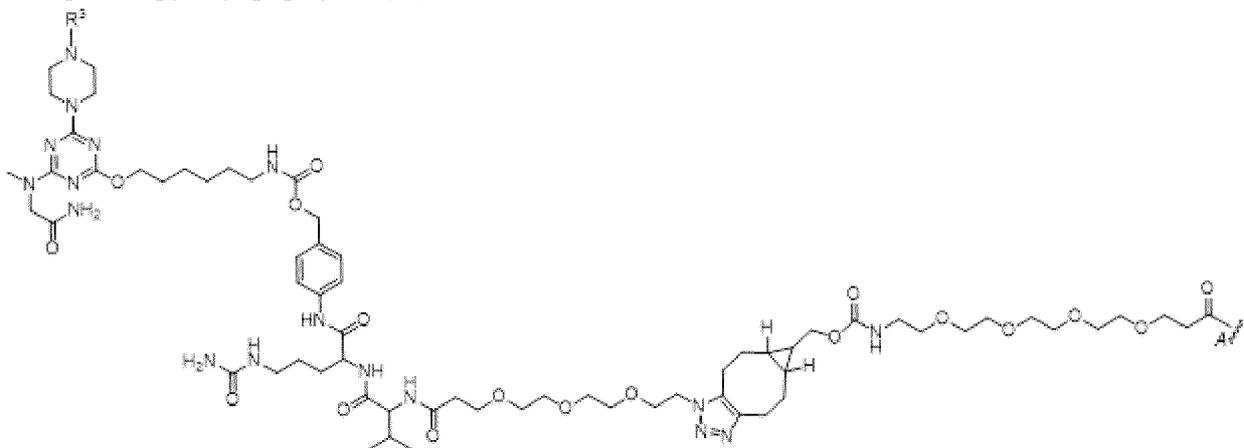
последовательность, как указано под SEQ ID NO: 41 или 47, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 42 или 52. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 54, и/или содержит вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и/или содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 56, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент.

[00053] В некоторых вариантах осуществления множество различных комплексов включают общий нацеливающий агент (например, антитело) и общий олигонуклеотид (например, РМО). В таких вариантах осуществления разные типы комплексов характеризуются наличием разных количеств олигонуклеотидов, ковалентно связанных с антителом. Например, в некоторых вариантах осуществления композиция содержит множество типов комплексов, в котором каждый тип комплекса содержит структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 независимо содержит соединение, содержащее олигонуклеотид (например, РМО) и R^2 содержит антитело (например, антитело против TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления величина $n1$ каждого или любого комплекса (например, любого комплекса в любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании) представляет собой целое число от одного вплоть до количества аминокислотных остатков, с которым конъюгация является желательной или запланирована (например, количество остатков лизина). В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе величина $n1$ независимо выбрана из 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 и 27. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе величина $n1$ независимо выбрана из 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 и 26. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе величина $n1$

независимо находится в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3. В некоторых вариантах осуществления средняя величина $n1$ комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления в каждом типе комплекса $n1$ независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе типа комплекса, и где разные типы комплексов в композиции характеризуются наличием разных величин $n1$ (например, величины $n1$ в диапазоне 1-27, 1-26, 1-25, 1-20, 1-15, 1-10, 1-5 или 1-3).

[00054] В некоторых вариантах осуществления композиция, описанная в настоящем описании, содержит неконъюгированное антитело (например, в следовых количествах) и антитело, конъюгированное с одним или несколькими олигонуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления неконъюгированное антитело может упоминаться как соединение структуры формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, для которого $n1$ равен нулю. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления композиция для введения индивидууму в способах, описанных в настоящем описании, содержит соединения (например, комплексы) структуры формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, для которых каждый R^1 независимо содержит группу, содержащую олигонуклеотид, R^2 содержит антитело и $n1$ независимо представляет собой целое число, составляющее ноль или более, которое отражает количество случаев R^1 в каждом соединении (например, комплексе). В некоторых вариантах осуществления доля соединений структуры формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$ в композиции, для которых $n1$ равен нулю, по сравнению со всеми соединениями этой структуры в композициях, для которых $n1$ равен одному или более, составляет менее 10%, менее 5%, менее 1% менее 0,5%, менее 0,1%, менее 0,05% или менее 0,01%.

[00055] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, в которой каждый R^1 независимо содержит группу формулы (Ia):



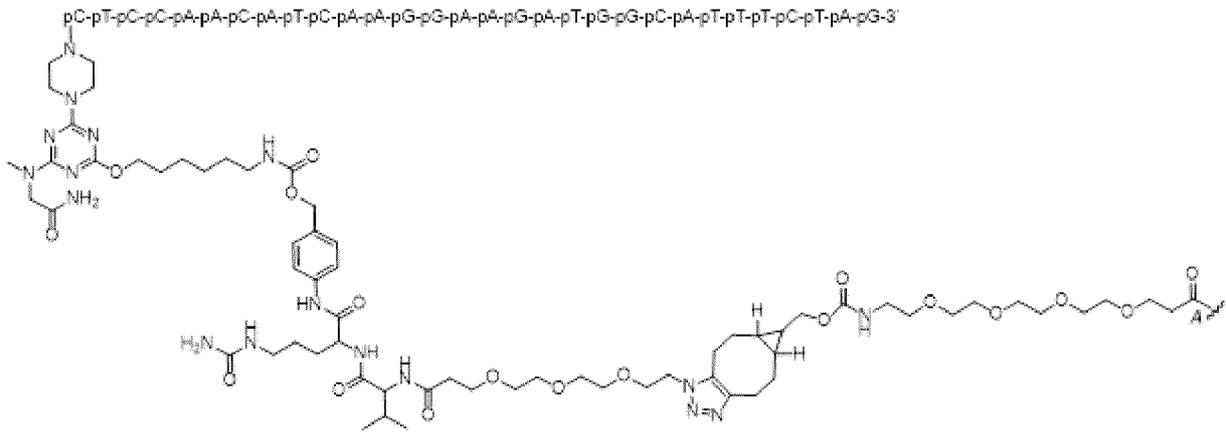
(Ia),

в которой R^3 представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO); R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой

цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, и каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участку присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащую определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащую переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит

антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R³ представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления R² содержит Fab и каждый R¹ ковалентно связан в точке присоединения A с R² через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) Fab, и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи Fab комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина n1 для комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00056] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, в который каждый R¹ содержит группу формулы (Ib):



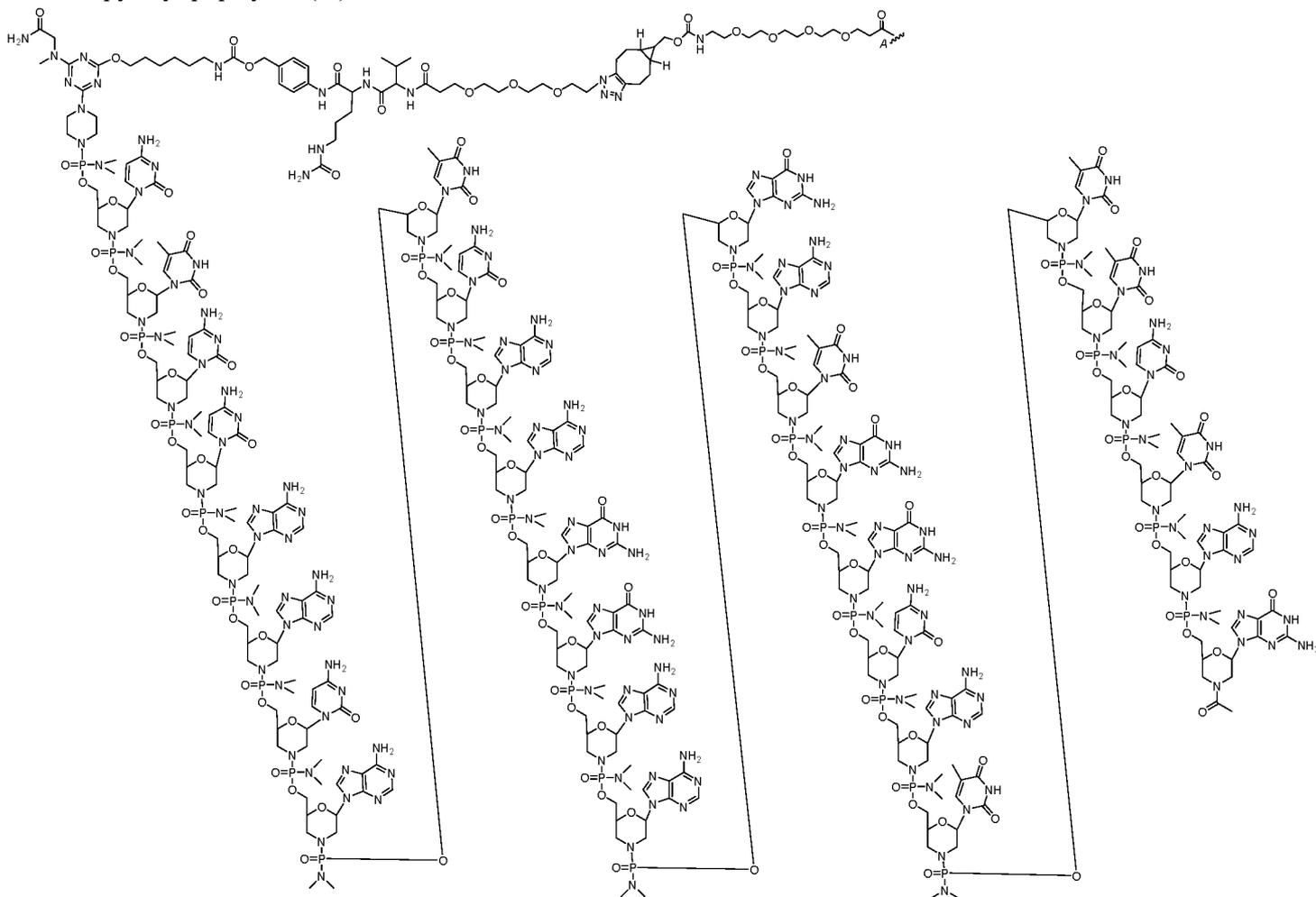
(Ib),

где -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТGGCАТТТСТАG (SEQ ID NO: 21), R² содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R¹ в каждом комплексе, и каждый R¹ ковалентно связан с R² в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность,

как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащую определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащую переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления R² содержит Fab и каждый R¹ ковалентно связан в точке присоединения A с R² через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) Fab, и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи Fab комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции

независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина n_1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00057] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$, в который каждый R^1 содержит группу формулы (Ic):



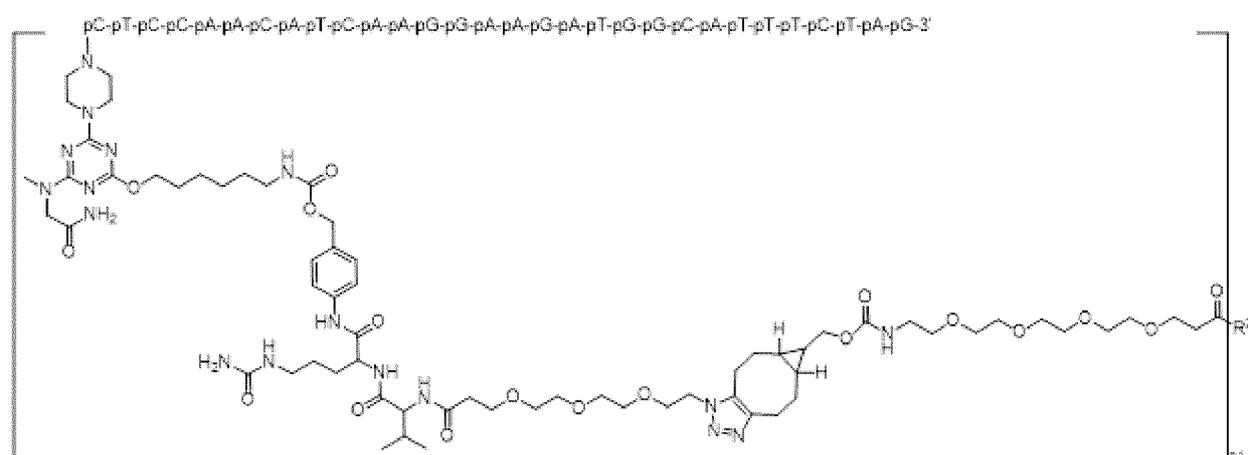
(Ic),

R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, где каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления

участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащую переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или

содержащую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит Fab и каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) Fab, и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи Fab комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30%, или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, среднее число n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00058] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (Id):



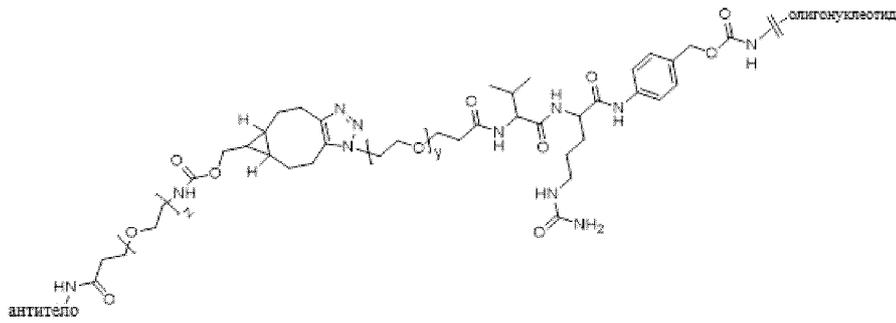
(Id),

где -p представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTCTAG (SEQ ID NO: 21); где R^2 содержит антитело

против TfR1 (например, Fab), содержащее CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из таблицы 2, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, кроме того, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев группы, заключенной в квадратные скобки, где в каждом случае группа, заключенная в квадратные скобки, ковалентно связана с участком присоединения, соответствующим остатку лизина (K) антитела (например, Fab). В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител (например, Fabs) комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащую вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную

последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), которое ковалентно связано через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела (например, Fab), и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител (например, Fab) комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

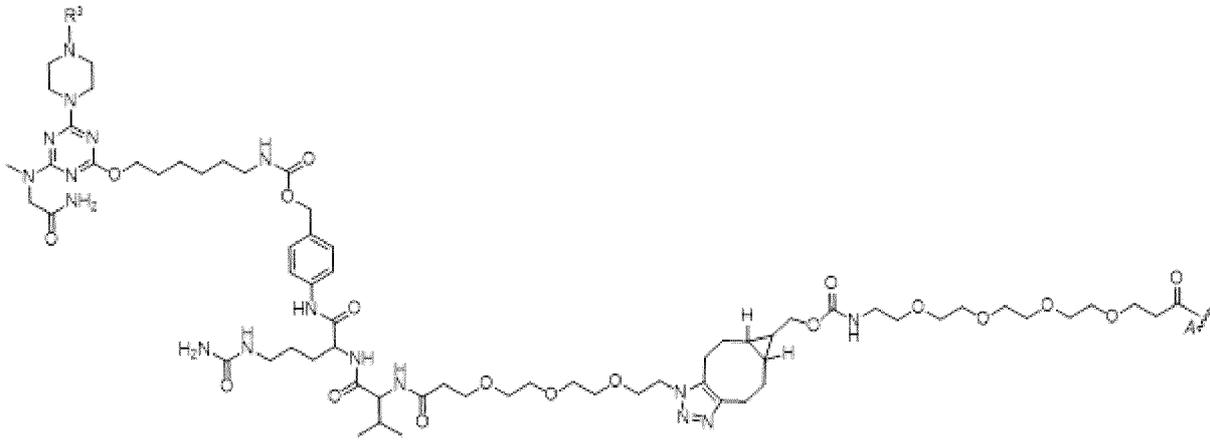
[00059] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру:



где y равен 0-15 (например, 3) и z равен 0-15 (например, 4). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против TfR1 (например, антитело против TfR1, приведенное в таблице 2), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой РМО и содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления амид, представленный рядом с антителом против TfR1 в структуре, является результатом реакции с амином антитела против TfR1, таким как эpsilon-амин лизина. В некоторых вариантах осуществления комплекс, описанный в настоящем описании, содержит Fab против TfR1, ковалентно связанный с 5'-концом РМО через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке

присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержит переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv.

[00060] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, в которой каждый R^1 независимо содержит группу формулы (Ia):



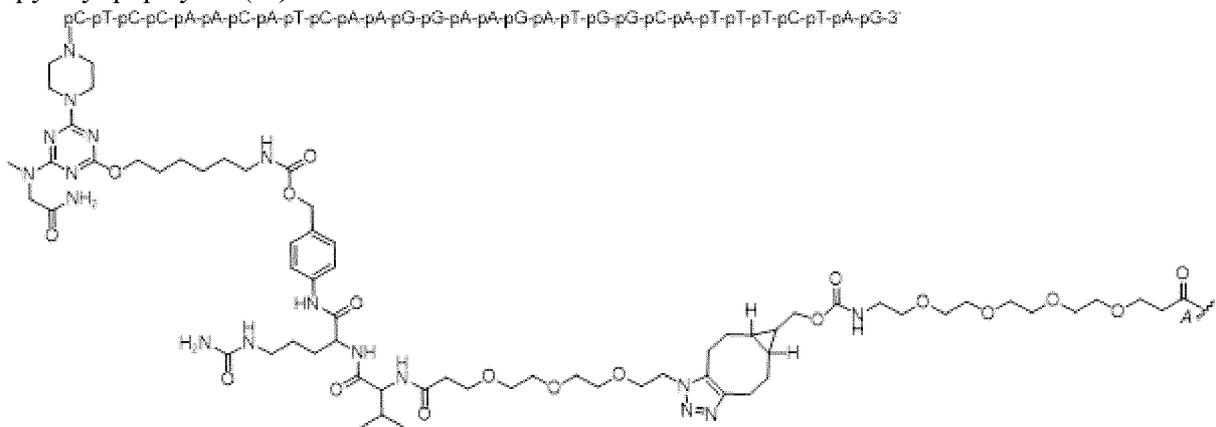
(Ia),

в которой R^3 представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO); R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, и каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1, содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3

тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9, или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R³ представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления R² содержит Fab и каждый R¹ ковалентно связан в точке присоединения A с R² через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) Fab, и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕКHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%,

15%-20%, 20%-40%, 20%-30%, или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина n_1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00061] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$, в которой каждый R^1 содержит группу формулы (Ib):



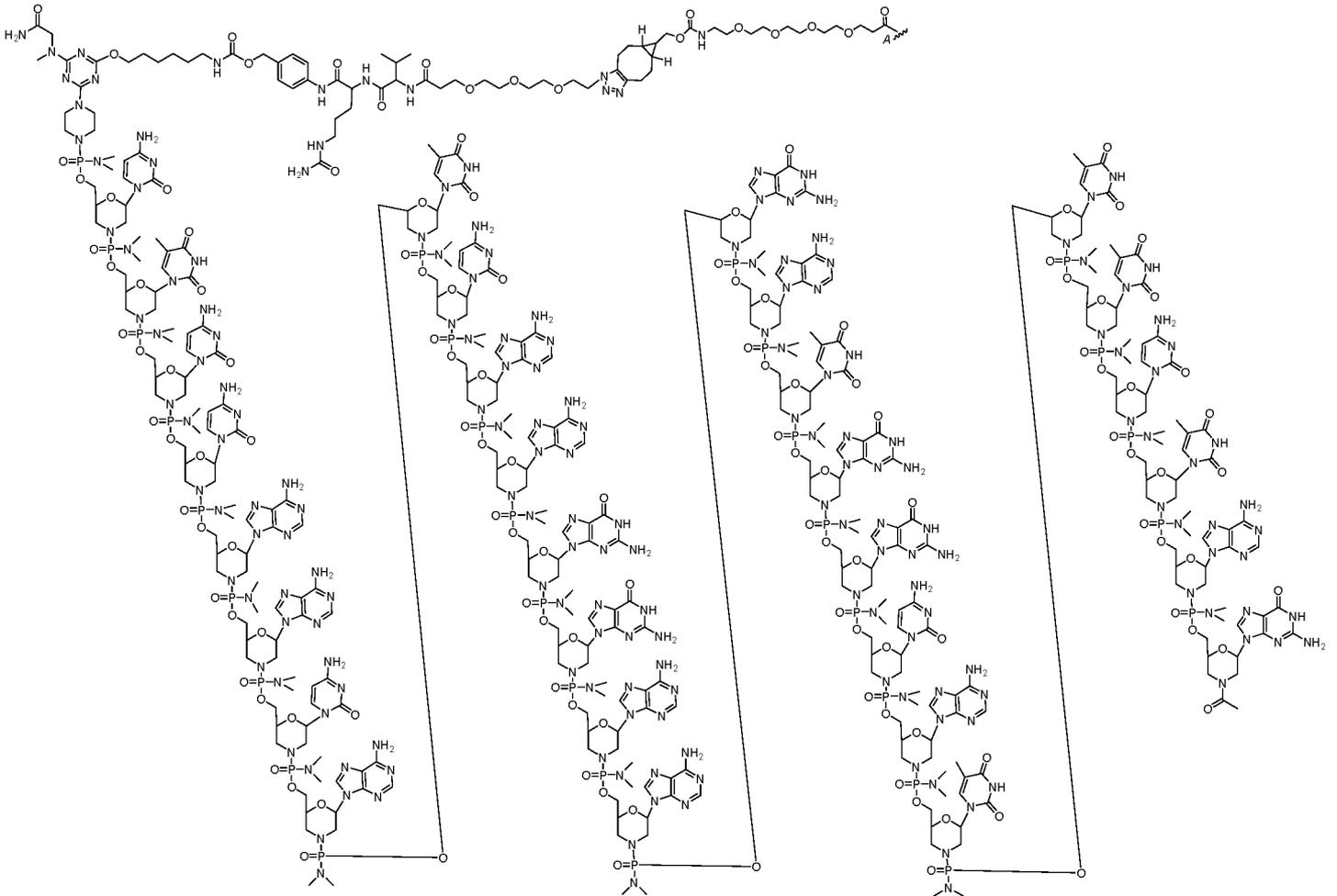
(Ib),

где -p представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO) и где PMO содержит последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21), R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, и каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (К) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует К в положении 4 мотива с последовательностью DYЕКHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует К в положении 6 мотива с последовательностью DYЕКHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют К в положении 4 и К в положении 6 мотива с последовательностью DYЕКHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по

меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет

собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит Fab и каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) Fab, и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕКHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина $n1$ комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00062] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, в которой каждый R^1 содержит группу формулы (Ic):



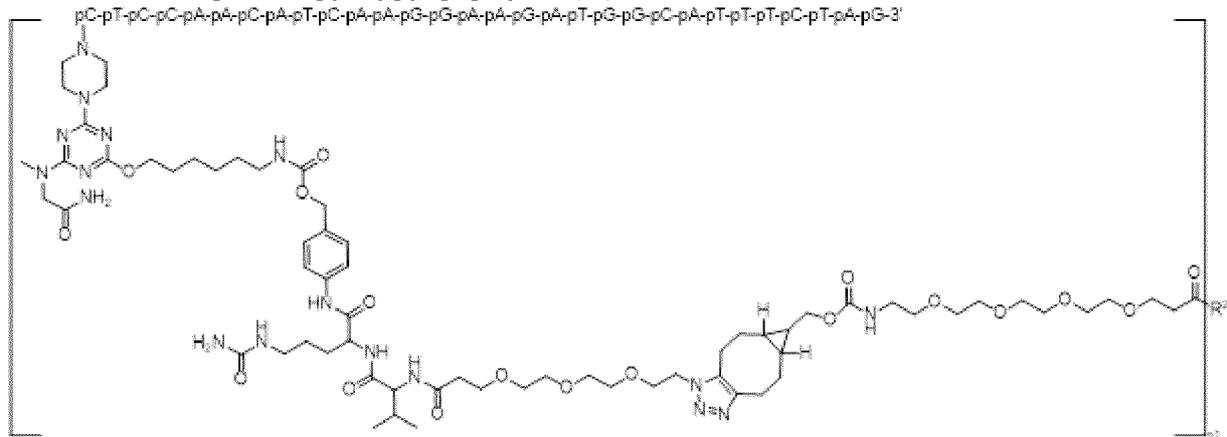
(Ic),

R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, где каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции

независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано в SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащую переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1, содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления R² содержит Fab и каждый R¹ ковалентно

связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) Fab, и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина $n1$ комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00063] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру формулы (Id):



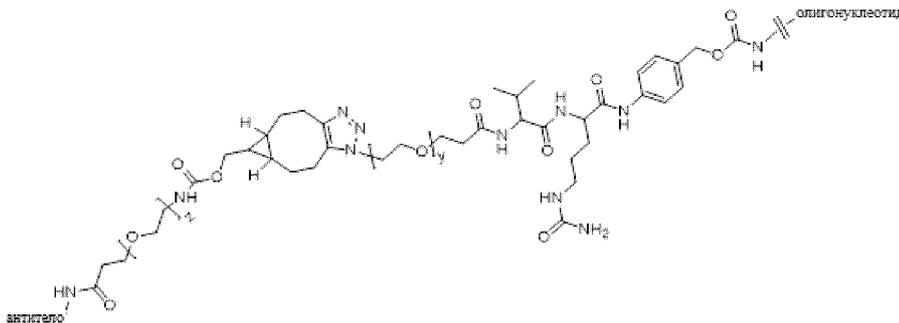
(Id),

где -p представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21); где R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из таблицы 2, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, кроме того, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и где в каждом

комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев группы, заключенной в квадратные скобки, где в каждом случае группа, заключенная в квадратные скобки, ковалентно связана с участком присоединения, соответствующим остатку лизина (K) антитела (например, Fab). В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по

меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащее аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), которое ковалентно связано через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела (например, Fab), и где в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[00064] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат структуру:

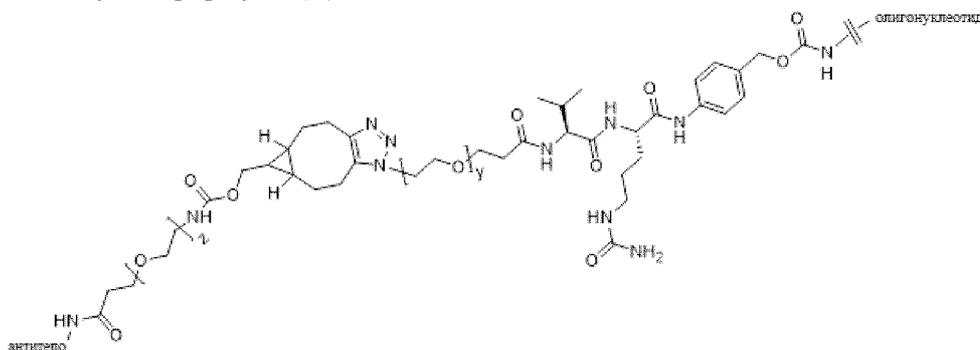


(A), где y равен 0-15 (например, 3) и z равен 0-15 (например, 4). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против TfR1 (например, антитело против TfR1, приведенное в таблице 2), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой РМО и

содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления амид, представленный рядом с антителом против TfR1 в структуре, является результатом реакции с амином антитела против TfR1, таким как эpsilon-амин лизина. В некоторых вариантах осуществления комплекс, описанный в настоящем описании, содержит Fab против TfR1, ковалентно связанный с 5'-концом РМО через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в композиции, содержащей множество комплексов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную

последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержит переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv.

[00065] Каждый описанный комплекс (например, содержащий структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, как например, комплекс, в котором каждый R^1 содержит группу формулы (Ia), (Ib) или (Ic); комплекс, содержащий структуру формулы (Id); или комплекс, содержащий структуру формулы (A)) может содержать структуру, имеющую стереохимию, представленную в формуле (B):



(B), где y равен 0-15 (например, 3) и z равен 0-15 (например, 4). Следует понимать, что стереохимия, представленная в формуле (B), может быть применена к соответствующей части любой формулы или структуры, приведенной в настоящем описании (например, формула (Ia), (Ib), (Ic), (Id) или (A)).

Участки присоединения

[00066] В настоящем описании описаны композиции, содержащие множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах

осуществления каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) антитела. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе композиции каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участке присоединения, соответствующем отличающемуся остатку лизина (К) антитела.

[00067] В некоторых вариантах осуществления участок присоединения находится в легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения находится в константной области легкой цепи антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K126, K145, K149, K188, K190 или K207 константной области легкой цепи в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения находится в переменной области легкой цепи антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K39 или K107 переменной области легкой цепи в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения находится в константной области тяжелой цепи антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K117, K213, K218, K221, K222 или K228 константной области тяжелой цепи в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения находится в тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения находится в переменной области тяжелой цепи антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K13, K43, K64 или K81 переменной области тяжелой цепи в соответствии с нумерацией Kabat.

[00068] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188

(в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 80%-85%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98%, 90%-95% или 95%-98% константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 85%-95% (например, 85%-95%, 85%-90% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 90%-95% (например, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94% или приблизительно 95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Следует понимать, что, комплексы, содержащие константные области легкой цепи антител, ковалентно связанных с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи включают: комплексы, которые ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи; комплексы, которые ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи; и/или комплексы, которые ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и в участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи.

[00069] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например по меньшей мере 15%, по меньшей мере 16%, по меньшей мере 17%, по меньшей мере 18%, по меньшей мере 19%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 21%, по меньшей мере 22%, по меньшей мере 23%, по меньшей мере 24%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 26%, по меньшей мере 27%, по меньшей мере

28%, по меньшей мере 29%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, или по меньшей мере 45%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 15%-45% (например, 15%-45%, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-45%, 20%-40%, 20%-30%, 30%-45%, 30%-40% или 40%-45%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления приблизительно 15%-45%, 15%-40%, 15%-35%, 15%-30%, 15%-25%, 15%-20%, 20%-45%, 20%-40%, 20%-35%, 20%-30%, 20%-25%, 25%-45%, 25%-40%, 25%-35%, 25%-30%, 30%-45%, 30%-40%, 30%-35%, 35%-45%, 35%-40% или 40%-45% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 15%-30% (например, приблизительно 15%, приблизительно 16%, приблизительно 17%, приблизительно 18%, приблизительно 19%, приблизительно 20%, приблизительно 21%, приблизительно 22%, приблизительно 23%, приблизительно 24%, приблизительно 25%, приблизительно 26%, приблизительно 27%, приблизительно 28%, приблизительно 29% или приблизительно 30%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00070] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K221 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или в участке присоединения, соответствующем K222 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K221 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K222 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K221 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K222 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% (например

по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 11%, по меньшей мере 12%, по меньшей мере 13%, по меньшей мере 14%, по меньшей мере 15%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K221 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K222 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 5%-15% (приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9%, приблизительно 10%, приблизительно 11%, приблизительно 12%, приблизительно 13%, приблизительно 14% или приблизительно 15%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K221 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K222 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00071] В некоторых вариантах осуществления переменные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K13 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) переменных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K13 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) переменных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K13 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00072] В некоторых вариантах осуществления переменные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K43 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) переменных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K43 (в соответствии с

нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K207 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

[00078] В некоторых вариантах осуществления переменные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K39 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) переменных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K39 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) переменных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K39 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области легкой цепи каждого антитела.

[00079] В некоторых вариантах осуществления переменные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K107 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) переменных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K107 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) переменных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K107 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области легкой цепи каждого антитела.

[00080] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи

антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K117 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00081] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K218 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00082] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K228 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00083] В некоторых вариантах осуществления переменные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K64 (в соответствии с нумерацией Kabat) переменной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00084] В некоторых вариантах осуществления номера остатков лизина (K), упоминаемые в настоящем описании, основаны на нумерации Kabat (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 и Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) и (1991)). Переменные области и константные области тяжелой и легкой цепей антител, описанных в настоящем описании, нумеруются по отдельности. Нумерация Kabat переменных областей легкой цепи и переменных областей тяжелой цепи антител описана в данной области, например, в Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 и Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) и (1991). Нумерация Kabat константных областей легкой цепи и константных областей тяжелой цепи антител, описанных в настоящем описании, может быть найдена на imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html и imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGKCbber.html (также см. Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969). PMID: 5257969; Hieter, P.A. et al., Cell, 22, 197-207 (1980). PMID: 6775818; Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. 647, 662, 680, 689 (1991)).

[00085] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области

легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют К в положении 4 и К в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85% по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 80%-85%, 85%-98%, 85%-95, 85%-90%, 90%-98%, 90%-95% или 95%-98% константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 85%-95% (например, 85%-95%, 85%-90%, или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 90%-95% (например, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94% или приблизительно 95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Следует понимать, что комплексы, содержащие константные области легкой цепи антител, ковалентно связанных с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи, включают: комплексы, которые ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К в положении 4 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи; комплексы, которые ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К в положении 6 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи; и/или комплексы, которые ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К в положении 4, и в участке присоединения, соответствующем К в положении 6 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ

ID NO: 53) константной области легкой цепи.

[00086] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в последовательности мотива VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например по меньшей мере 15%, по меньшей мере 16%, по меньшей мере 17%, по меньшей мере 18%, по меньшей мере 19%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 21%, по меньшей мере 22%, по меньшей мере 23%, по меньшей мере 24%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 26%, по меньшей мере 27%, по меньшей мере 28%, по меньшей мере 29%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, или по меньшей мере 45%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 15%-45% (например, 15%-45%, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-45%, 20%-40%, 20%-30%, 30%-45%, 30%-40% или 40%-45%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления 15%-45%, 15%-40%, 15%-35%, 15%-30%, 15%-25%, 15%-20%, 20%-45%, 20%-40%, 20%-35%, 20%-30%, 20%-25%, 25%-45%, 25%-40%, 25%-35%, 25%-30%, 30%-45%, 30%-40%, 30%-35%, 35%-45%, 35%-40% или 40%-45% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 15%-30% (например приблизительно 15%, приблизительно 16%, приблизительно 17%, приблизительно 18%, приблизительно 19%, приблизительно 20%, приблизительно 21%, приблизительно 22%, приблизительно 23%, приблизительно 24%, приблизительно 25%, приблизительно 26%, приблизительно 27%, приблизительно 28%, приблизительно 29% или приблизительно 30%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00087] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в

участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью VDKKVER (SEQ ID NO: 61) константной области тяжелой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 3 мотива с последовательностью VDKKVER (SEQ ID NO: 61) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью VDKKVER (SEQ ID NO: 61) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 3 и K в положении 4 мотива с последовательностью VDKKVER (SEQ ID NO: 61) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% (например, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 11%, по меньшей мере 12%, по меньшей мере 13%, по меньшей мере 14%, по меньшей мере 15%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью VDKKVER (SEQ ID NO: 61) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 5%-15% (приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9%, приблизительно 10%, приблизительно 11%, приблизительно 12%, приблизительно 13%, приблизительно 14%, или приблизительно 15%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью VDKKVER (SEQ ID NO: 61) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00088] В некоторых вариантах осуществления переменные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью GLVKPSQ (SEQ ID NO: 63) переменной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) переменных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью GLVKPSQ (SEQ ID NO: 63) переменной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) переменных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с

последовательностью GLVKPSQ (SEQ ID NO: 63) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00089] В некоторых вариантах осуществления вариательные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PPGKGLE (SEQ ID NO: 64) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) вариательных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PPGKGLE (SEQ ID NO: 64) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) вариательных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PPGKGLE (SEQ ID NO: 64) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00090] В некоторых вариантах осуществления вариательные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью FSLKLSS (SEQ ID NO: 66) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) вариательных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью FSLKLSS (SEQ ID NO: 66) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) вариательных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью FSLKLSS (SEQ ID NO: 66) вариательной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00091] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в

независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VQWKVDN (SEQ ID NO: 69) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VQWKVDN (SEQ ID NO: 69) константной области легкой цепи каждого антитела.

[00094] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PVTKSFN (SEQ ID NO: 70) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PVTKSFN (SEQ ID NO: 70) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PVTKSFN (SEQ ID NO: 70) константной области легкой цепи каждого антитела.

[00095] В некоторых вариантах осуществления переменные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью YQQKPGQ (SEQ ID NO: 71) переменной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) переменных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью YQQKPGQ (SEQ ID NO: 71) переменной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) переменных областей легкой цепи антител

комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью YQQKPGQ (SEQ ID NO: 71) вариабельной области легкой цепи каждого антитела.

[00096] В некоторых вариантах осуществления вариабельные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью LEIKRTV (SEQ ID NO: 72) вариабельной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 7%, по меньшей мере 8%, по меньшей мере 9% или по меньшей мере 10%) вариабельных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью LEIKRTV (SEQ ID NO: 72) вариабельной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления 2%-10% (приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9% или приблизительно 10%) вариабельных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью LEIKRTV (SEQ ID NO: 72) вариабельной области легкой цепи каждого антитела.

[00097] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью ASTKGPS (SEQ ID NO: 59) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00098] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью SNTKVD (SEQ ID NO: 60) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[00099] В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VEPKSCD (SEQ ID NO: 62) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[000100] В некоторых вариантах осуществления вариабельные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью PSLKNRV (SEQ ID NO: 65) вариабельной области тяжелой цепи каждого антитела.

[000101] Термин "приблизительно", как используют в рамках изобретения, относится к варьированию $\pm 5\%$ - 10% на основе % величины, для модификации которой используется данный термин.

Антитела

[000102] В некоторых вариантах осуществления комплексы, описанные в настоящем описании, содержат антитело, которое связывает рецептор трансферрина 1 (TfR1) человека. Иллюстративная аминокислотная последовательность рецептора трансферрина 1 человека, соответствующая последовательности NCBI NP_003225/2 (изоформа 1 белка рецептора трансферрина 1, *homo sapiens*) является следующей:

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLA VDEEENADNNTK
 ANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGE
 DFPAARRLYWDDLKRKLEKLDSTDFGTIKLLNEN SYVPREAGSQKDENLALYVENQF
 REFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIVDKNGRL VYLVENPGGYVAYSKAATVTGK
 LVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEK VANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIV
 NAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFP SRSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGD
 CPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKLN IFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDA
 WPGGAAKSGVGTALLKLAQMFSDMVLKDGFP SRSIIFASWSAGDFGSGVATEWLEG
 YLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLY TLIKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNW
 ASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTD YPYLGTMDTYKELIERIPELNKVAR
 AAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSFVR DLNQYRADIKEMGLSLQWLYSAR
 GDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKNDRVMR VEYHFLSPYVSPKESPF RHVFWGS
 GSHTLPALLENLKL RKQNNGAFNETLFRNQLALATW TIQGAANALSGDVWDIDNEF
 (SEQ ID NO: 35).

[000103] В таблице 2 приведены примеры последовательностей антитела против TfR1, пригодного в комплексах, описанных в настоящем описании.

Таблица 2. Примеры последовательностей антител против TfR1

антитело	IMGT	Kabat	Chothia
CDR-H1	GYSITSGYY (SEQ ID NO: 1)	SGYYWN (SEQ ID NO: 7)	GYSITSGY (SEQ ID NO: 12)
CDR-H2	ITFDGAN (SEQ ID NO: 2)	YITFDGANNYNP SLKN (SEQ ID NO: 8)	FDG (SEQ ID NO: 13)
CDR-H3	TRSSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 3)	SSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 9)	SYDYDVL D (SEQ ID NO: 14)
CDR-L1	QDISNF (SEQ ID NO: 4)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 10)	SQDISNF (SEQ ID NO: 15)

CDR-L2	YTS (SEQ ID NO: 5)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 11)	YTS (SEQ ID NO: 5)
CDR-L3	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 6)	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 6)	GHTLPY (SEQ ID NO: 16)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLE WIGYITFDGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYY CTRSSYDYDVLVDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17)		
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNFLNWYQQKPGQPVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPYTF GQGKLEIK (SEQ ID NO: 18)		
Fab HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLE WIGYITFDGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYY CTRSSYDYDVLVDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 19)		
Fab LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNFLNWYQQKPGQPVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPYTF GQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 20)		

[000104] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) SEQ ID NO: 1 (в соответствии с системой определения IMGT), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) SEQ ID NO: 2 (в соответствии с системой определения IMGT), определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3) SEQ ID NO: 3 (в соответствии с системой определения IMGT), определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) SEQ ID NO: 4 (в соответствии с системой определения IMGT), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) SEQ ID NO: 5 (в соответствии с системой определения IMGT) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) SEQ ID NO: 6 (в соответствии с системой определения IMGT).

[000105] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) SEQ ID NO: 7 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) SEQ ID NO: 8 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3) SEQ ID NO: 9 (в соответствии с системой определения Kabat),

определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) SEQ ID NO: 10 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) SEQ ID NO: 11 (в соответствии с системой определения Kabat) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) SEQ ID NO: 6 (в соответствии с системой определения Kabat).

[000106] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) SEQ ID NO: 12 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) SEQ ID NO: 13 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3) SEQ ID NO: 14 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) SEQ ID NO: 15 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) SEQ ID NO: 5 (в соответствии с системой определения Chothia) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) SEQ ID NO: 16 (в соответствии с системой определения Chothia).

[000107] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую не более 25 аминокислотных изменений (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотного изменения) в каркасных областях по сравнению с VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую не более 25 аминокислотных изменений (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотного изменения) в каркасных областях по сравнению с VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

[000108] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая в каркасных областях по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентична VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), в некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность, которая в каркасных областях по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентична VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

[000109] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17. Альтернативно или дополнительно (например,

дополнительно), в некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

[000110] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20.

[000111] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

[000112] В таблице 3 приведены дополнительные примеры последовательностей антитела против TfR1, пригодного в комплексах, описанных в настоящем описании.

Таблица 3. Примеры последовательностей антител против TfR1

антитело	IMGT	Kabat	Chothia
CDR-H1	GYSFTSYW (SEQ ID NO: 37)	SYWIG (SEQ ID NO: 43)	GYSFTSY (SEQ ID NO: 48)
CDR-H2	IYPGDSDT (SEQ ID NO: 38)	IIYPGDSDDTRYSPSFQG Q (SEQ ID NO: 44)	GDS (SEQ ID NO: 49)

CDR-H3	ARFPYDSSGYYSF DY (SEQ ID NO: 39)	FPYDSSGYYSFDY (SEQ ID NO: 45)	PYDSSGYYSFD (SEQ ID NO: 50)
CDR-L1	QSISSY (SEQ ID NO: 40)	RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 46)	SQSISSY (SEQ ID NO: 51)
CDR-L2	AAS (SEQ ID NO: 41)	AASSLQS (SEQ ID NO: 47)	AAS (SEQ ID NO: 41)
CDR-L3	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 42)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO: 42)	SYSTPL (SEQ ID NO: 52)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARFPYDSSGYYSFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 54)		
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFG GGTKVEIK (SEQ ID NO: 55)		
Fab HC	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARFPYDSSGYYSFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 56)		
Fab LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 57)		

[000113] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) SEQ ID NO: 37 (в соответствии с системной определения IMGT), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) SEQ ID NO: 38 (в соответствии с системной определения IMGT), определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3) SEQ ID NO: 39 (в соответствии с системной определения IMGT), определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) SEQ ID NO: 40 (в соответствии с системной определения IMGT), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) SEQ ID NO: 41 (в соответствии с системной определения IMGT) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) SEQ ID NO: 42 (в соответствии с системной определения IMGT).

