(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0014705
(43) 공개일자 2023년01월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6883 (2018.01) *A61K 31/7105* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2022.01)
A61K 31/7105 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7041165
(22) 출원일자(국제) 2021년04월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년11월23일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2021/053353
(87) 국제공개번호 WO 2021/214720
국제공개일자 2021년10월28일
(30) 우선권주장
63/014,633 2020년04월23일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
주식회사 바이오오케스트라
대전광역시 유성구 과학로 125, 바이오벤처센터 116호, 216호(어은동, 한국생명공학연구원)
(72) 발명자
류진협
대전광역시 중구 계룡로 922
김대훈
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

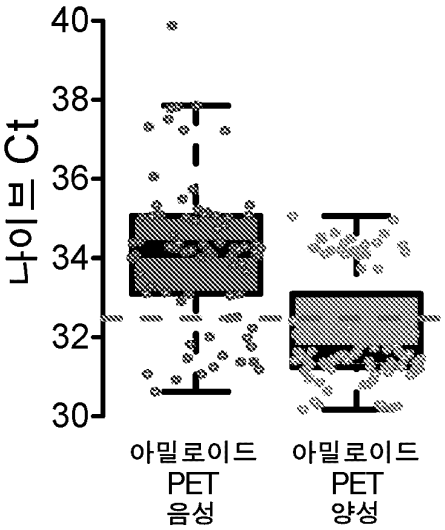
전체 청구항 수 : 총 108 항

(54) 발명의 명칭 **MIR-485-3P 발현을 사용하는 진단 방법**

(57) 요 약

본 개시내용은 인지 장애를 앓고 있는 대상체를 식별하기 위한 miR-485-3p 발현의 용도에 관한 것이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 방법은 miR-485-3p 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하고, 여기서 miR-485-3p 억제제는 인지 장애를 치료할 수 있다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
A61P 25/28 (2018.01)
C12Q 2537/165 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)
C12Q 2600/178 (2013.01)

(72) 발명자
민재웅
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호
박병규
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호
민현수
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호
임유나
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호

(30) 우선권주장
63/047,206 2020년07월01일 미국(US)
63/064,305 2020년08월11일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인지 장애를 앓고 있는 인간 대상체의 식별 방법으로서, 상기 대상체의 상피 세포 또는 혈청에서 유래된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 세포외 소포인, 방법.

청구항 3

인지 장애를 앓고 있는 대상체의 식별 방법으로서, 상기 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준을 측정하는 단계를 포함하되, 상기 생물학적 샘플이 세포외 소포를 포함하는 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 상기 대상체의 상피 세포로부터 수득되는, 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 상피 세포가 구강 점막 상피 세포인, 방법.

청구항 6

제 3 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 상기 대상체의 혈청으로부터 수득되는, 방법.

청구항 7

제 2 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 미세소포를 포함하는, 방법.

청구항 8

제 2 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 엑소좀을 포함하는, 방법.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p의 수준이 참조 수준 (*예를 들면*, 인지 장애가 없는 대상체에서 miR-485-3p 발현 수준 또는 상기 대상체에서 인지 장애를 갖기 전의 miR-485-3p 수준)과 비교하여 상기 대상체에서 증가되는, 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 상기 miR-485-3p의 수준이 상기 참조 수준과 비교하여 상기 대상체에서 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 175%, 적어도 약 200%, 적어도 약 225%, 적어도 약 250%, 적어도 약 275%, 또는 적어도 약 300% 이상 증가되는, 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인지 장애를 치료하기 위한 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 12

인지 장애의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 참조 수준 (*예를 들면*, 인지 장애

가 없는 대상체에서 miR-485-3p 발현 수준 또는 상기 대상체에서 인지 장애를 갖기 전의 miR-485-3p 수준)과 비교하여, 상기 대상체의 상피 세포 또는 혈청에서 유래된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 증가된 수준을 갖는 것으로 식별된 인간 대상체에게 상기 인지 장애를 치료하기 위한 요법을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 세포외 소포인, 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 상기 대상체의 상피 세포로부터 수득되는, 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 상피 세포가 구강 점막 상피 세포인, 방법.

청구항 16

제 13 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 상기 대상체의 혈청으로부터 수득되는, 방법.

청구항 17

제 13 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 미세소포를 포함하는, 방법.

청구항 18

제 13 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 엑소좀을 포함하는, 방법.

청구항 19

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플에서 상기 miR-485-3p의 수준이 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 검정을 사용하여 측정되는, 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 상기 PCR 검정이 실시간 PCR을 포함하는, 방법.

청구항 21

제 19 항 또는 제 20 항에 있어서, 상기 측정이 miR-485-3p의 주기 임계 (Ct) 값을 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 22

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에 관하여 추가의 인자를 측정하는 단계를 추가로 포함하되, 상기 추가의 인자가 연령, 성별, 교육 연도 (EDU), 아포지단백질 E (APOE) 유전자형, 미니 정신 상태 검사 (MMSE) 점수, 또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 추가의 인자가 성별 및 교육 연도인, 방법.

청구항 24

제 22 항에 있어서, 상기 추가의 인자가 성별인, 방법.

청구항 25

제 22 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 성별이 남성 또는 여성을 포함하고, 남성은 1의 값과 연관되고 여성은 2의 값과 연관되는, 방법.

청구항 26

제 22 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 APOE 유전자형이 (i) 1의 값과 연관되는 E2/E3, (ii) 1의 값과 연관되는 E3/E3, (iii) 2의 값과 연관되는 E2/E4, (iv) 2의 값과 연관되는 E3/E4, 또는 (v) E4/E4를 포함하는, 방법.

청구항 27

제 22 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 교육 연도가 0 내지 16의 값을 포함하는, 방법.

청구항 28

제 22 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 식:

(나이브 Ct x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$)) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$),

을 사용하여 상기 대상체의 진단 점수를 계산하는 단계를 추가로 포함하되, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 인자와 연관된 회귀 계수 값인, 방법.

청구항 29

제 22 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 식:

(나이브 CT x (연령 x $V1_{연령}$ + $V2_{연령}$)) x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$) x (APOE x $V1_{APOE}$ + $V2_{APOE}$) x (MMSE x $V1_{MMSE}$ + $V2_{MMSE}$) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$),

을 사용하여 상기 대상체의 진단 점수를 계산하는 단계를 추가로 포함하되, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 인자와 연관된 회귀 계수 값인, 방법.

청구항 30

제 22 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 식:

(나이브 CT x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$)),

을 사용하여 상기 대상체의 진단 점수를 계산하는 단계를 추가로 포함하되, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 인자와 연관된 회귀 계수 값인, 방법.

청구항 31

제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정이 상기 생물학적 샘플에 존재하는 miR-485-3p를 증폭시키기 위해 하나 이상의 miR-485-3p 프라이머를 사용하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 32

인지 장애를 앓고 있는 대상체에서 miR-485-3p의 수준의 결정 방법으로서, 상기 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서 상기 miR-485-3p의 수준이 상기 생물학적 샘플에 존재하는 miR-485-3p를 하나 이상의 miR-485-3p 프라이머로 증폭시킴으로써 참조 수준 (*예를 들면*, 인지 장애가 없는 대상체에서 miR-485-3p 발현 수준 또는 상기 대상체에서 인지 장애를 갖기 전의 miR-485-3p 수준)과 비교하여 증가되는지 여부를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 33

제 32 항에 있어서, 상기 miR-485-3p의 수준이 상기 참조 수준과 비교하여 대상체에서 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 175%, 적어도 약 200%, 적어도 약 225%, 적어도 약 250%, 적어도 약 275%, 또는 적어도 약 300% 이상 증가되는, 방법.

청구항 34

제 32 항 또는 제 33 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 조직, 세포, 혈액, 혈청, 타액, 또는 이들의 조합을

포함하는, 방법.

청구항 35

제 32 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 세포외 소포를 포함하는, 방법.

청구항 36

제 35 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 상기 대상체의 상피 세포로부터 수득되는, 방법.

청구항 37

제 36 항에 있어서, 상기 상피 세포가 구강 점막 상피 세포인, 방법.

청구항 38

제 35 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 상기 대상체의 혈청으로부터 수득되는, 방법.

청구항 39

제 35 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 미세소포를 포함하는, 방법.

청구항 40

제 35 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포가 엑소좀을 포함하는, 방법.

청구항 41

제 31 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW1 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 94), miR-485-3p_FW2 (TCATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 95), miR-485-3p_FW3 (CATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 96), miR-485-3p_FW4 (CATACACGGCTCTCCTCTCTA) (서열번호: 97), miR-485-3p_FW5 (CATACACGGCTCTCGTCTC) (서열번호: 98), miR-485-3p_FW6 (CATACACGGCTCTCGTCTCTAA) (서열번호: 99), miR-485-3p_FW7 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 100), miR-485-3p_FW8 (GTCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 101), miR-485-3p_FW9 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA) (서열번호: 52), miR-485-3p_FW10 (GTCATACACGGCTCTCCTCTG) (서열번호: 102), miR-485-3p_FW11 (TCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 103), miR-485-3p_FW12 (TCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 104), miR-485-3p_FW13 (TCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 105), miR-485-3p_FW14 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 106), miR-485-3p_FW15 (ATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 107), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 42

제 41 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW7을 포함하는, 방법.

청구항 43

제 41 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW2를 포함하는, 방법.

청구항 44

제 41 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW1을 포함하는, 방법.

청구항 45

제 41 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW9를 포함하는, 방법.

청구항 46

제 32 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인지 장애를 치료할 수 있는 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 47

제 11 항 내지 제 31 항 및 제 46 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 요법이 miR-485-3p 억제제를 포함하는, 방법.

청구항 48

제 47 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2)를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고 상기 miR-485-3p 억제제는 길이가 약 6 내지 약 30개 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 49

제 47 항 또는 제 48 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열의 '5에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함하고/하거나, 상기 miR-485-3p 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 50

제 47 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2), 5'-GUGUAUGA-3' (서열번호: 3), 5'-CGUGUAUGA-3' (서열번호: 4), 5'-CCGUGUAUGA-3' (서열번호: 5), 5'-GCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 6), 5'-AGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 7), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 8), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 9), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 10), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 11), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 12), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 13), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 14), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 15); 5'-UGUAUGAC-3' (서열번호: 16), 5'-GUGUAUGAC-3' (서열번호: 17), 5'-CGUGUAUGAC-3' (서열번호: 18), 5'-CCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 19), 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 20), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 21), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 22), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 23), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 24), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 25), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 26), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 27), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29), 및 AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC (서열번호: 30)으로 이루어지는 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 51

제 47 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 62), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 63), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 64), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 65), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 66), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 67), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 68), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 69), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 70), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 71), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 72), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 73), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 74), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 75); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 76), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 77), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 78), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 79), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 80), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 81), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 82), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 83), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 84), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 85), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 86), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 87), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 89), 및 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 90)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는, 방법.

청구항 52

제 47 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 53

제 52 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)에 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 54

제 52 항 또는 제 53 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 상기 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)를 포함하는, 방법.

청구항 55

제 52 항 또는 제 53 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)를 포함하는, 방법.

청구항 56

제 55 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30)를 포함하는, 방법.

청구항 57

제 47 항 내지 제 56 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 58

제 57 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드가 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 펩티드 핵산 (PNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 59

제 47 항 내지 제 57 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 백본 변형을 포함하는, 방법.

청구항 60

제 59 항에 있어서, 상기 백본 변형이 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형을 포함하는, 방법.

청구항 61

제 47 항 내지 제 60 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 바이러스성 벡터에 의해 전달되는, 방법.

청구항 62

제 61 항에 있어서, 상기 바이러스성 벡터가 AAV, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 또는 렌티바이러스인, 방법.

청구항 63

제 62 항에 있어서, 상기 바이러스성 벡터가 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는

이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV인, 방법.

청구항 64

제 47 항 내지 제 60 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 억제제가 전달 제제와 함께 전달되는, 방법.

청구항 65

제 64 항에 있어서, 상기 전달 제제가 미셀, 엑소좀, 지질 나노입자, 세포외 소포, 합성 소포, 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 접합체, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 66

제 64 항 또는 제 65 항에 있어서, 상기 전달 제제가

[WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

또는

[WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

을 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하되,

식중

WP는 수용성 중합체 모이어티이고;

CC는 양이온성 담체 모이어티이고;

AM은 보조제 모이어티이고;

L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커인, 방법.

청구항 67

제 66 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제 및 상기 양이온성 담체 단위체가 함께 혼합된 경우 미셀을 형성하기 위해 서로 회합할 수 있는, 방법.

청구항 68

제 67 항에 있어서, 상기 회합이 공유 결합을 통해 이루어지는, 방법.

청구항 69

제 67 항에 있어서, 상기 회합이 비-공유 결합을 통해 이루어지는, 방법.

청구항 70

제 69 항에 있어서, 상기 비-공유 결합이 이온성 결합을 포함하는, 방법.

청구항 71

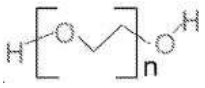
제 66 항 내지 제 70 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체 모이어티가 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 72

제 66 항 내지 제 71 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체 모이어티가 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함하는, 방법.

청구항 73

제 66 항 내지 제 72 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체 모이어티가



, (화학식 I),

을 포함하되, 식중 n은 1-1000인, 방법.

청구항 74

제 73 항에 있어서, 상기 n이 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141인, 방법.

청구항 75

제 73 항에 있어서, 상기 n이 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 약 150 내지 약 160인, 방법.

청구항 76

제 66 항 내지 제 75 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체 모이어티가 선형, 분지형, 또는 수지상인, 방법.

청구항 77

제 66 항 내지 제 76 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 78

제 77 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 적어도 약 20, 적어도 약 21, 적어도 약 22, 적어도 약 23, 적어도 약 24, 적어도 약 25, 적어도 약 26, 적어도 약 27, 적어도 약 28, 적어도 약 29, 적어도 약 30, 적어도 약 31, 적어도 약 32, 적어도 약 33, 적어도 약 34, 적어도 약 35, 적어도 약 36, 적어도 약 37, 적어도 약 38, 적어도 약 39, 적어도 약 40, 적어도 약 41, 적어도 약 42, 적어도 약 43, 적어도 약 44, 적어도 약 45, 적어도 약 46, 적어도 약 47, 적어도 약 48, 적어도 약 49, 또는 적어도 약 50개 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 79

제 78 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 약 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 80

제 77 항 내지 제 79 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 염기성 아미노산이 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 81

제 77 항 내지 제 80 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 약 40개 라이신 단량체를 포함하는, 방법.

청구항 82

제 66 항 내지 제 81 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조

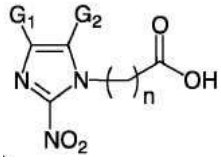
직 미세환경을 조절할 수 있는, 방법.

청구항 83

제 66 항 내지 제 82 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 84

제 83 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가



, (화학식 II),

을 포함하되, 식중 G1 및 G2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G1 및 G2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10인, 방법

청구항 85

제 83 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 니트로이미다졸을 포함하는, 방법.

청구항 86

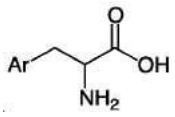
제 83 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 87

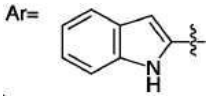
제 66 항 내지 제 83 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 아미노산을 포함하는, 방법.

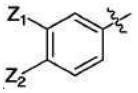
청구항 88

제 87 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가



(화학식 III),



을 포함하되, 식중 Ar은 또는  이고,

Z1 및 Z2의 각각은 H 또는 OH인, 방법.

청구항 89

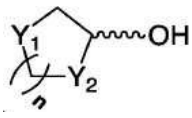
제 66 항 내지 제 88 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 비타민을 포함하는, 방법.

청구항 90

제 89 항에 있어서, 상기 비타민이 환식 고리 또는 환식 헤테로 원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함하는, 방법.

청구항 91

제 89 항 또는 제 90 항에 있어서, 상기 비타민이



(화학식 IV),

을 포함하되, 식중 Y1 및 Y2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, n은 1 또는 2인 방법.

청구항 92

제 89 항 내지 제 91 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 93

제 92 항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 B3인, 방법.

청구항 94

제 93 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3을 포함하는, 방법.

청구항 95

제 95 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 약 10개 비타민 B3을 포함하는, 방법.

청구항 96

제 64 항 내지 제 95 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전달 제제가 약 120 내지 약 130 PEG 단위체를 가진 약 수용성 생체고분자 모이어티, 약 30 내지 약 40개 라이신을 가진 폴리-라이신을 포함하는 양이온성 담체 모이어티, 및 약 5 내지 약 10개 비타민 B3를 가진 보조제 모이어티를 포함하는, 방법.

청구항 97

제 64 항 내지 제 96 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전달 제제가 상기 miR-485-3p 억제제와 회합되고, 이에 의해 미셀을 형성하는, 방법.

청구항 98

제 97 항에 있어서, 상기 회합이 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합인, 방법.

청구항 99

제 97 항 또는 제 98 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 단위체의 양전하 및 상기 miR-485-3p 억제제의 음전하의 이온성 비가 약 1:1이 되도록 상기 미셀 내 양이온성 담체 단위체 및 miR-485-3p 억제제가 용액에서 혼합되는, 방법.

청구항 100

제 66 항 내지 제 99 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 단위체가 상기 miR-485-3p 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있는, 방법.

청구항 101

제 1 항 내지 제 100 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인지 장애가 대상체의 중추 신경계 (CNS)의 영역 내 아밀로이드-베타 축적의 증가와 연관되는, 방법.

청구항 102

제 101 항에 있어서, 상기 CNS의 영역이 뇌를 포함하는, 방법.

청구항 103

제 1 항 내지 제 102 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인지 장애가 알츠하이머병을 포함하는, 방법.

청구항 104

miR485-3p_FW1 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 94), miR485-3p_FW2 (TCATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 95), miR485-3p_FW3 (CATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 96), miR485-3p_FW4 (CATACACGGCTCTCCTCTCTA) (서열번호: 97), miR485-3p_FW5 (CATACACGGCTCTCGTCTC) (서열번호: 98), miR485-3p_FW6 (CATACACGGCTCTCGTCTCTAA) (서열번호: 99), miR485-3p_FW7 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 100), miR-485-3p_FW8 (GTCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 101), miR-485-3p_FW9 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA) (서열번호: 52), miR-485-3p_FW10 (GTCATACACGGCTCTCCTCTG) (서열번호: 102), miR-485-3p_FW11 (TCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 103), miR-485-3p_FW12 (TCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 104), miR-485-3p_FW13 (TCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 105), miR-485-3p_FW14 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 106), miR-485-3p_FW15 (ATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 107), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 miR-485-3p 프라이머를 포함하는 조성물.

청구항 105

제 104 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW7을 포함하는, 조성물.

청구항 106

제 104 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW2를 포함하는, 조성물.

청구항 107

제 104 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW1을 포함하는, 조성물.

청구항 108

제 104 항에 있어서, 상기 miR-485-3p 프라이머가 miR-485-3p_FW9를 포함하는, 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 PCT 출원은 2020년 4월 23일 출원된 63/014,633; 2020년 7월 1일 출원된 63/047,206; 및 2020년 8월 11일 출원된 63/064,305의 우선권을 주장하고; 이들 각각은 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0003] EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록 참조

[0004] 본원과 제출된 ASCII 텍스트 파일 (명칭: 4366_025PC03_Seqlisting_ST25.txt; 크기: 81,709 바이트; 및 창작일: 2021년 4월 22일)에서 전자적으로 제출된 서열의 내용은 이 전체가 참조로 본원에 편입된다.

[0005] 개시내용의 분야

[0006] 본 개시내용은 (*예를 들면*, 대상체에서 유래된 생물학적 샘플에서) 대상체의 miR-485-3p 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병)를 앓고 있는 대상체의 식별 방법을 제공한다. 본 개시내용은 miR-485-3p 수준이 증가하는 것으로 식별된 대상체에서 인지 장애를 치료하는 방법을 추가로 제공한다.

배 경 기 술

[0007] 개시내용의 배경

[0008] 인지 장애, 예컨대 알츠하이머병 (AD)은 전세계적으로 사망률 및 이환율의 일반적이고 증가하는 원인이다. 2050년까지, 전세계적으로 1억 명이 넘는 사람들이 AD에 의해 영향받을 것으로 추정된다. Gaugler *등*, *Alzheimer's*

Dement 12(4): 459-509 (2016); Pan *등*, *Sci Adv* 5(2) (2019). AD의 비용은 전세계적으로 미화 8000억 달러 이상으로 추정된다. 현재까지, 연구자들은 아밀로이드-β의 생산 및/또는 응집을 효과적으로 억제하고/하거나, 인간 대상체에서 그들의 소거를 촉진할 수 있는 화합물 (*예를 들면*, 항체)을 개발하는 데 크게 성공하지 못했다.

[0009] 따라서, AD 및 유사한 인지 장애에 대하여 알려진 치유법은 여전히 없다. 이용가능한 치료 옵션은 일반적으로, 장애의 기저 원인을 해결하는 것과 대조적으로, 다양한 증상을 경감하는 것으로 제한된다. 이외에, 효과적인 조기 진단 시스템이 없으므로, 인지 장애와 관련된 일부 증상을 완화하는 데 도움이 되는 임의의 치료 옵션은 장애가 발병한 후 오랜 시간이 지날 때까지 이용할 수 없다. 그리고, 인지 장애의 이용가능한 진단 방법은 종종 주관적이고/이거나(*예를 들면*, 설문지), 잠재적으로 유해하고/하거나(*예를 들면*, 핵 뇌 영상을 위한 방사성 동위원소의 사용), 고가이다. 따라서, 인지 장애 치료 및/또는 진단에 대한 새롭고 더욱 효과적인 접근법이 매우 바람직하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0010] 개시내용의 간단한 개요

[0011] 대상체의 상피 세포 또는 혈청에서 유래된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 인지 장애를 앓고 있는 인간 대상체의 식별 방법이 본원에 제공된다. 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 세포외 소포이다.

[0012] 생물학적 샘플이 세포외 소포를 포함하는, 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 인지 장애를 앓고 있는 대상체의 식별 방법이 본원에 또한 제공된다.

[0013] 일부 양태에서, 세포외 소포는 대상체의 상피 세포로부터 수득된다. 일부 양태에서, 상피 세포는 구강 점막 상피 세포이다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 대상체의 혈청으로부터 수득된다. 특정 양태에서, 세포외 소포는 미세소포를 포함한다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 엑소좀을 포함한다.

[0014] 일부 양태에서, miR-485-3p의 수준은 참조 수준 (*예를 들면*, 인지 장애가 없는 대상체에서 miR-485-3p 발현 수준 또는 대상체에서 인지 장애를 갖기에 앞서 miR-485-3p 수준)과 비교하여 대상체에서 증가된다. 특정 양태에서, miR-485-3p의 수준은 참조 수준과 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 175%, 적어도 약 200%, 적어도 약 225%, 적어도 약 250%, 적어도 약 275%, 또는 적어도 약 300% 이상 대상체에서 증가된다.

[0015] 일부 양태에서, 상기 제공된 방법은 인지 장애를 치료하기 위한 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0016] 참조 수준 (*예를 들면*, 인지 장애가 없는 대상체에서 miR-485-3p 발현 수준 또는 대상체에서 인지 장애를 갖기 전의 miR-485-3p 수준)과 비교하여, 대상체의 상피 세포 또는 혈청에서 유래된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 증가된 수준을 갖는 것으로서 식별된 인간 대상체에게 인지 장애를 치료하기 위한 요법을 투여하는 단계를 포함하는, 인지 장애의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 이 치료 방법이 본원에 제공된다.

[0017] 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 세포외 소포이다. 특정 양태에서, 세포외 소포는 대상체의 상피 세포로부터 수득된다. 일부 양태에서, 상피 세포는 구강 점막 상피 세포이다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 대상체의 혈청으로부터 수득된다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 미세소포를 포함한다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 엑소좀을 포함한다.

[0018] 일부 양태에서, 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준은 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 검정을 사용하여 측정된다. 특정 양태에서, PCR 검정은 실시간 PCR을 포함한다. 일부 양태에서, 측정하기는 miR-485-3p의 주기 임계 (Ct) 값을 결정하는 단계를 포함한다.

[0019] 일부 양태에서, 상기 기재된 방법은 대상체에 관하여 추가의 인자를 측정하는 단계를 추가로 포함하고, 여기서

상기 추가의 인자는 연령, 성별, 교육 연도 (EDU), 아포지단백 E (APOE) 유전자형, 미니 정신 상태 검사 (MMSE) 점수, 또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0020] 일부 양태에서, 추가의 인자는 성별 및 교육 연도이다. 특정 양태에서, 추가의 인자는 성별이다. 일부 양태에서, 성별은 남성 또는 여성을 포함하고, 여기서 남성은 1의 값과 연관되고 여성은 2의 값과 연관된다. 일부 양태에서, APOE 유전자형은 (i) 1의 값과 연관되는 E2/E3, (ii) 1의 값과 연관되는 E3/E3, (iii) 2의 값과 연관되는 E2/E4, (iv) 2의 값과 연관되는 E3/E4, 또는 (v) E4/E4를 포함한다. 일부 양태에서, 교육 연도는 0 내지 16의 값을 포함한다.

[0021] 일부 양태에서, 대상체에 관하여 추가의 인자를 측정하는 단계를 포함하는 방법은 하기 식: (나이브 Ct x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$)) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$)을 사용하여 대상체의 진단 점수를 계산하는 단계를 추가로 포함하고, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 인자와 연관된 회귀 계수 값이다. 일부 양태에서, 본 방법은 하기 식: (나이브 CT x (연령 x $V1_{연령}$ + $V2_{연령}$)) x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$) x (APOE x $V1_{APOE}$ + $V2_{APOE}$) x (MMSE x $V1_{MMSE}$ + $V2_{MMSE}$) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$)을 사용하여 대상체의 진단 점수를 계산하는 단계를 추가로 포함하고, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 인자와 연관된 회귀 계수 값이다. 일부 양태에서, 본 방법은 하기 식: (나이브 CT x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$))을 사용하여 대상체의 진단 점수를 계산하는 단계를 추가로 포함하고, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 인자와 연관된 회귀 계수 값이다.

[0022] 일부 양태에서, 대상체의 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준 측정하기는 생물학적 샘플에 존재하는 miR-485-3p를 증폭시키기 위해 하나 이상의 miR-485-3p 프라이머를 사용하는 단계를 포함한다.

[0023] 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서 miR-485-3p의 수준이 생물학적 샘플에 존재하는 miR-485-3p를 하나 이상의 miR-485-3p 프라이머로 증폭시킴으로써 참조 수준 (*예를 들면,* 인지 장애가 없는 대상체에서 miR-485-3p 발현 수준 또는 대상체에서 인지 장애를 갖기에 앞서 miR-485-3p 수준)과 비교하여 증가되는지 여부를 결정하는 단계를 포함하는, 인지 장애를 앓고 있는 대상체에서 miR-485-3p의 수준의 결정 방법이 본원에 또한 제공된다.

[0024] 일부 양태에서, miR-485-3p의 수준은 참조 수준과 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 175%, 적어도 약 200%, 적어도 약 225%, 적어도 약 250%, 적어도 약 275%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 대상체에서 증가된다.

[0025] 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 조직, 세포, 혈액, 혈청, 타액, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 양태에서, 생물학적 샘플은 세포외 소포를 포함한다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 대상체의 상피 세포로부터 수득된다. 일부 양태에서, 상피 세포는 구강 점막 상피 세포이다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 대상체의 혈청으로부터 수득된다. 특정 양태에서, 세포외 소포는 미세소포를 포함한다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 엑소좀을 포함한다.

[0026] 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW1 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 94), miR-485-3p_FW2 (TCATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 95), miR-485-3p_FW3 (CATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 96), miR-485-3p_FW4 (CATACACGGCTCTCCTCTCTA) (서열번호: 97), miR-485-3p_FW5 (CATACACGGCTCTCGTCTC) (서열번호: 98), miR-485-3p_FW6 (CATACACGGCTCTCGTCTCTAA) (서열번호: 99), miR-485-3p_FW7 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 100), miR-485-3p_FW8 (GTCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 101), miR-485-3p_FW9 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA) (서열번호: 52), miR-485-3p_FW10 (GTCATACACGGCTCTCCTCTG) (서열번호: 102), miR-485-3p_FW11 (TCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 103), miR-485-3p_FW12 (TCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 104), miR-485-3p_FW13 (TCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 105), miR-485-3p_FW14 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 106), miR-485-3p_FW15 (ATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 107), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 특정 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW7을 포함한다. 특정 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW2를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW1을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW9를 포함한다.

[0027] 일부 양태에서, 본원에 기재된 인지 장애를 앓고 있는 대상체에서 miR-485-3p의 수준의 결정 방법은 인지 장애를 치료할 수 있는 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0028] 일부 양태에서, 본원에 개시된 방법과 조합하여 사용될 수 있는 요법은 miR-485-3p 억제제 (또한 본원에 "miRNA

억제제"로서 지칭됨)를 포함한다.