[000114] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) SEQ ID NO: 43 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) SEQ ID NO: 44 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3) SEQ ID NO: 45 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) SEQ ID NO: 46 (в соответствии с системой определения Kabat), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) SEQ ID NO: 47 (в соответствии с системой определения Kabat) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) SEQ ID NO: 42 (в соответствии с системой определения Kabat).

[000115] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) SEQ ID NO: 48 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) SEQ ID NO: 49 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3) SEQ ID NO: 50 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) SEQ ID NO: 51 (в соответствии с системой определения Chothia), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) SEQ ID NO: 41 (в соответствии с системой определения Chothia) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) SEQ ID NO: 52 (в соответствии с системой определения Chothia).

[000116] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую не более 25 аминокислотных изменений (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотного изменения) в каркасных областях по сравнению с VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую не более 25 аминокислотных изменений (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотного изменения) в каркасных областях по сравнению с VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

[000117] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая в каркасных областях по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентична VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), в некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VL, содержащую аминокислотную

последовательность, которая в каркасных областях по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентична VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

[000118] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), в некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

[000119] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 57. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 75% (например, на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 57.

[000120] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR1 по настоящему изобретению представляет собой Fab, который содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

[000121] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1, описанное в настоящем описании, может иметь одну или несколько посттрансляционных модификаций. В некоторых вариантах осуществления в ходе продуцирования в антителе в N-концевых остатках глутамата (Glu) и/или глутамин (Gln) может встречаться N-концевая циклизация,

также называемая образованием пироглутамата (пиро-Glu). Таким образом, должно быть понятно, что антитело, указанное как имеющее последовательность, содержащую N-концевой остаток глутамата или глутамина, охватывает антитела, которые претерпели образование пироглутамата в результате посттрансляционной модификации. В некоторых вариантах осуществления образование пироглутамата происходит в последовательности тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления образование пироглутамата происходит в последовательности легкой цепи.

Олигонуклеотиды

[000122] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид комплексов, описанных в настоящем описании, представляет собой одноцепочечный олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид является пригодным для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, который пригоден для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона), осуществляет нацеливание на аллель DMD (например, мутантный аллель DMD). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) осуществляет нацеливание на область РНК DMD (например, транскрипт Dp427m SEQ ID NO: 24). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона), содержит область комплементарности с РНК DMD (например, транскрипт Dp427m SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона), содержит область комплементарности с экзоном (например, экзоны 8, 23, 43, 44, 45, 46, 50, 51, 52, 53 или 55) или интроном РНК DMD. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) нацелен на донорный участок сплайсинга, акцепторный участок сплайсинга, точку ветвления или экзонный энхансер сплайсинга (ESE) в РНК DMD (например, пре-мРНК DMD, кодируемой геном дистрофина (DMD) *Homo sapiens* (например, номер доступа NCBI № NG_012232.1)). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) нацелен на последовательность экзонного энхансера сплайсинга (ESE) в DMD (например, последовательность ESE экзона 23, 44, 45, 46, 50, 51, 52, 53 или 55).

[000123] Примеры последовательностей РНК DMD и последовательностей экзонов, на которые может быть нацелен олигонуклеотид комплекса, приведены ниже.

[000124] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, мРНК (эталонная последовательность NCBI: NM_004006.2) (SEQ ID NO: 23).

[000125] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 51 (нуклеотидные положения 7554-7786 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

СТССТАСТCAGACTGTTACTCTGGTGACACAACCTGTGGTТАCTAAGGAAACT
GCCATCTCCAAACTAGAAATGCCATCTTCCTTGATGTTGGAGGTACCTGCTCTGGCA
GATTTCAACCGGGCTTGGACAGAACTTACCGACTGGCTTTCTCTGCTTGATCAAGTT

ATAAAATCACAGAGGGTGGTGGGTGACCTTGAGGATATCAACGAGATGATCAT
CAAGCAGAAG (SEQ ID NO: 24)

[000126] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 8
(нуклеотидные положения 894-1075 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

ATGTTGATACCACSTATCCAGATAAGAAGTCCATCTTAATGTACATCACATCA
CTCTTCCAAGTTTTGCCTCAACAAGTGAGCATTGAAGCCATCCAGGAAGTGGAAATG
TTGCCAAGGCCACSTAAAGTGACTAAAGAAGAACATTTTCAGTTACATCATCAAATG
CACTATTCTCAACAG (SEQ ID NO: 25)

[000127] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 23
(нуклеотидные положения 3194-3406 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

GCTTTACAAAGTTCTCTGCAAGAGCAACAAAGTGGCCTATACTATCTCAGCA
CCTGTGAAAGAGATGTCTGAAGAAAGCGCCCTCTGAAATTAGCCGGAATATCAA
TCAGAATTTGAAGAAATTGAGGGACGCTGGAAGAAGCTCTCCTCCCAGCTGGTTGA
GCATTGTCAAAAGCTAGAGGAGCAAATGAATAAACTCCGAAAAATTTCAG (SEQ ID
NO: 26)

[000128] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 43
(нуклеотидные положения 6362-6534 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

AATATAAAAGATAGTCTACAACAAGCTCAGGTCGGATTGACATTATTCATA
GCAAGAAGACAGCAGCATTGCAAAGTGCAACGCCTGTGGAAAGGGTGAAGCTACA
GGAAGCTCTCTCCCAGCTTGATTTCCAATGGGAAAAAGTTAACAAAATGTACAAGG
ACCGACAAGG (SEQ ID NO: 27)

[000129] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 44
(нуклеотидные положения 6535-6682 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTTCATTATGATATAAAG
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG (SEQ ID NO: 28)

[000130] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 45
(нуклеотидные положения 6683-6858 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

GAACTCCAGGATGGCATTGGGCAGCGGCAAACCTGTTGTCAGAACATTGAATG
CAACTGGGGAAGAAATAATTCAGCAATCCTCAAAAACAGATGCCAGTATTCTACAG
GAAAAATTGGGAAGCCTGAATCTGCGGTGGCAGGAGGTCTGCAAACAGCTGTCAGA
CAGAAAAAAGAG (SEQ ID NO: 36)

[000131] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 46
(нуклеотидные положения 6859-7006 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

GCTAGAAGAACAAGAATATCTTGTGAGAATTTCAAAGAGATTTAAATGAA
TTTGTTTTATGGTTGGAGGAAGCAGATAACATTGCTAGTATCCCACTTGAACCTGGA
AAAGAGCAGCAACTAAAAGAAAAGCTTGAGCAAGTCAAG (SEQ ID NO: 29)

[000132] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 50
(нуклеотидные положения 7445-7553 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

AGGAAGTTAGAAGATCTGAGCTCTGAGTGGAAGGCGGTAAACCGTTTACTTC

AAGAGCTGAGGGCAAAGCAGCCTGACCTAGCTCCTGGACTGACCACTATTGGAGCC
T (SEQ ID NO: 30)

[000133] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 51 (нуклеотидные положения 7554-7786 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

CTCCTACTCAGACTGTACTCTGGTGACACAACCTGTGGTTACTAAGGAAACT
GCCATCTCCAAACTAGAAATGCCATCTTCCTTGATGTTGGAGGTACCTGCTCTGGCA
GATTTCAACCGGGCTTGGACAGAACTTACCGACTGGCTTTCTCTGCTTGATCAAGTT
ATAAAATCACAGAGGGTGATGGTGGGTGACCTTGAGGATATCAACGAGATGATCAT
CAAGCAGAAG (SEQ ID NO: 31)

[000134] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 52 (нуклеотидные положения 7787-7904 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

GCAACAATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGTCCCCAGTTGGAAGAACTCATTA
CCGCTGCCCAAATTTGAAAAACAAGACCAGCAATCAAGAGGCTAGAACAATCATT
ACGGATCGAA (SEQ ID NO: 32)

[000135] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 53 (нуклеотидные положения 7905-8116 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

TTGAAAGAATTCAGAATCAGTGGGATGAAGTACAAGAACACCTTCAGAACCG
GAGGCAACAGTTGAATGAAATGTTAAAGGATTCAACACAATGGCTGGAAGCTAAGG
AAGAAGCTGAGCAGGTCTTAGGACAGGCCAGAGCCAAGCTTGAGTCATGGAAGGA
GGGTCCCTATACAGTAGATGCAATCCAAAAGAAAATCACAGAAACCAAG (SEQ ID
NO: 33)

[000136] Дистрофин (DMD) *Homo sapiens*, вариант транскрипта Dp427m, экзон 55 (нуклеотидные положения 8272-8461 эталонной последовательности NCBI: NM_004006.2)

GGTGAGTGAGCGAGAGGCTGCTTTGGAAGAACTCATAGATTACTGCAACAG
TTCCCCCTGGACCTGGAAAAGTTTCTTGCCTGGCTTACAGAAGCTGAAACAACCTGCC
AATGTCCTACAGGATGCTACCCGTAAGGAAAGGCTCCTAGAAGACTCCAAGGGAGT
AAAAGAGCTGATGAAACAATGGCAA (SEQ ID NO: 34)

[000137] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзонов) имеет длину 15-40 (например, 15-40, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-40, 20-35, 20-30, 20-25, 25-40, 25-35, 25-30, 25-28, 28-30, 30-40, 30-32, 32-35, 30-35 или 35-40) нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзонов) имеет длину 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов, необязательно 20-35 или 30 нуклеотидов.

[000138] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) содержит область комплементарности из по меньшей мере 8 (например, по меньшей мере 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30) нуклеотидов подряд с РНК DMD. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) содержит область комплементарности по

меньшей мере из 8 (например, по меньшей мере 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30) нуклеотидов подряд с экзоном РНК DMD.

[000139] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) содержит область комплементарности из по меньшей мере 8 (например, по меньшей мере 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30) нуклеотидов подряд с последовательностью DMD, как указано под любым из SEQ ID NO: 23-34.

[000140] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона) содержит область комплементарности из по меньшей мере 8 (например, по меньшей мере 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30) нуклеотидов подряд с последовательностью-мишенью, как указано под SEQ ID NO: 22 (CTAGAAATGCCATCTTCCTTGATGTTGGAG). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона), содержит по меньшей мере 8 (например, по меньшей мере 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30) нуклеотидов подряд из последовательности, как указано под SEQ ID NO: 21 (CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTCTAG).

[000141] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, пригодный для нацеливания на DMD (например, для пропуска экзона), содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления любой из олигонуклеотидов, описанных в настоящем описании, представляет собой РМО.

[000142] В некоторых вариантах осуществления должно быть понятно, что метилирование урацила основания нуклеиновой кислоты в положении C5 приводит к образованию тимина. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления нуклеотид или нуклеозид, имеющий C5-метилованный урацил (или 5-метилурацил), может быть эквивалентно идентифицирован как тиминный нуклеотид или нуклеозид.

[000143] В некоторых вариантах осуществления любое одно или несколько тиминных оснований (Т) в любом из олигонуклеотидов, приведенных в настоящем описании (например, олигонуклеотид, указанный под SEQ ID NO: 21), может независимо и необязательно представлять собой урациловое основание (U), и/или любой один или несколько из U в олигонуклеотидах, приведенных в настоящем описании, может независимо и необязательно представлять собой Т.

Композиции

[000144] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы (т.е. множество комплексов), причем каждый комплекс содержит антитело (например, антитело против TFR1), ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами (например, фосфородиамидат морфолино олигомер (РМО)) в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) антитела, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую варибельную область тяжелой цепи

(VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело таких комплексов содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, как указано в таблице 2 или таблице 3.

[000145] В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 4 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 6 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления

комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К в положении 4, и в участке присоединения, соответствующем К в положении 6 в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (К) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) в последовательности мотива VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30%, или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (К) в мотиве VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab против TfR1.

[000146] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы (т.е. множество комплексов), где каждый комплекс имеет формулу (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, в которой каждый R^1 независимо содержит соединение, содержащее олигонуклеотид (например, РМО), и ковалентно связан с R^2 , где R^2 содержит антитело (например, антитело против TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 ковалентно связан с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (К) антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем К188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем К190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 ковалентно связан с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (К) антитела. В

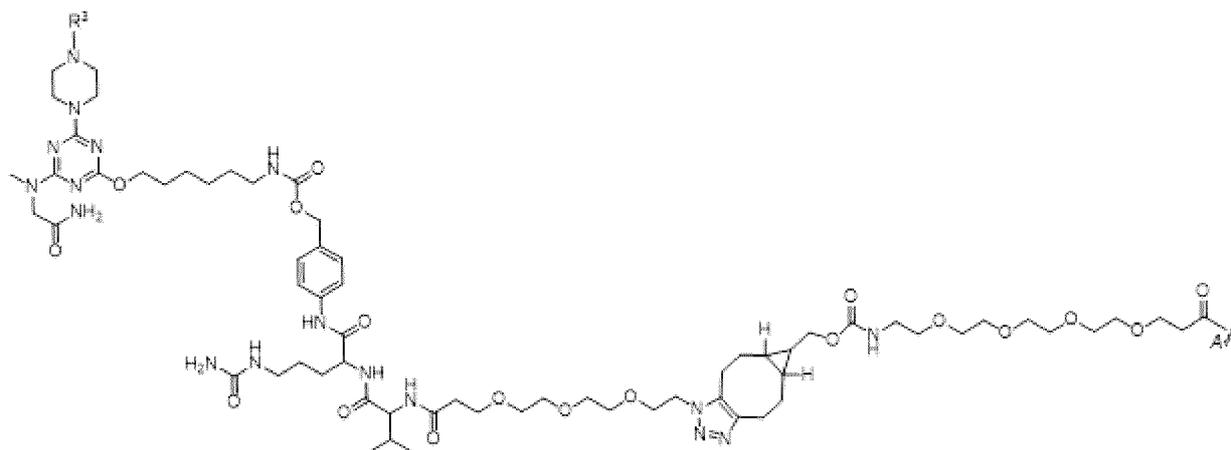
некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹ в каждом комплексе.

[000147] В некоторых вариантах осуществления величина n1 каждого комплекса в композиции независимо и необязательно представляет собой целое число от одного вплоть до числа аминокислотных остатков, с которым конъюгация является желаемой или планируется (например, число остатков лизина) в антителе (R²). В некоторых вариантах осуществления величина n1 каждого комплекса в композиции независимо и необязательно выбрана из 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 и 27. В некоторых вариантах осуществления величина n1 каждого комплекса в композиции независимо и необязательно выбрана из 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 и 26. В некоторых вариантах осуществления величина n1 каждого комплекса в композиции независимо и необязательно выбрана из целого числа в диапазоне от 1 до 27, от 1 до 26, от 1 до 10, от 1 до 5 или от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 3, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 26 или от 1 до 27. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10).

[000148] В некоторых вариантах осуществления композиция, описанная в настоящем описании, содержит неконъюгированное антитело (например, в следовых количествах) и антитело, конъюгированное с одним или несколькими олигонуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления неконъюгированное антитело может упоминаться как соединение со структурой формулы (I): [R¹]_{n1}-R², где n1 равен нулю. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления композиция для введения индивидууму в способах, описанных в настоящем описании, содержит соединения (например, комплексы) со структурой формулы (I): [R¹]_{n1}-R², где каждый R¹ независимо содержит группу, содержащую олигонуклеотид, R² содержит антитело и n1 независимо представляет собой целое число, составляющее ноль или более, которое отражает количество случаев R¹ в каждом соединении (например, комплексе). В некоторых вариантах осуществления доля соединений со структурой формулы (I): [R¹]_{n1}-R² в композиции, где n1 равен нулю, по

сравнению со всеми соединениями этой структуры в композиции, где $n1$ составляет один или более, составляет менее 10%, менее 5%, менее 1%, менее 0,5%, менее 0,1%, менее 0,05% или менее 0,01%.

[000149] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 в комплексе композиции, описанной в настоящем описании, независимо содержит группу формулы (Ia):



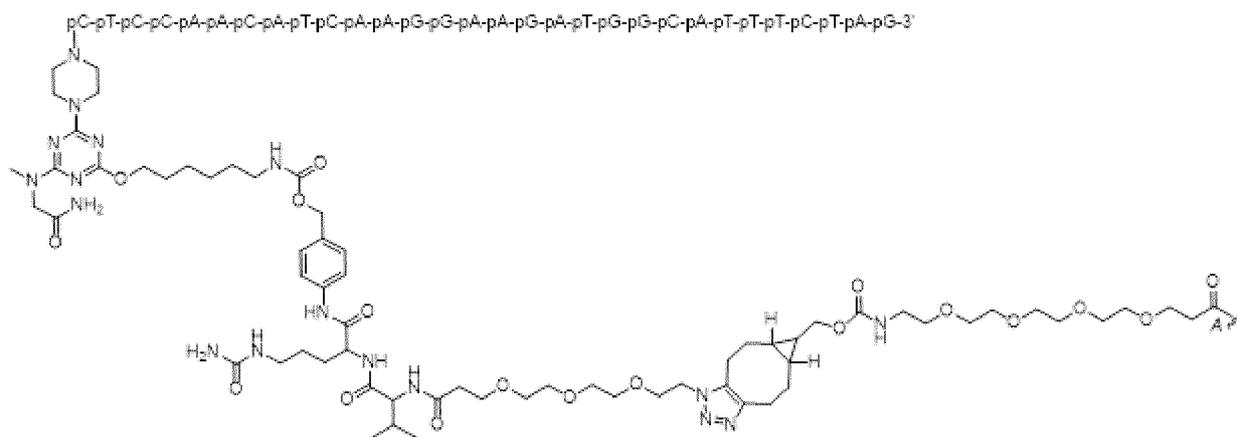
(Ia),

в которой R^3 представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (РМО); R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, и каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%,

80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30%, или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарную область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарную область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарную область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарную область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарную область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарную область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17 и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В

некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело (например, Fab), которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n_1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$, где n_1 равен 0.

[000150] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$, где в каждом случае R^1 в комплексе в композиции, описанной в настоящем описании, содержит группу формулы (Ib):



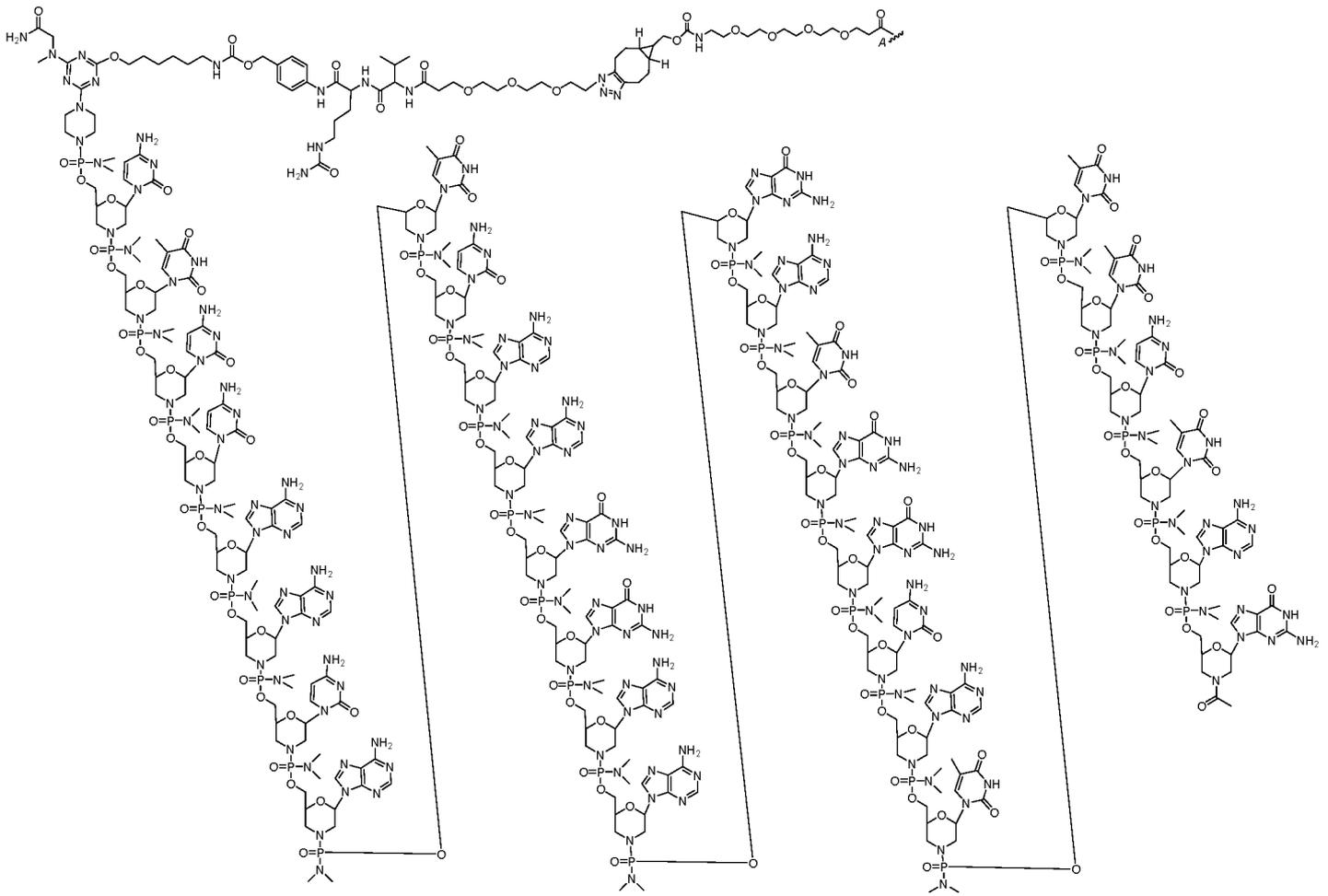
(Ib),

где -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21), R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее числу случаев R^1 в каждом комплексе, и каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке

присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где n1 равен 0.

[000151] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где в каждом случае R^1 в комплексе композиции, описанной в настоящем описании, содержит группу формулы (Ic):



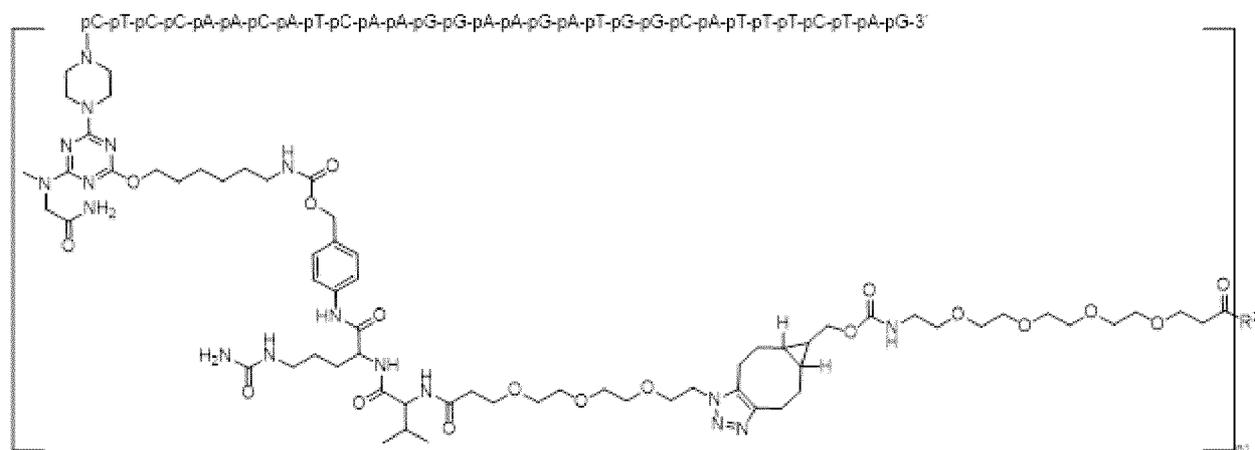
(Ic),

R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, где каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления

по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n_1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$, где n_1 равен 0.

[000152] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (Id):



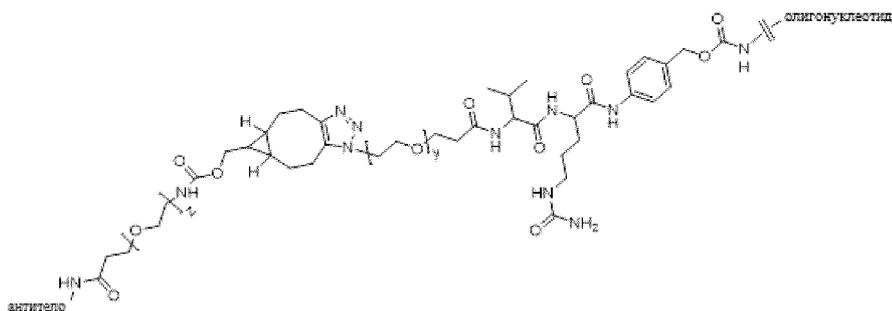
(Id),

где -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21); где R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из таблицы 2, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, кроме того, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и где в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев группы, заключенной в квадратные скобки, где в каждом случае группа, заключенная в квадратные скобки, ковалентно связана с участком присоединения, соответствующим остатку лизина (K) антитела (например, Fab). В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке

присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител (например, Fab) комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, составляющее один или более. В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат комплексы, в которых n1 равен 0.

[000153] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат структуру:



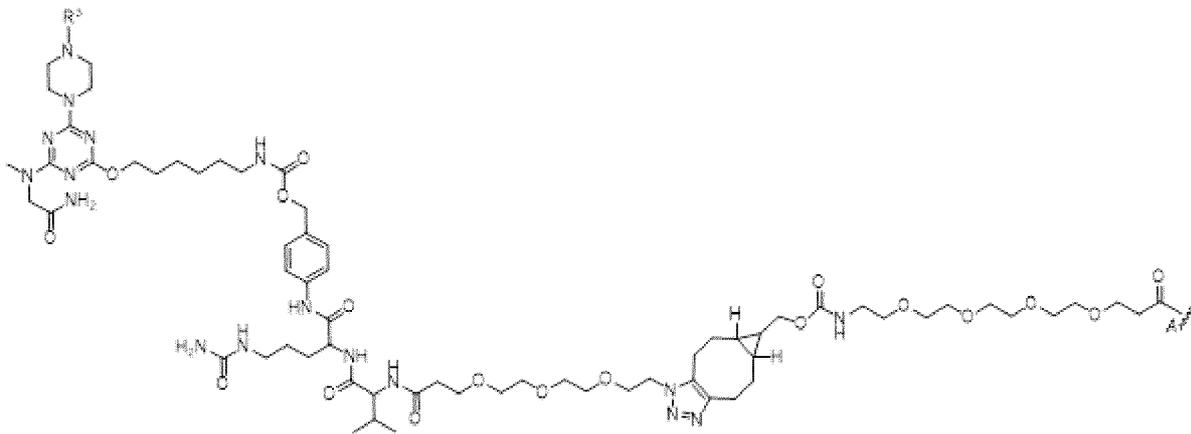
(A),

где y равен 0-15 (например, 3) и z равен 0-15 (например, 4). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против TfR1 (например, антитело против TfR1, приведенное в таблице 2), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой РМО и содержит последовательность оснований SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления амид, представленный рядом с антителом в структуре, является результатом реакции с амином антитела, таким как эpsilon-амин лизина. В некоторых вариантах осуществления комплекс, описанный в настоящем описании, содержит Fab против TfR1, ковалентно связанный с 5'-концом РМО через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с

олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержит

вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv.

[000154] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 в комплексе композиции, описанной в настоящем описании, независимо содержит группу формулы (Ia):



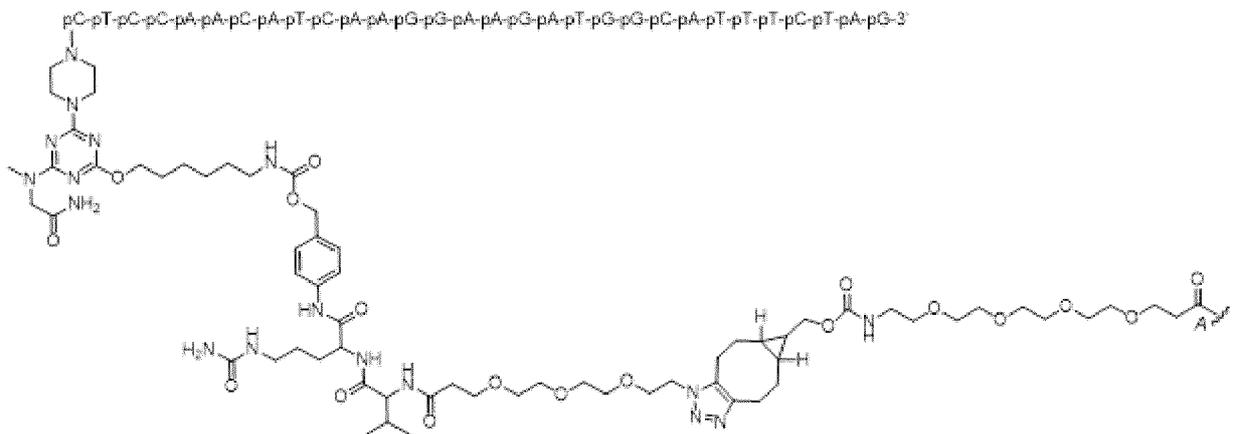
(Ia),

в которой R^3 представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (РМО); R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, и каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах

осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9, или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную

последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1, содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R³ представляет собой олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n₁ независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n₁ комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): [R¹]_{n₁}-R², где n₁ равен 0.

[000155] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): [R¹]_{n₁}-R², где в каждом случае R¹ в комплексе композиции, описанной в настоящем описании, содержит группу формулы (Ib):

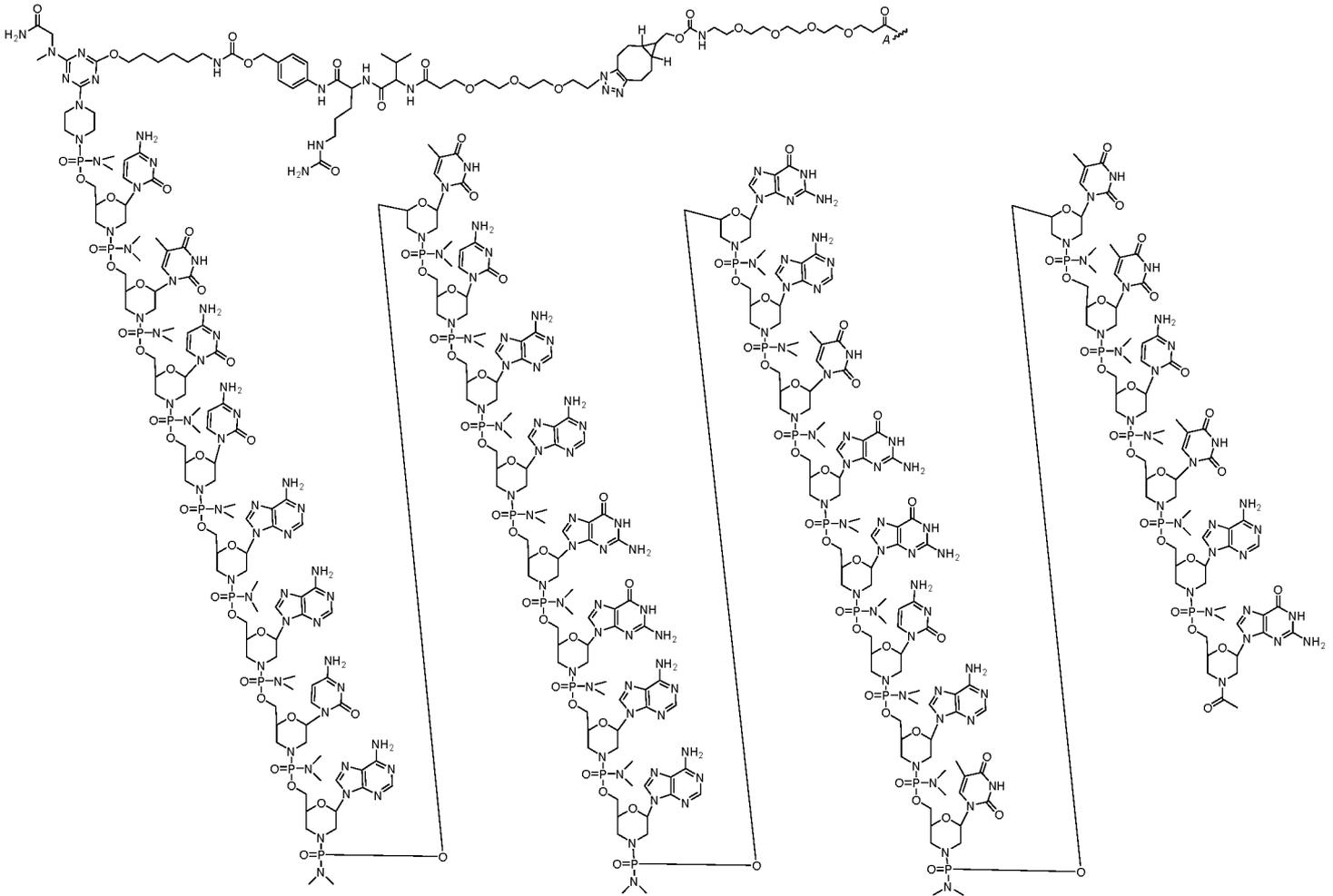


(Ib),

где -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (РМО), и где РМО содержит последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21), R² содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R¹ в каждом комплексе, и каждый R¹ ковалентно связан с R² в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью ДУЕКНКВУА (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью ДУЕКНКВУА (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью ДУЕКНКВУА (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью ДУЕКНКВУА (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью ДУЕКНКВУА (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи

(CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n₁ независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n₁ комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): [R¹]_{n₁}-R², где n₁ равен 0.

[000156] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): [R¹]_{n₁}-R², где в каждом случае R¹ в комплексе композиции, описанной в настоящем описании, содержит группу формулы (Ic):



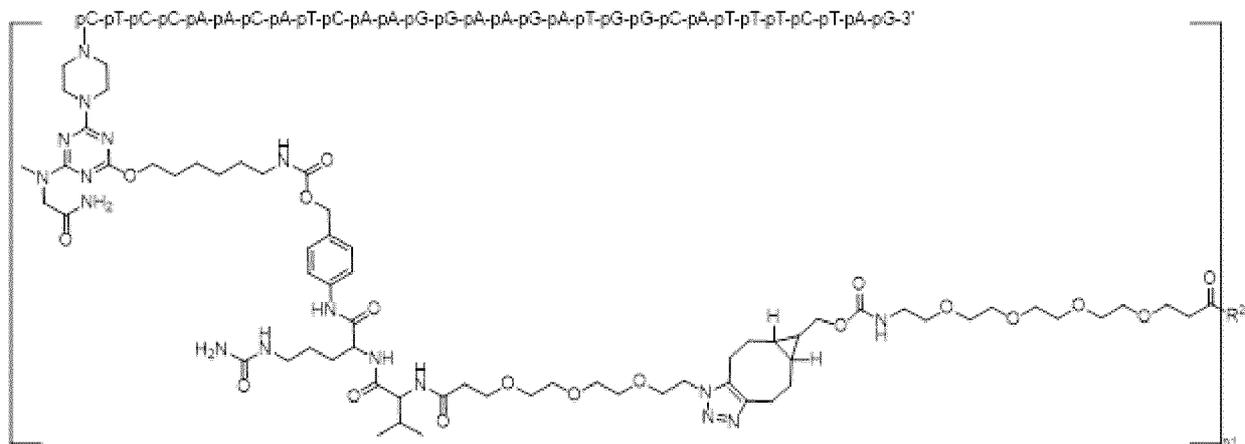
(Ic),

R^2 содержит антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев R^1 в каждом комплексе, где каждый R^1 ковалентно связан с R^2 в точке присоединения A через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области

легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕКHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9, или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3) содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащее переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv. В некоторых вариантах осуществления R^2 содержит антитело, которое представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n_1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (I): $[R^1]_{n_1}-R^2$, где n_1 равен 0.

[000157] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, которые содержат структуру формулы (Id):



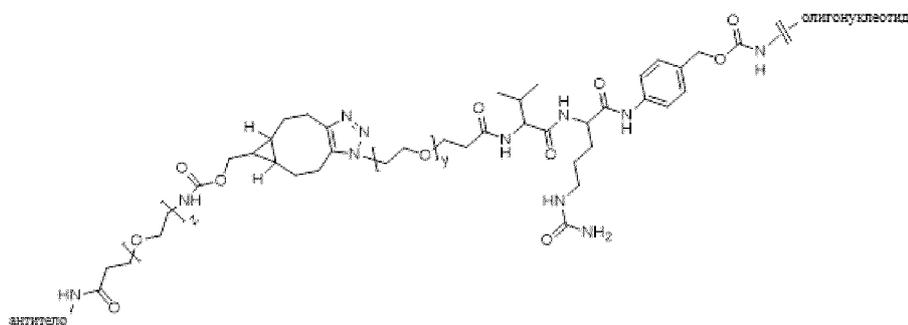
(Id),

где -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21); где R^2 содержит антитело против TfR1 (например, Fab), содержащее CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из таблицы 2, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, кроме того, необязательно где антитело против TfR1 (например, Fab) содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и где в каждом комплексе n_1 независимо представляет собой целое число (например, один или более), соответствующее количеству случаев группы, заключенной в квадратные скобки, где в каждом случае группа, заключенная в квадратные скобки, ковалентно связана с участком присоединения, соответствующим остатку лизина (K) антитела (например, Fab). В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов

в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержащее определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержащую переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления

R² содержит антитело (например, Fab), содержащее VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержащее VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления R² содержит антитело (например, Fab), содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число (например, целое число в диапазоне 1-27, 1-26, 1-10, 1-5 или 1-3). В некоторых вариантах осуществления средняя величина n1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 10 (например, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 3-10, 3-5 или 5-10). В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат комплексы, в которых n1 равен 0.

[000158] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат структуру:



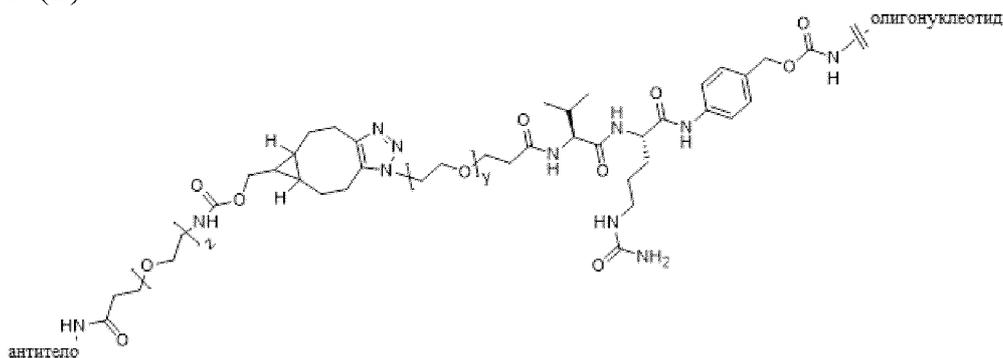
(A),

где y равен 0-15 (например, 3) и z равен 0-15 (например, 4). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против TfR1 (например, антитело против TfR1, приведенное в таблице 2), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой РМО и содержит последовательность оснований SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления амид, представленный рядом с антителом в структуре, является результатом реакции с амином антитела, таким как эpsilon-амин лизина. В некоторых вариантах осуществления комплекс, описанный в настоящем описании, содержит Fab против TfR1, ковалентно связанный с 5'-концом РМО через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области

легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 4 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K в положении 4 и K в положении 6 мотива с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит последовательность, как указано в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14; и/или содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой

цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 17, и/или содержит переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и/или содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, по меньшей мере на 95%) идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и/или содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv или Fv.

[000159] В каждой композиции, описанной в настоящем описании, комплексы (например, комплексы, содержащие структуру формулы (I): $[R^1]_n-R^2$, такие как комплексы, в которых каждый R^1 содержит группу формулы (Ia), (Ib) или (Ic); комплексы, содержащие структуру формулы (Id); или комплексы, содержащие структуру формулы (A)) в композиции могут содержать структуру, имеющую стереохимию, представленную в формуле (B):



(B), где y равен 0-15 (например, 3) и z равен 0-15 (например, 4). Следует понимать, что стереохимия, представленная в формуле (B), может быть применена к соответствующей части любой формулы или структуры, приведенной в настоящем описании (например, формула (Ia), (Ib), (Ic), (Id) или (A)).

[000160] В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие комплексы (т.е. множество комплексов) составлены так, чтобы они подходили для способов, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления

композиции, содержащие нацеленные на мышцы комплексы, доставляют индивидууму с использованием состава, который минимизирует деградацию, способствует доставке и/или (например, и) всасыванию, или обеспечивает другое благоприятное свойство комплексам в составе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие комплексы (например, множество комплексов, содержащих РМО, ковалентно связанный с Fab) составляют с гистидином и/или сахарозой. В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие нацеленные на мышцы комплексы (например, комплексы, содержащие РМО, ковалентно связанный с Fab) составляют с гистидином и/или сахарозой в водных растворах. В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие множество комплексов, гистидин и сахарозу, могут быть лиофилизированными (например, для хранения). В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная композиция может быть восстановлена (например, водой) для введения индивидууму. Композиции (например, в водных растворах или в лиофилизированных композициях) могут быть получены подходящим образом, так чтобы при введении индивидууму, либо в непосредственное окружение клетки-мишени, либо системно, достаточное количество комплексов проникало в мышечные клетки-мишени.

[000161] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, содержат комплексы, где концентрация комплексов в составе составляет 1-50 мг комплекса/мл, необязательно 10-50 мг/мл или 20-35 мг/мл (например, 1-10 мг/мл, 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-22 мг/мл, 22-24 мг/мл, 24-26 мг/мл, 24-25 мг/мл, 25-26 мг/мл, 22-25 мг/мл, 25-27 мг/мл, 27-29 мг/мл, 29-30 мг/мл, 25-30 мг/мл, 29-31 мг/мл, 30-31 мг/мл, 31-32 мг/мл, 30-32 мг/мл, 32-33 мг/мл, 32-35 мг/мл, 30-35 мг/мл, 35-40 мг/мл, 40-45 мг/мл, 45-50 мг/мл), необязательно приблизительно 25 мг/мл (например, 25 мг/мл) или приблизительно 30 мг/мл (например, 30 мг/мл).