[0029] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2)을 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 miR-485-3p 억제제는 약 6 내지 약 30개의 뉴클레오티드 길이를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함하고/하거나; miR-485-3p 억제제는 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0030] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2), 5'-GUGUAUGA-3' (서열번호: 3), 5'-CGUGUAUGA-3' (서열번호: 4), 5'-CCGUGUAUGA-3' (서열번호: 5), 5'-GCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 6), 5'-AGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 7), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 8), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 9), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 10), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 11), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 12), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 13), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 14), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 15); 5'-UGUAUGAC-3' (서열번호: 16), 5'-GUGUAUGAC-3' (서열번호: 17), 5'-CGUGUAUGAC-3' (서열번호: 18), 5'-CCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 19), 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 20), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 21), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 22), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 23), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 24), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 25), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 26), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 27), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29), 및 5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 30)로 이루어지는 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0031] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 62), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 63), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 64), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 65), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 66), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 67), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 68), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 69), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 70), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 71), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 72), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 73), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 74), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 75); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 76), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 77), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 78), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 79), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 80), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 81), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 82), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 83), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 84), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 85), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 86), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 87), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 89), 및 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 90)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0032] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제의 서열은 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성이다. 특정 양태에서, miRNA 억제제는 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)에 적어도 90% 유사성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30)를 포함한다.

[0033] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, 적어도

하나의 변형된 뉴클레오티드는 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 펩티드 핵산 (PNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0034] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 백본 변형을 포함한다. 일부 양태에서, 백본 변형은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형을 포함한다.

[0035] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 바이러스성 벡터에 의해 전달된다. 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 또는 렌티바이러스이다. 특정 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV이다.

[0036] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 전달 제제와 함께 전달된다. 일부 양태에서, 전달 제제는 미셀, 엑소좀, 지질 나노입자, 세포외 소포, 합성 소포, 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 접합체, 바이러스성 벡터, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 전달 제제는

[0037] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

[0038] 또는

[0039] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[0040] 를 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하되,

[0041] 식중

[0042] WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

[0043] CC는 양으로 하전된 (즉, 양이온성) 담체 모이어티이고;

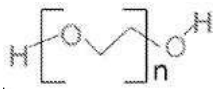
[0044] AM은 보조제 모이어티이고;

[0045] L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커이다.

[0046] 일부 양태에서, miRNA 억제제 및 양이온성 담체 단위체는 함께 혼합된 때 미셀을 형성하기 위해 서로 회합할 수 있다. 특정 양태에서, 회합은 공유 결합을 통해 이루어진다. 일부 양태에서, 회합은 비-공유 결합을 통해 이루어진다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 이온성 결합을 통해 양이온성 담체 단위체와 상호작용한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 miRNA 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있다.

[0047] 일부 양태에서, 수용성 중합체 모이어티는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함한다.

[0048] 일부 양태에서, 수용성 중합체 모이어티는

[0049] , (화학식 I)

[0050] 를 포함하되, 식중, n은 1-1000이다.

[0051] 일부 양태에서, n은 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141이다. 특정 양태에서, n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 약 150 내지 약 160이다.

[0052] 일부 양태에서, 수용성 중합체 모이어티는 선형, 분지형, 또는 수지상이다.

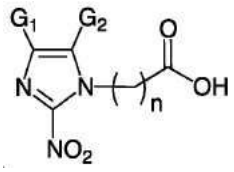
[0053] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다. 특정 양태에서, 양이온성

담체 모이어티는 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 마침내 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 적어도 약 20, 적어도 약 21, 적어도 약 22, 적어도 약 23, 적어도 약 24, 적어도 약 25, 적어도 약 26, 적어도 약 27, 적어도 약 28, 적어도 약 29, 적어도 약 30, 적어도 약 31, 적어도 약 32, 적어도 약 33, 적어도 약 34, 적어도 약 35, 적어도 약 36, 적어도 약 37, 적어도 약 38, 적어도 약 39, 적어도 약 40, 적어도 약 41, 적어도 약 42, 적어도 약 43, 적어도 약 44, 적어도 약 45, 적어도 약 46, 적어도 약 47, 적어도 약 48, 적어도 약 49, 또는 적어도 약 50개 염기성 아미노산을 포함한다.

[0054] 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 40개 라이신 단량체를 포함한다.

[0055] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0056] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

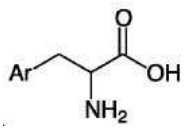


[0057] , (화학식 II),

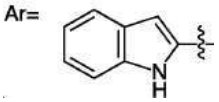
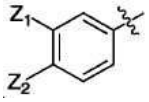
[0058] 을 포함하되, 식중 G1 및 G2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G1 및 G2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10이다.

[0059] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 니트로이미다졸을 포함한다. 특정 양태에서, 보조제 모이어티는 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0060] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는



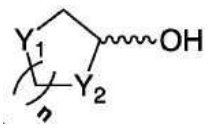
[0061] (화학식 III)

[0062] 을 포함하되, 식중 Ar은  또는  이고,

[0063] 식중 Z1 및 Z2의 각각은 H 또는 OH이다.

[0064] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 비타민을 포함한다. 특정 양태에서, 비타민은 환식 고리 또는 환식 헤테로원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함한다.

[0065] 일부 양태에서, 비타민은



[0066] (화학식 IV),

[0067] 을 포함하되, 식중 Y1 및 Y2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2이다.

[0068] 일부 양태에서, 비타민은 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 특정 양태에서, 비타민은 비타민 B3이다.

[0069] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3을 포함

한다. 특정 양태에서, 보조제 모이어티는 약 10개 비타민 B3을 포함한다.

[0070] 일부 양태에서, 전달 제제는 약 120 내지 약 130개 PEG 단위체를 가진 약 수용성 생체고분자 모이어티, 약 30 내지 약 40개 라이신을 가진 폴리-라이신을 포함하는 양이온성 담체 모이어티, 및 약 5 내지 약 10개 비타민 B3을 가진 보조제 모이어티를 포함한다.

[0071] 일부 양태에서, 전달 제제는 miR-485-3p 억제제와 회합되고, 이에 의해 미셀을 형성한다. 특정 양태에서, 회합은 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합이다.

[0072] 일부 양태에서, 미셀에서 양이온성 담체 단위체 및 miR-485-3p 억제제는 양이온성 담체 단위체의 양전하 및 miR-485-3p 억제제의 음전하의 이온성 비가 약 1:1이 되도록 용액에서 혼합된다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 miR-485-3p 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있다.

[0073] 일부 양태에서, 인지 장애는 대상체의 중추 신경계 (CNS)의 영역 내에서 아밀로이드-베타 축적의 증가와 연관된다. 특정 양태에서, CNS의 영역은 뇌를 포함한다. 일부 양태에서, 인지 장애는 알츠하이머병을 포함한다.

[0074] miR485-3p_FW1 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 94), miR485-3p_FW2 (TCATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 95), miR485-3p_FW3 (CATACACGGCTCTCCTCTC) (서열번호: 96), miR485-3p_FW4 (CATACACGGCTCTCCTCTCTA) (서열번호: 97), miR485-3p_FW5 (CATACACGGCTCTCGTCTC) (서열번호: 98), miR485-3p_FW6 (CATACACGGCTCTCGTCTCTAA) (서열번호: 99), miR485-3p_FW7 (GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 100), miR-485-3p_FW8 (GTCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 101), miR-485-3p_FW9 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA) (서열번호: 52), miR-485-3p_FW10 (GTCATACACGGCTCTCCTCTG) (서열번호: 102), miR-485-3p_FW11 (TCATACACGGCTCTCCTCTCT) (서열번호: 103), miR-485-3p_FW12 (TCATACACGGCTCTCCTC) (서열번호: 104), miR-485-3p_FW13 (TCATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 105), miR-485-3p_FW14 (CATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 106), miR-485-3p_FW15 (ATACACGGCTCTCCTCTCTAA) (서열번호: 107), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 miR485-3p 프라이머를 포함하는 조성물이 본원에 또한 제공된다.

[0075] 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW7을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW2를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW1을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW9를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0076] 도면의 간단한 설명

도 1a 및 **1b**는 인간 임상 면봉 샘플에서 아밀로이드-β 축적 검출하기에서 (실시간 PCR 검정으로 측정된 경우) miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 정확도를 제공한다. **도 1a**는 아밀로이드-β 음성 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 없는) (좌) 및 아밀로이드-β 양성 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 있는) (우) 샘플에서 miR-485-3p의 실시간 PCR 나이브 주기 임계 (Ct) 값의 비교를 도시한다. 실시예 1에서 설명된 대로, 나이브 Ct 값은 발현 값에 반비례한다 (*즉*, 더 높은 miR-485-3p 발현은 더 낮은 나이브 Ct 값을 초래한다). 아밀로이드-β 축적은 아밀로이드 PET 스캔을 사용하여 측정되었다. 수평 파선은 아밀로이드 PET 음성 및 양성 그룹들 사이 컷오프 값을 나타낸다. **도 1b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 환자들로부터 임상 면봉 샘플 식별하기에서 miR-485-3p 발현 사용하기의 특이성 및 민감도를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도를 측정하는데 사용되었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 **도 1a**에서 도시된 컷오프 값에 대한 특이성 및 민감도를 나타낸다. 원형 점과 연관된 AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성에 대한 수치는 **도 1b**에서 또한 제공된다.

도 2a 및 **2b**는 성별 및 교육 연도가 인간 임상 면봉 샘플에서 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 (실시간 PCR 검정으로 측정된 경우) miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 정확도에 관하여 갖는 효과를 입증한다. **도 2a**는 아밀로이드-β 축적이 있는 (우) 또는 없는 (좌) 환자로부터 임상 면봉 샘플에 대하여 점수의 비교를 제공한다. 점수는 miR-485-3p의 나이브 Ct 값 (도 1a *참조*), 환자의 성별, 및 환자의 교육 수준의 조합에 기반된 회귀 모델링을 사용하여 확립되었다. *예를 들면*, 점수를 계산하는데 사용된 특정 식에 대하여 실시예 2 *참조*. 수평 파선은 아밀로이드 PET 음성 및 양성 그룹들 사이 컷오프 값을 나타낸다. **도 2b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 환자들로부터 임상 면봉 샘플 식별하기에서 miR-485-3p 발현, 성별, 및 교육 연도의 조합 사용하기의 특이성 및 민감도를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도를 측정하는데 사용되었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 **도 2a**에서 도시된 컷오프

값에 대한 특이성 및 민감도를 나타낸다. 원형 점과 연관된 AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성에 대한 수치는 **도 2b**에서 또한 제공된다.

도 3a 및 3b는 성별, 연령, 미니 정신 상태 검사 (MMSE) 점수, APOE 유전자형, 및 교육 연도가 인간 임상 면봉 샘플에서 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 (실시간 PCR 검정으로 측정된 경우) miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 정확도에 관하여 갖는 효과를 입증한다. **도 3a**는 아밀로이드-β 축적이 있는 (우) 또는 없는 (좌) 환자로부터 임상 면봉 샘플에 대하여 점수의 비교를 제공한다. 점수는 miR-485-3p의 나이브 Ct 값 (도 1a *참조*), 성별, 연령, MMSE 점수, APOE 유전자형, 및 교육 연도의 조합에 기반된 회귀 모델링을 사용하여 확립되었다. *예를 들면*, 점수를 계산하는데 사용된 특정 식에 대하여 실시예 2 *참조*. 수평 파선은 아밀로이드 PET 음성 및 양성 그룹들 사이 컷오프 값을 나타낸다. **도 3b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 환자들로부터 임상 면봉 샘플 식별하기에서 miR-485-3p 발현 (*즉*, 나이브 Ct 값), 성별, 연령, MMSE 점수, APOE 유전자형, 및 교육 연도의 조합 사용하기의 특이성 및 민감도를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도를 측정하는데 사용되었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 **도 3a**에서 도시된 컷오프 값에 대한 특이성 및 민감도를 나타낸다. 원형 점과 연관된 AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성에 대한 수치는 **도 3b**에서 또한 제공된다.

도 4는 환자들의 하기 임상 인자: 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수 중 하나 이상과 조합하여 임상 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현 (*즉*, 실시간 PCR 검정을 사용하여 결정된 경우 나이브 Ct 값)에 기반된 회귀 모델링 (*즉*, % 정확도)의 결과의 비교를 제공한다.

도 5a 및 **5b**는 인간 임상 혈장 샘플내 아밀로이드-β 축적 검출하기에서 (실시간 PCR 검정으로 측정된 경우) miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 정확도를 제공한다. **도 5a**는 아밀로이드-β 음성 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 없는) (좌) 및 아밀로이드-β 양성 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 있는) (우) 샘플에서 miR-485-3p의 실시간 PCR 나이브 주기 임계 (Ct) 값의 비교를 도시한다. 실시예 1에서 설명된 대로, 나이브 Ct 값은 발현 값에 반비례한다 (*즉*, 더 높은 miR-485-3p 발현은 더 낮은 나이브 Ct 값을 초래한다). 아밀로이드-β 축적은 아밀로이드 PET 스캔을 사용하여 측정되었다. 수평 파선은 아밀로이드 PET 음성 및 양성 그룹들 사이 컷오프 값을 나타낸다. **도 5b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 환자들로부터 임상 혈장 샘플 식별하기에서 miR-485-3p 발현 사용하기의 특이성 및 민감도를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도를 측정하는데 사용되었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 **도 5a**에서 도시된 컷오프 값에 대한 특이성 및 민감도를 나타낸다. 원형 점과 연관된 AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성에 대한 수치는 **도 5b**에서 또한 제공된다.

도 6a 및 **6b**는 성별이 인간 임상 혈장 샘플에서 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 (실시간 PCR 검정으로 측정된 경우) miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 정확도에 관하여 갖는 효과를 입증한다. **도 6a**는 아밀로이드-β 축적이 있는 (우) 또는 없는 (좌) 환자들로부터 임상 혈장 샘플에 대한 점수의 비교를 제공한다. 점수는 miR-485-3p의 나이브 Ct 값 (도 5a *참조*) 및 환자의 성별의 조합에 기반된 회귀 모델링을 사용하여 확립되었다. *예를 들면*, 점수를 계산하는데 사용된 특정 식에 대하여 실시예 4 *참조*. 수평 파선은 아밀로이드 PET 음성 및 양성 그룹들 사이 컷오프 값을 나타낸다. **도 6b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 환자들로부터 임상 혈장 샘플 식별하기에서 miR-485-3p 발현 (즉, 나이브 Ct 값) 및 성별의 조합 사용하기의 특이성 및 민감도를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도를 측정하는데 사용되었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 **도 6a**에서 도시된 컷오프 값에 대한 특이성 및 민감도를 나타낸다. 원형 점과 연관된 AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성에 대한 수치는 **도 6b**에서 또한 제공된다. **도 6c**는 도 6a 및 6b에서 도시된 데이터의 정규화된 발현을 도시한다. 정규화된 발현은 식: $2^{-(\text{실시간 PCR의 Ct 값})} \times 10^{10}$ 에 의해 계산되었다. **도 6d**는 도 6a 및 6b에서 도시된 데이터에 기반된 성별 맞춤 점수를 도시한다. 점수는 정규화된 발현 값 및 환자-특이적 임상 정보를 사용하는 회귀 모델링 방법에서 유래된 맞춤 값이다. **도 6d**에서, 모델링은 성별 및 정규화된 발현 값으로 실시되었다.

도 7은 환자들의 하기 임상 인자: 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수 중 하나 이상과 조합하여 임상 혈장 샘플에서 miR-485-3p 발현 (*즉*, 실시간 PCR 검정을 사용하여 결정된 경우 나이브 Ct 값)에 기반된 회귀 모델링 (*즉*, % 정확도)의 결과의 비교를 제공한다.

도 8a, 8b, 8c, 및 **8d**는 가변하는 용량 (*즉*, 0.1, 0.5, 또는 1 μM)의 아밀로이드-β 단량체 및 올리고머, 각각으로 치료된 인간-유래 구강 상피 세포에서 miR-485-3p의 발현을 도시한다. miR-485-3p의 발현 수준은 대조군 (*즉*, 미치료된 세포)로 정규화된 채로 도시된다 (도면들의 각각의 좌측에서 도시된 막대 그래프 *참조*). 도면들

의 각각에서, 오른쪽에서 제공된 그래프는 miR-485-3p 발현과 아밀로이드-β 치료의 용량 사이 양성 상관관계를 도시한다. 제공된 p 값은 피어슨 상관관계의 p 값을 나타낸다. "C.C"는 피어슨 상관관계의 상관관계 계수를 나타낸다. **도 8a** 및 **8b**에서, 하기 프라이머는 miR-485-3p 발현을 측정하기 위해 실시간 PCR 검정에서 사용되었다: 5'-GTCATACACGGCTCTCCTCTCT-3' (본원에 "miR-485-3p_FW1"로서 지칭됨; 서열번호: 94). **도 8c** 및 **8d**에서, 하기 프라이머는 사용되었다: 5'-CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA-3' (본원에 "miR-485-3p_FW9"로서 지칭됨; 서열번호: 52).

도 9a 및 **9b**는 가변하는 용량 (*즉*, 0.1 또는 0.5 μM)의 아밀로이드-β 단량체 및 올리고머, 각각으로 치료된 인간-유래 구강 상피 세포의 상청액에서 miR-485-3p의 발현을 도시한다. miR-485-3p의 발현 수준은 대조군 (*즉*, 미치료된 세포)로 정규화된 채로 도시된다 (도면들의 각각의 좌측에서 도시된 막대 그래프 *참조*). **도 9a** 및 **9b**의 각각에서, 오른쪽에서 제공된 그래프는 miR-485-3p 발현과 아밀로이드-β 치료의 용량 사이 양성 상관관계를 도시한다. 제공된 p-값은 피어슨 상관관계의 p 값을 나타낸다. "C.C"는 피어슨 상관관계의 상관관계 계수를 나타낸다.

도 10a는 아밀로이드-β 축적이 있는 (우) ("아밀로이드 PET 양성") 또는 없는 (좌) ("아밀로이드 PET 음성")의 61세 이상 환자들로부터 임상 혈장 샘플에 대한 점수의 비교를 도시한다. p-값은 언페어드 t 테스트에 의해 측정되었다. 2개 그룹의 표적 마이크로RNA 점수에 기반된 ROC 분석. 정량 값은 표준 곡선에서 유래된 회귀 방정식 사용하기의 결과이다. **도 10b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 환자들로부터 임상 혈장 샘플 식별하기에서 miR-485-3p 발현 (즉, 나이브 Ct 값) 및 성별의 조합 사용하기의 특이성 및 민감도를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도를 측정하는데 사용되었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 **도 10a**에서 도시된 컷오프 값에 대한 특이성 및 민감도를 나타낸다.

도 11a 및 **11b**는 알츠하이머 진단에 의한 miR-485-3p 발현을 도시한다. 알츠하이머로 진단된 환자들 중, 분석은 61세 이상 환자만으로 수행되었다. NC (n = 10)는 "NC", PET 음성, 및 MMSE 25 이상의 알츠하이머의 진단의 진단이 있는 환자를 지칭한다. MCI (n = 4)는 "MCI", PET 양성, 및 MMSE 25 미만의 알츠하이머 진단의 진단이 있는 환자를 지칭한다. AD (n = 4)는 "AD", PET 양성, 및 MMSE 25 미만의 알츠하이머 진단의 진단이 있는 환자를 지칭한다. P는 스튜던트 t 테스트 결과의 p-값을 지칭한다.

도 12a, 12b, 및 **12c**는 인간 대상체에서 아밀로이드-β 축적의 진단을 위한 후보 마커로서 miR-485-3p의 식별을 도시한다. **도 12a**는 AD 환자들 및 정상 대조군 대상체들 (*즉*, AD 없는 대상체들)에서 상이한 miRNA들의 발현의 비교를 제공한다. miRNA 발현은 AD 환자들과 정상 대조군 대상체들 사이 배수 변화로서 도시된다 (x-축). y-축은 p-값을 -log10 척도로 제공한다. 각 원은 개별 miRNA를 나타낸다. 수평 점선은 0.05의 p-값을 지시한다. 수직 점선은 ± 1-배수 변화를 지시한다. **도 12b**는 아밀로이드-β 축적이 있는 개체 (*즉*, AD 환자; "(1)") 및 아밀로이드-β 축적이 없는 개체 (*즉*, AD 없는 대상체; "(2)")로부터 양쪽 혈장 및 인간 구강-유래 무세포 엑소좀 (HOCFE)에서 miR-485-3p 발현의 비교를 제공한다. miR-485-3p 발현은 $2^{-\text{주기 임계}}$ x 10^{13}으로서 계산되었다. "Q"는 log10 (p-값)을 지칭한다. **도 12c**는 **도 12b**에서 제공된 결과의 특이성 (y-축) 및 민감도 (x-축)의 비교를 제공한다. "AUC"는 ROC 분석에 의한 곡선하 면적을 지칭한다.

도 13a, 13b, 및 **13c**는 본 개시내용에서 개시된 상이한 진단 방법에 대한 AUC들의 비교를 제공한다. **도 13a**에서, AUC는 임상 정보만을 포함하는 알고리즘을 사용하여 생성되었다. **도 13b**에서, AUC는 miR-485-3p 발현에 대한 주기 임계 (Ct) 값 및 임상 정보 양쪽을 포함하는 알고리즘을 사용하여 생성되었다. **도 13c**에서, AUC는 임상 정보 및 정량화된 miR-485-3p 발현의 조합을 포함하는 알고리즘을 사용하여 생성되었다. miR-485-3p 발현의 예시적 정량화 방법은 실시예 1에 제공된다 ("마이크로RNA의 정량화" *참조*). AUC들을 비교함으로써, 상이한 진단 파라미터를 포함하는 알고리즘의 순위는 어느 한쪽 1위, 2위, 또는 3위이었다. 도면들의 각각에서, y-축은 상이한 진단 파라미터들의 각각에 대하여 순위가 1위, 2위, 또는 3위인 알고리즘의 수를 제공한다.

도 14a, 14b, 및 **14c**는 (HOCFE에서 측정된) miR-485-3p 발현과 환자의 연령 사이 관계를 도시한다. **도 14a**에서, 환자 샘플은 아밀로이드-β 축적 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성 또는 아밀로이드 PET 음성)에 기반하여 나누어졌고, 그 다음 miR-485-3p의 발현은 환자의 연령의 함수로서 제공된다. 양쪽 아밀로이드 PET 양성 및 아밀로이드 PET 음성 환자들에 대한 회귀선은 제공된다. 총 환자 집단에 대한 회귀선은 또한 제공된다. 원들의 각각은 개별 환자를 나타낸다. **도 14b**는 각 연령 그룹으로부터 환자들에 대하여 정확도 및 AUC 값들의 비교를 제공한다. 도시된 대로, 연령 그룹은 53세 내지 86세 범위이었다. 적색 점선은 양쪽 정확도 및 AUC 값들이 유의미하게 높았던 연령 그룹을 나타낸다. 최상부에 도시된 막대 그래프는 연령 그룹들의 각각에서 아밀로이드 PET 음성 (막대의 밝은 회색 부분) 및 아밀로이드 PET 양성 (막대의 진한 회색 부분) 환자들의 수를 도시한다. **도 14c**에

서 도시된 박스 플롯은 61세 내지 73세인 아밀로이드 PET 음성 및 아밀로이드 PET 양성 환자들에서 miR-485-3p 발현의 비교를 제공한다. 오른쪽에 그래프는 특이성 및 민감도 값을 제공한다. AUC는 ROC 분석에 의해 측정되었다.

도 15a 및 **15b**는 miR-485-3p 발현에 기반된 아밀로이드-β 축적 진단하기에 유용한 예시적 방법을 도시한다. **도 15a**는 면봉 샘플로부터: (1) 세포 펠릿 ("면봉의 펠릿")으로부터; 그리고 (i) 인간 구강-유래 무세포 엑소좀 ("면봉의 서프 엑소좀")으로부터 RNA 제조에 사용된 2가지 예시적 방법의 효과성을 확인하는 웨스턴 블랏 분석을 제공한다. 세포 펠릿으로부터 제조의 경우, 칼넥신은 소포체 (ER)에 대한 마커로서 사용되었다. 인간 구강-유래 무세포 엑소좀으로부터 제조의 경우, CD81은 마커로서 사용되었다. **도 15b**는 아밀로이드-β 축적을 진단하기 위해 인간 구강-유래 무세포 엑소좀 (HOCFE)에서 miR-485-3p 발현 사용하기에 포함된 상이한 단계들의 개략도를 제공한다. 간략히, HOCFE는 면봉 방법을 사용하여 수집되었다. 그 다음, miR-485-3p 발현은 표준 물질 및 PCR 분석을 사용하여 정량화되었다. 다음에, miR-485-3p 발현 수준은 본원에 제공된 환자의 임상 정보 (*예를 들면*, 연령, 성별, 교육 연도, MMSE 점수, APOE 유전자형, 및 CDR 값) 중 하나 이상과 조합하여 분석되었다. 분석은 교차-검증 방법에 의해 확인되었다.

도 16a 및 **16b**는 인간 대상체에서 아밀로이드-β 축적을 진단하기 위해 miR-485-3p 발현 사용하기의 정확도에 관한 환자의 임상 정보의 효과를 도시한다. **도 16a**는 환자의 임상 정보가 단독으로 또는 miR-485-3p 발현과 조합하여 고려되는 때 AUC (곡선하 면적) 값의 비교를 제공한다. "CFO"는 임상 정보만을 지칭한다. "Ct 값"은 표준 물질들 (*즉*, 나이브 주기 임계 값들)을 사용하여 정량화되지 않은 실시간 PCR 분석을 사용하는 결과를 지칭한다. "정량"은 표준 물질을 사용하여 정량화된 결과를 지칭한다. "AUC"는 특이성 및 민감도 값들의 비교에서 비롯하는 곡선하 면적을 지칭한다. AUC는 ROC 분석에 의해 측정되었다. **도 16b**는 아밀로이드-β 축적 진단하기에서 miR-485-3p 발현 사용하기의 예측력에 관한 환자의 연령의 효과를 도시한다. 도시된 상이한 연령 그룹은 (i) 60세 이하 ("~60"); (ii) 61세 내지 70세 ("61~70"); (iii) 71세 내지 80세 ("71~80"); 및 (iv) 81세 이상 ("81~")을 포함한다. 최상부에 막대 그래프는 상이한 연령 그룹에 대하여 정확도 데이터를 제공한다. 정확도는 다음과 같이 결정될 수 있다: (환자들의 총수 - 위 양성의 수 - 위 음성의 수) / (환자들의 총수). 최하부에 막대 그래프는 연령 그룹들의 각각으로부터 아밀로이드-β 축적이 없는 ("1"; *즉*, 아밀로이드 PET 음성) 그리고 아밀로이드-β 축적이 있는 ("2"; *즉*, 아밀로이드 PET 양성) 환자들에서 miR-485-3p 발현 (정량)의 비교를 제공한다. 제공된 Q 값들은 스튜던트 t-테스트를 사용하여 측정된 경우 p-값의 -log10을 지칭한다. x-축을 따라 "점수"는 각 연령 그룹에서 아밀로이드 PET 음성 또는 아밀로이드 PET 양성 환자들로부터 샘플의 수를 지칭한다.

도 17a, 17b, 17c, 및 **17d**는 특정 연령 그룹들 이내 환자들에서 아밀로이드-β 축적을 정확하게 진단하기 위한 miR-485-3p 발현의 능력을 도시한다. **도 17a** 및 **17b**에서, 연령 그룹은 60세 내지 약 90세 범위이었다. **도 17c** 및 **17d**에서, 연령 그룹은 약 50세 내지 약 85세 범위이었다. **도 17a** 및 **17c**에서, 양쪽 정확도 및 AUC 값들은 연령의 함수로서 환자들에 대하여 제공된다. 양쪽 정확도 및 AUC 값들이 유의미하게 높은 수준에 있는 연령 그룹은 주목된다. 최상부에 도시된 막대 그래프는 연령 그룹들의 각각에서 아밀로이드 PET 음성 (막대의 밝은 회색 부분) 및 아밀로이드 PET 양성 (막대의 진한 회색 부분) 환자들의 수를 도시한다. **도 17b** 및 **17d**에서는 73세 미만 (**도 17b**) 또는 68세 초과 (**도 17d**)인 아밀로이드 PET 음성 및 아밀로이드 PET 양성 환자들에서 miR-485-3p 발현의 비교를 제공한다. 오른쪽에 그래프는 특이성 및 민감도 값을 제공한다. AUC는 ROC 분석에 의해 측정되었다.

도 18a, 18b, 18c, 18d, 18e, 및 **18f**는 하기 임상 정보: 연령, 교육, MMSE 점수, 성별, APOE 점수, 및 CDR 점수, 각각에 대하여 유의미한 모델의 수 (좌 그래프), AUC (중간 그래프), 및 오차율 (우 그래프)을 도시한다. 결과는 61세 이상인 환자들로부터 샘플에 기반된다. 실시예 8에 추가로 기재된 대로, 본 개시내용에 기재된 알고리즘을 구축하기 위해, AUC 및 오차율은 회귀 모델링을 사용하여 결정되었고, 여기에서 시뮬레이션은 최대 11 차원 (*즉*, 정도, 도, 또는 다항식으로서 당업계에서 또한 지칭됨) 무작위 샘플링을 사용하여 100 회 반복되었다. 도면들에서 도시된 결과는 알고리즘을 구축하기 위한 최상 회귀 차원 (*즉*, 도면들에서 도시된 백색 막대)을 결정하는데 사용되었다. **도 18a**에 도시된 유의미한 모델 값의 수는 통계적으로 유의미하였던 (*즉*, p 값 < 0.05) 시뮬레이션 (또는 테스트)의 수를 지칭한다.

도 19a, 19b, 19c, 19d, 19e, 및 **19f**는 결과가 모든 환자들로부터 (*즉*, 임의의 연령 그룹에 국한되지 않는) 샘플에 기반되는 것을 제외하고 **도 18a, 18b, 18c, 18d, 18e,** 및 **18f**에 제공된 동일한 결과를 도시한다.

도 20a, 20b, 20c, 및 **20d**는 상이한 환자의 임상 정보가 적용되는 정도가 60세 초과 환자들로부터 인간 임상 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현에 기반된 아밀로이드-β 축적을 진단하기 위하여 본원에 개시된 알고리즘의 진단

정확도에 관하여 갖는 효과를 도시한다. **도 20a**는 상이한 진단 파라미터의 다양한 조합을 사용하여 구축된 하기 알고리즘에 대하여 생성된 평균 AUC (곡선하 면적) 값들의 비교를 제공한다: (i) miR-485-3p 발현, 연령, 성별, 및 교육 연도 ("프리(pre)-DX"); (ii) mir-485-3p 발현, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수 ("프로(pro)-DX1"); 및 (iii) miR-485-3p 발현, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, MMSE 점수, 및 CDR 점수 ("프로-DX2"). "AUC"는 특이성 및 민감도 값의 비교에서 비롯하는 곡선하 면적을 지칭한다. AUC는 ROC 분석에 의해 측정되었다. **도 20b, 20c,** 및 **20d**는 **도 20a**에서 도시된 상이한 알고리즘, 즉, 프리-DX, 프로-DX1, 및 프로-DX2, 각각에 대하여 정확도 데이터를 제공한다. **도 20b, 20c,** 및 **20d**의 각각에서, y-축은 miR-485-3p 발현과 조합된 임상 정보의 상이한 유형들을 제공한다. 화살표는 가장 정확한 조합을 나타낸다. 박스표시된 영역 내에 제공된 정보는 가장 정확한 조합의 (즉, 적색 화살표에 의해 나타난) 상이한 임상 정보가 알고리즘에 적용된 특정 정도를 나타낸다. **도 20b, 20c,** 및 **20d**에서 y-축은 miR-485-3p 발현의 정량적 값과 함께 알고리즘에 적용된 임상 정보의 유형을 제공한다. 적용된 임상 정보는 언더바로 나누어졌다.

도 21a, 21b, 및 **21c**는 상이한 환자의 임상 정보가 적용되는 정도가 61세 미만 환자들로부터 인간 임상 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현에 기반된 아밀로이드-β 축적을 진단하기 위하여 본원에 개시된 알고리즘의 진단 정확도에 관하여 갖는 효과를 도시한다. **도 21a**는 프리-DX 알고리즘을 사용하여 결정된 정확도 데이터를 제공한다. **도 21b**는 프로-DX1 알고리즘을 사용하여 결정된 정확도 데이터를 제공한다. **도 21c**는 프로-DX2 알고리즘을 사용하여 결정된 정확도 데이터를 제공한다. 도면들의 각각에서, y-축은 miR-485-3p 발현과 조합된 임상 정보의 상이한 유형을 제공한다. 화살표는 가장 정확한 조합을 나타낸다. 박스표시된 영역 내에 제공된 정보는 가장 정확한 조합의 (즉, 적색 화살표에 의해 나타난) 상이한 임상 정보가 알고리즘에 적용된 특정 정도를 나타낸다.

도 22a 및 **22b**는 하기 알고리즘: (i) 프리-DX, (ii) 프로-DX1, 및 (iii) 프로-DX2에 대하여 각각으로, AUC 및 정확도 값들의 비교를 제공한다. **도 22c**는 얼마나 상이한 임상 정보가 알고리즘의 정확도에 영향을 미치는지의 비교를 제공한다. 정확도에 관한 효과는, x-축을 따라 지시된 특정 임상 정보가 있는 알고리즘 그리고 없는 알고리즘의 정확도를 비교하는, 정확도 보정률로서 도시된다. **도 22a, 22b,** 및 **22c**에 도시된 결과는 61세 이상인 환자들로부터 샘플에 기반된다. **도 22d** 및 **22e**는, 결과가 모든 환자들로부터 (즉, 특정 연령 그룹에 제한되지 않는) 샘플에 기반되는 것을 제외하고, **도 22a** 및 **22b**, 각각에 도시된 동일한 결과를 제공한다. **도 22f**는 결과가 모든 환자들로부터 (즉, 특정 연령 그룹에 제한되지 않는) 샘플에 기반되는 것을 제외하고 **도 22c**에 도시된 동일한 결과를 제공한다.

도 23a 및 **23b**는 K-배수 교차 검증 후 환자의 구강 면봉 샘플에서 민감도, 특이성, 및 AUC 값들을 도시한다. 값들은 하기 알고리즘: (i) 프리-DX (좌 그래프), (ii) 프로-DX1 (중간 그래프), 및 (iii) 프로-DX2 (우 그래프) 중 하나를 사용하여 결정되었다. **도 23a** 및 **23b**에서 제공된 결과는 2개 독립 실험으로부터 이루어진다.

도 24a, 24b, 24c, 및 **24d**는 적어도 61세의 환자들로부터 임상 면봉 샘플에 대하여 진단 점수 (왼쪽에 막대 그래프)를 도시한다. 점수는 하기 진단 파라미터들의 조합에 기반된 회귀 모델링을 사용하여 생성되었다: (i) miR-485-3p 발현 및 연령 (**도 24a**); (ii) miR-485-3p 발현, 연령, 성별, 및 교육 연도 (본원에 "프리-DX"로서 지칭됨) (**도 24b**); (iii) mir-485-3p 발현, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수 (본원에 "프로-DX1"로서 지칭됨) (**도 24c**); 및 (iv) miR-485-3p 발현, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, MMSE 점수, 및 CDR 점수 (본원에 "프로-DX2"로서 지칭됨) (**도 24d**). 환자 샘플들의 각각은 아밀로이드-β 축적에 기반하여 범주화되었다: (i) 아밀로이드-β 축적 없음 (좌측 막대, 즉, 아밀로이드 PET 음성) (n = 19); 또는 (ii) 아밀로이드-β 축적 있음 (우측 막대, 즉, 아밀로이드 PET 양성) (n = 20). miR-485-3p 발현을 정량화하기 위해, 실시간 PCR은 평균적으로 4.3 회 반복되었다. 박스 플롯을 가로지르는 수평 회색 박스는 회색 구역을 나타낸다. 회색 구역은 첫 번째 컷오프 값에 각 샘플에 대한 점수의 표준 편차의 절반을 더하고 빼는 부분이었다. **도 24a, 24b, 24c,** 및 **24d**의 각각에서, 오른쪽에 ROC 그래프는 상기 기재된 진단 파라미터의 상이한 조합 사용하기의 특이성 (y-축) 및 민감도 (x-축)를 도시한다. 수신기 작동 특징 (ROC) 분석은 하기 값들을 측정하는데 사용되었다: (i) 곡선하 면적 (AUC), (ii) 민감도, (iii) 특이성, 및 (iv) 정확도. ROC 분석의 통계적 값들은 회색 구역 결과를 배제함으로써 생성되었다. 중퇴율은 총 결과 중에 회색 구역에서 포함되지 않은 결과의 비율이었다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 정확도가 회색 구역을 배제한 결과 중에서 가장 높았던 특이성 및 민감도를 나타낸다.

도 25a, 25b, 25c, 및 **25d**는, 결과가 모든 환자들로부터 (즉, 임의의 특정 연령 그룹에 국한되지 않는.) 샘플에 기반되는 것을 제외하고, **도 24a, 24b, 24c,** 및 **24d**, 각각에 도시된 동일한 결과이다

도 26a, 26b, 및 **26c**는 하기 인지 장애가 있는 환자들을 진단하기 위해 다양한 임상 정보와 인간 임상 면봉 샘

플로부터의 miR-485 발현 조합하기의 능력을 도시한다: (i) 정상 인지 ("NC"); (ii) 경도 인지 장애 ("MCI"), 및 (iii) 알츠하이머병 ("AD"). **도 26a**는 하기 파라미터의 조합에 기반된 회귀 모델링을 사용하여 생성된 진단 점수의 비교를 제공한다: (i) miR-485-3p 발현 및 연령 (좌로부터 첫 번째 막대 그래프; "정량"); (ii) miR-485-3p 발현, 연령, 성별, 및 교육 연도 (좌로부터 두 번째 막대 그래프, "프리-DX"); (iii) mir-485-3p 발현, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수 (좌로부터 세 번째 막대 그래프; "프로-DX1"); 및 (iv) miR-485-3p 발현, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, MMSE 점수, 및 CDR 점수 (좌로부터 네 번째 막대 그래프; "프로-DX2"). 도시된 "NC" 및 "MCI" 그룹들의 각각에서, 왼쪽에 박스는 아밀로이드-β 축적이 없는 (*즉*, 아밀로이드 PET 음성) 환자들로부터 샘플을 나타내고, 오른쪽에 박스는 아밀로이드-β 축적이 있는 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성) 환자들로부터 샘플을 나타낸다. "AD" 그룹에서, 모든 환자들은 아밀로이드-β 축적에 대하여 양성 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성)이었다. 제공된 Q 값들은 스튜던트 t-테스트를 사용하여 측정된 경우에 p-값의 -log10을 지칭한다. 박스 플롯을 가로지르는 수평 회색 박스는 회색 구역을 나타낸다. 회색 구역은 첫 번째 컷오프 값에 각 샘플에 대한 점수의 표준 편차의 절반을 더하고 빼는 부분이었다 (방법 참조). 각 원은 개별 샘플을 나타낸다. **도 26b**는 인지 장애 진단에 기반된 (*즉*, 어느 한쪽 정상 장애 ("NC") 또는 경도 인지 장애 ("MCI")를 갖는 것으로서 진단된 아밀로이드-β 축적의 예측에 대한 하기 값들의 비교를 제공한다: (i) 정확도, (ii) AUC, (iii) 민감도, 및 (iv) 특이성. **도 26c**는 **도 26a**에서 기재된 진단 파라미터들의 조합에 기반하여 생성된 특이성 (y-축) 및 민감도 (x-축) 값들, *즉*, (i) "정량" (첫 번째 열); (ii) "프리-DX" (두 번째 열); (iii) "프로-DX1" (세 번째 열); 및 (iv) "프로-DX2" (네 번째 열)를 제공한다. 최상부 행은 정상 장애 ("NC")를 갖는 것으로서 진단된 환자들로부터 임상 면봉 샘플에 대한 결과를 도시하고, 최하부 행은 경도 인지 장애 ("MCI")를 갖는 것으로서 진단된 환자들로부터 임상 면봉 샘플에 대한 결과를 도시한다. **도 26c**에 도시된 그래프들의 각각에서 음영된 영역은 ROC 분석에 의해 측정된 경우에 AUC를 나타낸다. 화살표에 의해 식별된 원형 점은 정확도가 회색 구역을 배제한 결과 중에서 가장 높았던 특이성 및 민감도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 개시내용의 상세한 설명

[0078] 본 개시내용은 일반적으로 대상체의 miR-485-3p 수준을 (*예를 들면*, 대상체에서 유래된 생물학적 샘플, 예를 들면, 세포외 소포에서) 측정하는 단계를 포함하는, 인지 장애를 앓고 있는 대상체 (*예를 들면*, 인간 대상체) 식별하기에 관한 것이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 방법은 인지 장애를 앓고 있는 것으로서 식별된 대상체에게 miR-485-3p 억제제 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. miR-485 억제제는 적어도 하나의 miR-485 결합 부위를 포함하는 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 뉴클레오티드 분자는 단백질을 인코딩하지 않는다. 일부 양태에서, miRNA 결합 부위 또는 부위들은 내인성 miR-485에 결합할 수 있고, 이는 대상체에서 miR-485-3p의 발현 수준 및/또는 활성을 억제시키고/거나 감소시킨다.

[0079] 본 개시내용이 더욱 상세히 기재되기 전에, 본 개시내용이 기재된 특정한 조성 또는 공정 단계로 제한되지 않고, 그 자체가, 물론, 가변할 수 있음이 이해되어야 한다. 본 개시내용을 읽을 때 당업자에게 명백할 바와 같이, 본원에 기재되고 예시된 각각의 개별 양태는 본 개시내용의 범위 또는 정신으로부터 이탈하지 않고 다른 여러 양태 중 임의의 것의 속성으로부터 쉽게 분리되거나 이와 조합될 수 있는 별개 구성요소 및 속성을 갖는다. 임의의 인용된 방법은 인용된 사건의 순서로 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 실시될 수 있다.

[0080] 본원에 제공된 표제는, 본 명세서를 전체로서 참조로 정의될 수 있는, 본 개시내용의 다양한 양태의 제한이 아니다. 또한, 본원에 사용된 전문용어가 단지 특정한 양태를 설명하기 위한 것이고, 본 개시내용의 범위가 첨부된 청구항에 의해서만 제한될 것이므로, 제한되기 위한 것이 아님이 또한 이해되어야 한다.

[0081] ***I. 용어***

[0082] 본 개시내용이 보다 쉽게 이해될 수 있도록, 특정 용어가 먼저 정의된다. 본원에서 사용된 대로, 본원에 달리 명시적으로 제공된 경우를 제외하고, 하기 용어들의 각각은 하기 제시된 의미를 가질 수 있다. 추가의 정의는 본원 전체에 설명된다.

[0083] 용어 "한" 또는 "하나" 독립체가 그 독립체의 하나 이상을 지칭함이 유의되어야 하고; 예를 들어, "한 뉴클레오티드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 용어 "한" (또는 "하나"), "하나 이상", 및 "적어도 하나"는 본원에 교환가능하게 사용될 수 있다. 청구항이 어느 임의적 요소를 제외하도록 작성될 수 있음이 추가로 유의된다. 이와 같이, 본 진술은 청구항 요소의 인용, 또는 부정적인 제한의 사용과 관련하여 "단독으로", "오직" 및 기타 등등 같은 배타적 용어의 사용에 대하여 선행 근거의 역할을 하기

위한 것이다.

[0084] 게다가, 본원에 사용된 경우 "및/또는"은 다른 것과 함께 또는 다른 것 없이 2개의 특정된 속성 또는 구성요소의 각각의 특정 개시로서 간주되어야 한다. 그래서, 본원에 어구 예컨대 "A 및/또는 B"에서 사용된 경우 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독) 및 "B" (단독)를 포함하기 위한 것이다. 마찬가지로, 어구 예컨대 "A, B, 및/또는 C"에서 사용된 경우 용어 "및/또는"은 하기 양태들의 각각: A, B, 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독)를 포괄하기 위한 것이다.

[0085] 양태가 본원에 언어 "포함하는"으로 기재되는 곳마다, "으로 이루어지는" 및/또는 "으로 필수적으로 이루어지는"의 관점에서 기재된 달리 유사한 양태가 또한 제공됨이 이해된다.

[0086] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 관련되는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press는 본 개시내용에서 사용된 많은 용어의 일반 사전을 숙련자에게 제공한다.

[0087] 단위, 접두사, 및 기호는 그들의 국제단위계 (Systeme International de Unites (SI)) 허용된 형태로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 값의 범위가 인용되는 경우, 그 범위의 인용된 상한 및 하한 사이, 각각의 중간 정수 값, 및 이들의 각 분수가 또한 그러한 값들 사이의 각 하위범위와 함께, 구체적으로 개시되는 것이 이해되어야 한다. 임의의 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 범위에 포함되거나 제외될 수 있고, 어느 하나, 둘 다 포함되지 않거나 둘 다 포함되는 각 범위는 또한 본 개시내용 내에 포괄된다. 그래서, 본원에 인용된 범위는, 인용된 종점을 포함하는, 범위 이내 모든 값에 대하여 약칭으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 10의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 및 10으로 이루어지는 군으로부터 임의의 수, 수들의 조합, 또는 하위-범위를 포함하는 것으로 이해된다.

[0088] 값이 명시적으로 인용되는 경우, 인용된 값과 거의 동일한 정량 또는 양인 값이 또한 본 개시내용의 범위 내에 있음이 이해되어야 한다. 조합이 개시되는 경우, 그 조합의 요소들의 각 하위조합은 또한 구체적으로 개시되고 본 개시내용의 범위 내에 있다. 반대로, 상이한 요소 또는 요소들의 그룹이 개별적으로 개시되는 경우, 이들의 조합은 또한 개시된다. 개시내용의 임의의 요소가 복수의 대안을 갖는 것으로 개시되는 경우, 각 대안이 단독으로 또는 기타 대안과 임의의 조합으로 배제되는 그 개시내용의 예는 또한 이에 의해 개시되고; 개시내용의 하나 초과의 요소는 그러한 배제를 가질 수 있고, 그러한 배제를 갖는 요소들의 모든 조합은 이에 의해 개시된다.

[0089] 뉴클레오티드는 그들의 일반적으로 허용된 단일-문자 코드에 의해 지칭된다. 달리 지시되지 않는 한, 뉴클레오티드 서열은 왼쪽에서 오른쪽으로 5'에서 3' 배향으로 쓰여진다. 뉴클레오티드는 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회에 의해 권장된 그들의 일반적으로 알려진 1-문자 기호로 본원에 지칭된다. 따라서 'a'는 아데닌을 나타내고, 'c'는 시토신을 나타내고, 'g'는 구아닌을 나타내고, 't'는 티민을 나타내고, 'u'는 우라실을 나타낸다.

[0090] 아미노산 서열은 왼쪽에서 오른쪽으로 아미노에서 카르복시 배향으로 쓰여진다. 아미노산은 어느 한쪽 그들의 일반적으로 알려진 3 문자 기호로 또는 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회에 의해 권장된 1-문자 기호로 본원에 지칭된다.

[0091] 용어 "약"은 대략, 대략적으로, 쯤, 또는 의 영역에서를 의미하기 위해 본원에 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우, 제시된 수치 값의 위아래 경계를 확장함으로써 그 범위를 수정한다. 일반적으로, 용어 "약"은, *예를 들면*, 10 퍼센트, 위 또는 아래 (더 높거나 더 낮음)의 변동에 의해 명시된 값 위아래로 수치 값을 수정할 수 있다.

[0092] 본원에 사용된 경우에, 용어 "아데노-연관된 바이러스" (AAV)는, 비제한적으로, AAV 유형 1, AAV 유형 2, AAV 유형 3 (유형 3A 및 3B 포함), AAV 유형 4, AAV 유형 5, AAV 유형 6, AAV 유형 7, AAV 유형 8, AAV 유형 9, AAV 유형 10, AAV 유형 11, AAV 유형 12, AAV 유형 13, AAVrh.74, 뱀 AAV, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 양 AAV, 염소 AAV, 새우 AAV, AAV 혈청형 그리고 Gao 등 (*J. Virol. 78*:6381 (2004)) 및 Moris 등 (*Virol. 33*:375 (2004))에 의해 개시된 분기군, 그리고 지금 알려지거나 나중에 발견된 임의의 기타 AAV를 포함한다. *예를 들면,* FIELDS 등 VIROLOGY, volume 2, chapter 69 (4th ed., Lippincott-Raven Publishers), *참조*. 일부 양태에서, "AAV"는 알려진 AAV의 유도체를 포함한다. 일부 양태에서, "AAV"는 변형된 또는 인공 AAV

를 포함한다.

[0093] 용어 "투여", "투여하기", 및 이의 문법적 별형은 조성물, 예컨대 본 개시내용의 miRNA 억제제를, 대상체에게 약학적으로 허용가능한 루트를 통해 도입하는 것을 지칭한다. 조성물, 예컨대 본 개시내용의 miRNA 억제제를 포함하는 미셀의 대상체에의 도입은 종양내, 구강내, 폐내, 비강내, 비경구 (정맥내, 동맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하), 직장, 림프내, 척추강내, 안구주위 또는 국부를 포함하는 임의의 적합한 루트에 의한 것이다. 투여는 자가-투여 그리고 타인에 의한 투여를 포함한다. 투여의 적합한 루트는 조성물 또는 제제가 이의 의도된 기능을 수행하도록 한다. 예를 들어, 적합한 루트가 정맥내이면, 조성물은 조성물 또는 제제를 대상체의 정맥에 도입함으로써 투여된다.

[0094] 본원에 사용된 경우에, 용어 "대략"은, 관심의 하나 이상의 값에 적용된 경우, 명시된 참조 값과 유사한 값을 지칭한다. 특정 양태에서, 용어 "대략"은 달리 명시되지 않거나 달리 문맥에서 명백하지 않은 한 명시된 참조 값의 어느 한쪽 방향으로 (초과 또는 미만) 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 그 이하 내에 해당하는 값의 범위를 지칭한다 (그러한 수가 가능한 값의 100%를 초과할 경우 제외).

[0095] 본원에 사용된 경우에, 용어 "를 앓고 있는"은 용어 "로 고통받는"과 상호교환적으로 사용될 수 있고 본원에 개시된 인지 장애를 갖는 상태를 지칭한다. 일부 양태에서, 인지 장애를 앓고 있는 대상체는 인지 장애와 연관된 하나 이상의 증상 (*예를 들면*, 알츠하이머병 환자의 경우 기억 상실)을 나타낸다. 하지만, 당업자에 명백할 바와 같이, 대상체는 본원에 개시된 질환 또는 장애를 앓게 되기 위해 하나 이상의 증상을 나타낼 필요가 없다 (*예를 들면*, 질환 또는 장애에 대한 유전적 소인을 가질 수 있다).

[0096] 본원에 사용된 경우에, 용어 "과 연관된"은 둘 이상의 실체 또는 특성 사이 밀접한 관계를 지칭한다. 가령, 본 개시내용으로 진단될 수 있는 질환 또는 병태 (*예를 들면*, miRNA, *예를 들면*, miR-485-3p의 비정상 수준과 연관된 질환 또는 병태)를 기재하는데 사용된 경우, 용어 "과 연관된"은 대상체가 비정상 miRNA (*예를 들면*, miR-485-3p) 발현 수준을 나타내는 때 대상체가 질환 또는 병태로 고통받는 (즉, 앓고 있는) 증가된 가능성을 지칭한다. 일부 양태에서, 비정상 발현은 질환 또는 병태를 야기시킨다. 일부 양태에서, 비정상 발현은 질환 또는 병태를 반드시 야기시키지 않지만 이와 연관된다. 대상체가 질환 또는 병태와 연관된 단백질 및/또는 유전자의 비정상 발현을 나타내는지 여부를 결정하는데 사용될 수 있는 적합한 방법의 비-제한 예는 본 개시내용에서 다른 곳에 제공된다.

[0097] 본원에 사용된 경우에, 용어 "비정상 수준"은 본원에 기재된 질환 또는 병태 (*예를 들면*, 인지 장애)로 고통받지 않는 참조 대상체와 상이한 (*예를 들면*, 증가된) 수준 (발현 및/또는 활성)을 지칭한다. 일부 양태에서, (*예를 들면*, miR-485-3p의) 비정상 수준은 참조 대상체 (*예를 들면*, 본원에 기재된 질환 또는 병태로 고통받지 않는 대상체)의 상응하는 수준과 비교하여 적어도 약 0.1-배, 적어도 약 0.2-배, 적어도 약 0.3-배, 적어도 약 0.4-배 이상, 적어도 약 0.5-배, 적어도 약 0.6-배, 적어도 약 0.7-배, 적어도 약 0.8-배, 적어도 약 0.9-배, 적어도 약 1-배, 적어도 약 2-배, 적어도 약 3-배, 적어도 약 4-배, 적어도 약 5-배, 적어도 약 10-배, 적어도 약 20-배, 적어도 약 30-배, 적어도 약 40-배, 적어도 약 50-배, 적어도 약 75-배, 적어도 약 100-배, 적어도 약 200-배, 적어도 약 300-배, 적어도 약 400-배, 적어도 약 500-배, 적어도 약 750-배, 또는 적어도 약 1,000-배 이상 만큼 증가되는 수준을 지칭한다.

[0098] 본원에 사용된 경우에, 용어 "인지 장애"는, 비제한적으로, 기억, 학습, 인식, 주의력, 의사소통, 운동 협응, 및/또는 지적 능력의 장애를 포함하는 정신 과정에 영향을 미치는 임의의 장애를 지칭한다. 일부 양태에서, 인지 장애는 알츠하이머병 (AD) 및/또는 경도 인지 장애 (MCI)이다. 일부 양태에서, "인지 장애"는 AD, MCI, 기억 상실, 피질기저 증후군, 치매, 루이소체 치매, 전두측두엽 치매, 원발성 진행성 실어증, 진행성 비유창성 실어증, 진행성 핵상 마비, 가노화, 의미 치매, 중증 인지 장애, 피질하 치매, 혈관성 치매, 근위축성 측삭 경화증 (ALS), 및/또는 로고패닉 진행성 실어증이다. 일부 양태에서, 인지 장애는 아밀로이드-β 축적과 연관된다.

[0099] 본원에 사용된 경우에, 용어 "보존된"은 비교되는 둘 이상의 서열의 동일 위치에서 교대되지 않은 채 발생하는 것들인 폴리뉴클레오티드 서열 또는 폴리펩티드 서열의 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기, 각각을 지칭한다. 비교적 보존되는 뉴클레오티드 또는 아미노산은 서열에서 다른 곳에 나타나는 뉴클레오티드 또는 아미노산보다 더욱 관련된 서열 중에서 보존되는 것들이다.

[0100] 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 100% 동일하면 "완전히 보존된" 또는 "동일한"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 적어도 70% 동일, 적어도 80% 동일, 적어도 90% 동일, 또는 적어도 95% 동일하면 "고도로 보존된"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 약 70% 동일,

약 80% 동일, 약 90% 동일, 약 95%, 약 98%, 또는 약 99% 동일하면 "고도로 보존된"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 적어도 30% 동일, 적어도 40% 동일, 적어도 50% 동일, 적어도 60% 동일, 적어도 70% 동일, 적어도 80% 동일, 적어도 90% 동일, 또는 적어도 95% 동일하면 "보존된"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 약 30% 동일, 약 40% 동일, 약 50% 동일, 약 60% 동일, 약 70% 동일, 약 80% 동일, 약 90% 동일, 약 95% 동일, 약 98% 동일, 또는 약 99% 동일하면 "보존된"이라고 한다. 서열의 보존은 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 전체 길이에 적용할 수 있거나 이의 부문, 영역 또는 속성에 적용할 수 있다.

[0101] 용어 "에서 유래된"은, 본원에 사용된 경우에, 특정된 분자 또는 유기체, 또는 특정된 분자 또는 유기체로부터 정보 (*예를 들면,* 아미노산 또는 핵산 서열)에서 단리되거나 상기를 사용하여 만들어지는 구성요소를 지칭한다. 예를 들어, 제2 핵산 서열에서 유래되는 핵산 서열은 제2 핵산 서열의 뉴클레오티드 서열과 동일하거나 실질적으로 유사한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 경우에, 유래된 종은, 예를 들어, 자연 발생 돌연변이유발, 인공 지시된 돌연변이유발 또는 인공 무작위 돌연변이유발에 의해 수득될 수 있다. 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 유래하는데 사용된 돌연변이유발은 의도적으로 지시되거나 의도적으로 무작위이거나, 각각의 혼합물일 수 있다. 최초에서 유래된 상이한 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 창출하기 위한 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 돌연변이유발은 (*예를 들면,* 폴리머라제 불충실에 의해 야기된) 무작위 이벤트일 수 있고 유래된 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 식별은, *예를 들면*, 본원에 논의된 대로, 적절한 스크리닝 방법으로 이루어질 수 있다. 일부 양태에서, 제2 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열에서 유래되는 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열은 제2 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열, 각각에 대한 적어도 약 50%, 적어도 약 51%, 적어도 약 52%, 적어도 약 53%, 적어도 약 54%, 적어도 약 55%, 적어도 약 56%, 적어도 약 57%, 적어도 약 58%, 적어도 약 59%, 적어도 약 60%, 적어도 약 61%, 적어도 약 62%, 적어도 약 63%, 적어도 약 64%, 적어도 약 65%, 적어도 약 66%, 적어도 약 67%, 적어도 약 68%, 적어도 약 69%, 적어도 약 70%, 적어도 약 71%, 적어도 약 72%, 적어도 약 73%, 적어도 약 74%, 적어도 약 75%, 적어도 약 76%, 적어도 약 77%, 적어도 약 78%, 적어도 약 79%, 적어도 약 80%, 적어도 약 81%, 적어도 약 82%, 적어도 약 83%, 적어도 약 84%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%의 서열 동일성을 갖고, 여기서 제1 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열은 제2 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열의 생물학적 활성을 보유한다.