[000162] В некоторых вариантах осуществления любой один или множество комплексов, описанных в настоящем описании, составляют с гистидином (например, L-гистидином) и сахарозой в водном растворе или в лиофилизированной форме (например, лиофилизированный порошок).

[000163] В некоторых вариантах осуществления любой один или множество комплексов, описанных в настоящем описании, составляют с гистидином (например, L-гистидином) и сахароза находится в водном растворе. В некоторых вариантах осуществления гистидин (например, L-гистидин) присутствует в водном растворе в концентрации в диапазоне 10-50 мМ, 10-20 мМ, 20 мМ-30 мМ, или 20 мМ-40 мМ, например, 20-22 мМ, 22-24 мМ, 24-25 мМ, 25-26 мМ, 24-26 мМ, 26-27 мМ, 24-27 мМ, 27-28 мМ, 28-29 мМ, 29-30 мМ, 27-30 мМ, приблизительно 22-27 мМ, приблизительно 23-26 мМ, приблизительно 24-26 мМ, приблизительно 26-28 мМ, приблизительно 28-30 мМ, приблизительно 30-32 мМ, приблизительно 32-35 мМ, приблизительно 35-40 мМ, 40-45 мМ, 45-50 мМ, приблизительно 25 мМ или необязательно 25 мМ. В некоторых вариантах осуществления сахароза присутствует в водном растворе в концентрации в диапазоне от 5% до 15% массы на объем (масс./об.%), например, 8-15% масс./об.%, 9-15% масс./об.%, 9-11%

масс./об.%, 9,5-11% масс./об.%, или, например, в диапазоне 5-6 масс./об.%, 6-7 масс./об.%, 7-8 масс./об.%, 8-9 масс./об.%, 9-10 масс./об.%, 10-11 масс./об.%, 11-12% масс./об.%, 10-12 масс./об.%, 12-13% масс./об.%, 13-14% масс./об.%, 12-14 масс./об.%, 14-15 масс./об.% или 8-12 масс./об.%. В некоторых вариантах осуществления сахароза присутствует в водном растворе в концентрации в диапазоне 8-12 масс./об.% (например, 10 масс./об.%). В некоторых вариантах осуществления водный раствор имеет рН в диапазоне от 5,0 до 7,0, например, 5,0-5,2, 5,2-5,4, 5,4-5,6, 5,6-5,8, 5,8-6,0, 5,9-6,0, 5,9-6,1, 6,0-6,1; например, от 5,5 до 6,5, или, например, рН в диапазоне 5,5-5,8, 5,8-6,0, 5,9-6,1, 6,0-6,1, 6,0-6,2, 6,2-6,4, 6,4-6,5, 6,5-6,7, 6,7-6,8, 6,8-6,9, 6,9-7,0, 7,0-7,1 или 5,8-6,2. В некоторых вариантах осуществления водный раствор имеет рН в диапазоне 5,8-6,2 (например, 5,8-6,0, 5,8-6,1, 5,9-6,1). В некоторых вариантах осуществления водный раствор имеет рН в диапазоне 5,9-6,2. В некоторых вариантах осуществления водный раствор имеет рН в диапазоне 6,0-6,1 (например, приблизительно 6,0, или 6,0).

[000164] В некоторых вариантах осуществления любая из композиций, описанных в настоящем описании, содержит один или множество комплексов, гистидин и сахарозу, где гистидин (например, L-гистидин) присутствует в композиции (например, водном растворе) в концентрации 25 мМ, где сахароза присутствует в композиции (например, водном растворе) в концентрации 10 масс./об.%, и где композиция (например, водный раствор) имеет рН приблизительно 6,0 (например, 6,0, 5,9-6,1).

[000165] В некоторых вариантах осуществления любая из композиций, описанных в настоящем описании, содержит один или множество комплексов, гистидин и сахарозу, где гистидин (например, L-гистидин) присутствует в водном растворе в концентрации 25 мМ, где сахароза присутствует в водном растворе в концентрации 10 масс./об.% и где рН составляет приблизительно 6,0 (например, 6,0, 5,9-6,1), и концентрация комплексов в составе составляет 10-50 мг/мл или 20-35 мг/мл (например, 1-10 мг/мл, 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-22 мг/мл, 22-24 мг/мл, 24-26 мг/мл, 22-25 мг/мл, 25-27 мг/мл, 27-29 мг/мл, 29-31 мг/мл, 29-30 мг/мл, 30-31 мг/мл, 31-32 мг/мл, 25-30 мг/мл, 30-32 мг/мл, 32-35 мг/мл, 30-35 мг/мл, 35-40 мг/мл, 40-45 мг/мл, 45-50 мг/мл), необязательно 25 мг/мл или 30 мг/мл.

[000166] Как описано в настоящем описании, в некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, составляют в водных растворах, которые содержат сахарозу. В некоторых вариантах осуществления сахароза служит по меньшей мере частично в качестве лиопротектора. В некоторых вариантах осуществления сахароза происходит из растения, например, травы, фрукта или овоща (например, корнеплода) (например, сахарной свеклы (например, сахарная свекла, например, *Saccharum spp.*)), сахарного тростника (например, *Beta vulgaris*), финика, сахарного клена, сладкого сорго, яблок, апельсинов, моркови, мелассы, кленового сиропа, кукурузных подсластителей) или животного продукта (например, мед). В некоторых вариантах осуществления сахароза происходит из свеклы или сахарного тростника (например, сахароза свеклы, сахароза сахарного тростника). В некоторых вариантах осуществления можно использовать лиопротектор, отличный от сахарозы, например, трегалозу, маннит, лактозу,

полиэтиленгликоль или поливинилпирролидон. Однако в некоторых вариантах осуществления в композиции может быть предоставлен модификатор температуры коллапса (например, декстран, фикоилл или желатин).

[000167] В некоторых вариантах осуществления предусматривается продукт (например, лиофилизированная композиция, описанная в настоящем описании), продуцированный посредством процесса, включающего лиофилизацию водного раствора композиции (например, в водной форме), описанной в настоящем описании.

[000168] В некоторых вариантах осуществления композиция составлена так, чтобы она была совместимой с предполагаемым путем введения. Примеры путей введения включают парентеральное, например, внутривенное, внутрикожное, подкожное введение. Как правило, путь введения представляет собой внутривенный или подкожный путь.

Способы применения/лечения

[000169] Комплексы, содержащие антитело против TfR1 (например, Fab), ковалентно связанное с молекулярным грузом (например, олигонуклеотид, например, фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO)), как описано в настоящем описании, являются эффективными для лечения индивидуума, имеющего дистрофинопатию, например, мышечную дистрофию Дюшенна. В некоторых вариантах осуществления комплексы содержат молекулярный груз, который представляет собой олигонуклеотид, например, олигонуклеотид, который способствует пропуску экзонов в мРНК, экспрессируемой с мутантного аллеля DMD.

[000170] В некоторых вариантах осуществления индивидуумом может быть человек, не являющийся человеком примат, грызун или любое подходящее млекопитающее. В некоторых вариантах осуществления индивидуум может иметь мышечную дистрофию Дюшенна или другую дистрофинопатию. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет мутантный аллель DMD, который необязательно может содержать по меньшей мере одну мутацию в экзоне DMD, которая вызывает сдвиг рамки считывания и приводит к ненадлежащему сплайсингу/процессингу РНК. В некоторых вариантах осуществления индивидуум страдает от симптомов тяжелой дистрофинопатии, например, мышечной атрофии или дистрофии. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет бессимптомное увеличение сывороточной концентрации креатинфосфокиназы (СК) и/или (например, и) мышечные судороги с миоглобинурией. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет прогрессирующее мышечное заболевание, такое как мышечная дистрофия Дюшенна или Беккера или DMD-ассоциированная дилатационная кардиомиопатия (DCM). В некоторых вариантах осуществления индивидуум не страдает от симптомов дистрофинопатии.

[000171] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет мутацию в гене DMD, которая приводит к пропуску экзона 51. В некоторых вариантах осуществления комплекс, как описано в настоящем описании, является эффективным для лечения индивидуума, имеющего мутацию в гене DMD, которая приводит к пропуску экзона 51. В некоторых вариантах осуществления комплекс содержит олигонуклеотид, например,

антисмысловой олигонуклеотид, который способствует пропуску экзона 51 в пре-мРНК, такой как пре-мРНК, кодируемая мутантным геном DMD (например, геном DMD с мутацией, которая приводит к пропуску экзона 51).

[000172] Один аспект изобретения относится к способу, вовлекающему введение индивидууму эффективного количества комплекса, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество фармацевтической композиции, которая содержит комплекс, содержащий нацеленное на мышцы средство, ковалентно связанное с молекулярным грузом, можно вводить индивидууму, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество обеспечивает у индивидуума от 5 мг до 100 мг (например, от 5 мг до 100 мг, от 5 мг до 80 мг, от 5 мг до 50 мг, от 5 мг до 40 мг, от 5 мг до 30 мг, от 5 мг до 20 мг, от 10 мг до 60 мг, от 10 мг до 50 мг, от 10 мг до 40 мг, от 10 мг до 30 мг или от 30 мг до 60 мг) олигонуклеотидов комплексов на кг массы тела индивидуума.

[000173] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую комплекс, как описано в настоящем описании, можно вводить подходящим путем, который может включать внутривенное введение, например, в качестве болюса или посредством непрерывной инфузии на протяжении некоторого периода времени. В некоторых вариантах осуществления внутривенное введение можно проводить посредством внутримышечного, внутривентриального, интрацеребрального, подкожного, внутрисуставного, интрасиновиального или интратекального пути. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может быть в твердой форме, водной форме или жидкой форме. В некоторых вариантах осуществления водная или жидкая форма может быть аэрозольной или лиофилизированной. В некоторых вариантах осуществления аэрозольная или лиофилизированная форма может быть восстановлена водным или жидким раствором.

[000174] Композиции для внутривенного введения могут содержать различные носители, такие как растительные масла, диметилацетамид, диметилформамид, этиллактат, этилкарбонат, изопропилмиристит, этанол и многоатомные спирты (глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.). Для внутривенной инъекции растворимые в воде антитела можно вводить капельным способом, когда фармацевтический состав, содержащий антитело и физиологически приемлемые эксципиенты, вводят путем инфузии. Физиологически приемлемые эксципиенты могут включать, например, 5% декстрозу, 0,9% солевой раствор, раствор Рингера или другие подходящие эксципиенты. Внутримышечные препараты, например, стерильный состав с подходящей солевой формой антитела, могут быть растворены и введены в фармацевтическом эксципиенте, таком как вода для инъекций, 0,9% солевой раствор или 5% раствор глюкозы.

[000175] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, которая содержит комплекс, содержащий нацеленное на мышцы средство, ковалентно связанное с молекулярным грузом, вводят посредством способов доставки в конкретную

область или локальной доставки. Примеры этих способов включают имплантируемые депо-источники комплекса, катетеры для локальной доставки, специфические для конкретной области носители, прямую инъекцию или прямое нанесение.

[000176] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, которая содержит комплекс, содержащий нацеленное на мышцы средство, ковалентно связанное с молекулярным грузом, вводят в эффективной концентрации, которая обеспечивает терапевтический эффект у индивидуума. Эффективные количества варьируются, как известно специалистам в данной области, в зависимости от тяжести заболевания, уникальных характеристик индивидуума, подвергаемого лечению, например, возраста, физического состояния, состояния здоровья или массы тела, длительности лечения, характера каких-либо сопутствующих способов терапии, пути введения и сходных факторов. Эти сходные факторы известны специалистам в данной области и могут быть оценены с использованием не более чем рутинного экспериментирования. В некоторых вариантах осуществления эффективная концентрация представляет собой максимальную дозу, которая считается безопасной для пациента. В некоторых вариантах осуществления эффективная концентрация представляет собой наиболее низкую возможную концентрацию, которая обеспечивает максимальную эффективность.

[000177] Эмпирические факторы, например, время полужизни комплекса у индивидуума, как правило, вносят вклад в определение концентрации фармацевтической композиции, используемой для лечения. Частота введения может быть эмпирически определена и скорректирована для максимизации эффективности лечения.

[000178] Эффективность лечения можно оценивать с использованием любых подходящих способов. В некоторых вариантах осуществления эффективность лечения можно оценивать путем оценки наблюдаемых симптомов, ассоциированных с дистрофинопатией, например, мышечной атрофии или мышечной слабости, через показатели сообщаемых индивидуумами самостоятельно результатов, например, подвижности, ухода за собой, повседневной активности, боли/дискомфорта и тревожности/депрессии или качества жизни, например, продолжительности жизни.

[000179] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, которая содержит комплекс, содержащий нацеленное на мышцы средство, ковалентно связанное с молекулярным грузом, описанным в настоящем описании, вводят индивидууму в эффективной концентрации, достаточной для модулирования активности или экспрессии гена-мишени по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% относительно контроля, например, исходного уровня экспрессии гена до лечения.

Способы анализа

[000180] В некоторых аспектах в рамках настоящего изобретения предусматриваются способы определения диапазона соотношений лекарственного средства и антитела (DAR) первого множества комплексов, причем каждый комплекс

содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, при этом способ включает: (i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазой в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами; (ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i); (iii) определение масс комплексов, полученных на стадии (ii), посредством масс-спектрометрии; и (iv) определение диапазона DAR комплексов, полученных на стадии (ii); где масса, определенная посредством масс-спектрометрии, соответствующая массе антитела плюс масса неполных линкеров $n1$, указывает на $DAR\ n1$, где $n1$ представляет собой целое число, составляющее один или более. В некоторых аспектах в рамках настоящего изобретения предусматриваются способы анализа первого множества комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, при этом способ включает: (i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами, и где антитело остается интактным; (ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i); (iii) расщепление антител комплексов, полученных на (ii), протеазой с получением фрагментов антител; и (iv) определение массы фрагментов антител, полученных на стадии (iii), посредством масс-спектрометрии для идентификации фрагментов, ковалентно связанных с одним или несколькими неполными линкерами.

[000181] В некоторых вариантах осуществления каждый комплекс первого множества комплексов, используемый в способе, описанном в настоящем описании, содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с

нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участок присоединения соответствует K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления участки присоединения соответствуют K188 (в соответствии с нумерацией Kabat) и K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 4 в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 6 в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления комплексы ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K в положении 4, и в участке присоединения, соответствующем K в положении 6 в мотиве с последовательностью DYЕKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80% (например, 80%-98%, 80%-95%, 80%-90%, 85%-98%, 85%-95%, 85%-90%, 90%-98% или 90%-95%) константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках

присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в последовательности мотива VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 15% (например, 15%-40%, 15%-30%, 15%-20%, 20%-40%, 20%-30% или 30%-40%) константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

[000182] В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе первого множества комплексов, используемого в способе, описанном в настоящем описании, антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16.

[000183] В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе первого множества комплексов, используемых в способе, описанном в настоящем описании, антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 37, 43 или 48, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 38, 44 или 49, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 39, 45 или 50, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 40, 46, 51, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 41 или 47, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 42 или 52.

[000184] В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе первого множества комплексов, используемого в способе, описанном в настоящем описании,

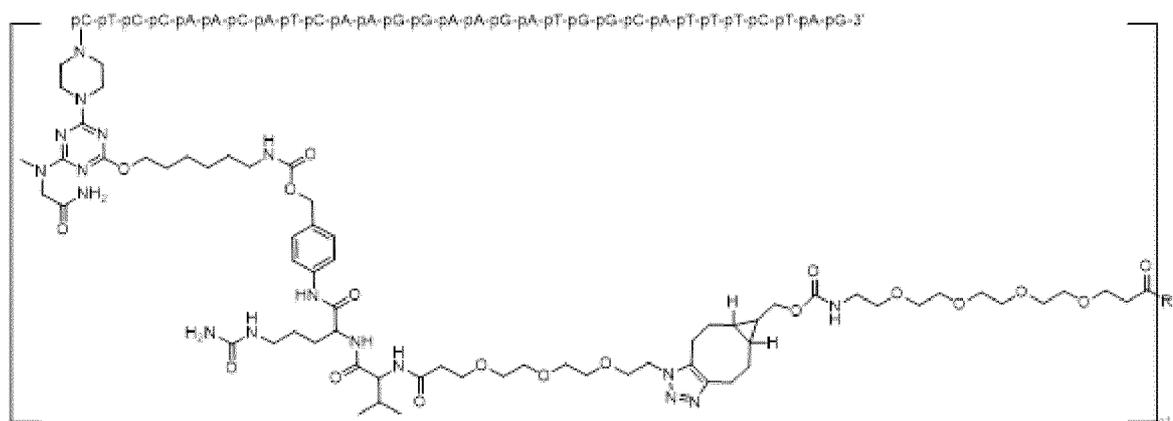
антитело против TfR1 представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в способах, описанных в настоящем описании, олигонуклеотид представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO). В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе первого множества комплексов, используемых в способах, описанных в настоящем описании, VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 17; и/или VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления в каждом комплексе первого множества комплексов, используемых в способах, описанных в настоящем описании, тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 19; и/или легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

[000185] В некоторых вариантах осуществления в способах, описанных в настоящем описании, расщепление на стадии (i) проводят посредством папаина. В некоторых вариантах осуществления расщепление на стадии (iii) проводят посредством химотрипсина.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Активность пропуска экзонов у конъюгата TfR1 в мышечных трубочках пациентов с DMD

[000186] В этом исследовании оценивали активность пропуска экзонов у конъюгатов, содержащих Fab против TfR1, имеющий последовательности тяжелой цепи и легкой цепи, представленные в таблице 2, ковалентно связанные (посредством конъюгации с лизином) через линкер, содержащий последовательность валин-цитруллин, с олигонуклеотидом для пропуска экзона 51 DMD (oligo). Олигонуклеотид для пропуска экзона 51 DMD представляет собой PMO и содержит последовательность оснований SEQ ID NO: 21. Конъюгаты содержат структуру:



(Id), где R^2 представляет собой Fab против TfR1, представленный в таблице 2, и где в каждом конъюгате n_1 независимо представляет собой целое число 1-5.

[000187] Иммутиализованные миобласты человека, имевшие делецию экзона 52, размораживали и высевали с плотностью 1×10^6 клеток/колба в среде для роста клеток скелетных мышц Promocell (с 5% FBS и $1 \times$ Pen-Strep) и позволяли расти до смыкания монослоя. После смыкания монослоя клетки трипсинизировали и осаждали посредством центрифугирования и ресуспендирования в свежей среде для роста клеток скелетных мышц Promocell. Количество клеток подсчитывали и клетки высевали в покрытые матригелем 96-луночные планшеты с плотностью 50 тысяч клеток/луночка. Клеткам позволяли восстановиться в течение 24 часов. Дифференцировку клеток индуцировали путем аспирирования среды для роста и замены средой для дифференцировки без сыворотки. Затем клетки обрабатывали олигонуклеотидом для пропуска экзона 51 DMD (не связанным ковалентно с антителом- "голым") в концентрации олигонуклеотида 10 мкМ или обрабатывали конъюгатом до конечной концентрации эквивалента олигонуклеотида 10 мкМ. Клетки инкубировали с тестируемыми образцами в течение десяти суток, а затем с 96-луночных планшетов собирали тотальную РНК. Проводили синтез кДНК на 75 нг тотальной РНК, и проводили специфические для мутации ПЦР для оценки степени пропуска экзона 51 в каждом типе клеток. Специфические в отношении мутаций продукты ПЦР разделяли на 4% агарозном геле и визуализировали с использованием золота SYBR. Для вычисления относительных количеств ампликонов с пропуском и без пропуска использовали денситометрию, и пропуск экзона определяли в качестве соотношения ампликонов с пропуском экзона 51 и общего количества присутствующих ампликонов:

$$\% \text{пропуска экзона} = \frac{\text{Ампликоны с пропуском}}{(\text{Ампликоны с пропуском} + \text{Ампликоны без пропуска})} * 100$$

[000188] Результаты демонстрируют, что конъюгаты приводили к усиленному пропуску экзона по сравнению с тем же олигонуклеотидом для пропуска экзона 51 в DMD, который не связан ковалентно с антителом в мышечных трубочках пациента (abu.1A). Это указывает на то, что Fab против TfR1 (например, имеющие последовательность, указанную в таблице 2) способствовали клеточной интернализации конъюгата в мышечные клетки, что приводило к активности олигонуклеотида для пропуска экзона 51 в мышечных клетках.

Кроме того, клетки обрабатывали конъюгатами Fab против TfR1-олигонуклеотид до

конечной концентрации 2,5 мкМ (низкая), 5 мкМ (средняя) или 10 мкМ (высокая) эквивалента олигонуклеотида. Данные о пропуске экзона 51 представлены на фиг.1В. Результаты демонстрируют, что конъюгаты приводили к дозозависимому пропуску экзона 51 в мышечных трубочках у пациента с DMD.

Пример 2. Активность пропуска экзона у конъюгата Fab против TfR1-олигонуклеотид *in vivo* у яванских макаков

[000189] Конъюгаты антитело против TfR1-олигонуклеотид, описанные в примере 1, тестировали в отношении их активности пропуска экзона *in vivo* у здоровых не являющихся человеком приматов. Наивным самцам яванских макаков (n= 4-5 на группу) вводили две дозы носителя, 30 мг/кг голого олигонуклеотида (т.е. не связанного ковалентно с антителом) или 122 мг/кг Fab против TfR1, ковалентно связанного с олигонуклеотидом для пропуска экзона 51 DMD (30 мг эквивалента олигонуклеотида/кг) посредством внутривенной инфузии на 1 и 8 сутки. Животных умерщвляли и ткани собирали либо через 2 недели, либо через 4 недели после введения первой дозы. Тотальную РНК собирали из образцов тканей с использованием устройства Promega Maxwell® RSC и синтез кДНК проводили с использованием qScript cDNA SuperMix. Оценку пропуска экзона 51 проводили с использованием ПЦР с анализом результатов по конечной точке.

[000190] Капиллярный электрофорез продуктов ПЦР использовали для оценки пропуска экзона, и % пропуск экзона 51 вычисляли с использованием следующей формулы:

$$\% \text{ пропуск экзона} = \frac{\text{Молярность полосы с пропуском}}{\text{Молярность полосы с пропуском} + \text{Молярность полосы без пропуска}} * 100$$

Вычисленные результаты пропуска экзона 51 представлены в таблице 4.

Таблица 4. Пропуск экзона 51 в дистрофине яванского макака

Время	2 недели			4 недели	
	Носитель	Только oligo ^a	Конъюгат	Только oligo ^a	Конъюгат
Доза конъюгата ^b	0	n/a	122	n/a	122
Доза только oligo ^c	0	30	30	30	30
Квадрицепс ^d	0,00 (0,00)	1,216 (1,083)	4,906 (3,131)	0,840 (1,169)	1,708 (1,395)
Диафрагма ^d	0,00 (0,00)	1,891 (2,911)	7,315 (1,532)	0,717 (1,315)	9,225 (4,696)
Сердце ^d	0,00 (0,00)	0,043 (0,096)	3,42 (1,192)	0,00 (0,00)	4,525 (1,400)
Бицепс ^d	0,00 (0,00)	0,607 (0,615)	3,129 (0,912)	1,214 (1,441)	4,863 (3,881)

Передняя большеберцовая мышца ^d	0,00 (0,00)	0,699 (0,997)	1,042 (0,685)	0,384 (0,615)	0,816 (0,915)
Икроножная мышца ^d	0,00 (0,00)	0,388 (0,573)	2,424 (2,329)	0,00 (0,00)	5,393 (2,695)

^aOligo=Олигонуклеотид.

^bДозы конъюгата приведены в мг/кг конъюгата Fab против TfR1-олигонуклеотид.

^cДозы олигонуклеотида приведены в мг/кг эквивалента олигонуклеотида относительно дозы Fab против TfR1-олигонуклеотид.

^dВеличины пропуска экзонов представляют собой средний % пропуск экзона 51 со стандартными отклонениями (n=5) в скобках.

[000191] Накопление олигонуклеотида (oligo) в тканях количественно определяли с использованием способов гибридизации на основе ELISA с зондом, комплементарным олигонуклеотидной последовательности. Строили стандартную кривую и уровни олигонуклеотида (в нг/г) вычисляли из линейной регрессии стандартной кривой. Олигонуклеотид распределялся во все оцениваемые ткани на более высоком уровне после введения конъюгата Fab против TfR1-олигонуклеотид по сравнению с введением неконъюгированного олигонуклеотида (не связанного ковалентно с антителом). Внутривенное введение неконъюгированного олигонуклеотида приводило к уровням олигонуклеотида, которые были близкими к фоновым уровням во всех оцениваемых тканях через 2 и 4 недели после введения первой дозы. Введение конъюгата приводило к распределению олигонуклеотида в оцениваемых тканях с ранговым порядком сердце>диафрагма>бицепс>квадрицепс>икроножная>передняя большеберцовая через 2 недели после первого дозирования.

[000192] Также оценивали длительность обнаружения концентрации в тканях. Уровни олигонуклеотида обнаруживались через 4 недели после введения дозы во всех тканях (таблица 5). Это указывает на то, что Fab против TfR1, представленный в таблице 2, обеспечивал клеточную интернализацию конъюгата в мышечные клетки *in vivo*, что приводит к активности олигонуклеотида в отношении пропуска экзонов в мышечных клетках.

Таблица 5. распределение в тканях олигонуклеотида для пропуска экзона 51 DMD у яванских макаков

Время	2 недели			4 недели	
	Носитель	Только oligo ^a	Носитель	Только oligo ^a	Конъюгат
Доза конъюгата ^b	0	n/a	122	n/a	122
Доза только oligo ^c	0	30	30	30	30

Квадрицепс ^d	0 (59,05)	696,8 (868,15)	2436 (954,0)	197 (134)	682 (281)
Диафрагма ^d	0± (144,3)	580,02 (360,11)	6750 (2256)	60 (120)	3131 (1618)
Сердце ^d	0 (396,03)	1449 (1337)	27138 (6315)	943 (1803)	30410 (9247)
Бицепс ^d	0 (69,58)	615,63 (335,17)	2840 (980,31)	130 (80)	1326 (623)
Передняя большеберцовая мышца ^d	0 (76,31)	564,71 (327,88)	1591 (253,50)	169 (110)	1087 (514)
Икроножная мышца ^d	0 (41,15)	705,47 (863,75)	2096 (474,04)	170 (69)	1265 (272)

^aOligo=Олигонуклеотид.

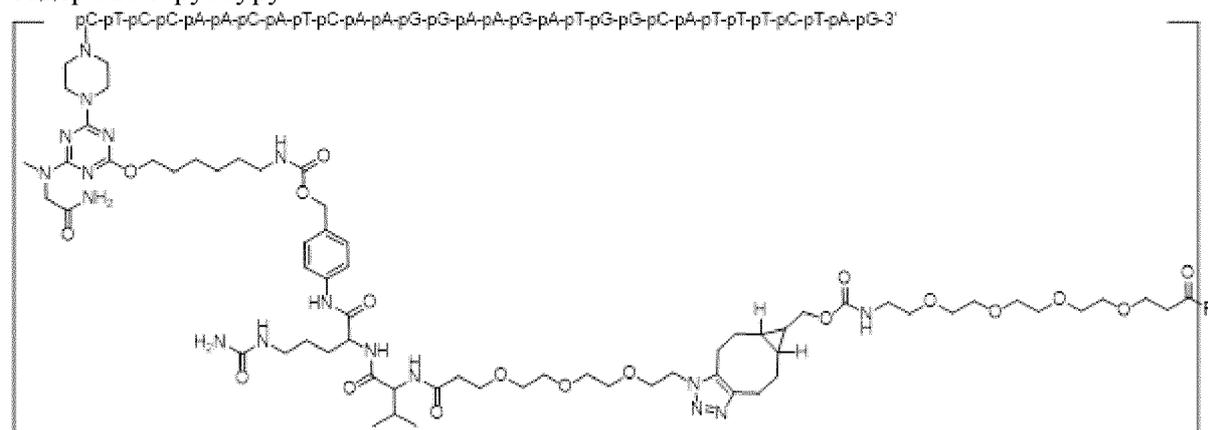
^bДозы конъюгата приведены в мг/кг конъюгата Fab против TfR1-олигонуклеотид.

^cДозы олигонуклеотида приведены в мг/кг эквивалента олигонуклеотида относительно дозы Fab против TfR1-олигонуклеотид.

^dВеличины oligo представляют собой средние концентрации олигонуклеотида в ткани в качестве нг/г со стандартными отклонениями (n=5) в скобках.

Пример 3. Картирование пептидов для определения участков конъюгации олигонуклеотидов в конъюгатах Fab против TfR1-олигонуклеотид

[000193] Картирование пептидов проводили для определения участков конъюгации конъюгатов против TfR1, содержащих Fab против TfR1, имеющих последовательности тяжелой цепи и легкой цепи, представленные в таблице 3, ковалентно связанные (посредством конъюгации с лизином) через линкер, содержащий последовательность валин-цитруллин, с олигонуклеотидом для пропуска экзона 51 в дистрофине (DMD). Олигонуклеотид для пропуска экзона 51 представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO) и содержит последовательность оснований SEQ ID NO: 21. Конъюгаты содержат структуру:



(Id),

где R^2 представляет собой Fab против TfR1, представленный в таблице 3, и где в каждом конъюгате $n1$ независимо представляет собой целое число 1-5.

Расщепление папаином

[000194] Олигонуклеотиды отщепляли от конъюгатов против TfR1 посредством расщепления папаином. Иммуобилизованный папаин Thermo Scientific (P/N: 20341) активировали перед расщеплением путем добавления 0,5 мл 50% взвеси к 4 мл свежеприготовленного буфера для активации папаина (20 мМ фосфат натрия, 10 мМ EDTA, 20 мМ цистеин, pH 7,0). Смолу с папаином тщательно перемешивали и центрифугировали при 3000 gcf в течение 5 минут для осаждения смолы. Супернатант сливали и промывание повторяли второй раз. После двух промываний папаин ресуспендировали до 50% взвеси путем добавления 250 мкл буфера для активации папаина. Конъюгаты против TfR1 подвергали замене буфера на буфер для расщепления папаином (20 мМ фосфат натрия, 10 мМ EDTA, pH 7,0) с использованием колонок для обессоливания Thermo Scientific Zeba (P/N: 89882). Перед добавлением конъюгата колонки уравнивали 0,3 мл буфера 3 раза. 40 мкл конъюгата в концентрации по меньшей мере 8 мг/мл добавляли к 100 мкл уравновешенной иммуобилизованной смолы с папаином. Образцы инкубировали при 40°C в течение 1 часа при встряхивании при 1400 об/мин. После инкубации смолу с папаином удаляли добавлением каждого образца в фильтрующую пробирку и кратковременным центрифугированием до тех пор, пока весь жидкий образец не отфильтровывался. Другой набор колонок Zeba уравнивали водой категории LC-MS, 3×300 мкл. В каждую колонку добавляли 100 мкл расщепленного папаином конъюгата и центрифугировали при 1500 gcf в течение 3 минут для замены буфера. 40 мкл материала разбавляли до объема 50 мкл водой LC-MS. Полное расщепление олигонуклеотида наблюдалось во всех образцах.

Расщепление химотрипсином

[000195] Конъюгаты антитело против TfR1-линкер с отщепленными олигонуклеотидами расщепляли иммуобилизованным химотрипсином. 15 мкл смолы с химотрипсином Thermo SMART (набор P/N: 60109104MBLPH) добавляли в пробирку Eppendorf. Добавляли 150 мкл буфера Chymotrypsin Smart Digest Buffer. Добавляли 50 мкл образца конъюгата антитело против TfR1-линкер, полученного после расщепления папаином. Термоблок устанавливали на 70°C и перемешивание при 1400 об/мин и инкубировали в течение 2,5 часов. После инкубации смолу с папаином удаляли добавлением каждого образца в фильтрующую пробирку и кратковременным центрифугированием до тех пор, пока жидкий образец не отфильтровывался. Получали исходный раствор 500 мМ трис(2-карбоксиил)фосфина (ТСЕР) в воде. Исходный раствор добавляли к расщепленному образцу до конечной концентрации 20 мМ ТСЕР и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре для восстановления дисульфидов. Образцы концентрировали посредством Speed vac до тех пор, пока общий объем образца не достигал приблизительно 100 мкл. Затем 25 мкл образца пептида (приблизительно 10 мкг общего пептида) инжесктировали в масс-спектрометр для анализа с

целью картирования пептидов.

[000196] Обобщение процентной занятости олигонуклеотида на линкерный участок представлено ниже в таблице 6. "Горячими" участками линкера были лизин 188 (K188) и лизин 190 (K190) в константных областях легкой цепи в композициях в соответствии нумерацией Kabat. В совокупности, приблизительно 93% остатков лизина, соответствовавших K188 и K190, были ковалентно связаны с олигонуклеотидом. Другим важным линкерным участком был лизин 213 (K213) в константных областях тяжелой цепи в композициях, поскольку приблизительно 19,6% остатков лизина, соответствующих K213 были ковалентно связаны с олигонуклеотидом.

Таблица 6.

Участок**	% Занятость на участок для линкера
K13 варибельной области тяжелой цепи	~7%
K117 константной области тяжелой цепи	~3%
K213 константной области тяжелой цепи	~19,6%
K39 варибельной области легкой цепи	~3%
K126 константной области легкой цепи	~5%
K149 константной области легкой цепи	~4%
K188 константной области легкой цепи	~93% (включает комплексы, в которых K188 связан, в которых K189 связан и в которых как K188, так и K190 связаны)*
K190 константной области легкой цепи	

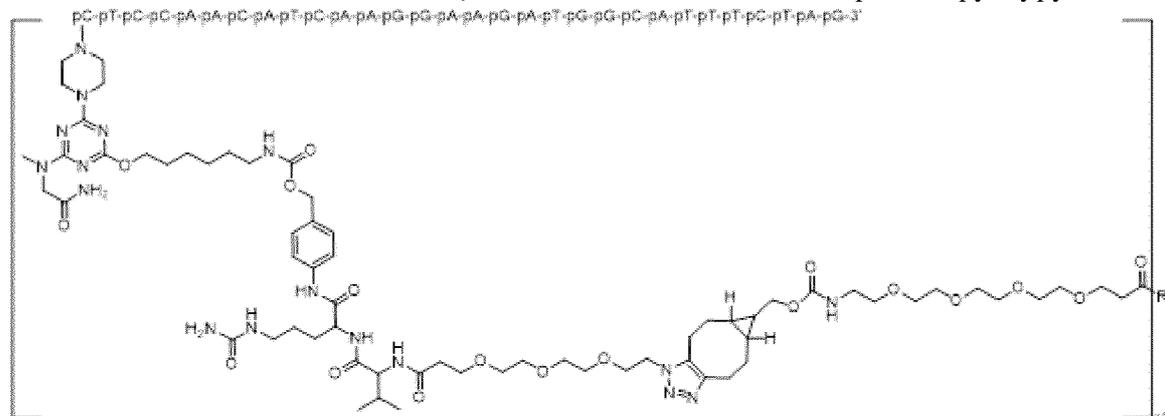
*Горячая точка либо на K188, либо на K190

** в соответствии с нумерацией Kabat

Пример 4. Картирование пептидов для определения участков конъюгации олигонуклеотидов на конъюгатах Fab против TfR1-олигонуклеотид

[000197] Картирование пептидов проводили для определения участков конъюгации конъюгатов против TfR1, содержащих Fab против TfR1, имеющий последовательности

тяжелой и легкой цепей, представленные в таблице 2, ковалентно связанные (посредством конъюгации с лизином) через линкер, содержащий последовательность валин-цитруллин, с олигонуклеотидом для пропуска экзона 51 (DMD). Олигонуклеотид для пропуска экзона 51 представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO) и содержит последовательность оснований SEQ ID NO: 21. Конъюгаты содержат структуру:



(Id), где R^2 представляет собой Fab против TfR1, представленный в таблице 2, и где в каждом конъюгате $n1$ независимо представляет собой целое число 1-5.

Расщепление папаином

[000198] Олигонуклеотиды отщепляли от конъюгатов против TfR1 посредством расщепления папаином. Имобилизованный папаин Thermo Scientific (P/N: 20341) активировали перед расщеплением путем добавления 0,5 мл 50% взвеси к 4 мл свежеприготовленного буфера для активации папаина (20 мМ фосфат натрия, 10 мМ EDTA, 20 мМ цистеин, pH 7,0). Смолу с папаином тщательно перемешивали и центрифугировали при 3000 gcf в течение 5 минут для осаждения смолы. Супернатант сливали и промывание повторяли второй раз. После двух промываний папаин ресуспендировали до 50% взвеси путем добавления 250 мкл буфера для активации папаина. Конъюгаты против TfR1 подвергали замене буфера на буфер для расщепления папаином (20 мМ фосфат натрия, 10 мМ EDTA, pH 7,0) с использованием колонок для обессоливания Thermo Scientific Zeba (P/N: 89882). Перед добавлением конъюгата колонки уравнивали 0,3 мл буфера 3 раза. 40 мкл конъюгата в концентрации по меньшей мере 8 мг/мл добавляли к 100 мкл уравновешенной иммобилизованной смолы с папаином. Образцы инкубировали при 40°C в течение 1 часа при встряхивании при 1400 об/мин. После инкубации смолу с папаином удаляли добавлением каждого образца в фильтрующую пробирку и кратковременным центрифугированием до тех пор, пока весь жидкий образец не отфильтровывался. Другой набор колонок Zeba уравнивали водой категории LC-MS, 3×300 мкл. В каждую колонку добавляли 100 мкл расщепленного папаином конъюгата и центрифугировали при 1500 gcf в течение 3 минут для замены буфера. 40 мкл материала разбавляли до объема 50 мкл водой LC-MS. Полное расщепление олигонуклеотида наблюдалось во всех образцах.

[000199] Спектр масс для интактной массы несвязанного антитела против TfR1 представлен на фиг.2. Интактная масса несвязанного антитела составляет 47968,73 Да при определении посредством масс-спектрометрии и согласуется с теоретической массой

антитела с посттрансляционной модификацией (PTM), которая конвертировала первый остаток (Q) тяжелой цепи в пироглутамат, который имеет размер 47968,01 Да (теоретическая масса антитела без PTM составляет 47924,39 Да). Спектр масс, демонстрирующий массы комплексов антитело против TfR1-линкер в композициях, описанных в настоящем описании, после расщепления олигонуклеотидов посредством расщепления папаином представлен на фиг.3. Было выявлено пять основных пиков, и каждый соответствует соотношению линкера и антитела (LAR) 1-5. Рядом с каждым пиком представлена масса комплекса антитело против TfR1-линкер, которая равна массе интактного антитела (с пироглутаматом PTM) (47968,01 Да) плюс масса линкера (~927,07 Да на линкер). Экспериментальные массы комплексов, определенные посредством масс-спектрометрии, представлены на фиг.3. Комплекс антитело против TfR1-линкер с LAR 1 имеет экспериментальную массу 48894,82, которая согласуется с теоретической массой 48895,08. Комплекс антитело против TfR1-линкер с LAR 2 имеет экспериментальную массу 49822,45, которая согласуется с теоретической массой 49822,15. Комплекс антитело против TfR1-линкер с LAR 3 имеет экспериментальную массу 50749,37, которая согласуется с теоретической массой 50749,22. Комплекс антитело против TfR1-линкер с LAR 4 имеет экспериментальную массу 51676,91, которая согласуется с теоретической массой 51676,29. Комплекс антитело против TfR1-линкер с LAR 5 имеет экспериментальную массу 52603,09, которая согласуется с теоретической массой 52603,36.

Расщепление химотрипсином

[000200] Конъюгаты антитело против TfR1-линкер с отщепленными олигонуклеотидами расщепляли иммобилизованным химотрипсином. 15 мкл смолы с химотрипсином Thermo SMART (набор P/N: 60109104MBLPH) добавляли в пробирку Eppendorf. Добавляли 150 мкл буфера Chymotrypsin Smart Digest Buffer. Добавляли 50 мкл образца конъюгата антитело против TfR1-линкер, полученного после расщепления папаином. Термоблок устанавливали на 70°C и перемешивание при 1400 об/мин и инкубировали в течение 2,5 часов. После инкубации смолу с папаином удаляли добавлением каждого образца в фильтрующую пробирку и кратковременным центрифугированием до тех пор, пока жидкий образец не отфильтровывался. Получали исходный раствор 500 мМ трис(2-карбоксиитил)фосфина (ТСЕР) в воде. Исходный раствор добавляли к расщепленному образцу до конечной концентрации 20 мМ ТСЕР и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре для восстановления дисульфидов. Образцы концентрировали посредством Speed vac до тех пор, пока общий объем образца не достигал приблизительно 100 мкл. Затем 25 мкл образца пептида (приблизительно 10 мкг общего пептида) инжестировали в масс-спектрометр для анализа с целью картирования пептидов. Все продукты расщепления химотрипсином имели 100% охват последовательности (данные не представлены) и расщепленные папаином линкеры были идентифицированы во всех группах конъюгатов. Затем определяли количество олигонуклеотидов на тяжелую и легкую цепи антител.

[000201] Обобщение процентной занятости олигонуклеотида на линкерный участок

представлено ниже в таблице 7. "Горячими" участками линкера были лизин 188 (K188) и лизин 190 (K190) в константных областях легкой цепи в композициях в соответствии нумерацией Kabat. В совокупности, 85-95% остатков лизина, соответствовавших K188 и K190, были ковалентно связаны с олигонуклеотидом. Другим важным линкерным участком был лизин 213 (K213) в константных областях тяжелой цепи в композициях, поскольку приблизительно 15-20% остатков лизина, соответствующих K213 были ковалентно связаны с олигонуклеотидом.

Таблица 7.

Участок**	% занятость на участок линкера
K13 вариабельной области тяжелой цепи	~5%
K43 вариабельной области тяжелой цепи	~2%
K64 вариабельной области тяжелой цепи	N/A
K81 вариабельной области тяжелой цепи	~2-5%
K117 константной области тяжелой цепи	N/A
K213 константной области тяжелой цепи	~15-40%
K218 константной области тяжелой цепи	N/A
K221/K222 константной области тяжелой цепи	~10%
K228 константной области тяжелой цепи	N/A
K39 вариабельной области легкой цепи	~2%
K107 вариабельной области легкой цепи	~5%

К126 константной области легкой цепи	~5%
К145 константной области легкой цепи	~5%
К188 константной области легкой цепи	85-95% (включает комплексы, в которых К188 связан, в которых К189 связан и в которых как К188, так и К190 связаны)*
К190 константной области легкой цепи	
К207 константной области легкой цепи	3%

*Горячая точка либо на К188, либо на К190

** в соответствии с нумерацией Kabat

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Композиция, содержащая множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (К) антитела,

где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи,

и где по меньшей мере 80% константных областей легких цепей антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем К190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

2. Композиция согласно варианту осуществления 1, где по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем К213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

3. Композиция, содержащая множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (К) антитела,

где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи,

где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела.