[0102] 본원에 사용된 경우에, "코딩 영역" 또는 "코딩 서열"은 아미노산으로 번역가능한 코돈으로 이루어지는 폴리뉴클레오티드의 한 부문이다. "정지 코돈" (TAG, TGA, 또는 TAA)이 아미노산으로 전형적으로 번역되지 않아도, 코딩 영역의 부분인 것으로 간주될 수 있지만, 임의의 측접하는 서열, 예를 들어 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사적 종결자, 인트론, 및 기타 등등은 코딩 영역의 부분이 아니다. 코딩 영역의 경계는, 생성된 폴리펩티드의 아미노 말단을 인코딩하는, 5' 말단에서 시작 코돈, 및 생성된 폴리펩티드의 카르복시 말단을 인코딩하는, 3' 말단에서 번역 정지 코돈에 의해 전형적으로 결정된다.

[0103] 용어 "상보적" 및 "상보성"은 왓슨-크릭 염기-짝짓기 규칙에 의해 서로 관련되는 둘 이상의 올리고머 (*즉,* 핵염기 서열을 각각 포함함), 또는 올리고머와 표적 유전자 사이를 지칭한다. 예를 들어, 핵염기 서열 "T-G-A (5'→3')"는 핵염기 서열 "A-C-T (3'→5')"에 상보적이다. 상보성은 "부분적"일 수 있고, 여기에서 주어진 핵염기 서열의 모든 핵염기보다 적은 수가 염기 짝짓기 규칙에 따라 다른 핵염기 서열에 매칭된다. 예를 들어, 일부 양태에서, 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이 상보성은 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 또는 약 95%일 수 있다. 따라서, 특정 양태에서, 용어 "상보적"은 표적 핵산 서열 (*예를 들면,* miR-485 핵산 서열)에 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 매치 또는 상보성을 지칭한다. 또는, 예시를 계속하기 위해 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이 "완전한" 또는 "완벽한" (100%) 상보성이 있을 수 있다. 일부 양태에서, 핵염기 서열 사이 상보성의 정도는 서열 사이 하이브리드화의 효율 및 강도에서 상당한 영향을 갖는다.

[0104] 본원에 사용된 경우에, 용어 "진단하기" (및 이의 파생어)는 대상체가 주어진 질환 또는 병태에 대하여 앓거나, 고통받거나, 위험 (*예를 들면*, 유전적 소인)이 있는지 여부를 결정하거나 예측하고, 이에 의해 치료에 적합한 대상체를 식별하는데 사용될 수 있는 방법을 지칭한다. 일부 양태에서, 치료는 치료적일 수 있다(*예를 들면*, 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상을 나타내는 대상체에게 투여됨). 일부 양태에서, 치료는 예방성일 수 있다 (*예를 들면*, 질환 또는 장애의 발병을 방지하고/하거나 감소시키기 위해 위험에 처한 대상체에게 투여됨).

본원에 기재된 경우에, 숙련된 기술자는 하나 이상의 진단 마커 (*예를 들면*, miR-485-3p)에 근거하여 진단을 내릴 수 있으며, 여기에서 진단 마커의 존재, 부재, 양, 또는 양의 변화는 병태의 존재, 중증도, 또는 부재를 나타낸다. 일부 양태에서, (*예를 들면*, 대상체로부터 생물학적 샘플에서) miR-485-3p 발현의 증가는 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병)를 나타낸다. 용어 "진단"은 특정한 질환 또는 장애의 존재 또는 부재를 100% 정확도로 결정하는 능력, 또는 주어진 과정 또는 성과가 발생하지 않을 가능성보다 더 높다는 것을 지칭하지 않는다. 대신, 숙련된 기술자는 용어 "진단"이 특정 질환 또는 장애가 대상체에 존재하는 증가된 확률을 지칭한다는 것을 이해할 것이다. 일부 양태에서, 용어 "진단"은 인지 장애 (예를 들어, 본원에 기재된 것들)가 있는 대상체를 식별하는 하나 이상의 진단 방법을 포함한다.

[0105] 용어 "다운스트림"은 참조 뉴클레오티드 서열에 대해 3' 위치되는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 특정 양태에서, 다운스트림 뉴클레오티드 서열은 전사의 시작점을 따르는 서열에 관련한다. 예를 들어, 유전자의 번역 개시 코돈은 전사의 시작 부위의 다운스트림 위치된다.

[0106] 용어 "부형제" 및 "담체"는 교환가능하게 사용되고 화합물, 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제의 투여를 추가로 촉진시키기 위해 약학적 조성물에 첨가된 불활성 서브스턴스를 지칭한다.

[0107] 용어 "발현"은, 본원에 사용된 경우에, 폴리뉴클레오티드가 유전자 산물, *예를 들면,* RNA 또는 폴리펩티드를 생산하는 공정을 지칭한다. 폴리뉴클레오티드의 마이크로 RNA 결합 부위, 작은 헤어핀 RNA (shRNA), 작은 간섭 RNA (siRNA), 또는 임의의 기타 RNA 산물로의 전사를 제한 없이 포함한다. 폴리뉴클레오티드의 메신저 RNA (mRNA)로의 전사, 및 mRNA의 폴리펩티드로의 번역을, 제한 없이, 포함한다. 발현은 "유전자 산물"을 생산한다. 본원에 사용된 경우에, 유전자 산물은, *예를 들면*, 핵산, 예컨대 유전자의 전사에 의해 생산된 RNA일 수 있다. 본원에 사용된 경우에, 유전자 산물은 어느 한쪽 핵산, 유전자의 전사에 의해 생산된 RNA 또는 miRNA, 또는 전사체로부터 번역되는 폴리펩티드일 수 있다. 본원에 기재된 유전자 산물은 추가로 전사후 변형, *예를 들면,* 폴리아데닐화 또는 스플라이싱을 가진 핵산, 또는 번역후 변형, *예를 들면,* 인산화, 메틸화, 글리코실화, 지질의 첨가, 다른 단백질 아단위체와의 회합, 또는 단백질분해 절단을 가진 폴리펩티드를 포함한다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "발현"은 용어 "수준"과 상호교환적으로 사용될 수 있다. 가령, 일부 양태에서, 용어 "miR-485-3p 발현"은 용어 "miR-485-3p 수준"과 동의어일 수 있다.

[0108] 본원에 사용된 경우에, 용어 "세포외 소포" (EV)는 내부 공간을 둘러싸는 막을 포함하는 세포-유래 소포를 지칭한다. 세포외 소포는 이들이 유래되는 세포보다 작은 직경을 갖는 모든 막-결합 소포 (*예를 들면*, 엑소좀, 나노소포, 미세소포)를 포함한다. 예로서 및 제한 없이, 세포외 소포는 세포사멸체, 세포의 단편, 직접 또는 간접 조작에 의해 (*예를 들면*, 연속 압출 또는 알칼리 용액으로의 처리에 의해) 세포에서 유래된 소포, 소포화된 소기관, 및 살아있는 세포에 의해 (*예를 들면*, 직접 원형질막 출아 또는 후기 엔도솜의 원형질막과의 융합에 의해) 생산된 소포를 포함한다. 세포외 소포는 살아있거나 죽은 유기체, 이식된 조직이나 기관, 원핵 또는 진핵 세포, 및/또는 배양된 세포에서 유래될 수 있다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 구강 상피 세포에서 (*예를 들면*, 인간 임상 면봉 샘플에서) 유래된다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 혈청/혈장에서 (예를 들어, 인간 혈장 샘플에서) 유래된다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 엑소좀, 미세소포, 나노소포, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 양태에서, 세포외 소포는 엑소좀이다.

[0109] 본원에 사용된 경우에, 용어 "엑소좀"은 약 20 nm 내지 약 300 nm의 직경을 갖는 세포-유래 소포를 지칭한다. 엑소좀은 표면 마커, 예컨대 테트라스파닌, *예를 들면*, CD9, CD37, CD44, CD53, CD63, CD81, CD82 및 CD151; 표적화 또는 접착 마커, 예컨대 인테그린, ICAM-1, EpCAM 및 CD31; 막 융합 마커, 예컨대 아넥신, TSG101, ALIX; 및 기타 엑소좀 막횡단 단백질, 예컨대 Rab5b, HLA-G, HSP70, LAMP2 (리소좀-회합 막 단백질) 및 LIMP (리소좀 통합 막 단백질)을 포함하며, 다른 소포에 존재하지 않는 특정 표면 마커를 포함한다.

[0110] 본원에 사용된 경우에, 용어 "미세소포" (MV)는 엑소좀보다 큰 직경을 가진 EV (*즉*, 세포-유래 소포)의 한 유형을 지칭한다. 일부 양태에서, 미세소포는 약 10 nm 내지 약 5,000 nm (*예를 들면*, 약 50 nm 내지 1500 nm, 약 75 nm 내지 1500 nm, 약 75 nm 내지 1250 nm, 약 50 nm 내지 1250 nm, 약 30 nm 내지 1000 nm, 약 50 nm 내지 1000 nm, 약 100 nm 내지 1000 nm, 약 50 nm 내지 750 nm, *등*)의 직경을 포함한다.

[0111] 본원에 사용된 경우에, 용어 "나노소포"는 약 20 nm 내지 약 250 nm (*예를 들면*, 약 30 nm 내지 약 150 nm)의 직경을 갖는 세포-유래 소포를 지칭한다.

[0112] 본원에 사용된 경우에, 용어 "인간 구강-유래 무세포 엑소좀" (HOCFE)은 인간 구강 생체유체로부터 단리된 나노사이즈 바디 (*예를 들면*, 엑소좀)를 지칭한다. 인간 면봉 샘플로부터 HOCFE의 예시적 단리 방법은 본 개시내용

에서 다른 곳에 제공된다.

[0113] 본원에 사용된 경우에, 용어 "상동성"은 중합체성 분자 사이, *예를 들면* 핵산 분자 사이 전반적 관련성을 지칭한다. 일반적으로, 용어 "상동성"은 2개 분자 사이 진화적 관계를 암시한다. 그래서, 상동인 2개 분자는 공통 진화적 조상을 가질 것이다. 본 개시내용의 맥락에서, 용어 상동성은 양쪽 동일성 및 유사성을 포괄한다.

[0114] 일부 양태에서, 중합체성 분자는 분자에서 단량체의 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99%가 동일하거나 (정확하게 동일 단량체) 유사 (보존적 치환)하면 서로에 "상동"인 것으로 간주된다. 용어 "상동"은 반드시 적어도 2개 서열 (*예를 들면,* 폴리뉴클레오티드 서열) 사이 비교를 지칭한다.

[0115] 본 개시내용의 맥락에서, 치환은 (이들이 아미노산 치환으로서 지칭되는 경우조차) 핵산 수준에서 실행된다, *즉*, 아미노산 잔기를 대안적 아미노산 잔기로 치환하기는 제1 아미노산을 인코딩하는 코돈을 제2 아미노산을 인코딩하는 코돈으로 치환시킴으로써 실행된다.

[0116] 본원에 사용된 경우에, 용어 "동일성"은 중합체성 분자 사이, *예를 들면,* 폴리뉴클레오티드 분자 사이 전반적 단량체 보존을 지칭한다. 임의의 추가의 수식어, *예를 들면,* 폴리뉴클레오티드 A 없이 용어 "동일한"은 폴리뉴클레오티드 B와 동일하고, 폴리뉴클레오티드 서열이 100% 동일함 (100% 서열 동일성)을 암시한다. *예를 들면*, "70% 동일한"으로서 2개 서열 기재하기는 이들을, *예를 들면*, "70% 서열 동일성"을 갖는 것으로서 기재하기와 같다.

[0117] 2개 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 퍼센트 동일성의 계산은, 예를 들어, 최적 비교 목적으로 2개 서열을 정렬시킴으로써 수행될 수 있다 (*예를 들면*, 갭은 최적 정렬을 위하여 제1 및 제2 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 한쪽 또는 양쪽에 도입될 수 있고 비-동일한 서열은 비교 목적으로 무시될 수 있다). 특정 양태에서, 비교 목적으로 정렬된 서열의 길이는 참조 서열의 길이의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100%이다. 상응하는 아미노산 위치에 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드의 경우에 염기는 그 다음 비교된다.

[0118] 제1 서열에서 한 위치가 제2 서열에서 상응하는 위치와 동일한 아미노산 또는 뉴클레오티드에 의해 점유되는 경우, 분자는 그 위치에 동일하다. 2개 서열 사이 퍼센트 동일성은, 2개 서열의 최적 정렬을 위하여 도입될 필요가 있는, 갭의 수, 및 각 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유된 동일한 위치의 수의 함수이다. 서열의 비교 그리고 2개 서열 사이 퍼센트 동일성의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 성취될 수 있다.

[0119] 상이한 서열 (*예를 들면,* 폴리뉴클레오티드 서열)을 정렬하는데 사용될 수 있는 적합한 소프트웨어 프로그램은 다양한 소스로부터 이용가능하다. 퍼센트 서열 동일성을 결정하기 위한 하나의 적합한 프로그램은 미국 정부의 국립 생명공학 정보 센터 BLAST 웹 사이트 (blast.ncbi.nlm.nih.gov)에서 이용가능한 BLAST 프로그램 제품군의 부분인, b12seq이다. B12seq는 어느 한쪽 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하는 2개 서열 사이 비교를 수행한다. BLASTN은 핵산 서열을 비교하는데 사용되고, 한편 BLASTP는 아미노산 서열을 비교하는데 사용된다. 다른 적합한 프로그램은, *예를 들면*, EMBOSS 생물정보학 프로그램 제품군의 부분인 Needle, Stretcher, Water, 또는 Matcher이고 www.ebi.ac.uk/Tools/psa에서 유럽 생물정보학 연구소 (European Bioinformatics Institute (EBI))로부터 또한 이용가능하다.

[0120] 서열 정렬은 당업계에서 알려진 방법 예컨대 MAFFT, Clustal (ClustalW, Clustal X 또는 Clustal Omega), MUSCLE, 등을 사용하여 실행될 수 있다.

[0121] 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 참조 서열과 정렬하는 단일 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 표적 서열 내에서 상이한 영역은 그들의 자체 퍼센트 서열 동일성을 각각 가질 수 있다. 퍼센트 서열 동일성 값이 가장 가까운 10분의 1로 반올림됨을 유의된다. 예를 들어, 80.11, 80.12, 80.13 및 80.14는 80.1로 반내림되고 80.15, 80.16, 80.17, 80.18 및 80.19는 80.2로 반올림된다. 또한 길이 값이 항상 정수인 것이 유의된다.

[0122] 특정 양태에서, 제2 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)에 대한 제1 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)의 백분율 동일성 (%ID)은 %ID = 100 x (Y/Z)로서 계산되고, 식중 Y는 (시각 검사 또는 특정한 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬된 경우에) 제1 및 제2 서열의 정렬에서 동일한 매치로서 채점된 아미노산 잔기 (또는 핵염기)의 수이고 Z는 제2 서열에서 잔기의 총수이다. 제1 서열의 길이가 제2 서열보다 더 길면, 제2 서열에 대한 제1 서열의 퍼센트 동일성은 제1 서열에 대한 제2 서열의 퍼센트 동일성보다 더 높을 것이다.

[0123] 당업자는 퍼센트 서열 동일성의 계산을 위한 서열 정렬의 생성이 일차 서열 데이터에 의해 독점적으로 구동된 이진 서열-서열 비교에 제한되지 않는다는 것을 이해할 것이다. 서열 정렬이 서열 데이터를 이종 소스 예컨대 구조적 데이터 (*예를 들면*, 결정학적 단백질 구조), 기능적 데이터 (*예를 들면*, 돌연변이의 위치), 또는 계통발생적 데이터로부터의 데이터와 통합함으로써 생성될 수 있음이 또한 이해될 것이다. 다중 서열 정렬을 생성하기 위해 이종 데이터를 통합하는 적합한 프로그램은 www.tcoffee.org에서 이용가능한, 그리고, *예를 들면*, EBI로부터 대안적으로 이용가능한 T-Coffee이다. 퍼센트 서열 동일성을 계산하는데 사용된 최종 정렬이 어느 한쪽 자동으로 또는 수동으로 큐레이션될 수 있음이 또한 이해될 것이다.

[0124] 본원에 사용된 경우에, 용어 "단리된", "정제된", "추출된", 및 이의 문법적 별형은 교환가능하게 사용되고 하나 이상의 정제 공정을 겪은 본 개시내용의 원하는 조성물, 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제의 제조물의 상태를 지칭한다. 일부 양태에서, 본원에 사용된 경우에 단리하기 또는 정제하기는 오염물을 함유하는 샘플로부터 본 개시내용의 조성물의 (*예를 들면*, 분획), 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제를 부분적으로 제거하는, 제거하기의 공정이다.

[0125] 일부 양태에서, 단리된 조성물은 검출가능한 바람직하지 않은 활성을 갖지 않거나, 대안적으로, 바람직하지 않은 활성의 수준 또는 양은 허용가능한 수준 또는 양 이하이다. 다른 양태에서, 단리된 조성물은 허용가능한 양 및/또는 농도 및/또는 활성 이상에서, 본 개시내용의 원하는 조성물의 양 및/또는 농도를 갖는다. 다른 양태에서, 단리된 조성물은 조성물이 수득되는 시작 물질과 비교된 경우에 농축된다. 이 농축은 시작 물질과 비교된 경우에 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.9%, 적어도 약 99.99%, 적어도 약 99.999%, 적어도 약 99.9999%, 또는 99.9999% 초과만큼일 수 있다.

[0126] 일부 양태에서, 단리된 제조물은 잔류 생물학적 산물이 실질적으로 없다. 일부 양태에서, 단리된 제조물은 임의의 오염 생물학적 물질이 100% 없거나, 적어도 약 99% 없거나, 적어도 약 98% 없거나, 적어도 약 97% 없거나, 적어도 약 96% 없거나, 적어도 약 95% 없거나, 적어도 약 94% 없거나, 적어도 약 93% 없거나, 적어도 약 92% 없거나, 적어도 약 91% 없거나, 적어도 약 90% 없다. 잔류 생물학적 산물은 비생물적 물질 (화학물질 포함) 또는 원치않는 핵산, 단백질, 지질, 또는 대사산물을 포함할 수 있다.

[0127] 용어 "결합된"은 본원에 사용된 경우에 제2 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오티드 서열, 각각에 공유적으로 또는 비-공유적으로 연결된 제1 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 제1 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 제2 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열에 직접적으로 연결 또는 병치될 수 있거나 대안적으로 중간 서열은 제1 서열을 제2 서열에 공유적으로 연결시킬 수 있다. 용어 "결합된"은 5'-말단 또는 3'-말단에서 제2 폴리뉴클레오티드 서열에 제1 폴리뉴클레오티드 서열의 융합을 의미하고, 뿐만 아니라 제2 폴리뉴클레오티드 서열 (또는 제1 폴리뉴클레오티드 서열, 각각)에서 임의의 2개 뉴클레오티드에 전체 제1 폴리뉴클레오티드 서열 (또는 제2 폴리뉴클레오티드 서열)의 삽입을 포함한다. 제1 폴리뉴클레오티드 서열은 포스포디에스테르 결합 또는 링커에 의해 제2 폴리뉴클레오티드 서열에 결합될 수 있다. 링커는, *예를 들면*, 폴리뉴클레오티드일 수 있다.

[0128] "miRNA 억제제"는, 본원에 사용된 경우에, miRNA 발현, 기능, 및/또는 활성을 감소, 변경, 및/또는 조절할 수 있는 화합물을 지칭한다. miRNA 억제제는, miRNA 억제제가 표적 miRNA 서열에 하이브리드화하도록, 표적 miRNA 핵산 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 폴리뉴클레오티드 서열일 수 있다. 가령, 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는, miR-485-3p 억제제가 miR-485-3p 서열에 하이브리드화하도록, 표적 miR-485-3p 핵산 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 서열에 대한 miR-485-3p 억제제의 하이브리드화는 miR-485-3p의 발현, 기능, 및/또는 활성을 감소, 변경, 및/또는 조절한다.

[0129] 용어 "miRNA", "miR", 및 "마이크로RNA"는 교환가능하게 사용되고 RNA-기반 유전자 조절에 관여되는 진핵생물에서 발견된 마이크로RNA 분자를 지칭한다. 본 용어는 전구체로부터 가공된 단일-가닥 RNA 분자를 지칭하는데 사용될 것이다. 일부 양태에서, 용어 "안티센스 올리고머"는 본 개시내용의 마이크로RNA 분자를 기재하는데 또한 사용될 수 있다. 본 개시내용에 관련된 miRNA의 명칭 및 그들의 서열은 본원에 제공된다. 마이크로RNA는 표적 mRNA의 탈안정화 또는 번역적 억제로 이어지는 불완전 염기 짝짓기를 통해서 표적 mRNA에 결합하고 인식하며 이에 의해 표적 유전자 발현을 하향조절한다. 반대로, miRNA 결합 부위를 포함하는 분자 (일반적으로 miRNA의 씨드 영역에 상보적인 서열을 포함하는 분자)를 통해 miRNA 표적화하기는 표적 유전자의 상향조절을 초래하는

miRNA-유도 번역적 억제를 감소 또는 억제시킬 수 있다.

[0130] 용어 "미스매치" 또는 "미스매치들"은 염기 짝짓기 규칙에 따라 표적 핵산 서열 (*예를 들면,* miR-485-3p)에 매칭되지 않는 올리고머 핵염기 서열 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)에서 (인접 또는 분리되든) 하나 이상의 핵염기를 지칭한다. 완벽한 상보성이 종종 요구되지만, 일부 양태에서, 하나 이상 (*예를 들면,* 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 미스매치들)은 표적 핵산 서열과 관련하여 발생할 수 있다. 올리고머 내에서 임의의 위치에 이형은 포함된다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 안티센스 올리고머 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 말단 근처 핵염기 서열에서의 이형, 내부에서의 이형을 포함하고, 존재하는 경우 전형적으로 5' 및/또는 3' 말단의 약 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 아단위체 이내이다. 일부 양태에서, 1, 2, 또는 3개 핵염기는 제거될 수 있고 여전히 표적내 결합하기를 제공할 수 있다.

[0131] 본원에 사용된 경우에, 용어 "조절하다", "변형하다", 및 이의 문법적 별형은, 일반적으로 특정 농도, 수준, 발현, 기능 또는 행동에 적용된 경우, 특정 농도, 수준, 발현, 기능 또는 행동을 증가시킴 또는 감소시킴, *예를 들면,* 직접적으로 또는 간접적으로 촉진시킴/자극시킴/상향조절시킴 또는 방해함/억제시킴/하향조절시킴으로써 변경시키는 능력, 예컨대, *예를 들면,* 길항제 또는 작용제로서 작용하는 능력을 지칭한다. 일부 경우에, 조절자는 대조군에 비해, 또는 일반적으로 예상되는 활성의 평균 수준에 비해 또는 대조군 활성 수준에 비해 특정 농도, 수준, 활성 또는 기능을 증가 및/또는 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miRNA-485-3p 억제제는 miR-485-3p 발현, 기능, 및/또는 활성을 조절 (예를 들면, 감소, 변경, 또는 폐지)할 수 있다.

[0132] 용어 "나이브"는, 주기 임계 (Ct)를 설명하기 위해 본원에 사용된 경우에 원시 Ct 값 (*즉,* PCR 검정으로부터 직접 측정된 경우 그리고 임의의 추가 계산 없이)을 지칭한다.

[0133] "핵산", "핵산 분자", "뉴클레오티드 서열", "폴리뉴클레오티드", 및 이의 문법적 별형은 교환가능하게 사용되고 리보뉴클레오시드 (아데노신, 구아노신, 우리딘 또는 시티딘; "RNA 분자") 또는 데옥시리보뉴클레오시드 (데옥시아데노신, 데옥시구아노신, 데옥시티미딘, 또는 데옥시시티딘; "DNA 분자")의 포스페이트 에스테르 중합체성 형태, 또는 이들의 임의의 포스포에스테르 유사체, 예컨대 포스포로티오에이트 및 티오에스테르를, 어느 한 쪽 단일 가닥 형태, 또는 이중-가닥 나선으로 지칭한다. 단일 가닥 핵산 서열은 단일-가닥 DNA (ssDNA) 또는 단일-가닥 RNA (ssRNA)를 지칭하다. 이중 가닥 DNA-DNA, DNA-RNA 및 RNA-RNA 나선은 가능하다. 용어 핵산 분자, 및 특히 DNA 또는 RNA 분자는 분자의 일차 및 이차 구조만을 지칭하고, 임의의 특정한 삼차 형태로 제한하지 않는다. 그래서, 이 용어는, *특히,* 선형 또는 원형 DNA 분자 (*예를 들면,* 제한 단편), 플라스미드, 초나선 DNA 및 염색체에서 발견된 이중-가닥 DNA를 포함한다. 특정한 이중-가닥 DNA 분자의 구조 논의에서, 서열은 DNA의 비-전사된 가닥 (*즉,* mRNA에 상동인 서열을 갖는 가닥)을 따라 5'에서 3' 방향으로 서열만을 제공하는 정상 관례에 따라 본원에 기재될 수 있다. "재조합 DNA 분자"는 분자성 생물학적 조작을 겪은 DNA 분자이다. DNA는, 비제한적으로, cDNA, 게놈성 DNA, 플라스미드 DNA, 합성 DNA, 및 절반-합성 DNA를 포함한다. 본 개시내용의 "핵산 조성물"은 하나 이상의 핵산을 본원에 기재된 경우에 포함한다.

[0134] 용어 "약학적으로 허용가능한 담체", "약학적으로 허용가능한 부형제", 및 이의 문법적 이형은 인간을 포함하는 동물에 사용을 위하여 미국 연방 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전에서 열거된 제제 중 임의의 것, 뿐만 아니라 대상체에 조성물의 투여를 금지하고 투여된 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 폐기하지 않는 정도로 바람직하지 않은 생리학적 효과의 생산을 야기시키지 않는 임의의 담체 또는 희석제를 포괄한다. 약학적 조성물을 제조하는데 유용하고 일반적으로 안전하고, 비-독성이고, 바람직한 부형제 및 담체가 포함된다.

[0135] 본원에 사용된 경우에, 용어 "약학적 조성물"은, 하나 이상의 다른 화학적 구성요소, 예컨대 약학적으로 허용가능한 담체 및 부형제와 혼합되거나 섞인, 또는 상기에 현탁된, 본원에 기재된 화합물 중 하나 이상, 예컨대, *예를 들면,* 본 개시내용의 miRNA 억제제를 지칭한다. 약학적 조성물의 하나의 목적은 대상체에게 본 개시내용의 miRNA 억제제를 포함하는 제조물의 투여를 용이하게 하는 것이다.

[0136] 용어 "폴리뉴클레오티드"는, 본원에 사용된 경우에, 리보뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드, 이들의 유사체, 또는 이들의 혼합물을 포함하는, 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭한다.

[0137] 일부 양태에서, 본 용어는 분자의 일차 구조를 지칭한다. 그래서, 본 용어는 삼중-, 이중- 및 단일-가닥 데옥시리보핵산 ("DNA"), 뿐만 아니라 삼중-, 이중- 및 단일-가닥 리보핵산 ("RNA")을 포함한다. 폴리뉴클레오티드의 예를 들어 알킬화에 의해, 및/또는 캡핑에 의해 변형된, 그리고 미변형된 형태를 또한 포함한다.

[0138] 일부 양태에서, 용어 "폴리뉴클레오티드"는 폴리데옥시리보뉴클레오티드 (2-데옥시-D-리보스 함유), 스플라이싱되든 스플라이싱되지 않든, tRNA, rRNA, shRNA, siRNA, miRNA 및 mRNA를 포함하는, 폴리리보뉴클레오티드 (D-

리보스 함유), 퓨린 또는 피리미딘 염기의 N- 또는 C-글리코시드인 임의의 다른 유형의 폴리뉴클레오티드, 및 노르무클레오티딕 백본을 함유하는 기타 중합체, 예를 들어, 폴리아미드 (*예를 들면,* 펩티드 핵산 "PNA") 및 폴리모르폴리노 중합체, 그리고 중합체가 염기 짝짓기 및 염기 스태킹을 허용하는, 예컨대 DNA 및 RNA에서 발견되는 구성으로 핵염기를 함유함을 제공하는 기타 합성 서열-특이적 핵산 중합체를 포함한다.

[0139] 본 개시내용의 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드는, *예를 들면,* 올리고뉴클레오티드, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 RNA이다. 일부 양태에서, RNA는 합성 RNA이다. 일부 양태에서, 합성 RNA는 적어도 하나의 비천연 핵염기를 포함한다. 일부 양태에서, 특정 부류의 모든 핵염기는 비천연 핵염기로 대체되었다 (*예를 들면,* 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드에서 모든 우리딘은 비천연 핵염기, *예를 들면,* 5-메톡시우리딘으로 대체될 수 있다).

[0140] 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본원에 교환가능하게 사용된다. 중합체는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 본 용어는 또한 자연적으로 또는 개입; 예를 들어, 디술피드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대 표지화 구성요소와의 접합에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포괄한다. 예를 들어, 아미노산의 하나 이상의 유사체 (예를 들어, 비천연 아미노산 예컨대 호모시스테인, 오르니틴, p-아세틸페닐알라닌, D-아미노산, 및 크레아틴 포함)를 함유하는 폴리펩티드, 뿐만 아니라 당업계에 알려진 다른 변형이 본 정의 내에 또한 포함된다. 용어 "폴리펩티드"는, 본원에 사용된 경우에, 임의의 크기, 구조, 또는 기능의 단백질, 폴리펩티드, 및 펩티드를 지칭한다.

[0141] 폴리펩티드는 유전자 산물, 자연 발생 폴리펩티드, 합성 폴리펩티드, 동족체, 동원체, 이원체, 단편 및 기타 등가물, 변이체, 및 전술한 것들의 유사체를 포함한다.

[0142] 폴리펩티드는 단일 폴리펩티드일 수 있거나 다분자성 복합체 예컨대 이량체, 삼량체 또는 사량체일 수 있다. 이들은 단일 쇄 또는 다중쇄 폴리펩티드를 또한 포함할 수 있다. 가장 흔한 디술피드 연결은 다중쇄 폴리펩티드에서 발견되다. 용어 폴리펩티드는 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공 화학적 유사체인 아미노산 중합체에 또한 적용할 수 있다. 일부 양태에서, "펩티드"는 약 50개 아미노산 길이 이하, *예를 들면,* 약 5, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 또는 약 50개 아미노산 길이일 수 있다.

[0143] 용어 "예방하다", "예방하기", 및 이의 이형은 본원에 사용된 경우에, 질환, 장애 및/또는 병태의 발병을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 특정한 질환, 장애, 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 속성, 또는 임상 징후의 발병을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 특정한 질환, 장애, 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 속성, 또는 징후의 발병을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 특정한 질환, 장애, 및/또는 병태로부터의 진행을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 및/또는 질환, 장애, 및/또는 병태와 관련된 병리 발달의 위험을 감소시킴을 지칭한다. 일부 양태에서, 결과 예방하기는 예방성 치료를 통해서 달성된다.

[0144] 본원에 사용된 경우에, 용어 "프로모터" 및 "프로모터 서열"은 교환가능하고 코딩 서열 또는 기능적 RNA의 발현을 제어할 수 있는 DNA 서열을 지칭한다. 일반적으로, 코딩 서열은 프로모터 서열에 대해 3' 위치된다. 프로모터는 천연 유전자로부터 그들의 전체가 유래될 수 있거나, 자연에서 발견된 상이한 프로모터에서 유래된 상이한 요소로 구성될 수 있거나, 심지어 합성 DNA 세그먼트를 포함할 수 있다. 상이한 프로모터가 상이한 조직 또는 세포 유형에서, 또는 상이한 발달의 스테이지에서, 또는 상이한 환경적 또는 생리학적 조건에 반응하여 유전자의 발현을 지시할 수 있음이 당업자에 의해 이해된다. 대부분의 시간에 대부분의 세포 유형에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "구성적 프로모터"로서 지칭된다. 특정 세포 유형에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "세포-특이적 프로모터" 또는 "조직-특이적 프로모터"로서 지칭된다. 발달 또는 세포 분화의 특정 스테이지에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "발달적으로-특이적 프로모터" 또는 "세포 분화-특이적 프로모터"로서 지칭된다. 프로모터를 유도하는 제제, 생물학적 분자, 화학물질, 리간드, 광, 또는 기타 등등으로 세포를 노출 또는 처리한 후 유도되고 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "유도성 프로모터" 또는 "조절가능한 프로모터"로서 지칭된다. 대부분의 경우에 조절 서열의 정확한 경계가 완전히 정의되지 않았으므로, 상이한 길이의 DNA 단편이 동일한 프로모터 활성을 가질 수 있음이 추가로 인식된다.

[0145] 프로모터 서열은 전사 개시 부위에 의해 이의 3' 말단에서 전형적으로 결합되고 업스트림 (5' 방향) 연장하여 배경 위 검출가능한 수준에서 전사를 개시하는데 필요한 염기 또는 요소의 최소 수를 포함한다. 프로모터 서열 내에서 (예를 들어, 뉴클레아제 S1과의 맵핑에 의해 편리하게 정의된) 전사 개시 부위, 뿐만 아니라 RNA 폴리머

라제의 결합을 담당하는 단백질 결합 도메인 (공통 서열)이 발견될 것이다. 일부 양태에서, 본 개시내용과 사용될 수 있는 프로모터는 조직 특이적 프로모터를 포함한다.

[0146] 본원에 사용된 경우에, "예방성"은 질환 또는 병태의 발병을 예방하기 위해, 또는 질환 또는 병태와 연관된 증상을 예방 또는 지연시키기 위해 사용된 치료적 또는 작용 과정을 지칭한다.

[0147] 본원에 사용된 경우에, "예방"은 건강을 유지하고 질환 또는 병태의 발병을 예방하기 위해, 질환 또는 병태와 연관된 증상을 예방 또는 지연시키기 위해 취해진 조치를 지칭한다.

[0148] 본원에 사용된 경우에, 용어 "유전자 조절 영역" 또는 "조절 영역"은 코딩 영역의 업스트림 (5' 비-코딩 서열), 이내에, 다운스트림 (3' 비-코딩 서열) 위치된 뉴클레오티드 서열을 지칭하고, 이는 연관된 코딩 영역의 전사, RNA 처리, 안정성, 또는 번역에 영향을 미친다. 조절 영역은 프로모터, 번역 리더 서열, 인트론, 폴리아데닐화 인식 서열, RNA 처리 부위, 효과기 결합 부위, 또는 스템-루프 구조를 포함할 수 있다. 코딩 영역이 진핵 세포에서 발현을 위하여 의도되면, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결 서열은 보통 코딩 서열에 대해 3' 위치될 것이다.

[0149] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제 (*예를 들면*, 하나 이상의 miR-485-3p 결합 부위를 포함하는 RNA를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드)는 하나 이상의 코딩 영역과 작동가능하게 연관된 프로모터 및/또는 기타 발현 (*예를 들면,* 전사) 대조군 요소를 포함할 수 있다. 작동가능한 회합에서 유전자 산물을 위한 코딩 영역은 유전자 산물의 발현을 조절 영역(들)의 영향 또는 제어 하에 배치하는 방식으로 하나 이상의 조절 영역과 연관된다. 예를 들어, 코딩 영역 및 프로모터는 프로모터 기능의 유도가 코딩 영역에 의해 인코딩된 유전자 산물을 인코딩하는 mRNA의 전사를 초래하면, 그리고 프로모터와 코딩 영역 사이 연결의 성격이 유전자 산물의 발현을 지시하는 프로모터의 능력을 방해하지 않거나 전사될 DNA 템플레이트의 능력을 방해하지 않으면 "작동가능하게 연관된"다. 프로모터 외에, 다른 발현 제어 요소, 예를 들어 인핸서, 오퍼레이터, 리프레서, 및 전사 종결 신호는 유전자 산물 발현을 지시하기 위해 코딩 영역과 작동가능하게 또한 연관될 수 있다.

[0150] 본원에 사용된 경우에, 용어 "유사성"은 중합체성 분자 사이, *예를 들면* 폴리뉴클레오티드 분자 (*예를 들면* miRNA 분자) 사이 전반적 관련성을 지칭한다. 서로에 대한 중합체성 분자의 퍼센트 유사성의 계산은, 퍼센트 유사성의 계산이 당업계에서 이해되는 대로 보존적 치환을 고려하는 것을 제외하고, 퍼센트 동일성의 계산과 동일한 방식으로 수행될 수 있다. 유사성의 백분율이 사용된 비교 척도, *즉*, *예를 들면*, 그들의 진화적 근접성, 전하, 부피, 유연성, 극성, 소수성, 방향성, 등전점, 항원성, 또는 이들의 조합에 따라 핵산이 비교되는 여부에 의존적임이 이해된다.

[0151] 용어 "대상체", "환자", "개체", 및 "숙주", 및 이들의 이형은 본원에 교환가능하게 사용되고 제한 없이, 인간, 가정 동물 (*예를 들면,* 개, 고양이 및 기타 등등), 농장 동물 (*예를 들면,* 소, 양, 돼지, 말 및 기타 등등), 및 진단, 치료, 또는 요법이 요구되는 실험실 동물 (*예를 들면,* 원숭이, 랫트, 마우스, 토끼, 기니 피그 및 기타 등등)을 포함하는 임의의 포유류 대상체, 특히 인간을 지칭한다. 본원에 기재된 방법은 양쪽 인간 요법 및 수의학적 응용에 적용가능하다.

[0152] 본원에 사용된 경우에, 용어 "치료적으로 유효량"은 치료를 필요로 하는 대상체에서 원하는 치료적 효과, 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 생산하는데 충분한 본 개시내용의 miRNA 억제제를 포함하는 시약 또는 약학적 화합물의 양이다. 치료적으로 유효량은 예방이 요법으로 간주될 수 있기 때문에 "예방성으로 유효량"일 수 있다.

[0153] 용어 "치료하다", "치료", 또는 "치료하기"는, 본원에 사용된 경우에, *예를 들면*, 질환 또는 병태의 중증도에서의 감소; 질환 과정의 지속기간에서의 감소; 질환 또는 병태 (예를 들면, 당뇨병)와 연관된 하나 이상의 증상의 호전 또는 제거; 질환 또는 병태를 반드시 치유하지 않고, 질환 또는 병태를 가진 대상체에게 유익한 효과의 제공을 지칭한다. 본 용어는 또한 이들의 질환 또는 병태 또는 이들의 증상의 예방 또는 방지를 포함한다.

[0154] 용어 "업스트림"은 참조 뉴클레오티드 서열에 대해 5' 위치되는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0155] "벡터"는 숙주 세포에 핵산의 클로닝 및/또는 전달을 위한 임의의 비히클을 지칭한다. 벡터는 또 다른 핵산 세그먼트가 부착된 세그먼트의 복제를 일으키기 위해 부착될 수 있는 레플리콘일 수 있다. "레플리콘"은 *생체내* 자율 복제 단위체로서 기능하는, *즉*, 이의 자체 제어 하에서 복제할 수 있는 임의의 유전적 요소 (*예를 들면*, 플라스미드, 파지, 코스미드, 염색체, 바이러스)를 지칭한다. 용어 "벡터"는 *시험관내*, *생체외* 또는 *생체내* 세포에 핵산을 도입하기 위하여 양쪽 바이러스성 및 비바이러스성 비히클을 포함한다. 예를 들어, 플라스미드, 변형된 진핵 바이러스, 또는 변형된 박테리아성 바이러스를 포함하는 다수의 벡터는 알려지고 당업계에서 사용된다. 적합한 벡터에 폴리뉴클레오티드의 삽입은 상보적 응집 말단을 갖는 선정된 벡터에 적절한 폴리뉴클레오티

드 단편을 결찰시킴으로써 성취될 수 있다.

[0156] 벡터는 벡터를 편입한 세포의 선택 또는 식별을 제공하는 선택가능한 마커 또는 리포터를 인코딩하도록 조작될 수 있다. 선택가능한 마커 또는 리포터의 발현은 벡터에서 함유된 기타 코딩 영역을 편입 및 발현시키는 숙주 세포의 식별 및/또는 선택을 허용한다. 당업계에서 알려지고 사용된 선택가능한 마커 유전자의 예는 암피실린, 스트렙토마이신, 겐타마이신, 카나마이신, 하이그로마이신, 바이알라포스 제초제, 술폰아미드, 및 기타 등등에 내성을 제공하는 유전자; 및 표현형 마커로서 사용되는 유전자, *즉*, 안토시아닌 조절 유전자, 이소펜타닐 트랜스퍼라제 유전자, 및 기타 등등을 포함한다. 당업계에서 알려지고 사용된 리포터의 예는 루시퍼라제 (Luc), 녹색 형광성 단백질 (GFP), 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제 (CAT), β-갈락토시다제 (LacZ), β-글루쿠로니다제 (Gus), 및 기타 등등을 포함한다. 선택가능한 마커는 리포터인 것으로 또한 간주될 수 있다.

[0157] ***II. 진단 방법***

[0158] 인지 장애의 진단을 필요로 하는 대상체에서 진단 방법이 본원에 개시된다. 일부 양태에서, 그러한 방법은 인지 장애를 앓고 있는 대상체를 식별하는 단계를 포함한다. 어느 하나의 이론에 구속되지 않고, 출원인은 특정 인지 장애가 있는 대상체가 인지 장애로 고통받지 않은 대상체들과 비교하여 더 높은 수준의 miR-485-3p를 갖는다는 것을 식별하였다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 인지 장애를 앓고 있는 대상체 (*예를 들면*, 인간 대상체)의 식별 방법을 제공하며, 여기서 상기 방법은 대상체의 miR-485-3p 수준을 측정하는 단계를 포함하고, 여기서 참조 (*예를 들면*, 인지 장애로 고통받지 않은 대상체에서 상응하는 값 또는 인지 장애의 발병에 앞서 대상체에서 상응하는 값)와 비교하여 대상체의 miR-485-3p 수준에서의 증가는 대상체가 인지 장애를 앓고 있음을 시사한다.

[0159] 일부 양태에서, 대상체에서 miR-485-3p의 수준은 참조 (*예를 들면*, 인지 장애로 고통받지 않은 대상체에서 상응하는 값 또는 인지 장애의 발병에 앞서 대상체에서 상응하는 값)와 비교하여 적어도 약 1%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 175%, 적어도 약 200%, 적어도 약 225%, 적어도 약 250%, 적어도 약 275%, 적어도 약 300%, 적어도 약 400%, 적어도 약 500%, 적어도 약 1,000% 이상 만큼 증가된다.

[0160] 본원에 기재된 경우에, 일부 양태에서, miR-485-3p 수준은 대상체의 생물학적 샘플에서 측정된다. 따라서, 일부 양태에서, 인지 장애를 앓고 있는 대상체의 식별 방법은 miR-485-3p 발현 측정하기에 앞서 대상체로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 관심 분자 (*예를 들면*, miR-485-3p)의 발현 수준을 측정하는데 사용될 수 있는 대상체의 임의의 세포, 조직, 및/또는 체액을 포함한다. 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 뇌척수액, 유리체내액, 소변, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 대상체의 상피 세포에서 유래된다. 특정 양태에서, 상피 세포는 구강 상피 세포, *예를 들면*, 예컨대 면봉 샘플을 통해서 수득될 수 있는 것들을 포함한다. 일부 양태에서, 생물학적 샘플은 대상체의 혈청 및/또는 혈장에서 유래된다.

[0161] 마이크로RNA (miRNA)는 많은 포유동물 세포 유형 (*예를 들면*, 구강 상피 세포)에 존재하고 뿐만 아니라 세포외 소포 (*예를 들면*, 엑소좀) 내의 체액을 통해서 수송될 수 있다. 일단 세포외 체액으로 방출되면, 엑소좀은 다른 세포와 융합하고 그들의 화물을 수령체 세포로 전달할 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, miR-485-3p 발현이 측정될 수 있는 생물학적 샘플은 세포외 소포를 포함한다. 특정 양태에서, 세포외 소포는 미세소포를 포함한다. 특정 양태에서, 세포외 소포는 엑소좀을 포함한다. 일부 양태에서, 세포외 소포는 나노소포를 포함한다.

[0162] 본원에 기재된 경우에, 출원인은 miR-485-3p 발현 수준과 인지 장애의 하나 이상의 특징 사이 양성 상관관계를 나타냈다. 가령, 일부 양태에서, miR-485-3p 발현의 증가는 아밀로이드-β 축적의 증가와 연관되고, 이는 대상체에서 아밀로이드-β 플라크의 형성을 초래할 수 있다. 일부 양태에서, miR-485-3p 발현 수준이 클수록, 대상체에서 아밀로이드-β 축적이 더 커진다.

[0163] 일부 양태에서, 인지 장애의 진단 방법은 대상체에서 인지 장애의 하나 이상의 특징의 존재를 사정 (*예를 들면*, 측정)하는 단계를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 대상체의 miR-485-3p 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 인지 장애의 하나 이상의 특징 측정을 필요로 하는 대상체에서 이 측정 방법을 제공하고, 여기서 대상체의 miR-485-3p 수준은 인지 장애의 하나 이상의 특징과 양성으로 상관관계가 있다. 특정 양태에서, 인지 장애의 하나 이상의 특징의 존재는 대상체가 인지 장애를 앓고 있음을 나타낸다. 일부 양태에서, 인지 장애의 하나 이상의 특징은 아밀로이드-β의 축적을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에

개시된 진단 방법은 아밀로이드-β 축적과 연관되는 인지 장애를 앓고 있는 대상체 식별하기에 유용할 수 있다. 그러한 인지 장애의 비-제한 예는 알츠하이머병 (AD), 전두측두엽 치매 (FTD), 뇌혈관성 치매 (CVD), 경도 인지 장애 (MCI), 루이소체를 동반한 치매 (DLB), 및 이들의 조합을 포함한다.

[0164] 일부 양태에서, 본원에 개시된 방법은 알츠하이머병을 앓고 있는 대상체를 식별하는데 사용될 수 있다. 특정 양태에서, 알츠하이머병은 치매전 알츠하이머병, 초기 알츠하이머병, 중등도 알츠하이머병, 진행성 알츠하이머병, 조기 발병 가족성 알츠하이머병, 염증성 알츠하이머병, 비-염증성 알츠하이머병, 피질 알츠하이머병, 조기-발병 알츠하이머병, 후기-발병 알츠하이머병, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0165] 당업자에게 명백할 바와 같이, 대상체의 miR-485-3p 발현은 당업계에 공지된 다양한 수단에 의해 측정될 수 있다. miR-485-3p 발현을 측정하는데 사용될 수 있는 검정의 비-제한 예는 PCR (*예를 들면*, 실시간 PCR), 노던 블랏, 액체 크로마토그래피-질량 분석 (LC-MS), 질량 분석 (MS), 차세대 시퀀싱 (NGS) (*예를 들면*, Ion Torrent), 나노스트링, 마이크로어레이, ELISA (앱타머), RNA 면역침전 (RIP), RNA 제자리 혼성화, RNA 형광 제자리 혼성화 (FISH), 및 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 발현은 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 검정을 사용하여 측정될 수 있다. PCR 검정을 사용하는 때, 일부 양태에서, 표 1 (아래)에 제공된 프라이머들 중 임의의 것은 miR-485-3p 발현을 측정하는데 사용될 수 있다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW7을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW2를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW1을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 프라이머는 miR-485-3p_FW9를 포함한다.

표 1. miR-485-3p 프라이머 서열

올리고뉴클레오티드 명칭	서열 (5'에서 3')
miR-485-3p_FW1	GTCATACACGGCTCTCCTCTCT (서열번호: 94)
miR-485-3p_FW2	TCATACACGGCTCTCCTCTC (서열번호: 95)
miR-485-3p_FW3	CATACACGGCTCTCCTCTC (서열번호: 96)
miR-485-3p_FW4	CATACACGGCTCTCCTCTCTA (서열번호: 97)
miR-485-3p_FW5	CATACACGGCTCTCGTCTC (서열번호: 98)
miR-485-3p_FW6	CATACACGGCTCTCGTCTCTAA (서열번호: 99)
miR-485-3p_FW7	GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA (서열번호: 100)
miR-485-3p_FW8	GTCATACACGGCTCTCCTC (서열번호: 101)
miR-485-3p_FW9	CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA (서열번호: 52)
miR-485-3p_FW10	GTCATACACGGCTCTCCTCTG (서열번호: 102)
miR-485-3p_FW11	TCATACACGGCTCTCCTCTCT (서열번호: 103)
miR-485-3p_FW12	TCATACACGGCTCTCCTC (서열번호: 104)
miR-485-3p_FW13	TCATACACGGCTCTCCTCTCTAA (서열번호: 105)
miR-485-3p_FW14	CATACACGGCTCTCCTCTCTAA (서열번호: 106)
miR-485-3p_FW15	ATACACGGCTCTCCTCTCTAA (서열번호: 107)

[0166]

[0167] 일부 양태에서, (*예를 들면*, 대상체의 생물학적 샘플에서) miR-485-3p의 발현은 실시간 PCR 검정을 사용하여 측정된다. 그러한 양태에서, miR-485-3p 발현은 miR-485-3p에 대한 주기 임계 (Ct) 수를 결정함으로써 사정될 수 있다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "주기 임계" (Ct)는 생산물 형성으로 인한 형광의 양이 기준선 값보다 높은

고정된 임계 값에 도달하는 (즉, 배경 수준을 초과하는) 실시간 PCR 검정의 열적 순환하기 동안 주기 수 (즉, 증폭의 수)를 지칭한다. Ct 수준은 샘플에 존재하는 miR-485-3p의 수준에 반비례한다 (즉, Ct 수준이 낮을수록, 샘플에 존재하는 miR-485-3p의 수준이 커진다).

[0168] 일부 양태에서, 인지 장애 (*예를 들면*, 본원에 기재된 것들)를 앓고 있는 대상체에서 Ct 수는 참조 (*예를 들면*, 인지 장애로 고통받지 않은 대상체에서 상응하는 값 또는 인지 장애의 발병에 앞서 대상체에서 상응하는 값)와 비교하여 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 이상 만큼 감소된다.

[0169] 어느 하나의 이론에 구속되지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 진단 방법은 miR-485-3p 발현과 대상체에서의 인지 장애의 하나 이상의 특징 (*예를 들면,* 아밀로이드-β 축적)의 존재 사이 연관에 기반하여 인지 장애를 앓고 있는 대상체를 식별할 수 있다. 일부 양태에서, miR-485-3p의 수준과 인지 장애의 하나 이상의 특징의 존재는 양으로 상관관계가 있다. 특정 양태에서, 하나 이상의 특징의 더 많은 존재는 인지 장애의 중증도를 나타낸다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 대상체의 miR-485-3p 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 인지 장애의 중증도 결정을 필요로 하는 대상체에서 이 결정 방법에 관한 것이고, 여기서 miR-485-3p 수준은 중증도와 양으로 상관관계가 있다.

[0170] 본원에 기재된 경우에, 일부 양태에서, 대상체에 대한 하나 이상의 추가의 임상 정보와 대상체의 miR-485-3p 수준 조합하기는 인지 장애를 앓고 있는 대상체를 식별하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 정확도를 개선시킬 수 있다. 사용될 수 있는 추가의 임상 정보의 비-제한 예는 연령, 성별, 교육 연도 (또는 수준), 아포지단백질 E (APOE) 유전자형, 미니 정신 상태 검사 (MMSE) 점수, 인지 장애, 임상 치매 등급 (CDR) 점수, 및 이들의 조합을 포함한다.

[0171] 대상체의 miR-485-3p 수준과 추가의 임상 정보의 하나 이상을 조합하기 위해, 수치는 상이한 임상 정보에 대하여 확립된다 (*예를 들면*, 실시예 3 *참조*). 일부 양태에서, 추가의 임상 정보는 연령이고, 연령과 연관된 값은 miR-485-3p 발현 측정하기의 시간에 대상체의 연령이다. 일부 양태에서, 추가의 임상 정보는 환자의 성별이고, 여기서 남성은 "1"의 값과 연관되고 여성은 "2"의 값과 연관된다. 일부 양태에서, 추가의 임상 정보는 0 내지 16 범위의 값과 연관되는 환자의 총 교육 연도이다. 각 학교 (즉, 국민/초등학교, 중학교, 고등학교, 및 대학)를 마친 연도의 경우, 환자는 교육 연도에 대하여 "1"의 값을 받는다. 국민/초등학교의 경우, 환자는 1 내지 6의 값 (즉, 1학년 내지 6학년)을 받을 수 있다. 중학교의 경우, 환자는 1 내지 3의 추가의 값 (즉, 7학년 내지 9학년)을 받을 수 있다. 고등학교의 경우, 환자는 1 내지 3의 추가의 값 (즉, 10학년 내지 11학년)을 받을 수 있다. 대학의 경우, 환자는 1 내지 4의 추가의 값을 받을 수 있다. 가령, 4-년제 대학을 졸업한 환자는 교육 연도의 경우에 16의 최대 값을 받을 것이다. 고등학교를 졸업했지만 대학에 다니지 않았던 환자는 교육 연도의 경우에 12의 값을 받을 것이다. 국민/초등학교 및 그 이상을 다니지 않았던 환자는 교육 연도의 경우에 0의 값을 받을 것이다.

[0172] 일부 양태에서, 추가의 임상 정보는 환자의 APOE 유전자형이고, 여기서 (i) E2/E3 = 1; (ii) E3/E3 = 1; (iii) E2/E4 = 2; (iv) E3/E4 = 2; 및 (iv) E4/E4 = 4이다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "아포지단백질 E" (APOE)는 5개 주요 유형의 혈액 지단백질 (A 내지 E) 중 하나를 지칭한다. *APOE* 유전자는 3개 상이한 형태 (대립유전자) - E2, E3, 및 E4로 실재한다. 모든 인간 대상체는 이들 3개의 일부 조합인 한 쌍의 *APOE* 유전자를 유전시킨다. *APOE* e4는 후기 발병 알츠하이머병의 (즉, 65세 이후에 발병하는) 증가된 위험과 연관되는 것으로서 설명되었다. Liu *등*, *Nat Rev Neurol* 9(2): 106-118 (Feb. 2013).

[0173] 일부 양태에서, 추가의 임상 정보는 (폴스타인 테스트로서 또한 알려진) 대상체의 미니-정신 상태 검사 (MMSE) 점수이다. 용어 "미니-정신 상태 검사" (MMSE)는 인지 장애를 측정하기 위한 임상 및 연구 셋팅에서 광범위하게 사용되는 30-점 설문지를 지칭한다. Arevalo-Rodriguez *등*, Cochrane Database Syst Rev (3): CD010783 (Mar. 2015). 일부 양태에서, MMSE 점수는 표 2 (아래)에 나타난 범주에 기반된다. 특정 양태에서, 24점 이상의 MMSE 점수는 정상 인지를 나타낸다. 일부 양태에서, ≤ 9점의 MMSE 점수는 심각한 인지 장애를 나타낸다. 일부 양태에서, 10 내지 18점의 MMSE 점수는 중등도 인지 장애를 나타낸다. 일부 양태에서, 19 내지 23점의 MMSE 점수는 경도 인지 장애를 나타낸다.

표 2. 미니-정신 상태 검사 (MMSE) 범주

범주	가능한 점수	설명
시간에 대한 지향	5	가장 넓은 것부터 가장 좁은 것까지. 시간 지향은 미래 쇠퇴와 상관관계가 있었다.
공간에 대한 지향	5	가장 넓은 것부터 가장 좁은 것까지. 이것은 때로는 거리로, 때로는 바닥으로 좁혀진다.
등록	3	명명된 프롬프트 반복하기
주의 및 계산	5	일련의 7, 또는 "world"를 거꾸로 철자하기. 일련이 7 이 영어가 모국어가 아닌 집단에서 더 적절할 수 있다고 제안되었다.
취소	3	등록 취소
언어	2	연필 및 시계에 이름짓기
반복	1	어구 되뇌이기
복잡한 명령	6	다양하다. 표시된 그림 그리기를 포함할 수 있다

[0174]

[0175] 일부 양태에서, 인지 장애를 앓고 있는 대상체를 식별하기 위해, 대상체의 miR-485-3p 발현 수준은 상기 기재된 추가의 임상 정보 (즉, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수) 중 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 모두와 조합하여 사용된다.

[0176] 일부 양태에서, 대상체의 miR-485-3p 발현은 상기 기재된 추가의 임상 정보 중 5개 모두와 조합하여 사용된다. 그러한 양태에서, 조합의 진단 정확도는 하기 식: (나이브 CT x (연령 x $V1_{연령}$ + $V2_{연령}$)) x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$) x (APOE x $V1_{APOE}$ + $V2_{APOE}$) x (MMSE x $V1_{MMSE}$ + $V2_{MMSE}$) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$)을 사용하여 주어진 생물학적 샘플에 대한 점수를 계산함으로써 사정될 수 있고, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 임상 정보와 연관된 회귀 계수 값 (즉, 회귀 곡선의 기울기 및 절편, 각각)이다.

[0177] 일부 양태에서, 대상체의 miR-485-3p 발현은 상기 기재된 추가의 임상 정보 중 2개와 조합하여 사용된다. 특정 양태에서, 추가의 임상 정보는 성별 및 교육 연도를 포함한다. 그러한 양태에서, 조합의 진단 정확도는 하기 식: (나이브 Ct x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$)) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$)을 사용하여 주어진 생물학적 샘플에 대한 점수를 계산함으로써 사정될 수 있고, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 임상 정보와 연관된 회귀 계수 값이다.