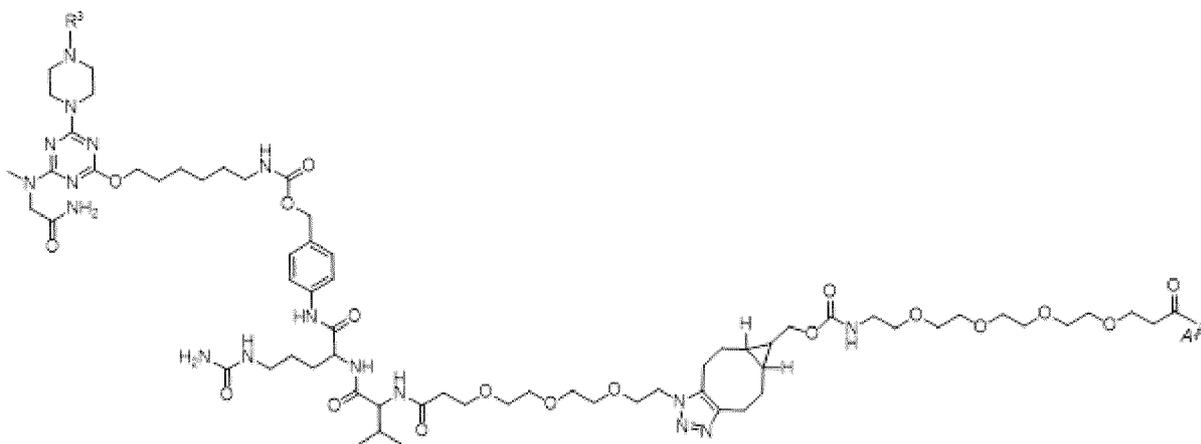
4. Композиция согласно варианту осуществления 3, где по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

5. Композиция согласно любому из вариантов 1-4, где антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16.

6. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-4, где антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 37, 43 или 48, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 38, 44 или 49, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 39, 45 или 50, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 40, 46, 51, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 41 или 47, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 42 или 52.

7. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-6, где олигонуклеотид представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO).

8. Композиция, содержащая множество комплексов формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 независимо содержит группу формулы (Ia):



(Ia),

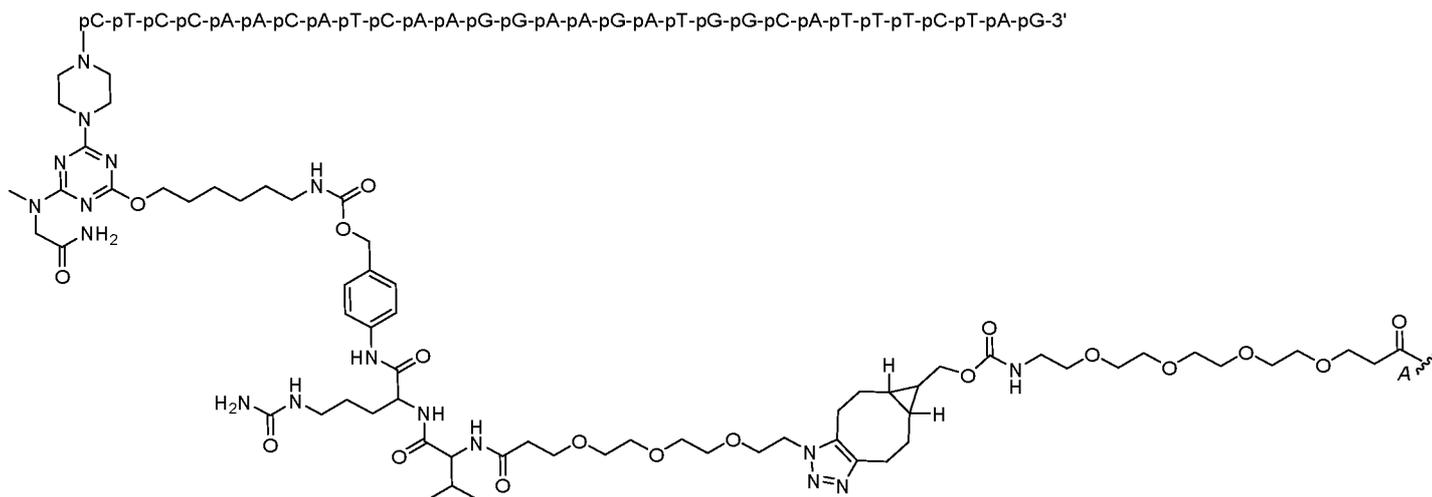
R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи, и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16;

R^3 содержит фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность нуклеиновых оснований
 CTCGAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21);

где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R^1 , необязательно где средняя величина n1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

9. Композиция, содержащая множество комплексов формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 независимо содержит группу формулы (Ib):



(Ib),

в которой -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG (SEQ ID NO: 21);

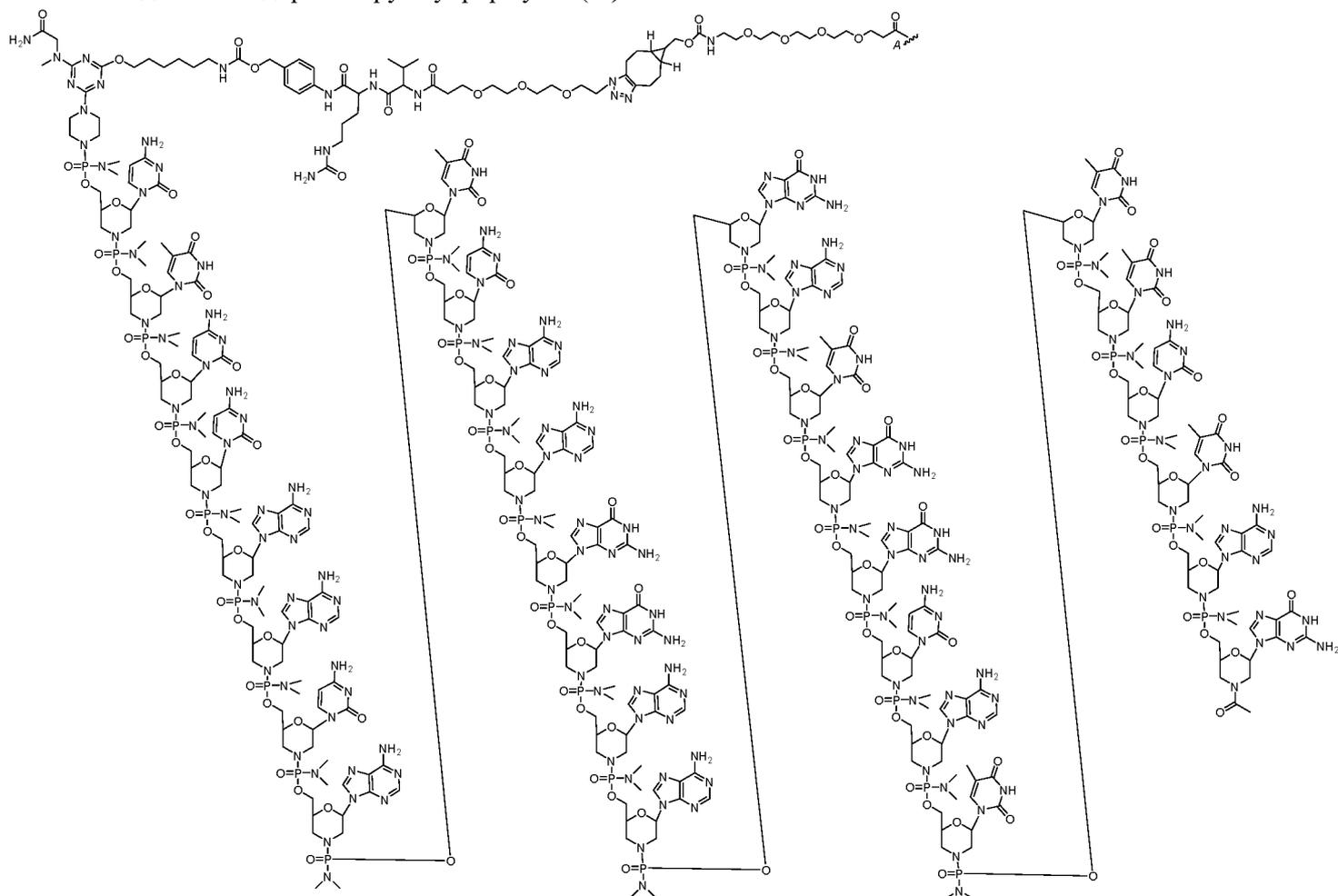
R² содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и

где каждый R¹ ковалентно связан в точке присоединения A с R² через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹, и необязательно где средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

10. Композиция, содержащая множество комплексов формулы (I): [R¹]_{n1}-R², где

каждый R^1 содержит группу формулы (Ic):



(Ic),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и

где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в

композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R^1 , и необязательно где средняя величина $n1$ комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

11. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 8-10, где 85%-95% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

12. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 8-11, где 90-95% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

13. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 8-12, где по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

14. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 8-13, где 15-45% константных областей тяжелой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

15. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-14, где антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент.

16. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-15, где антитело представляет собой Fab-фрагмент.

17. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-16, где VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 17; и/или где VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 18.

18. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-17, где антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

19. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 1-18, где тяжелая

цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

20. Способ способствования экспрессии или активности белка дистрофина у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-19.

21. Способ лечения мышечной дистрофии Дюшенна (DMD) у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-19.

22. Способ согласно варианту осуществления 20 или варианту осуществления 21, где индивидуум имеет мутантный аллель дистрофина, содержащий мутацию, приводящую к пропуску экзона 51.

23. Способ согласно варианту осуществления 22, где мутантный аллель дистрофина содержит мутацию со сдвигом рамки считывания в экзоне 51.

24. Способ согласно любому из вариантов осуществления 20-23, где комплексы способствуют экспрессии или активности белка дистрофина у индивидуума.

25. Способ согласно варианту осуществления 24, где белок дистрофин представляет собой укороченный белок дистрофин.

26. Способ определения диапазона соотношений лекарственного средства и антитела (DAR) в первом множестве комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, причем способ включает:

(i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазой в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами;

(ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i);

(iii) определение масс комплексов, полученных на стадии (ii), посредством масс-спектрометрии; и

(iv) определение диапазона DAR комплексов, полученных на стадии (ii); где масса, определенная посредством масс-спектрометрии, соответствующая массе антитела плюс масса неполных линкеров $n1$, указывает на $DAR\ n1$, где $n1$ представляет собой целое число, составляющее один или более.

27. Способ анализа первого множества комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления

протеазами, где способ включает:

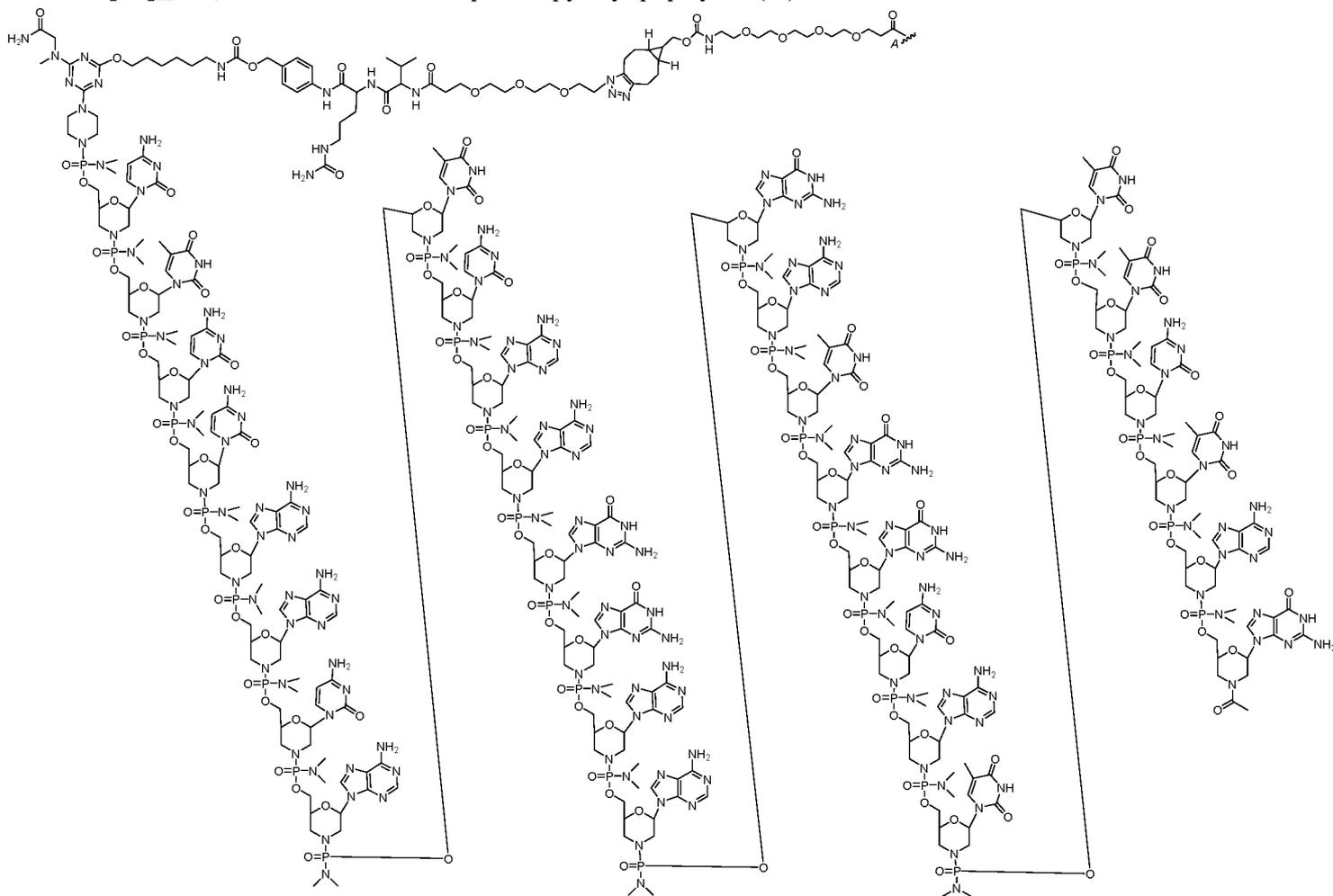
(i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами, и где антитело остается интактным;

(ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i);

(iii) расщепление антител комплексов, полученных на (ii), протеазой с получением фрагментов антител; и

(iv) определение массы фрагментов антител, полученных на стадии (iii), посредством масс-спектрометрии для идентификации фрагментов, ковалентно связанных с одним или несколькими неполными линкерами.

28. Способ согласно варианту осуществления 26 или варианту осуществления 27, где каждый комплекс первого множества комплексов содержит структуру формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 содержит группу формулы (Ic):



(Ic),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и

где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R^1 , и необязательно где средняя величина n1 комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

29. Способ согласно любому из вариантов осуществления 26-28, где расщепление на стадии (i) проводят посредством папаина.

30. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-29, где расщепление на стадии (iii) проводят посредством химотрипсина.

ЭКВИВАЛЕНТЫ И ТЕРМИНОЛОГИЯ

[000202] Изобретение, иллюстративно описанное в настоящем описании, является пригодным для применения на практике в отсутствие любого элемента или элементов, ограничения или ограничений, которые не раскрыты в настоящем описании конкретно. Таким образом, например, в каждом случае в настоящем описании любой из терминов "содержащий", "состоящий по существу из" и "состоящий из" могут быть заменены любым из двух других терминов. Термины и выражения, которые используются, используются для описания, а не для ограничения, и отсутствует умысел при использовании таких терминов и выражений исключить какие-либо эквиваленты показанных и описанных признаков или их частей, однако признается, что в объеме настоящего изобретения являются возможными различные модификации. Таким образом, следует понимать, что, хотя настоящее изобретение конкретно раскрыто посредством предпочтительных вариантов

осуществления, специалисты в данной области могут прибегнуть к необязательным признакам, модификации и варьированию идей, раскрытых в настоящем описании, и что такие модификации и варьирование считаются входящими в объем настоящего изобретения.

[000203] Кроме того, когда признаки или аспекты изобретения описаны с помощью групп Маркуша или других групп альтернатив, специалистам в данной области будет понятно, что изобретение тем самым также описывается с точки зрения любого индивидуального представителя или подгруппы представителей группы Маркуша или другой группы.

[000204] Должно быть понятно, что в некоторых вариантах осуществления последовательности, приведенные в списке последовательностей, могут упоминаться при описании структуры олигонуклеотида или другой нуклеиновой кислоты. В таких вариантах осуществления фактический олигонуклеотид или другая нуклеиновая кислота могут иметь один или несколько альтернативных нуклеотидов (например, РНК-аналог ДНК-нуклеотида или ДНК-аналог РНК-нуклеотида) и/или (например, и) один или несколько модифицированных нуклеотидов и/или (например, и) одну или несколько модифицированных межнуклеозидных связей и/или (например, и) одну или несколько других модификаций по сравнению с указанной последовательностью при сохранении по существу тех же или сходных свойств комплементарности, что и у указанной последовательности.

[000205] Использование формы единственного числа в контексте описания изобретения (особенно в контексте формулы изобретения) следует считать охватывающим как единственное число, так и множественное число, если в настоящем описании нет иных указаний или если контекст этому явно не противоречит. Термины "содержащий", "имеющий", "включающий" и "вмещающий" следует считать открытыми терминами (т.е. означающими "включающий, но не ограничивающийся ими"), если нет иных указаний. Упоминание диапазонов величин в настоящем описании предназначено только для того, чтобы служить в качестве упрощенного способа указания индивидуально на каждую отдельную величину, входящую в диапазон, если в настоящем описании нет иных указаний, и каждая отдельная величина включена в описание, как если бы она была индивидуально указана в настоящем описании. Все способы, описанные в настоящем описании, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если в настоящем описании нет иных указаний или контекст этому явно не противоречит. Использование любых и всех примеров или иллюстративных формулировок (например, "такой как") в настоящем описании предназначено только для лучшего освещения изобретения и не ограничивает объем изобретения, если иное не указано. Никакая формулировка в описании не должна быть истолкована как указывающая на какой-либо не заявленный в формуле изобретения элемент как необходимый для применения изобретения на практике.

[000206] Варианты осуществления настоящего описаны в настоящем описании. Отклонения от этих вариантов осуществления могут стать очевидными специалисту в

данной области при прочтении вышеуказанного описания.

[000207] Авторы изобретения ожидают, что специалисты в данной области будут использовать такие отклонения в соответствующих случаях, и авторы изобретения предполагают, что изобретение будет применяться на практике иначе, чем конкретно описано в настоящем описании. Таким образом, настоящее изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта, указанные в прилагаемой формуле изобретения в качестве допустимых применяемым правом. Более того, любая комбинация описанных выше элементов во всех возможных вариантах охватывается изобретением, если в настоящем описании нет иных указаний или если контекст этому явно не противоречит. Специалистам в данной области будет понятно, или они способны установить с использованием не более чем рутинного экспериментирования, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем описании. Подразумевается, что такие эквиваленты охватываются приведенной ниже формулой изобретения.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела,

где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи,

и где по меньшей мере 80% константных областей легких цепей антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

2. Композиция по п. 1, где по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

3. Композиция, содержащая множество комплексов, где каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами, причем каждый олигонуклеотид ковалентно связан в участках присоединения, соответствующих остатку лизина (K) антитела,

где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи,

где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участках присоединения, соответствующих остаткам лизина (K) в мотиве с последовательностью DYEKHKVYA (SEQ ID NO: 53) константной области легкой цепи каждого антитела.

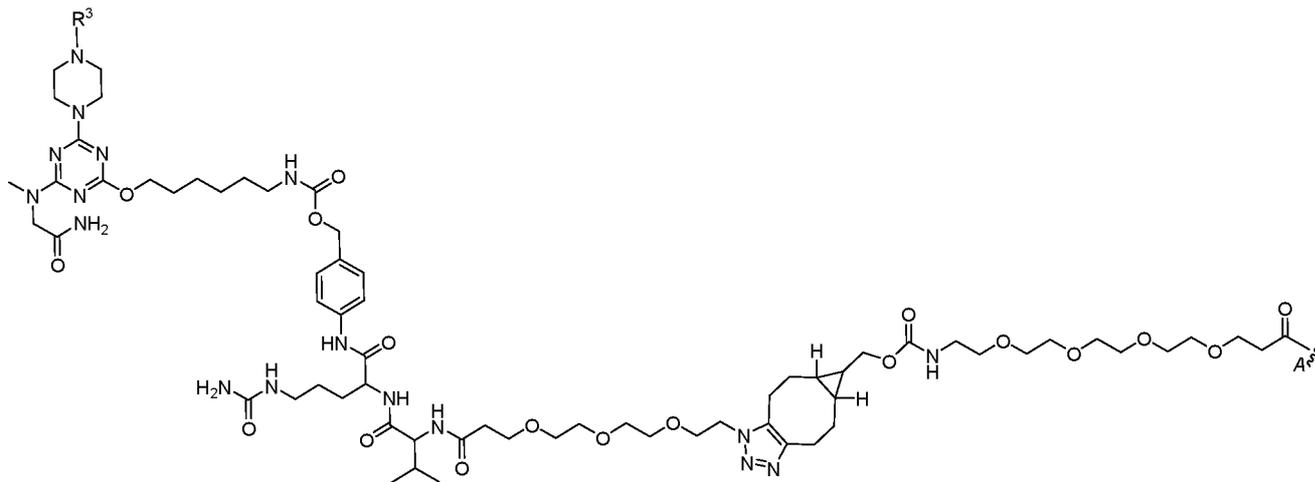
4. Композиция по п. 3, где по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с олигонуклеотидом в участке присоединения, соответствующем остатку лизина (K) в мотиве с последовательностью VNHKPSN (SEQ ID NO: 58) в константной области тяжелой цепи каждого антитела.