[0178] 일부 양태에서, 대상체의 miR-485-3p 발현은 상기 기재된 하나의 추가의 임상 정보와 조합하여 사용된다. 특정 양태에서, 추가의 임상 정보는 성별이다. 그러한 양태에서, 조합의 진단 정확도는 하기 식: (나이브 CT x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$))을 사용하여 주어진 생물학적 샘플에 대한 점수를 계산함으로써 사정될 수 있고, 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 임상 정보와 연관된 회귀 계수 값이다.

[0179] 일부 양태에서, 본원에 기재된 임상 정보 중 하나 이상 및 miR-485-3p 발현의 조합의 진단 정확도는 표 9에 제공된 (본원에 식 또는 알고리즘으로서 또한 지칭된) 방정식들 중 임의의 것을 사용하여 사정될 수 있다.

[0180] 일부 양태에서, 상기 기재된 조합들 중 어느 하나에서 인지 장애를 앓고 있는 대상체에서 유래된 생물학적 샘플에 대한 점수는 참조 샘플의 (*예를 들면*, 인지 장애로 고통받지 않은 대상체로부터 또는 인지 장애의 발병에 앞서 대상체로부터) 상응하는 점수 미만이다. 특정 양태에서, 인지 장애를 앓고 있는 대상체로부터 생물학적 샘플에 대한 점수는 참조 샘플의 상응하는 점수와 비교하여 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 이상 미만이다.

[0181] 일부 양태에서, 본원에 개시된 진단 방법은 인지 장애의 다른 진단 방법과 조합하여 사용될 수 있다. 그러한 추가의 방법의 비-제한 예는 뇌 스캔, 예컨대 컴퓨터 단층촬영 (CT), 자기 공명 영상 (MRI), 또는 양전자 방출 단층촬영 (PET)을 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 진단 방법은 본원에 기재된 인지 장애와 유사한 증상을 야기시킬 수 있는 다른 의학적 병태, *예를 들면*, 뇌졸중, 종양, 파킨슨병, 수면 장애, 약물치료의 부작용, 감염, 경도 인지 장애, 또는 혈관성 치매를 포함한 비-알츠하이머 치매를 배제하는데 사용될 수 있다.

[0182] ***III. 치료 방법***

[0183] 본원에 기재된 진단에 기반하여 필요로 하는 대상체에서 인지 장애 (*예를 들면*, 본원에 기재된 것들)의 치료, 제어, 호전, 또는 감소 방법이 또한 본원에 개시된다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 방법은 인지 장애를 앓고 있는 것으로 식별된 대상체에게 요법을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 요법은 인지 장애를 치료, 제어, 호전, 또는 감소시킬 수 있다.

[0184] 일부 양태에서, 요법은 본원에 개시된 인지 장애와 연관된 하나 이상의 증상을 치료, 억제, 호전, 또는 감소시킬 수 있는 임의의 제제 (*예를 들면*, 치료적 제제)를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 인지 장애와 연관된 증상들의 비-제한 예는 기억 상실, 자주 같은 질문을 하거나 같은 이야기를 여러번 반복하기, 친숙한 사람과 장소를 인식하는데 어려움, 판단력을 행사하는데 곤란함 (*예를 들면*, 비상시 대처 방법을 아는 것), 기분이나 행동의 변화, 시력 문제, 작업 계획 및 수행 어려움 (*예를 들면*, 레시피 따라하기 또는 월별 청구서 추적하기), 및 이들의 조합을 포함한다.

[0185] 일부 양태에서, 요법은 miR-485-3p 활성을 억제시키는 화합물 ("miR-485-3p 억제제")를 포함한다. 본원에 개시된 방법과 사용될 수 있는 miR-485-3p 억제제에 관한 추가의 개시내용은 본 개시내용에서 다른 곳에 제공된다 (*예를 들면*, 섹션 IV *참조*).

[0186] 일부 양태에서, (*예를 들면*, 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면*, miR-485-3p 억제제로 치료되지 않은 상응하는 대상체에서 miR-485-3p 활성)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 이상 만큼 대상체에서 miR-485-3p 활성을 감소시킨다.

[0187] 일부 양태에서, 본원에 기재된 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면*, miR-485-3p 억제제로 치료되지 않은 상응하는 대상체에서 miR-485-3p 발현 및/또는 수준)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 이상 만큼 대상체에서 miR-485-3p의 발현 및/또는 수준을 감소시킨다.

[0188] 일부 양태에서, miR-485-3p의 감소된 활성 및/또는 발현은 참조 (*예를 들면*, 투여하기에 앞서 대상체에서 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크 부하 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않은 상응하는 대상체에서 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크 부하)와 비교하여 인지 장애를 앓고 있는 것으로 식별된 대상체에서 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크 부하를 감소시킬 수 있다. 본원에 사용된 경우에, "아밀로이드 베타 플라크"는 소수의 아밀로이드 베타 펩티드의 작은 회합 및 큰 응집체를 포함하는 아밀로이드 베타의 모든 형태의 비정상적 침착을 지칭하고 아밀로이드 베타 펩티드의 임의의 변이를 함유할 수 있다. 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크는 뉴런성 변화, *예를 들면*, 시냅스 조성, 시냅스 형상, 시냅스 밀도의 이상, 시냅스 전도도의 손실, 수상돌기 직경의 변화, 수상돌기 길이의 변화, 척추 밀도의 변화, 척추 영역의 변화, 척추 길이의 변화, 또는 척추 두부 직경의 변화를 일으키는 것으로 알려진다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 (*예를 들면*, 신경퇴행성 질환으로 고통받는) 대상체에서 아밀로이드 베타 플라크를 감소시킨다.

[0189] 일부 양태에서, (*예를 들면*, 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도

약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 인지 장애의 하나 이상의 증상의 발생 또는 발생의 위험을 감소시킨다.

[0190] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 기억 상실 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 기억 상실)와 비교하여 기억 상실을 감소시킨다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 기억 상실 또는 기억 상실의 발생의 위험을 감소시킨다.

[0191] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 기억 유지 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 기억 유지)와 비교하여 기억 유지를 개선시킨다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 기억 유지를 개선 및/또는 증가시킨다.

[0192] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 공간 작업 기억 또는 miR-485 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 공간 작업 기억)와 비교하여 공간 작업 기억을 개선시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "공간 작업 기억"은 짧은 시기 동안 작업 기억에서 공간 정보 활동을 유지하는 능력을 지칭한다. 일부 양태에서, 공간 작업 기억은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 개선되고/거나 증가된다.

[0193] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 식세포작용적 활성 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 식세포작용적 활성)와 비교하여 대상체에서 스캐빈저 세포 (*예를 들면,* 아교 세포)의 식세포작용적 활성을 증가시킨다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도를 증가시킨다.

[0194] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 신경발생 또는 miR-485 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 신경발생)와 비교하여 신경발생을 증가시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "신경발생"은 뉴런이 창출되는 공정을 지칭한다. 신경발생은 신경 줄기 및 전구 세포의 증식, 이들 세포의 새로운 신경 세포 유형으로의 분화, 뿐만 아니라 새로운 세포의 이동 및 생존을 포괄한다. 본 용어는 정상 발달 동안, 주로 출생전 및 주산기 발달 동안 발생하는 때 신경발생, 뿐만 아니라 질환, 손상 또는 치료적 개입 이후 발생하는 신경 세포 재생을 포함하기 위한 것이다. 성인 신경발생은 또한 "신경" 또는 "신경" 재생으로 명명된다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에서 신경발생을 증가시킨다.

[0195] 일부 양태에서, 신경발생 증가하기 및/또는 유도하기는 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 증식,

분화, 이동, 및/또는 생존과 연관된다. 따라서, 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 대상체에서 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증식을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증식은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 증가된다. 일부 양태에서, 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 생존은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 증가된다.

[0196] 일부 양태에서, 신경발생 증가하기 및/또는 유도하기는 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 수와 연관된다. 특정 양태에서, 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 수는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 증가된다.

[0197] 일부 양태에서, 신경발생 증가하기 및/또는 유도하기는 증가된 축삭돌기, 수상돌기, 및/또는 시냅스 발달과 연관된다. 특정 양태에서, 축삭돌기, 수상돌기, 및/또는 시냅스 발달은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 증가된다.

[0198] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 대상체에서 아밀로이드 베타 플라크 부하의 발달을 예방 및/또는 억제시킨다. 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 대상체에서 아밀로이드 베타 플라크 부하의 발달의 개시를 지연시킨다. 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 아밀로이드 베타 플라크 부하 발달하기의 위험을 낮춘다.

[0199] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도)와 비교하여 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도를 증가시킨다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도를 증가시킨다.

[0200] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실)와 비교하여 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실을 감소시킨다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실을 감소시킨다.

[0201] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 신경염증 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 신경염증)와 비교하여 대상체에서 신경염증을 감소시킨다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약

40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 신경염증을 감소시킨다. 일부 양태에서, 감소된 신경염증은 염증성 매개체의 감소된 양을 생산하는 아교 세포를 포함한다. 따라서, 특정 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 아교 세포에 의해 생산된 염증성 매개체의 양을 감소시킨다. 일부 양태에서, 아교 세포에 의해 생산된 염증성 매개체는 TNF-α를 포함한다. 일부 양태에서, 염증성 매개체는 IL-1β를 포함한다. 일부 양태에서, 아교 세포에 의해 생산된 염증성 매개체는 양쪽 TNF-α 및 IL-1β를 포함한다.

[0202] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 대상체에서 자가포식을 증가시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "자가포식"은 세포 항상성을 유지하기 위해 수명이 긴 단백질, 단백질 응집체, 뿐만 아니라 손상된 세포소기관의 분해를 담당하는 세포성 스트레스 반응 및 생존 경로를 지칭한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 자가포식을 증가시킨다.

[0203] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 시냅스성 기능)와 비교하여 대상체에서 시냅스성 기능을 개선시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "시냅스성 기능"은 전기적 또는 화학적 신호를 또 다른 세포 (*예를 들면,* 뉴런)에 돌려주기 위한 세포 (*예를 들면,* 뉴런)의 시냅스의 능력을 지칭한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 이상 만큼 (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에서 시냅스성 기능을 개선시킨다.

[0204] 일부 양태에서, (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에게 miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 시냅스성 기능의 상실 또는 miR-485-3p 억제제로 치료되지 않았던 상응하는 대상체에서 시냅스성 기능의 상실)와 비교하여 대상체에서 시냅스성 기능의 상실을 예방, 지연, 및/또는 호전시킬 수 있다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 상응하는 와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 (*예를 들면,* 인지 장애를 갖는 것으로서 식별된) 대상체에서 시냅스성 기능의 상실을 예방, 지연, 및/또는 호전시킨다.

[0205] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 당업계에서 알려진 임의의 적합한 루트에 의해 투여될 수 있다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제는 괄호로, 근육내로, 피하로, 안과, 정맥내로, 복강내로, 피내로, 안와내로, 뇌내로, 두개내로, 뇌실내로, 척수내로, 뇌실내, 척수강내로, 인트라시스테말리, 낭내로, 종양내로, 또는 이들의 조합으로 투여된다.

[0206] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 하나 이상의 추가의 치료적 제제와 조합으로 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 추가의 치료적 제제 및 miR-485-3p 억제제는 동시에 투여된다. 특정 양태에서, 추가의 치료적 제제 및 miR-485-3p 억제제는 순차적으로 투여된다.

[0207] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제의 투여는 임의의 역효과를 초래하지 않는다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 대상체에게 투여된 때 체중에 불리하게 영향을 주지 않는다. 일부

양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 대상체에게 투여된 때 증가된 사망률을 초래하지 않거나 병리학적 이상을 야기시키지 않는다.

[0208] ***IV. 본 개시내용에 유용한 miRNA-485-3p 억제제***

[0209] miR-485-3p 활성을 억제시킬 수 있는 화합물 (miR-485-3p 억제제)이 본원에 개시된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 적어도 하나의 miR-485-3p 결합 부위를 포함하는 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 뉴클레오티드 분자는 단백질을 인코딩하지 않는다. 본원에 기재된 경우에, 일부 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 표적 miRNA 핵산 서열 (*즉*, miR-485-3p)에 적어도 부분적으로 상보적이어서, miR-485-3p 억제제는 miR-485-3p 핵산 서열에 하이브리드화한다.

[0210] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제의 miR-485-3p 결합 부위는 miR-485-3p의 핵산 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 상보성을 갖는다. 특정 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 miR-485-3p의 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0211] miR-485-3p 헤어핀 전구체는 miR-485-3p를 생성할 수 있다. 인간 성숙한 miR-485-3p는 서열 5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3' (서열번호: 1; miRBase 수탁 번호 MIMAT0002176)를 갖는다. miR-485-3p 5'-UCAUACA-3' (서열번호: 49)의 5' 말단 하위서열은 씨드 서열이다.

[0212] 당업자에게 명백할 바와 같이, 인간 성숙한 miR-485-3p는 다른 종의 것에 상당한 서열 유사성을 갖는다. 가령, 마우스 성숙한 miR-485-3p는 5'- 및 3'- 말단의 각각에서 단일 아미노산에 의해 인간 성숙한 miR-485-3p와 상이하다 (*즉*, 5'-말단에서 잉여 "A" 및 3'-말단에서 누락 "C"를 갖는다). 마우스 성숙한 miR-485-3p는 하기 서열: 5'-AGUCAUACACGGCUCUCCUCUC-3' (서열번호: 34; miRBase 수탁 번호 MIMAT0003129; 밑줄친 부문은 인간 성숙한 miR-485-3p와 중복에 해당함)을 갖는다. 서열에서의 유사성 때문에, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 하나 이상의 종, *예를 들면*, 인간 및 마우스로부터 miR-485-3p를 결합시킬 수 있다.

[0213] 일부 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 miR-485-3p의 서열 (또는 이의 하위서열)에 상보적 (*예를 들면*, 완전히 상보적)인 단일-가닥 폴리뉴클레오티드 서열이다. 일부 양태에서, miR-485-3p 하위서열은 씨드 서열을 포함한다. 따라서, 특정 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 서열번호: 49에서 제시된 핵산 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 상보성을 갖는다. 특정 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 제외하고 miR-485-3p에 상보적이다. 추가 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 서열번호: 1에서 제시된 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0214] miRNA의 씨드 영역은 표적 mRNA와 단단한 이중체를 형성한다. 대부분의 miRNA는 표적 mRNA의 3' 미번역된 영역 (UTR)과 불완전하게 염기-짝짓기하고, miRNA의 5' 근위 "씨드" 영역은 대부분의 짝짓기 특이성을 제공한다. 임의의 이론에 얽매이지 않고, (씨드 서열을 포괄하는) 처음 9개 miRNA 뉴클레오티드가 더 큰 특이성을 제공하는 반면 이 영역의 miRNA 리보뉴클레오티드 3'가 더 낮은 서열 특이성을 허용하고 그래서 더 높은 정도의 미스매칭된 염기 짝짓기를 용인한다고 믿어지고, 위치 2-7이 가장 중요하다. 따라서, 본 개시내용의 특이적 양태에서, miR-485-3p 결합 부위는 miR-485-3p의 씨드 서열의 전체 길이에 걸쳐 완전히 상보적 (*즉*, 100% 상보적)인 하위서열을 포함한다.

[0215] 본 개시내용의 맥락에서 사용될 수 있는 miRNA 서열 및 miRNA 결합 서열은, 비제한적으로, 본원에 제공된 서열 목록에서 서열들의 전부 또는 한 부문, 뿐만 아니라 miRNA 전구체 서열, 또는 이들 miRNA의 하나 이상의 보체를 포함한다. 이름으로 특정 miRNA 또는 miRNA 결합 부위를 포함하는 본 개시내용의 임의의 양태는 서열이 특정된 miRNA 서열 또는 이의 상보적 서열의 성숙한 서열에 적어도 약 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 71%, 적어도 약 72%, 적어도 약 73%, 적어도 약 74%, 적어도 약 75%, 적어도 약 76%, 적어도 약 77%, 적어도 약 78%, 적어도 약 79%, 적어도 약 80%, 적어도 약 81%, 적어도 약 82%, 적어도 약 83%, 적어도 약 84%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 miRNA 또는 이의 상보적 서열을 포함하도록 또한 고려된다.

[0216] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 결합 서열은, 변형된 서열이 miR-485-3p에 여전히 특이적으로 결합할 수 있는 한, 본원에 제공된 서열 목록에서 그들 서열의 5', 3', 또는 양쪽 5' 및 3' 말단에서 추가의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 결합 서열은, 변형된 서열이 miR-485-3p에 여전히 특이적으로 결합할 수 있는 한, 제공된 서열 목록에서 그들 서열에 관하여 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상 뉴클레오티드에서 상이할 수 있다.

[0217] miRNA 결합 분자 또는 miRNA에 관하여 본원에 논의된 임의의 방법 및 조성물이 합성 miRNA 결합 분자에 관하여 구현될 수 있음이 또한 구체적으로 고려된다. 본 개시내용에서 RNA 서열에 관련된 본 개시내용이 상응하는 DNA 서열에 동일하게 적용가능함이 또한 이해된다.

[0218] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA-485 억제제는 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA-485 억제제는 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0219] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 길이가 약 6 내지 약 30개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 길이가 7개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 길이가 8개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 9개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 길이가 10개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 11개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 12개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 길이가 13개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 길이가 14개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 길이가 15개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 16개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 길이가 17개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 18개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 19개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 20개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 길이가 21개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 길이가 22개 뉴클레오티드이다.

[0220] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 서열번호: 2 내지 30으로부터 선택된 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제는 서열번호: 2 내지 30으로 이루어지는 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 뉴클레오티드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 임의로 포함할 수 있다.

[0221] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2), 5'-GUGUAUGA-3' (서열번호: 3), 5'-CGUGUAUGA-3' (서열번호: 4), 5'-CCGUGUAUGA-3' (서열번호: 5), 5'-GCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 6), 5'-AGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 7), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 8), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 9), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 10), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 11), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 12), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 13), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 14), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 15)를 포함한다.

[0222] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-UGUAUGAC-3' (서열번호: 16), 5'-GUGUAUGAC-3' (서열번호: 17), 5'-CGUGUAUGAC-3' (서열번호: 18), 5'-CCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 19), 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 20), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 21), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 22), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 23), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 24), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 25), 5'-

AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 26), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 27), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29), 또는 5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 30)를 갖는다.

[0223] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 62), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 63), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 64), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 65), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 66), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 67), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 68), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 69), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 70), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 71), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 72), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 73), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 74), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 75); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 76), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 77), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 78), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 79), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 80), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 81), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 82), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 83), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 84), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 85), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 86), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 87), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 89); 및 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 90)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0224] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miRNA 억제제 (즉, miR-485-3p 억제제)는 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 88)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 88)에 적어도 90% 유사성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 88)를 포함한다. 특정 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 88)를 포함한다.

[0225] 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제의 서열은 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성이다. 특정 양태에서, miRNA 억제제는 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)에 적어도 90% 유사성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30) 또는 5'- AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 90)를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 30)를 포함한다.

[0226] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 30 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 추가의 핵산, C 말단에서 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 또는 적어도 5개 추가의 핵산, 또는 양쪽을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 30 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 1개 추가의 핵산 및/또는 C 말단에서 1개 추가의 핵산을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 30 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 1 또는 2개 추가의 핵산 및/또는 C 말단에서 1 또는 2개 추가의 핵산을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 30 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 1 내지 3개 추가의 핵산 및/또는 C 말단에서 1 내지 3개 추가의 핵산을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)를 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 5'- AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 30)를 포함한다.

[0227] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제는 1개 miR-485-3p 결합 부위를 포함한다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 적어도 2개 miR-485-3p 결합 부위를 포함한다. 특정 양태에서, miR-485-3p 억제제는 3개 miR-485-3p 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 4개 miR-485-3p 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 5개 miR-485-3p 결합 부위를 포함한다. 특정 양태에서,

miR-485-3p 억제제는 6개 이상의 miR-485-3p 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, 모든 miR-485-3p 결합 부위는 동일하다. 일부 양태에서, 모든 miR-485-3p 결합 부위는 상이하다. 일부 양태에서, miR-485-3p 결합 부위 중 적어도 하나는 상이하다.

[0228] *IV.a. 화학적으로 변형된 폴리뉴클레오티드*

[0229] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오시드 및/또는 뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드가 화학적으로 변형되는 경우 폴리뉴클레오티드는 "변형된 폴리뉴클레오티드"로서 지칭될 수 있다.

[0230] "뉴클레오시드"는 유기 염기 (*예를 들면,* 퓨린 또는 피리미딘) 또는 이의 유도체 (본원에 "핵염기"로서 또한 지칭됨)와 조합으로 당 분자 (*예를 들면,* 펜토스 또는 리보스) 또는 이의 유도체를 함유하는 화합물을 지칭한다. "뉴클레오티드"는 포스페이트 기를 포함하는 뉴클레오시드를 지칭한다. 변형된 뉴클레오티드는 하나 이상의 변형된 또는 비-천연 뉴클레오시드를 포함하기 위해 임의의 유용한 방법으로, 예컨대, 예를 들어, 화학적으로, 효소적으로, 또는 재조합으로 합성될 수 있다.

[0231] 폴리뉴클레오티드는 결합된 뉴클레오시드의 한 영역 또는 영역들을 포함할 수 있다. 그러한 영역은 가변 백본 연결을 가질 수 있다. 연결은 표준 포스포디에스테르 연결일 수 있고, 이 경우에 폴리뉴클레오티드는 뉴클레오티드의 영역을 포함할 것이다.

[0232] 본원에 개시된 변형된 폴리뉴클레오티드는 다양한 별개 변형을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 변형된 폴리뉴클레오티드는 1, 2개, 또는 그 이상의 (임의로 상이한) 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드 변형을 함유한다. 일부 양태에서, 변형된 폴리뉴클레오티드는, 미변형된 폴리뉴클레오티드에 비교된 경우, 하나 이상의 바람직한 특성, *예를 들면,* 개선된 열적 또는 화학적 안정성, 감소된 면역원성, 감소된 분해, 표적 마이크로RNA에 대한 증가된 결합, 다른 마이크로RNA 또는 다른 분자에 대한 감소된 비-특이적 결합을 나타낼 수 있다.

[0233] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 화학적으로 변형된다. 본원에 사용된 경우에, 폴리뉴클레오티드에 관하여, 용어 "화학적 변형" 또는, 적절한 경우, "화학적으로 변형된"은, 비제한적으로, 이의 핵염기, 당, 백본, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 그들의 위치, 패턴, 퍼센트 또는 집단 중 하나 이상에서 아데노신 (A), 구아노신 (G), 우리딘 (U), 티미딘 (T) 또는 시티딘 (C) 리보- 또는 데옥시리보뉴클레오시드에 관한 변형을 지칭한다.

[0234] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 동일한 뉴클레오시드 유형의 전부 또는 임의의 것의 균일한 화학적 변형 또는 동일한 뉴클레오시드 유형의 전부 또는 임의의 것에서 동일한 시작 변형의 하향 적정에 의해 생산된 변형의 집단, 또는 무작위 편입만을 가진 동일한 뉴클레오시드 유형의 모든 임의의 것의 화학적 변형의 측정된 퍼센트를 가질 수 있다 추가 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 전체 폴리뉴클레오티드 내내 동일한 뉴클레오시드 유형의 2, 3, 또는 4개의 균일한 화학적 변형을 가질 수 있다 (예컨대 모든 우리딘 및/또는 모든 시티딘, 등은 동일한 식으로 변형된다).

[0235] 변형된 뉴클레오티드 염기 짝짓기는 표준 아데닌-티민, 아데닌-우라실, 또는 구아닌-시토신 염기 쌍, 뿐만 아니라 비-표준 또는 변형된 염기를 포함하는 뉴클레오티드 및/또는 변형된 뉴클레오티드 사이 형성된 염기 쌍을 포괄하고, 여기서 수소 결합 주개 및 수소 결합 받개의 배열은 비-표준 염기와 표준 염기 사이 또는 2개 상보적 비-표준 염기 구조 사이 수소 결합을 허용한다. 그러한 비-표준 염기 짝짓기의 하나의 예는 변형된 핵염기 이노신과 아데닌, 시토신 또는 우라실 사이 염기 짝짓기이다. 염기/당 또는 링커의 임의의 조합은 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에 편입될 수 있다.

[0236] 숙련된 기술자는, 달리 언급되는 경우를 제외하고, 본원에서 제시된 폴리뉴클레오티드 서열이 대표적 DNA 서열에서 "T"를 인용할 것이지만 서열이 RNA를 나타내는 경우, "T"가 "U"에 대하여 치환될 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 본 개시내용의 TD는 RNA로서, DNA로서, 또는 양쪽 RNA 및 DNA 단위체를 포함하는 하이브리드 분자로서 투여될 수 있다.

[0237] 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 적어도 2개 (*예를 들면,* 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 18, 20개 또는 그 이상) 변형된 핵염기의 조합을 포함한다.

[0238] 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드에서 핵염기, 당, 백본 연결, 또는 이들의 임의의 조합은 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%,

적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100% 만큼 변형된다.

[0239] *(i) 염기 변형*

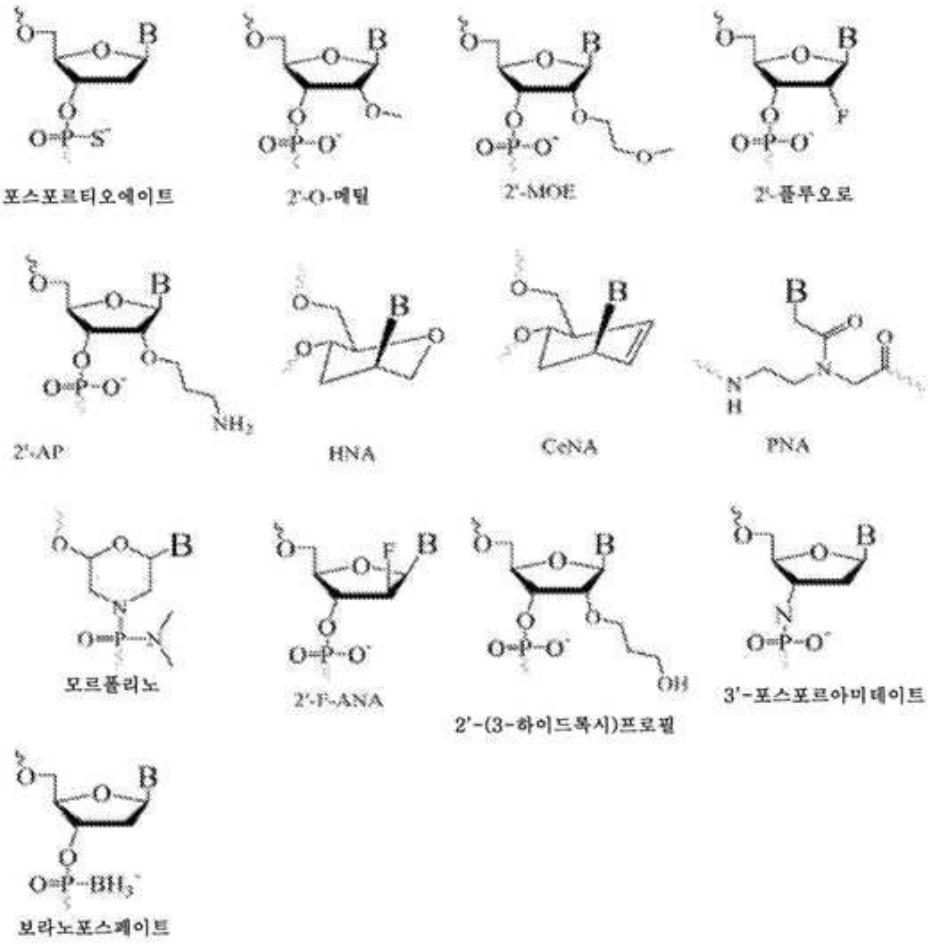
[0240] 특정 양태에서, 화학적 변형은 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)에서 핵염기에 있다. 일부 양태에서, 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오시드는 변형된 우리딘 (*예를 들면,* 슈도우리딘 (ψ), 2-티오우리딘 (s2U), 1-메틸-슈도우리딘 (m1ψ), 1-에틸-슈도우리딘 (e1ψ), 또는 5-메톡시-우리딘 (mo5U)), 변형된 시토신 (*예를 들면,* 5-메틸-시티딘 (m5C)) 변형된 아데노신 (예를 들면, 1-메틸-아데노신 (m1A), N6-메틸-아데노신 (m6A), 또는 2-메틸-아데닌 (m2A)), 변형된 구아노신 (*예를 들면,* 7-메틸-구아노신 (m7G) 또는 1-메틸-구아노신 (m1G)), 또는 이들의 조합이다.

[0241] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 특정한 변형에 대하여 균일하게 변형된다 (*예를 들면,* 완전히 변형된다, 전체 서열 내내 변형된다). 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는, 폴리뉴클레오티드 서열에서 모든 시토신 잔기가 5-메틸-시티딘 (m5C)으로 대체되는 것을 의미하는, 동일한 유형의 염기 변형, *예를 들면,* 5-메틸-시티딘 (m5C)으로 균일하게 변형될 수 있다. 비슷하게, 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오시드 예컨대 상기 제시된 것들의 임의의 것으로 대체에 의해 서열에 존재하는 임의의 유형의 뉴클레오시드 잔기에 대하여 균일하게 변형될 수 있다.

[0242] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)는 적어도 2개 (*예를 들면,* 2, 3, 4개 또는 그 이상)의 변형된 핵염기의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485-3p 억제제)에서 핵염기의 한 유형의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%는 변형된 핵염기이다.

[0243] *(ii) 백본 변형*

[0244] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485-3p 억제제)는 뉴클레오시드 사이 임의의 유용한 연결을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 조성물에서 유용한, 백본 변형을 포함하는, 그러한 연결은, 비제한적으로 하기를 포함한다: 3'-알킬렌 포스포네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트, 알켄 함유 백본, 아미노알킬포스포르아미데이트, 아미노알킬포스포트리에스테르, 보라노포스페이트, $-CH_2-O-N(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-NH-CH_2-$, 키랄 포스포네이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌 (메틸이미노), 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌이미노 및 메틸렌히드라지노 백본, 모르폴리노 연결, $-N(CH_3)-CH_2-CH_2-$, 헤테로원자 인터뉴클레오시드 연결을 가진 올리고뉴클레오시드, 포스피네이트, 포스포르아미데이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로티오에이트 인터뉴클레오시드 연결, 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, PNA, 실록산 백본, 술파메이트 백본, 술피드 술폭시드 및 술폰 백본, 술포네이트 및 술폰아미드 백본, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 티오노포스포르아미데이트.



[0245]

[0246] 일부 양태에서, 상기 개시된 백본 연결의 존재는 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (즉, miR-485-3p 억제제)의 분해에 대한 안정성 및 내성을 증가시킨다.

[0247] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (즉, miR-485-3p 억제제)에서 백본 연결의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%는 변형된다 (*예를 들면*, 이들의 전부는 포스포로티오에이트이다).

[0248] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (즉, miR-485-3p 억제제)에서 포함될 수 있는 백본 변형은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형을 포함한다.

[0249] *(iii) 당 변형*

[0250] 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (즉, miR-485-3p 억제제)에 편입될 수 있는 변형된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 핵산의 당에서 변형될 수 있다. 일부 양태에서, 당 변형은 miR-485-3p 핵산 서열에 miR-485-3p 억제제의 결합의 친화성을 증가시킨다. miR-485-3p 억제제에서 친화성-향상 뉴클레오티드 유사체, 예컨대 LNA 또는 2'-치환된 당 편입하기는 miR-485-3p 억제제의 길이 및/또는 크기가 감소되게 할 수 있다.

[0251] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (즉, miR-485-3p 억제제)에서 뉴클레오티드의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%는 당 변형 (*예를 들면*, LNA)을 함유한다.

[0252] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22개 뉴클레오티드 단위체는 당 변형된다 (*예를 들면*, LNA).

[0253] 일반적으로, RNA는 당 그룹 리보스를 포함하고, 이는 산소를 갖는 5-원 고리이다. 예시적, 비-제한 변형된 뉴클레오티드는 (*예를 들면,* S, Se, 또는 알킬렌, 예컨대 메틸렌 또는 에틸렌을 가진) 리보스 내 산소의 대체; (*예를 들면,* 리보스를 사이클로펜틸 또는 사이클로헥세닐로 대체하기 위한) 이중 결합의 부가; (*예를 들면,* 사이클로부탄 또는 옥세탄의 4-원 고리를 형성하기 위한) 리보스의 고리 수축; (*예를 들면,* 추가의 탄소 또는 헤테로원자를 갖는 6- 또는 7-원 고리를 형성하기 위해, 예컨대 포스포르아미데이트 백본을 또한 갖는 안하이드로헥시톨, 알트리톨, 만니톨, 사이클로헥사닐, 사이클로헥세닐, 및 모르폴리노를 위하여) 리보스의 고리 확장; 다환형 형태 (*예를 들면,* 트리사이클로; 및 "비잠금" 형태, 예컨대 글리콜 핵산 (GNA) (*예를 들면,* R-GNA 또는 S-GNA, 리보스가 포스포디에스테르 결합에 부착된 글리콜 단위체에 의해 대체되는 경우), 트레오스 핵산 (TNA, 리보스가 α-L-트레오푸라노실-(3'→2')로 대체되는 경우), 및 펩티드 핵산 (PNA, 2-아미노-에틸-글리신 연결이 리보스 및 포스포디에스테르 백본을 대체하는 경우)을 포함한다. 당 그룹은 리보스내 상응하는 탄소의 것과 반대의 입체화학적 구성을 소유하는 하나 이상의 탄소를 또한 함유할 수 있다. 그래서, 폴리뉴클레오티드 분자는, *예를 들면,* 아라비노스를 당으로서 함유하는 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0254] 리보스의 2' 하이드록실기 (OH)는 다수의 상이한 치환체로 변형 또는 대체될 수 있다. 2'-위치에서 예시적 치환은, 비제한적으로, H, 할로, 임의로 치환된 C_{1-6} 알킬; 임의로 치환된 C_{1-6} 알콕시; 임의로 치환된 C_{6-10} 아릴옥시; 임의로 치환된 C_{3-8} 사이클로알킬; 임의로 치환된 C_{3-8} 사이클로알콕시; 임의로 치환된 C_{6-10} 아릴옥시; 임의로 치환된 C_{6-10} 아릴-C_{1-6} 알콕시, 임의로 치환된 C_{1-12} (헤테로사이클릴)옥시; 당 (*예를 들면,* 리보스, 펜토스, 또는 본원에 기재된 임의의 것); 폴리에틸렌글리콜 (PEG), $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$, 식중 R은 H 또는 임의로 치환된 알킬이고, n은 0 내지 20 (*예를 들면,* 0 내지 4, 0 내지 8, 0 내지 10, 0 내지 16, 1 내지 4, 1 내지 8, 1 내지 10, 1 내지 16, 1 내지 20, 2 내지 4, 2 내지 8, 2 내지 10, 2 내지 16, 2 내지 20, 4 내지 8, 4 내지 10, 4 내지 16, 및 4 내지 20)의 정수임; 예시적 브릿지가 메틸렌, 프로필렌, 에테르, 아미노 브릿지, 아미노알킬, 아미노알콕시, 아미노, 및 아미노산을 포함하는, 2'-하이드록실이 C_{1-6} 알킬렌 또는 C_{1-6} 헤테로알킬렌 브릿지에 의해 동일한 리보스 당의 4'-탄소에 연결된 "잠금" 핵산 (LNA)을 포함한다.

[0255] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485-3p 억제제)에 존재하는 뉴클레오티드 유사체는, *예를 들면,* 2'-O-알킬-RNA 단위체, 2'-OMe-RNA 단위체, 2'-O-알킬-SNA, 2'-아미노-DNA 단위체, 2'-플루오로-DNA 단위체, LNA 단위체, 아라비노 핵산 (ANA) 단위체, 2'-플루오로-ANA 단위체, HNA 단위체, INA (인터칼레이팅 핵산) 단위체, 2'MOE 단위체, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, LNA는, *예를 들면,* 옥시-LNA (예컨대 베타-D-옥시-LNA, 또는 알파-L-옥시-LNA), 아미노-LNA (예컨대 베타-D-아미노-LNA 또는 알파-L-아미노-LNA), 티오-LNA (예컨대 베타-D-티오-LNA 또는 알파-L-티오-LNA), ENA (그와 같은 베타-D-ENA 또는 알파-L-ENA), 또는 이들의 임의의 조합이다. 추가 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485-3p 억제제)에서 포함될 수 있는 뉴클레오티드 유사체는 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 및/또는 펩티드 핵산 (PNA)을 포함한다.

[0256] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485-3p 억제제)는 양쪽 변형된 RNA 뉴클레오티드 유사체 (*예를 들면,* LNA) 및 DNA 단위체를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 갭머이다. *예를 들면,* 미국 특허 번호 8,404,649; 8,580,756; 8,163,708; 9,034,837을 참조하며; 이들 모두는 그 전체가 참조로 본원에 포함된다. 일부 양태에서, miR-485-3p 억제제는 마이크로미르이다. 전체가 참조로 본원에 포함되는, 미국 특허 출원 공개 번호 US20180201928을 참조한다.

[0257] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485-3p 억제제)는 엔도- 및 엑소-뉴클레아제에 의한 신속한 분해를 예방하기 위해 변형을 포함할 수 있다. 변형은, 비제한적으로, 예를 들어, (a) 말단 변형, 예를 들면, 5' 말단 변형 (인산화, 탈인산화, 접합, 역위 연결, 등), 3' 말단 변형 (접합, DNA 뉴클레오티드, 역위 연결, 등), (b) 염기 변형, 예를 들면, 변형된 염기, 안정화 염기, 불안정화 염기, 또는 파트너의 확장된 레퍼토리와 염기 짝짓기하는 염기, 또는 접합된 염기로의 대체, (c) (예를 들면, 2' 위치 또는 4' 위치에서) 당 변형 또는 당의 대체, 뿐만 아니라 (d) 포스포디에스테르 연결의 변형 또는 대체를 포함하는, 인터뉴클레오시드 연결 변형을 포함한다.

[0258] ***V. 벡터 및 전달 시스템***

[0259] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 당업계에서 알려진 임의의 관련한 전달 시스템을 사용하여 투여될 수 있다 (*예를 들면,* 인지 장애를 앓고 있는 것으로 식별될 수 있다). 특정 양태에서, 전달 시스템은 벡터이다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0260] 일부 양태에서, 벡터는 바이러스성 벡터이다. 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 아데노바이러스성 벡터 또는 아데노-연관된 바이러스성 벡터이다. 특정 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV이다. 일부 양태에서, 아데노바이러스성 벡터는 3세대 아데노바이러스성 벡터이다. ADEASY™은 아데노바이러스성 벡터 작제물의 단연 가장 대중적 창출 방법이다. 시스템은 2개 유형의 플라스미드: 셔틀 (또는 전달) 벡터 및 아데노바이러스성 벡터로 이루어진다. 관심의 이식유전자는 셔틀 벡터에 클로닝되고, 검증되고, 제한 효소 PmeI로 선형화된다. 이 작제물은 그 다음, PADEASY™을 함유하는 BJ5183 E. 콜리 세포인, ADEASIER-1 세포로 형질전환된다. PADEASY™은 바이러스 생산에 필요한 아데노바이러스성 유전자를 함유하는 ~33Kb 아데노바이러스성 플라스미드이다. 셔틀 벡터 및 아데노바이러스성 플라스미드는 아데노바이러스성 플라스미드로의 이식유전자의 상동 재조합을 촉진하는 매칭 좌우 상동성 아암을 갖는다. 초나선 PADEASY™ 및 셔틀 벡터로 표준 BJ5183을 또한 공-형질전환시킬 수 있지만, 이 방법은 비-재조합 아데노바이러스성 플라스미드의 더 높은 배경을 초래한다. 재조합 아데노바이러스성 플라스미드는 그 다음 크기 및 적절한 제한 소화 패턴에 대하여 검증되어 이식유전자가 아데노바이러스성 플라스미드에 삽입됨, 그리고 재조합의 다른 패턴이 발생하지 않음을 결정한다. 일단 검증되면, 재조합 플라스미드는 PacI로 선형화되어 ITR에 의해 측접된 선형 dsDNA 작제물을 창출한다. 293개 또는 911개 세포는 선형화된 작제물로 형질감염되고, 바이러스는 약 7-10 일 후에 수확될 수 있다. 이 방법 이외에도, 본 출원이 제출된 당시에 당업계에서 알려진 아데노바이러스성 벡터 작제물을 창출하는 다른 방법은 본원에 개시된 방법을 실시하는데 사용될 수 있다.

[0261] 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 레트로바이러스성 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스성 벡터 (예를 들면, 3세대 또는 4세대 렌티바이러스성 벡터)이다. 렌티바이러스성 벡터는 세포주가 3개 별도 플라스미드 발현 시스템으로 형질감염되는 일시적 형질감염 시스템에서 보통 창출된다. 이들은 전달 벡터 플라스미드 (HIV 프로바이러스의 부문들), 패키징 플라스미드 또는 작제물, 및 상이한 바이러스의 이종 엔벨로프 유전자 (*env*)를 가진 플라스미드를 포함한다. 벡터의 3개 플라스미드 구성요소는 패키징 세포에 놓여지고 이는 그 다음 HIV 껍질에 삽입된다. 벡터의 바이러스 부문은 바이러스가 세포 시스템 내부에서 복제할 수 없도록 삽입 서열을 함유한다. 현행 3세대 렌티바이러스성 벡터는 9개 HIV-1 단백질 중 단 3개 (Gag, Pol, Rev)를 인코딩하고, 이는 별도 플라스미드로부터 발현되어 복제-유능 바이러스의 재조합-매개된 생성을 회피한다. 4세대 렌티바이러스성 벡터에서, 레트로바이러스성 게놈은 추가로 감소되었다 (TAKARA® LENTI-X™ 4세대 패키징 시스템).

[0262] 당업계에서 알려진 임의의 AAV 벡터는 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. AAV 벡터는 알려진 벡터를 포함할 수 있거나 변이형, 단편, 또는 이의 융합체를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV 유형 1 (AAV1), AAV2, AAV3A, AVV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AVV9, AVV10, AVV11, AVV12, AVV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AVV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 솟과 AAV, 새우 AVV, 뱀 AVV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0263] 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3A, AVV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AVV9, AVV10, AVV11, AVV12, AVV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AVV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AVV, 뱀 AVV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 AAV 벡터에서 유래된다.

[0264] 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3A, AVV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AVV9, AVV10, AVV11, AVV12, AVV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AVV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AVV, 뱀 AVV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 2개 AAV 벡터에서 유래된 키메라 벡터이다.

[0265] 특정 양태에서, AAV 벡터는 당업계에서 알려진 적어도 2개 상이한 AAV 벡터의 영역을 포함한다.

[0266] 일부 양태에서, AAV 벡터는 제1 AAV (*예를 들면,* AAV1, AAV2, AAV3A, AVV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AVV9, AVV10, AVV11, AVV12, AVV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AVV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AVV, 뱀 AVV, 또는 이들의 임의의 유도체)로부터 역위 말단 반복부 및 제2 AAV (*예를 들면,* AAV1, AAV2, AAV3A, AVV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AVV9, AVV10, AVV11, AVV12, AVV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AVV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AVV, 뱀 AVV, 또는 이들의 임의의 유도체)로부터 제2 역위 말단 반복부를 포함한다.

[0267] 일부 양태에서, AVV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3A, AVV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AVV9, AVV10, AVV11, AVV12, AVV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AVV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AVV, 뱀 AVV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 AAV 벡터의 한 부문을 포함

한다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV2를 포함한다.

[0268] 일부 양태에서, AVV 벡터는 스플라이스 수용자 부위를 포함한다. 일부 양태에서, AVV 벡터는 프로모터를 포함한다. 당업계에서 알려진 임의의 프로모터는 본 개시내용의 AAV 벡터에서 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 프로모터는 RNA Pol III 프로모터이다. 일부 양태에서, RNA Pol III 프로모터는 U6 프로모터, H1 프로모터, 7SK 프로모터, 5S 프로모터, 아데노바이러스 2 (Ad2) VAI 프로모터, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 프로모터는 거대세포바이러스 최초 유전자 (CMV) 프로모터, EF1a 프로모터, SV40 프로모터, PGK1 프로모터, Ubc 프로모터, 인간 베타 액틴 프로모터, CAG 프로모터, TRE 프로모터, UAS 프로모터, Ac5 프로모터, 폴리헤드린 프로모터, CaMKIIa 프로모터, GAL1 프로모터, GAL10 프로모터, TEF 프로모터, GDS 프로모터, ADH1 프로모터, CaMV35S 프로모터, 또는 Ubi 프로모터이다. 특이적 양태에서, 프로모터는 U6 프로모터를 포함한다.

[0269] 일부 양태에서, AAV 벡터는 구성적으로 활성 프로모터 (구성적 프로모터)를 포함한다. 일부 양태에서, 구성적 프로모터는 하이포크산틴 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HPRT), 아데노신 데아미나제, 피루베이트 키나제, 베타-액틴 프로모터, 거대세포바이러스 (CMV), 유인원 바이러스 (*예를 들면*, SV40), 유두종 바이러스, 아데노바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 라우스 육종 바이러스, 레트로바이러스 긴 말단 반복부 (LTR), 뮤린 줄기세포 바이러스 (MSCV) 및 단순 포진 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0270] 일부 양태에서, 프로모터는 유도성 프로모터이다. 일부 양태에서, 유도성 프로모터는 조직 특이적 프로모터이다. 특정 양태에서, 조직 특이적 프로모터는 뉴런, 아교 세포, 또는 양쪽 뉴런 및 아교 세포에서 AVV 벡터의 코딩 영역의 전사를 구동시킨다.

[0271] 일부 양태에서, AVV 벡터는 하나 이상의 인핸서를 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 인핸서는 본원에 개시된 프로모터와 함께 또는 AAV 단독으로 존재한다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 3'UTR 폴리(A) 꼬리 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 3'UTR 폴리(A) 꼬리 서열은 bGH 폴리(A), 액틴 폴리(A), 헤모글로빈 폴리(A), 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 3'UTR 폴리(A) 꼬리 서열은 bGH 폴리(A)를 포함한다.

[0272] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제는 전달 제제와 투여된다. 사용될 수 있는 전달 제제의 비-제한 예는 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 미셀, 또는 접합체를 포함한다.

[0273] 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485-3p 억제제) 및 전달 제제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 양태에서, 전달 제제는 하기를 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하되

[0274] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

[0275] 또는

[0276] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[0277] 식중

[0278] WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

[0279] CC는 양으로 하전된 (*즉*, 양이온성) 담체 모이어티이고;

[0280] AM은 보조제 모이어티이고;

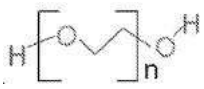
[0281] L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커이고;

[0282] 여기서 약 1:1의 이온성 비로 핵산과 혼합된 경우, 양이온성 담체 단위체는 미셀을 형성한다. 따라서, 일부 양태에서, miRNA 억제제 및 양이온성 담체 단위체는 함께 혼합된 경우 미셀을 형성하기 위해 서로 (*예를 들면*, 공유 결합 또는 비-공유 결합을 통해) 회합할 수 있다.

[0283] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485-3p 억제제)를 포함하는 조성물은 이온성 결합을 통해 양이온성 담체 단위체와 상호작용한다.

[0284] 일부 양태에서, 수용성 중합체는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리

(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함한다. 일부 양태에서, 수용성 중합체는

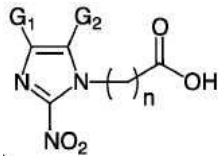
[0285] , (화학식 III),

[0286] 을 포함하되, 식중 n은 1-1000이다.

[0287] 일부 양태에서, n은 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141이다. 일부 양태에서, n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 약 150 내지 약 160이다.

[0288] 일부 양태에서, 수용성 중합체는 선형, 분지형, 또는 수지상이다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25, 적어도 26, 적어도 27, 적어도 28, 적어도 29, 적어도 30, 적어도 31, 적어도 32, 적어도 33, 적어도 34, 적어도 35, 적어도 36, 적어도 37, 적어도 38, 적어도 39, 적어도 40, 적어도 41, 적어도 42, 적어도 43, 적어도 44, 적어도 45, 적어도 46, 적어도 47, 적어도 48, 적어도 49, 또는 적어도 50개 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 40개 라이신 단량체를 포함한다.

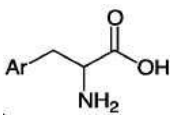
[0289] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

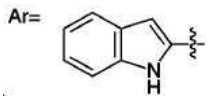
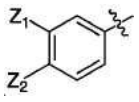
[0290] , (화학식 IV),

[0291] 을 포함하되, 식중 G1 및 G2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G1 및 G2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10이다.

[0292] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 니트로이미다졸을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 아미노산을 포함한다.

[0293] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

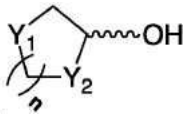
[0294]  (화학식 V),

[0295] 를 포함하되, 식중 Ar은  또는  이고,

[0296] 식중 Z1 및 Z2의 각각은 H 또는 OH이다.

[0297] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 비타민을 포함한다. 일부 양태에서, 비타민은 환식 고리 또는 환식 헤테로

원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함한다. 일부 양태에서, 비타민은

[0298]  (화학식 VI),

[0299] 을 포함하되, 식중 Y1 및 Y2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2이다.

[0300] 일부 양태에서, 비타민은 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 비타민은 비타민 B3이다.

[0301] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 약 10개 비타민 B3을 포함한다.

[0302] 일부 양태에서, 조성물은 약 120 내지 약 130개 PEG 단위체를 가진 수용성 생체고분자 모이어티, 약 30 내지 약 40개 라이신을 가진 폴리-라이신을 포함하는 양이온성 담체 모이어티, 및 약 5 내지 약 10개 비타민 B3을 가진 보조제 모이어티를 포함한다.

[0303] 일부 양태에서, 조성물은 (i) 약 100 내지 약 200개 PEG 단위체를 가진 수용성 생체고분자 모이어티, (ii) 아민기를 가진 약 30 내지 약 40개 라이신 (예를 들면, 약 32개 라이신), (iii) 티올기를 각각 갖는 약 15 내지 20개 라이신 (예를 들면, 티올기를 각각 가진 약 16개 라이신), 및 (iv) 비타민 B3에 융합된 약 30 내지 40개 라이신 (예를 들면, 비타민 B3에 각각 융합된 약 32개 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 조성물은 추가로 수용성 중합체에 결합된 표적화 모이어티, 예를 들면, LAT1 표적화 리간드, 예를 들면, 페닐 알라닌을 포함한다. 일부 양태에서, 조성물에서 티올기는 디술피드 결합을 형성한다.

[0304] 일부 양태에서, 조성물은 (1) (i) 약 100 내지 약 200개 PEG 단위체, (ii) 아민기를 가진 약 30 내지 약 40개 라이신 (예를 들면, 약 32개 라이신), (iii) 티올기를 각각 갖는 약 15 내지 20개 라이신 (예를 들면, 티올기를 각각 가진 약 16개 라이신), 및 (iv) 비타민 B3에 융합된 약 30 내지 40개 라이신 (예를 들면, 비타민 B3에 각각 융합된 약 32개 라이신)을 포함하는 미셀, 및 (2) miR485 억제제 (예를 들면, 서열번호: 30)를 포함하고, 여기서 miR485 억제제는 미셀 내에서 캡슐화된다. 일부 양태에서, 조성물은 추가로 PEG 단위체에 결합된 표적화 모이어티, 예를 들면, LAT1 표적화 리간드, 예를 들면, 페닐 알라닌을 포함한다. 일부 양태에서, 미셀에서 티올기는 디술피드 결합을 형성한다.

[0305] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485-3p 억제제)를 포함하는 미셀을 제공하고 여기서 miRNA 억제제 및 전달 제제는 서로 회합된다.

[0306] 일부 양태에서, 회합은 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합이다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체의 양이온성 담체 모이어티의 양전하는 용액에서 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제와 혼합된 경우 미셀을 형성하는데 충분하고, 여기서 용액에서 양이온성 담체 단위체의 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 miR-485-3p 억제제 (또는 억제제를 포함하는 벡터)의 음전하의 전반적 이온성 비는 약 1:1이다.

[0307] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 효소적 분해로부터 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485-3p 억제제)를 보호할 수 있다. 전체가 참조로 본원에 포함되는, 미국 PCT 공개 번호 WO2020/261227을 참조한다.

[0308] ***VI. 약학적 조성물***

[0309] 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 대상체에게 투여에 적합한 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제 (*예를 들면*, miR-485-3p 억제제를 포함하는 벡터 또는 폴리뉴클레오티드)를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 약학적 조성물은 일반적으로 대상체에게 투여에 적합한 형태로 본원에 기재된 miR-485-3p 억제제 (*예를 들면*, 폴리뉴클레오티드 또는 벡터) 및 약학적으로-허용가능한 부형제 또는 담체를 포함한다. 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체는 투여되는 중인 특정한 조성물에 의해, 뿐만 아니라 조성물을 투여하는데 사용된 특정한 방법에 의해 부분적으로 결정된다.

[0310] 따라서, 본 개시내용의 miR-485-3p 억제제를 포함하는 약학적 조성물의 매우 다양한 적합한 제형이 있다. (*예를 들면*, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990), 참조). 약

학적 조성물은 일반적으로 멸균 제형화되고 미국 식품의약국의 모든 우수 의약품 제조관리 기준 (GMP) 규정을 완전히 준수한다.

[0311] *VII. 키트*

[0312] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 약학적 조성물) 및 임의로 사용 지침, 예를 들면, 본원에 개시된 방법에 따른 사용 지침을 포함하는 키트 또는 제조 제품을 제공한다. 일부 양태에서, 키트 또는 제조 제품은 하나 이상의 용기에서 miR-485-3p 억제제 (*예를 들면,* 벡터, *예를 들면,* 본 개시내용의 AAV 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 약학적 조성물)를 포함한다. 일부 양태에서, 키트 또는 제조 제품은 miR-485-3p 억제제 (*예를 들면,* 벡터, *예를 들면,* 본 개시내용의 AAV 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 약학적 조성물) 및 브로셔를 포함한다. 당업자는 본원에 개시된 miR-485-3p 억제제 (*예를 들면,* 본 개시내용의 벡터, 폴리뉴클레오티드, 및 약학적 조성물, 또는 이들의 조합)가 당업계에서 잘 알려지는 확립된 키트 형식 중 하나로 용이하게 포함될 수 있음을 용이하게 인식할 것이다.

[0313] 하기 실시예는 제한의 방식이 아닌 예시의 방식으로 제공된다.

[0314] 실시예

[0315] **실시예 1: 물질 및 방법**

[0316] 하기 기재된 실시예는 하기 물질 및 방법 중 하나 이상을 사용한다.

[0317] *임상 샘플 및 정보*

[0318] 모든 인간-유래 샘플은 한국의 건양대학교 병원, 보라매의료원, 을지의료원 및 경상대학교 병원에서 승인된 국제심사위원회 (IRB)에 기초하여 모집된 환자들로부터 이루어졌다. 총, 21명의 아밀로이드 PET 음성 환자들 및 26명의 아밀로이드 PET 양성 환자들이 모집되었다. 표 3A (아래)는 이들 환자 중 한 명 이상에 대한 임상 정보를 제공한다.