5. Композиция по любому из пп. 1-4, где антитело представляет собой антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1

легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16.

6. Композиция по любому из пп. 1-5, где олигонуклеотид представляет собой фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO).

7. Композиция, содержащая множество комплексов формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 независимо содержит группу формулы (Ia):



(Ia),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16;

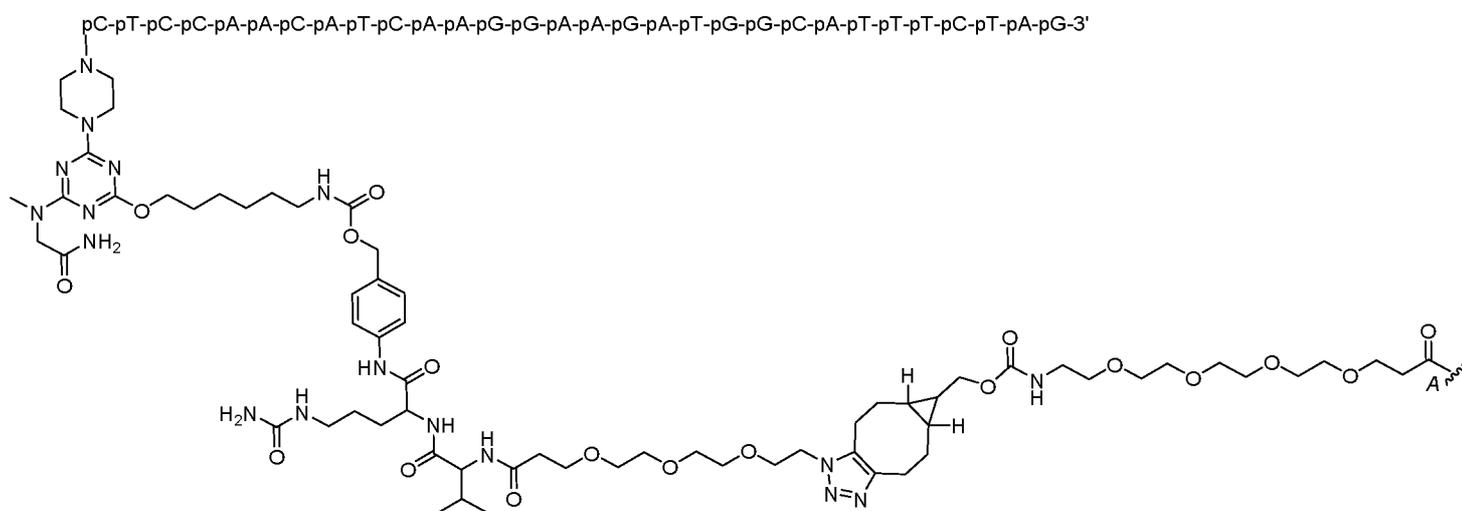
R^3 содержит фосфородиамидат морфолино олигомер (PMO), содержащий последовательность нуклеиновых оснований CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTCTAG (SEQ ID NO: 21);

где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по

меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R¹ в участке присоединения, соответствующем К188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем К190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе n1 независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R¹, необязательно где средняя величина n1 комплексов в композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

8. Композиция, содержащая множество комплексов формулы (I): [R¹]_{n1}-R², где каждый R¹ независимо содержит группу формулы (Ib):



(Ib),

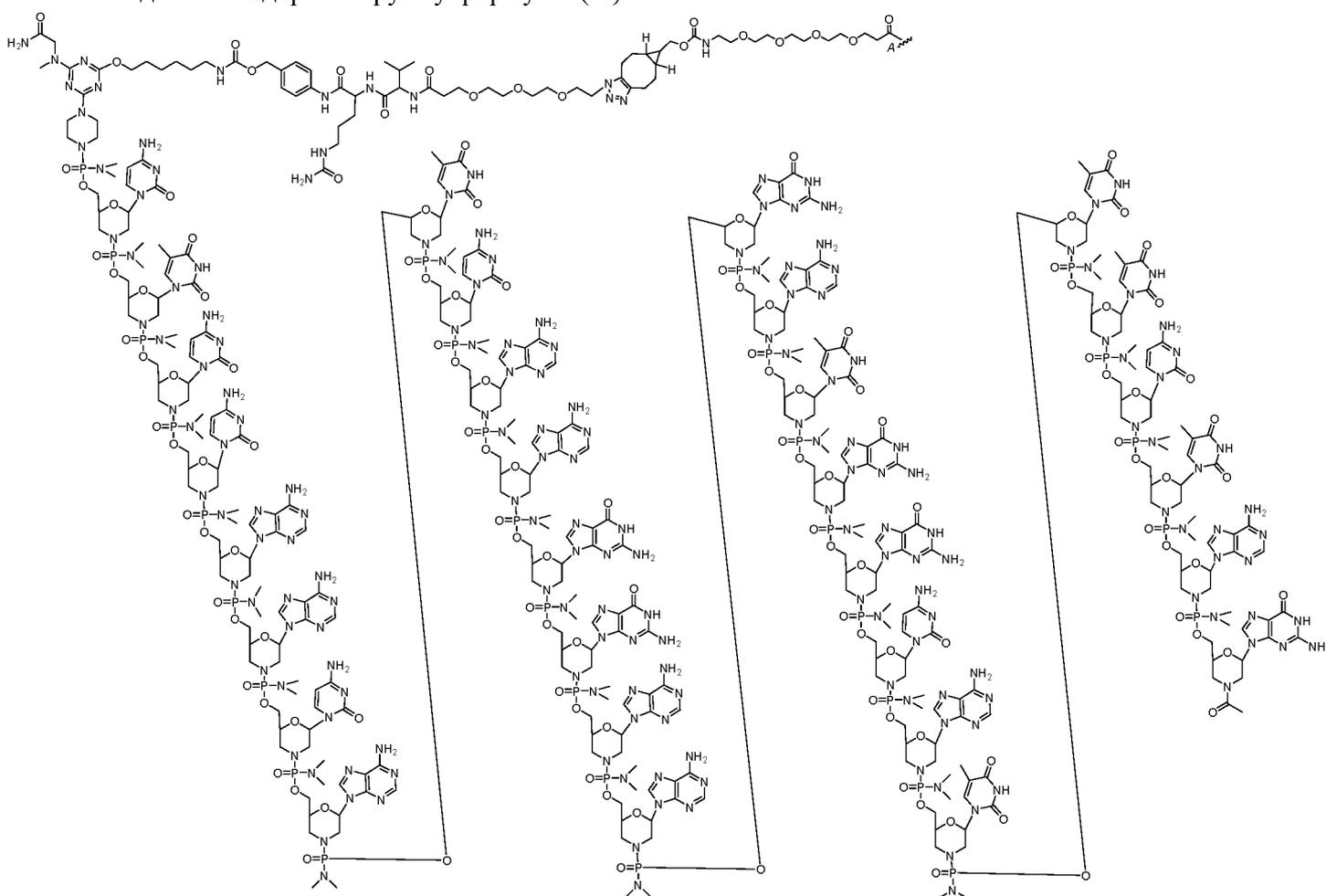
в которой -р представляет собой фосфородиамидатную связь фосфородиамидат морфолино олигомера (PMO), и где PMO содержит последовательность оснований СТССААСАТСААГГААГАТГГСАТТТСТАГ (SEQ ID NO: 21);

R² содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и

где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R^1 , и необязательно где средняя величина $n1$ комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

9. Композиция, содержащая множество комплексов формулы (I): $[R^1]_{n1}-R^2$, где каждый R^1 содержит группу формулы (Ic):



(Ic),

R^2 содержит антитело против рецептора трансферрина (TfR1), содержащее тяжелую цепь, содержащую варибельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи, и легкую цепь, содержащую варибельную область легкой цепи (VL) и константную область легкой цепи; и где антитело против TfR1 содержит: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 1, 7 или 12, определяющую комплементарность область 2

тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 2, 8 или 13, определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 3, 9 или 14, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 4, 10 или 15, определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 5 или 11, и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую последовательность, как указано под SEQ ID NO: 6 или 16; и

где каждый R^1 ковалентно связан в точке присоединения A с R^2 через участок присоединения, соответствующий остатку лизина (K) антитела против TfR1, и где по меньшей мере 80% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела; и

где в каждом комплексе $n1$ независимо представляет собой целое число, равное одному или более, соответствующее количеству случаев R^1 , и необязательно где средняя величина $n1$ комплексов композиции находится в диапазоне от 1 до 5.

10. Композиция по любому из пп. 7-9, где 85%-95% константных областей легкой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K188 (в соответствии с нумерацией Kabat), и/или участке присоединения, соответствующем K190 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области легкой цепи каждого антитела.

11. Композиция по любому из пп. 7-10, где по меньшей мере 15% константных областей тяжелой цепи антител против TfR1 комплексов в композиции независимо ковалентно связаны с R^1 в участке присоединения, соответствующем K213 (в соответствии с нумерацией Kabat) константной области тяжелой цепи каждого антитела.

12. Композиция по любому из пп. 1-11, где антитело представляет собой Fab-фрагмент, полноразмерный IgG, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент, необязательно где антитело представляет собой Fab-фрагмент.

13. Композиция по любому из пп. 1-12, где VH содержит аминокислотная последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 17; и/или где VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную SEQ ID NO: 18, необязательно где VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

14. Композиция по любому из пп. 1-13, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

15. Способ способствования экспрессии или активности белка дистрофина у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции

по любому из пп. 1-14.

16. Способ лечения мышечной дистрофии Дюшенна (DMD) у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по любому из пп. 1-14.

17. Способ по п.15 или п.16, где индивидуум имеет мутантный аллель дистрофина, содержащий мутацию, приводящую к пропуску экзона 51.

18. Способ по п. 17, где мутантный аллель дистрофина содержит мутацию со сдвигом рамки считывания в экзоне 51.

19. Способ по любому из пп. 15-18, где комплексы способствуют экспрессии или активности белка дистрофина у индивидуума.

20. Способ по п.19, где белок дистрофин представляет собой укороченный белок дистрофин.

21. Способ определения диапазона соотношений лекарственного средства и антитела (DAR) для первого множества комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, при этом способ включает:

(i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазой в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами;

(ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i);

(iii) определение масс комплексов, полученных на стадии (ii), посредством масс-спектрометрии; и

(iv) определение диапазона DAR комплексов, полученных на стадии (ii); где масса, определенная посредством масс-спектрометрии, соответствующая массе антитела плюс масса неполных линкеров $n1$, указывает на $DAR\ n1$, где $n1$ представляет собой целое число, составляющее один или более.

22. Способ анализа первого множества комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими олигонуклеотидами через линкер, где каждый линкер содержит один или несколько участков расщепления протеазами, при этом способ включает:

(i) отделение одного или нескольких олигонуклеотидов от антител, с которыми они ковалентно связаны, в первом множестве комплексов путем расщепления по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления протеазами в линкере, где расщепление по меньшей мере в одном из одного или нескольких участков расщепления

протеазами в линкере приводит к второму множеству комплексов, причем каждый комплекс содержит антитело, ковалентно связанное с одним или несколькими неполными линкерами, и где антитело остается интактным;

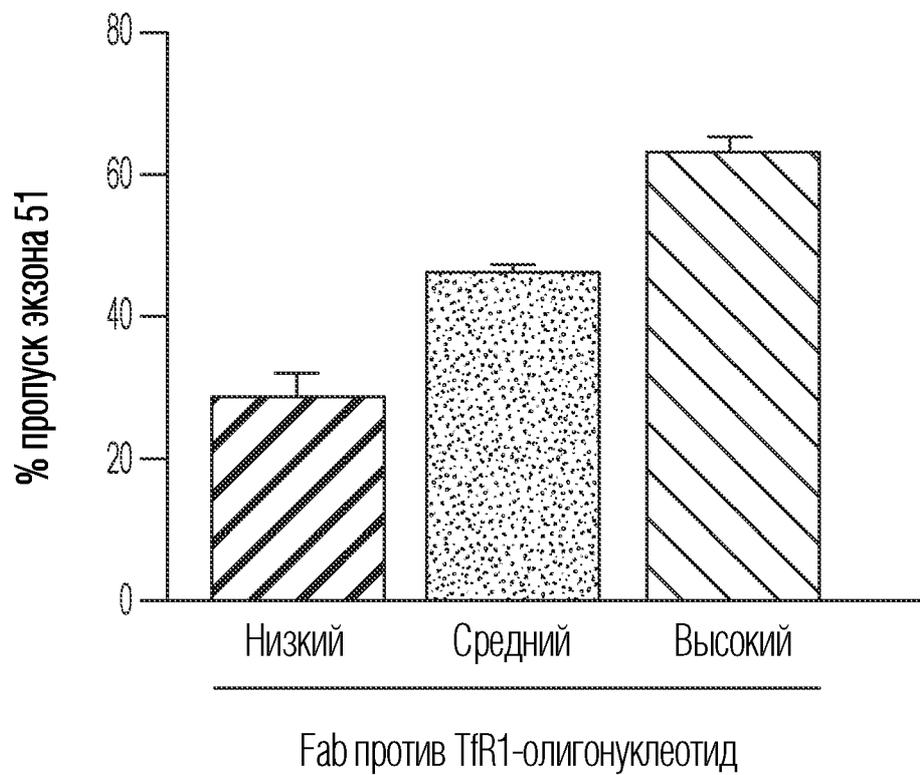
(ii) получение второго множества комплексов, образовавшихся в результате стадии (i);

(iii) расщепление антител комплексов, полученных на (ii), протеазой с получением фрагментов антител; и

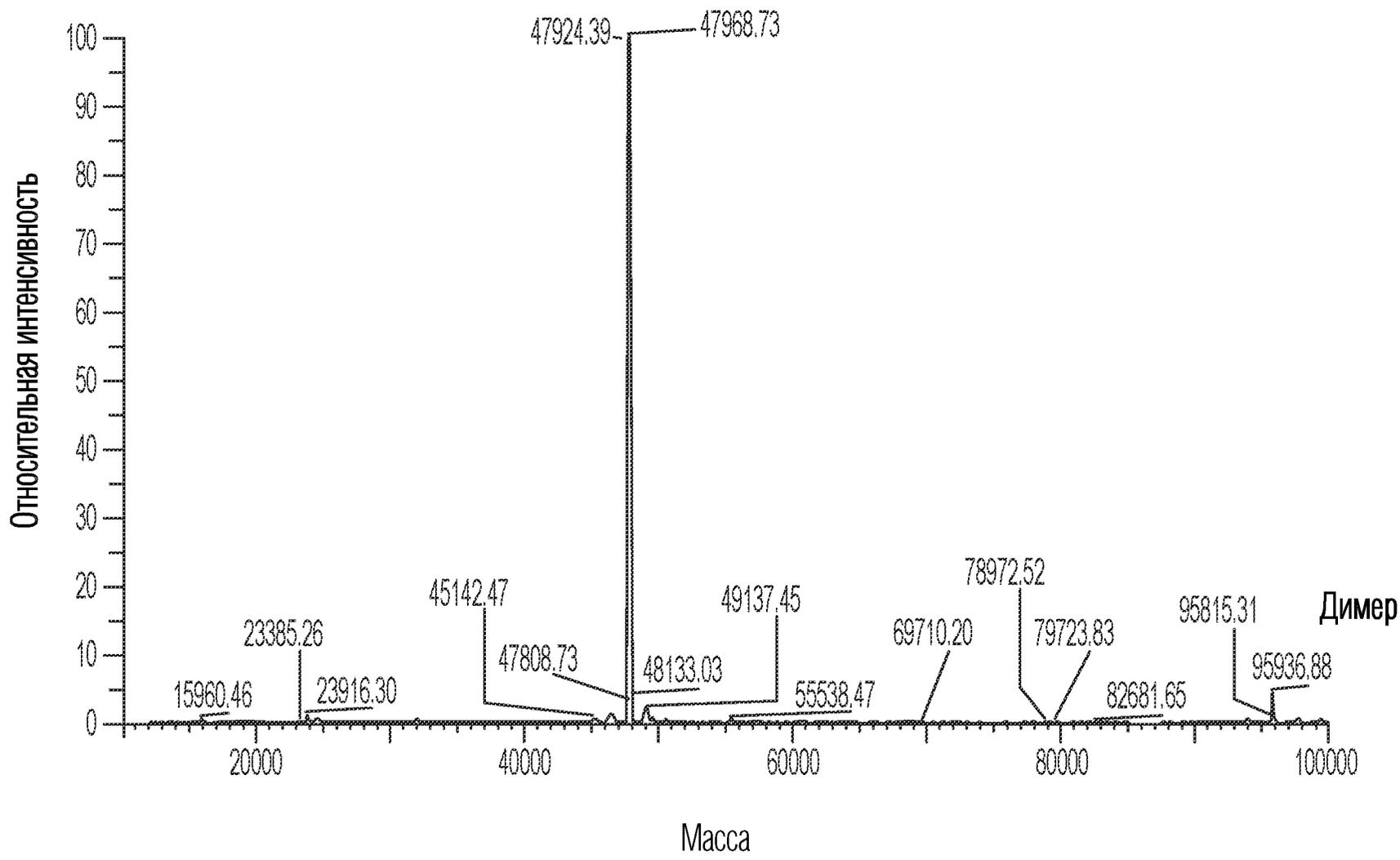
(iv) определение массы фрагментов антител, полученных на стадии (iii), посредством масс-спектрометрии для идентификации фрагментов, ковалентно связанных с одним или несколькими неполными линкерами.



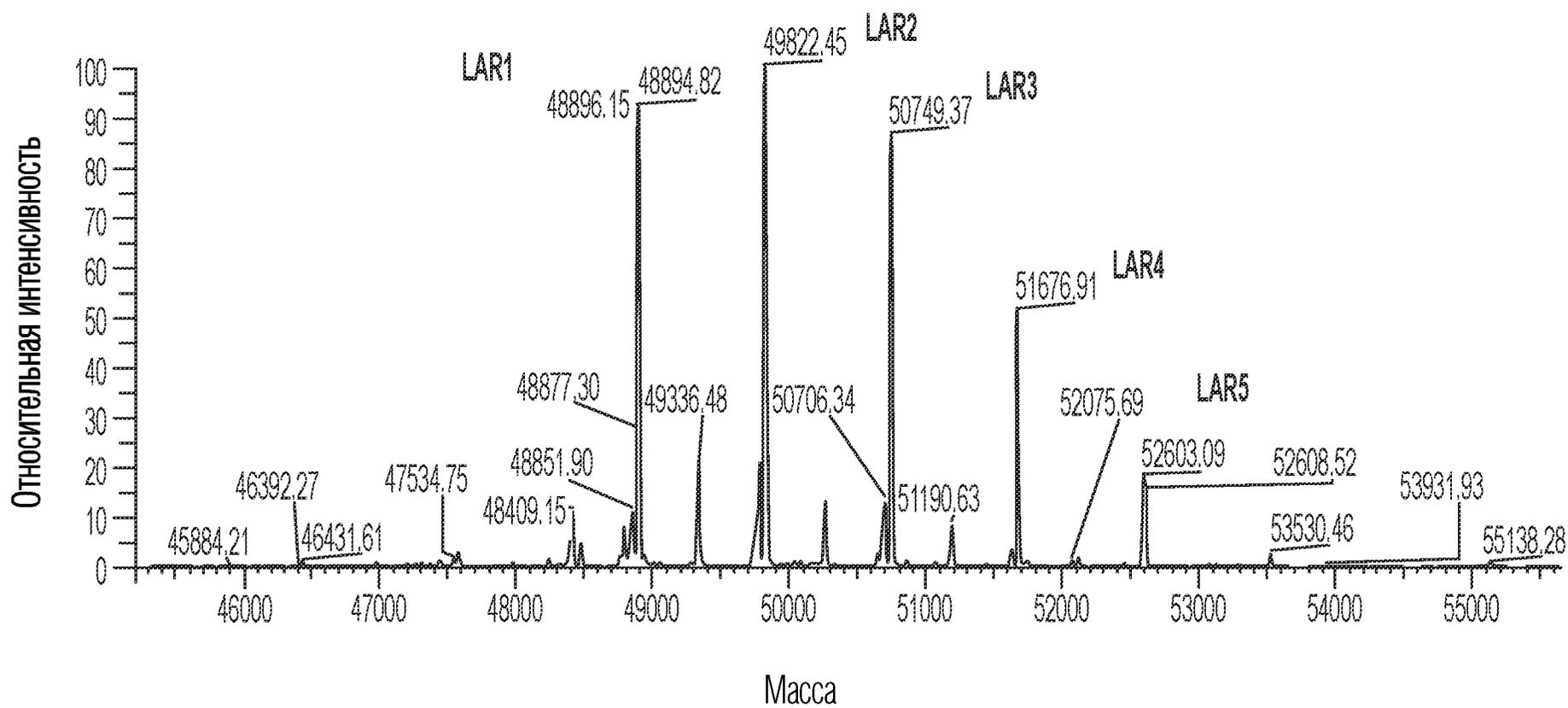
ФИГ. 1А



ФИГ. 1В



ФИГ. 2



ФИГ. 3