표 3A. 모집된 환자들에 대한 임상 정보

[1] 사이트	조직 유형	ID	연령	성별	[2]DX	[3] 아밀로이드 PET 결과	[4]MMSE	[5]CDR	교육 연도	[6]APOE 유전자형
사이트 1	면봉	사이트 1-1	66	남성	NC	음성	27	0	16	E3/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-2	80	남성	NC	음성	23	0	16	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-3	73	여성	NC	음성	27	0	6	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-4	78	여성	NC	음성	26	0	0	E2/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-5	68	여성	NC	음성	26	0	0	E2/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-6	73	여성	NC	음성	25	0	6	E3/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-7	76	여성	NC	음성	27	0	10	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-8	81	여성	NC	음성	23	0	7	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-9	69	여성	MCI	음성	25	0.5	2	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-10	58	남성	NC	양성	29	0	16	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-11	78	남성	MCI	양성	26	0.5	12	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-12	86	여성	MCI	양성	22	0.5	7	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-13	70	여성	MCI	양성	22	0.5	7	E3/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-14	76	남성	MCI	양성	22	0.5	0	E3/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-15	65	남성	MCI	양성	30	0.5	12	E3/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-16	70	여성	MCI	양성	24	0.5	6	E4/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-17	85	남성	AD	양성	18	0.5	6	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-18	74	여성	AD	양성	17	0.5	4	E3/E3
사이트 1	면봉	사이트 1-19	85	여성	AD	양성	16	1	6	E2/E4
사이트 1	면봉	사이트 1-20	73	여성	AD	양성	24	0.5	16	E4/E4

[0319]

[0320]

[1]사이트	조직 유형	ID	연령	성별	[2]DX	[3]아밀로이드 PET 결과	[4]MMSE	[5]CDR	교육 연도	[6]APOE 유전자형
사이트 2	면봉, 혈장	사이트 2-1	75	여성	NC	음성	29	0	9	E3/E3
사이트 2	면봉, 혈장	사이트 2-2	81	여성	NC	음성	23	0	6	E3/E3
사이트 2	면봉, 혈장	사이트 2-3	89	여성	NC	음성	28	0	6	E2/E3
사이트 2	면봉, 혈장	사이트 2-4	75	여성	NC	음성	27	0	9	E2/E3
사이트 2	면봉, 혈장	사이트 2-5	74	남성	AD	양성	23	0.5	6	E4/E4
사이트 3	면봉	사이트 3-1	60	여성	NC	음성	30	0.5	15	E2/E4
사이트 3	면봉	사이트 3-2	58	여성	NC	음성	27	0.5	5	E3/E4
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-3	66	여성	NC	음성	27	0.5	6	E2/E3
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-4	67	남성	MCI	음성	26	0.5	6	E3/E3
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-5	72	여성	MCI	음성	25	0.5	6	E3/E3
사이트 3	면봉	사이트 3-6	57	남성	NC	양성	29	0.5	16	E3/E3
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-7	66	여성	NC	양성	27	0	9	E3/E3
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-8	70	남성	MCI	양성	27	0.5	16	E3/E4
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-9	71	남성	MCI	양성	26	0.5	18	E3/E4
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-10	64	남성	MCI	양성	27	0.5	12	E3/E3
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-11	80	남성	AD	양성	20	0.5	6	E3/E3
사이트 3	면봉	사이트 3-12	61	남성	AD	양성	20	0.5	12	E3/E3
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-13	78	남성	AD	양성	23	1	12	E3/E4
사이트 3	면봉	사이트 3-14	53	남성	AD	양성	16	1	12	E3/E4

[1]사이트	조직 유형	ID	연령	성별	[2]DX	[3]아밀로이드 PET 결과	[4]MMSE	[5]CDR	교육 연도	[6]APOE 유전자형
사이트 3	면봉	사이트 3-15	68	여성	AD	양성	27	1	6	E4/E4
사이트 3	면봉, 혈장	사이트 3-16	71	여성	AD	양성	16	0.5	1	E3/E3
사이트 4	혈장	사이트 4-1	59	여성	NC	음성				
사이트 4	혈장	사이트 4-2	61	남성	NC	음성				
사이트 4	혈장	사이트 4-3	64	여성	NC	음성				
사이트 4	혈장	사이트 4-4	84	여성	AD	양성				
사이트 4	혈장	사이트 4-5	79	여성	AD	양성				
사이트 4	혈장	사이트 4-6	88	남성	AD	양성				

[0321]

[0322] 47명의 환자에 대한 임상 정보. [1]사이트는 샘플이 채집된 병원을 의미한다. 사이트1은 서울대학교 보라매 의료원이다. 사이트2는 을지 의료원이다. 사이트3은 경상대학교 병원이다. [2]DX는 임상 전문가에 의한 인지 기능 및 다양한 임상 결과를 이용한 진단 결과이었다. [3]아밀로이드 PET 결과는 핵의학 전문의에 의해 판단된 경우, 아밀로이드 PET CT 영상의 결과이었다. 음성은 아밀로이드 베타 축적이 거의 또는 전혀 없는 결과를 의미하고, 양성은 아밀로이드 베타 축적이 있는 결과를 의미한다. [4]MMSE는 미니 정신 상태 검사의 약자이었다. [5]CDR은 임상 치매율의 약자이었다. [6]APOE 유전자형은 *APOE* 유전자의 선천적 대립유전자 유형의 유전자형화에서 유래된 결과이었다.

[0323] 실시간 PCR 검정 실험의 경우, 3명의 아밀로이드 PET 음성 환자 및 8명의 아밀로이드 PET 양성 환자는 모집되었다. 표 3B (아래)는 이들 환자로부터 수득된 샘플에 대한 임상 정보를 제공한다.

표 3B. 실시간 PCR 실험에서 사용된 임상 샘플 및 정보

[1]사이트	ID	연령	성별	[2]DX	[3]PET	[4]MMSE	[5]CDR	[6]EDU	[7]APOE
EMC	EMC016	75	여성	NC	음성	29	0	9	E3/E3
EMC	EMC019	74	남성	AD	양성	23	0.5	6	E4/E4
EMC	EMC020	81	여성	NC	음성	23	0	6	E3/E3
EMC	EMC021	89	여성	NC	음성	28	0	6	E2/E3
EMC	EMC022	82	남성	AD	음성	21	0.5	9	E3/E4
EMC	EMC023	75	여성	NC	음성	27	0	9	E2/E3
GNUH	GNUH001	60	여성	NC	음성	30	0.5	15	E2/E4
GNUH	GNUH002	70	남성	MCI	양성	27	0.5	16	E3/E4
GNUH	GNUH003	67	남성	MCI	음성	26	0.5	6	E3/E3
GNUH	GNUH004	72	여성	MCI	음성	25	0.5	6	E3/E3
GNUH	GNUH005	68	여성	AD	양성	27	1	6	E4/E4
GNUH	GNUH007	71	남성	MCI	양성	26	0.5	18	E3/E4
GNUH	GNUH008	57	남성	NC	양성	29	0.5	16	E3/E3
GNUH	GNUH010	71	여성	AD	양성	16	0.5	1	E3/E3
GNUH	GNUH011	58	여성	NC	음성	27	0.5	5	E3/E4
GNUH	GNUH012	66	여성	NC	음성	27	0.5	6	E2/E3
GNUH	GNUH013	66	여성	NC	양성	27	0	9	E3/E3
GNUH	GNUH014	64	남성	MCI	양성	27	0.5	12	E3/E3
GNUH	GNUH015	80	남성	AD	양성	20	0.5	6	E3/E3
GNUH	GNUH016	61	남성	AD	양성	20	0.5	12	E3/E3
GNUH	GNUH017	78	남성	AD	양성	23	1	12	E3/E4
GNUH	GNUH018	53	남성	AD	양성	16	1	12	E3/E4

[0324]

[0325] [1]사이트: 샘플이 수득된 기관 또는 병원. "EMC"는 을지 의료원이다. "GNUH"는 경상대학교 병원이고; [2]DX: (i) 정상 인지 (NC), (ii) 경도 인지 장애 (MCI), 또는 (iii) 알츠하이머병 (AD)에 대한 전문가 진단의 결과; [3]PET: 아밀로이드-β PET (양전자 방출 단층촬영) CT (컴퓨터 단층촬영) 영상 후, 핵의학 전문가 및 관련 전문가에 의해 진단됨; [4]MMSE: 미니 정신 상태 검사 점수; [5]CDR: 임상 치매 등급; [6]EDU: 교육 연도; [7]APOE: APOE 유전자형.

[0326] *알츠하이머병의 진단 및 아밀로이드-β PET CT 영상*

[0327] 아밀로이드-β는 의료 기관에서 아밀로이드-β PET CT 영상을 사용하여 측정되었다. 영상 결과를 사용하여, 아밀로이드-β PET 양성 및 음성 판정은 핵의학 전문가 및 신경과 전문의에 의해 내려졌다. 아밀로이드-β 축적이 있는 환자는 "아밀로이드 PET 양성"으로서 분류되었다. 그렇지 않으면, 환자는 "아밀로이드 PET 음성"으로서 분류되었다. 알츠하이머병 진단은 의료 전문가에 의해 실시되었다. 진단은 하기 범주 중 하나로 나누어졌다: (i) 정상 인지 (NC), (ii) 경도 인지 장애 (MCI), 및 (iii) 알츠하이머병 (AD).

[0328] *환자의 구강 상피 세포 수집 (면봉 샘플)*

[0329] 구강 상피 세포를 수집하기 위해, 단일 면봉은 환자의 입 내부를 닦는데 사용되었다 (약 5 내지 10 회). 각 환자로부터, 총 10개의 상이한 면봉 샘플은 수집되었다. 면봉 샘플들의 각각은 별도 e-튜브에 수집되었다. 그 다음, 튜브는 환자 ID로 표지화되었고 추가 분석 때까지 -20 ℃에 보관되었다.

[0330] *PCR 증폭을 위한 올리고뉴클레오티드*

[0331] 본원에 기재된 경우에, miR-485-3p 발현은 실시간 PCR을 사용하여 정량화되었다. 사용된 상이한 프라이머 및 프로브는 표 4 (아래)에 제공된다.

표 4. miR-485-3p 의 PCR 증폭을 위한 프라이머 및 프로브

올리고뉴클레오티드 명칭	서열	PCR 방법
miR-485-3p_FW1	5'-GTCATACACGGCTCTCCTCTCT-3' (서열번호: 94)	실시간
miR-485-3p_FW7	5'-GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA-3' (서열번호: 100)	실시간
miR-485-3p_FW9	5'-CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA-3' (서열번호: 52)	실시간
역방향	5'-GAATCGAGCACCAGTTACG-3' (서열번호: 60)	실시간
형광 프로브	FAM-CGAGGTCGACTTCCTAGA-NFQ (서열번호: 108)	실시간

[0332]

[0333] *마이크로-RNA 제조*

[0334] 마이크로-RNA는 제조업체의 지침에 따라 miRNeasy 혈청/혈장 Kit (Qiagen, 독일)를 사용하여 추출되었다. 구강 상피 및 혈장의 엑소좀으로부터의 마이크로-RNA는 제조업체의 지침에 따라 exoRNeasy Serum / Plasma Midi Kits (Qiagen, 독일)를 사용하여 추출되었다. 그 다음, 1 μg의 추출된 마이크로-RNA는 miScript II RT Kit (Qiagen, Hilden, 독일)를 사용하는 cDNA 합성에 사용되었다.

[0335] *표준 물질의 제조*

[0336] miR-485-3p의 모방체 (서열: GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU (서열번호: 1); miRDB로부터 인간 마이크로RNA 서열; mirdb.org/index.html)는 miScript II RT 키트 (Qiagen, Cat. 218161)를 사용하는 ssDNA에 의해 합성되었다. 합성된 ssDNA의 농도는 Quantus™ Fluorometer (Promega, E6150) 계기를 사용하여 측정되었다. 그 이후, ssDNA는 MEGAquick-spin™ Plus Total Fragment DNA Purification Kit (Intron, 17290)를 사용하여 정제되었다.

[0337] *실시간 PCR*

[0338] miRNA 발현을 분석하기 위해, TaqMan miRNA 분석은 CFX 커넥트 시스템 (Bio-Rad)에서 TOPreal™ qPCR 2X

PreMIX (Enzynomics, 한국)를 사용하여 수행되었다. 개별 cDNA의 실시간 PCR 측정은 Bio-Rad 실시간 PCR 시스템으로 이중 DNA 형성을 측정하기 위해 TaqMan 프로브를 사용하여 수행되었다. 실시간 PCR은 cDNA 샘플을 다양한 농도로 희석시킴으로써 수행되었다. 그 다음, 10 ng/μL의 cDNA는 일반 마이크로-RNA 제조에 사용되었고, 2 ng/μL의 cDNA는 엑소좀성 마이크로-RNA 제조에 사용되었다. 실시간 PCR은 다음과 같이 수행되었다: 95℃에서 15 분 동안, 40 주기 (95℃에서 10 초 동안, 55℃에서 1 분 동안, 72℃에서 10초 동안). 실험은 각 데이터 포인트에 대하여 이중으로 실시되었다. 데이터는 BioRad 소프트웨어에서 유출되었고 분석 프로그램에 유입되었다.

[0339] *마이크로RNA의 정량화*

[0340] 본원에 기재된 miR-485-3p 프라이머를 사용하는 실시간 PCR 결과 (상기 표 4 *참조*)는 주기 임계 (Ct) 값으로서 출력되었다. 그 다음, Ct 값은 하기 식: 발현 값 = $2^{-\text{주기 임계}}$ x 10^{10}을 사용하여 결정된 발현 값으로 대체되었다.

[0341] 다음으로, 표준 물질은 하기 양으로 사전-칭량되었다: (1) 0.01 pg; (2) 0.03 pg; (3) 0.05 pg; (4) 0.07 pg; (5) 0.09 pg; 및 (6) 0.20 pg. 표준 물질에 대한 Ct 값은 또한 상기 제공된 식을 사용하여 결정된 발현 값으로 대체되었다. 회귀 방정식은 표준 물질의 사전-측정된 정량 및 연관된 발현 값을 사용한 각 배치에 대하여 수득되었다. miRNA 발현 수준을 정량화하기 위해, (앞서 설명된) 환자의 miR-485-3p 발현 값은 상기 수득된 회귀 방정식에 플러깅되었다.

[0342] *APOE 유전자형화*

[0343] APOE 유전자형화는 이 전체가 참조로 본원에 포함되는 Zhong 등, *Mol Neurodegener* 11:2-4 (2016)에 기재된 대로 수행되었다. 간략히, 대략 1 mL의 DPBS는 구강 임상 면봉 샘플이 들어있는 튜브에 첨가되었고, 와동되었다. 그 다음, 면봉은 제거되었고, 튜브는 13,000rpm에서 3 분 동안 원심분리되었다. 상청액은 폐기되어 침전물을 제조하였다. 다음으로, 게놈성 DNA는 Higene 게놈성 DNA 분취형 키트 (Biofact, GD141-100)를 사용하여 침전물로부터 추출되었다. 프라이머, 프로브, 및 qPCR 믹스는 표 5 및 6 (아래)에 제공된 대로 제조되었다. E2, E3, 및 E4의 혼합물은 제조되었고 1 μL의 추출된 게놈성 DNA는 혼합물에 첨가되었다. 그 다음, 실시간 PCR 증폭은 BioRad CFX 96을 사용하여 수행되었다.

표 5. APOE 유전자형화를 위한 PCR 반응 혼합물

PCR 반응 믹스	부피 (ul)
2x 마스터 믹스(2QPP)	10
E2/E3/E4 프라이머(10p/F+R)	2
ApoE 프로브(10p)	1
템플레이트 (10-30 ng)	1
Rnase-프리 수	6
총 혼합물	20

[0344]

표 6. APOE 유전자형화에 대한 프라이머 정보

명칭	서열 (5'-3')	nt
E2-정방향	GCGGACATGGAGGACGTGT (서열번호: 109)	19
E2-역방향	CCTGGTACACTGCCAGGCA (서열번호: 110)	19
E3-정방향	CGGACATGGAGGACGTGT (서열번호: 111)	18
E3-역방향	CTGGTACACTGCCAGGCG (서열번호: 112)	18
E4-정방향	CGGACATGGAGGACGTGC (서열번호: 113)	18
E4-역방향	CTGGTACACTGCCAGGCG (서열번호: 112)	18
ApoE 프로브	[FAM] CAGCTCCTCGGTGCTCTGGC [BHQ1] (서열번호: 114)	20

[0345]

[0346] *엑소좀성 RNA의 검증을 위한 웨스턴 블랏팅*

[0347] 구강 임상 면봉 샘플이 들어있는 튜브는 본원에 기재된 대로 처리되어 펠릿 및 상청액을 수득하였다. 상청액은 exoRNeasy Serum/Plasma Midi 키트 (Qiagen, Cat. 77144)를 사용하여 엑소좀의 추가 추출에 사용되었다. 세포 펠릿 및 HOCFE는 SDS-PAGE에 의해 분획화되었고 제조업체의 프로토콜에 따라 이송 기구를 사용하여 폴리비닐리덴 디플루오리드 막으로 옮겨졌다. 분획화의 순도는 도 13a에서 보여질 수 있다. 60 분 동안 TBST (10 mM Tris, pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.5% Tween 20)내 10% 탈지유로 인큐베이션 후, 막은 TBST로 1회 세정되었고 12 시간 동안 4 ℃에서 CD81 (1:100) 및 칼넥신 (1:200)에 대해 항체로 인큐베이션되었다. 막은 10 분 동안 3 회 세정되었고 1 시간 동안 양고추냉이 과산화효소에 접합된 IgG 경쇄 결합 단백질의 1:1000 희석액으로 인큐베이션되었다. 블랏은 TBST로 3 회 세정되었고 제조업체의 프로토콜에 따라 ECL 시스템 (Amersham Biosciences)으로 전개되었다.

[0348] *아밀로이드-β의 제조 및 세포 처리*

[0349] Aβ (아밀로이드-베타) 1-42 헥사플루오로이소프로파날 (HFIP) 펩티드 (#AS-64129)는 AnaSpec (Fremont, CA, 미국)에서 수득되었다. 아밀로이드-β 단량체를 형성하기 위해, HFIP 펩티드는 DMSO에 5 mM의 스톡 농도로 용해되었다. 스톡은 그 다음 무혈청 DMEM에서 100 μM으로 희석되었다. 아밀로이드-β 올리고머를 형성하기 위해, 단량체는 4℃에서 24 시간 동안 인큐베이션되었다.

[0350] 인간 일차 구강 상피 세포 (Cat# 36063-01)는 Celprogen (Torrance, California)에서 구입되었다. 세포 (5×10^5 세포/웰)는 밤새 6-웰 플레이트에 플레이팅되었다. 세포는 그 다음 가변하는 농도 (0.1, 0.5, 1 μM)의 아밀로이드-β 단량체 또는 올리고머로 처리되었고, 6 시간 동안 인큐베이션하게 되었다. 인큐베이션 후, 양쪽 상청액 및 세포는 분석을 위하여 수확되었다.

[0351] *임상 정보를 사용한 예측 모델 구축*

[0352] 본원에 기재된 관련한 값을 계산하기 위해, 다양한 임상 정보는 값이 할당되었다: (i) 성별 (남성 = 1; 여성 = 2); 및 (ii) APOE 유전자형 (E2/E3 = 1; E3/E3 = 1; E2/E4 = 2; E3/E4 = 2; 및 E4/E4 = 4). 연령, 교육 연도 (0 내지 18), MMSE 점수 및 CDR은 그대로 사용되었다. AUC가 가장 높고 오류율이 가장 낮은 차원을 결정하기 위해, 시뮬레이션은 각 임상 정보에 대하여 최대 11 차원 무작위 샘플링을 사용하여 100 회 반복되었다. 차원은 모델의 모든 계수가 정상적으로 출력된 때까지 적용되었다. 따라서, 값이 결정될 수 있는 차원의 수는 상이한 임상 정보 중에서 다양하였다 (도 18a 내지 18f 및 19a 내지 19f *참조*). 무작위 샘플링 후, 0.05 이하의 ANOVA 테스트의 p 값을 가진 테스트의 수는 각 검정에 대하여 채점되었다. 일단 최적의 차원이 결정되었다면, 임상 정보는 miR-485-3p의 정량 값으로 알고리즘을 구축하는데 사용되었다. 임상 정보는 어떤 순서로도 겹치지 않는 사례의 수에 적용되었다.

[0353] 얼마나 각 임상 정보가 정확도의 변화에 영향을 미치는지를 평가하기 위해, 하기 식은 "정확도 보정률"을 계산

하는데 사용되었다: 정확도 보정률 (%) = [(ACC1/ACC2) - 1] x 100, 식중 "ACC1"은 특정 임상 정보가 들어있는 알고리즘의 정확도를 지칭하고, "ACC2"는 특정 임상 정보가 없는 알고리즘의 정확도를 지칭한다.

[0354] *교차 검증 및 전산 무작위 샘플링*

[0355] 본원에 개시된 알고리즘을 검증 및/또는 수정하기 위해, K-배수 교차 검증 방법이 사용되었다. 41명 대상체가 있는 환자 그룹에서, 그룹은 10명의 환자가 있는 3개의 그룹 그리고 11명의 환자가 있는 1개의 그룹으로 나뉘었다. 36명 대상체 (60세 초과)가 있는 환자 그룹에서, 그룹은 9명의 환자가 있는 4개의 그룹으로 나누어졌다. 모델은 3개의 그룹을 병합함으로써 만들어졌고 나머지 1개의 그룹으로 검증되었다. 동일한 공정은 검정 세트를 교체하면서 4 회 수행되었다. 무작위 샘플링은 모든 샘플에서 무작위로 20개의 비-중첩 샘플을 100 회 반복함으로써 수행되었다.

[0356] *회색 구역의 계산*

[0357] 첫 번째 컷오프 값은 정량 또는 점수 값의 최대값과 최소값 사이의 값을 500 값으로 나눗셈함으로써 시뮬레이션된 결과 값으로서 도출되었다. 시뮬레이션 결과의 가장 정확한 컷오프 값은 첫 번째 컷오프 값이었다. 그 다음, 모든 샘플에 걸쳐서 표준 편차의 평균은 계산되었고 절반으로 나누어졌다. 회색 구역은 앞서 계산된 표준편차 평균의 절반에 첫 번째 컷오프 값을 더하기 그리고 빼기함으로써 결정되었다. 회색 구역의 상한 = 샘플의 정량 또는 점수에 대하여 첫 번째 컷오프 값 + SD의 평균의 절반. 회색 구역의 하한 = 샘플의 정량 또는 점수에 대하여 첫 번째 컷오프 값 - SD의 평균의 절반.

[0358] *통계적 테스트*

[0359] 모든 통계적 분석은 R (버전 3.5.2)을 통해 이루어졌다. 2개의 그룹 사이 통계적 유의성 테스트는 언페어드 t-테스트로 수행되었다. ROC (수신기 작동 특징) 분석은 AUC (곡선하 면적) 값, 민감도 및 특이성을 측정하는데 사용되었다. ROC 분석은 R 패키지의 일종인 "ROCR" 및 "pROC"를 사용하여 수행되었다. 회귀 모델링은 R의 "lm" 명령을 사용하여 분석되었다.

[0360] **실시예 2: 표적 마이크로RNA의 선택**

[0361] 본원에 개시된 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병) 진단하기에서 사용될 수 있는 특정 miRNA를 식별하기 위해, 상이한 miRNA의 발현은 알츠하이머병 (AD)으로 진단된 환자 및 정상 대조군 대상체 (*즉*, 정상 인지)로부터 혈장 샘플에서 qPCR을 사용하여 결정되었다. 도 12a에 도시된 대로, 대조군 대상체로부터 혈장 샘플에서 상응하는 발현과 비교하여 AD 환자로부터 혈장 샘플에서 miR-485-3p의 발현이 통계적으로 유의하게 증가되었다. 테스트된 miRNA 중, 다른 miRNA는 발현에서 그렇게 유의미한 차이를 나타내지 않았다.

[0362] 상기 기재된 결과를 확인하기 위해, 양쪽 혈장 샘플 및 구강 임상 면봉 샘플은 추가의 환자들로부터 수집되었다. 다시, 도 12b 및 12c에서 도시된 대로, miR-485-3p 발현은 대조군 대상체 (*즉*, 아밀로이드 PET 음성)과 비교하여 AD 환자 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성)로부터 혈장 샘플에서 유의미하게 더 높았다. miR-385-3p 발현에서의 차이는 구강 임상 면봉 샘플로부터 제조된, 인간 구강-유래 무세포 엑소좀에서 훨씬 더 극적이었다.

[0363] 상기 결과는 특정 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병)가 있는 환자에서 증가된 miR-485-3p 발현을 입증하여, miR-485-3p가 적합한 바이오마커 후보임을 시사한다.

[0364] **실시예 3: 임상 정보에서 잠재적 편향의 분석**

[0365] 환자의 임상 정보가 환자에서의 아밀로이드-β 축적에 대한 임의의 잠재적 편향을 제시할 수 있는지 여부를 사정하기 위해, 하기 임상 정보는 모아졌고 적절한 경우 값이 할당되었다: (i) 진단 시 연령, (ii) 성별 (남성 = 1; 여성 = 2), (iii) 교육 연도 (0 내지 16), (iv) APOE 유전자형 (E2/E3 = 1; E3/E3 = 1; E2/E4 = 2; E3/E4 = 2; 및 E4/E4 = 4), (v) 미니 정신 상태 검사 (MMSE) 점수; (vi) 인지 장애 (*즉*, 정상 인지 ("NC"); 경도 인지 장애 ("MCI"); 및 알츠하이머병 ("AD")), 및 (vii) 임상 치매 등급 (CDR) 점수. 그 다음, 임상 정보의 각각은 아밀로이드-β 축적을 갖는 것으로 확인된 환자 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성) 그리고 아밀로이드-β 축적을 갖지 않는 것으로 확인된 환자 (*즉*, 아밀로이드 PET 음성)에서 사정되었다.

[0366] 표 7 (하기)에 나타난 대로, 정상 인지 (NC)를 갖는 것으로 진단된 또는 CDR 값이 0인 환자 그룹 중에서, 아밀로이드 PET 음성 대상체와 비교하여 아밀로이드 PET 양성 대상체가 유의미하게 더 적었다. 아밀로이드 PET 양성 및 음성 대상체 사이 다른 임상 정보에 대하여 통계적으로 유의미한 차이는 없었다.

표 7. 임상 정보에 대한 통계적 결과

임상 정보	값	아밀로이드 PET 음성의 수	아밀로이드 PET 양성의 수	*p* 값	홀수비	95% 신뢰 구간
인지 장애에 의한 진단	NC	15	3	0.005	0.17	0.03-0.61
인지 장애에 의한 진단	MCI	3	9	0.239	2.25	0.56-11.95
인지 장애에 의한 진단	AD	0	11	-	-	-
CDR 값	0	12	2	0.007	0.14	0.02-0.62
CDR 값	0.5	6	17	0.158	2.17	0.72-7.18
CDR 값	1	0	4	-	-	-
성별	남성	3	14	0.058	3.47	0.93-17.65
성별	여성	15	9	0.148	0.48	0.16-1.34
진단시 연령	51-60	2	3	0.868	1.15	0.16-10.73
진단시 연령	61-70	5	8	0.730	1.24	0.34-4.85
진단시 연령	71-80	8	9	0.826	0.88	0.28-2.84
진단시 연령	81-90	3	3	0.779	0.79	0.12-5.07
교육 연도	0	2	1	0.445	0.42	0.01-5.61
교육 연도	1-6	9	8	0.530	0.70	0.22-2.23
교육 연도	7-9	3	3	0.779	0.79	0.12-5.07
교육 연도	10-12	1	6	0.139	4.14	0.60-114.33
교육 연도	13-18	3	5	0.738	1.28	0.26-7.37
MMSE 점수	15-19	0	5	-	-	-
MMSE 점수	20-25	6	9	0.794	1.16	0.35-4.14
MMSE 점수	26-30	12	9	0.323	0.59	0.20-1.73
APOE 유전자형	E2/E2	0	0	-	-	-
APOE 유전자형	E2/E3	5	0	-	-	-
APOE 유전자형	E3/E3	9	11	0.935	0.96	0.32-2.89
APOE 유전자형	E2/E4	1	1	0.865	0.79	0.02-32.14
APOE 유전자형	E3/E4	3	7	0.423	1.76	0.41-9.66
APOE 유전자형	E4/E4	0	4	-	-	-

[0367]

[0368] 상기 결과는 임상 정보 단독의 사용이 인지 장애, 예컨대 아밀로이드-β 축적과 연관된 것들 (*예를 들면*, 알츠하이머병)의 효과적 예측자가 아님을 시사한다.

[0369] **실시예 4: 인간 임상 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현의 실시간 PCR 분석**

[0370] 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병)에 대한 진단 마커로서 miR-485-3p 발현의 사용 사정하기를 시작하기 위해, 실시간 PCR 검정은 아밀로이드-β 축적이 있거나 없는 환자로부터 인간 임상 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현을 비교하는데 사용되었다. 본원에 기재된 경우에, 아밀로이드-β 축적은 많은 인지 장애와 연관된다. 임상 면봉 샘플에 존재하는 miR-485-3p를 증폭하기 위해, 하기 프라이머는 사용되었다: 5'-GTCATACACGGCTCTCCTCTCTAA-3' (본원에서 "miR-485-3p_FW7"로 지칭됨; 서열번호: 100). 상기 나타난 대로, 실시간 PCR을 위하여 제조된 RNA는 엑소좀성 RNA이었다.

[0371] 도 1a는 임상 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현의 나이브 주기 임계 (Ct) 값을 제공한다. 나이브 Ct 값은 발현 값과 반비례한다 (즉, 더 높은 발현은 더 낮은 나이브 Ct를 초래한다). 나타낸 대로, miR-485-3p 발현은 아밀로이드-β 음성 면봉 샘플과 (즉, 아밀로이드-β 축적이 없는 환자로부터) 비교하여 아밀로이드-β 양성 면봉 샘플에서 (즉, 아밀로이드-β 축적이 있는 환자로부터) 통계적으로 더 높았다. 2개 그룹으로부터 면봉 샘플에서 miR-485-3p 발현에서의 차이의 AUC, 정확도, 민감도 및 특이성은 하기와 같았다: (i) 0.80, (ii) 0.78, (iii)

0.75, 및 (iv) 0.81, 각각 (도 1b *참조*).

[0372] 상기 결과는 miR-485-3p 발현이 아밀로이드-β 축적이 있거나 없는 환자로부터 임상 면봉 샘플을 구별하는데 사용될 수 있음을 시사한다.

[0373] **실시예 5: 임상 정보 단독 또는 miR-485-3p 발현과 조합하여 고려하기의 진단 능력 비교**

[0374] 몇몇 연구는 환자 임상 정보만을 사용한 AD 진단 또는 아밀로이드 베타의 존재 또는 부재를 예측하는 모델을 창출하였다. 이 전체가 참조로 본원에 포함되는, Kim 등, *J Alzheimer's Dis* 66:681-691 (2018) *참조*. 이러한 모델을 본원에 기재된 방법 (*즉*, 하나 이상의 임상 정보를 miR-485-3p 발현 수준과 조합하기)과 비교하기 위해, 3가지 상이한 통계적 방법이 사용되었다: (i) 임상 정보만 (CFO), (ii) 마이크로RNA의 (*즉*, miR-485-3p) Ct 값, 및 (iii) 마이크로RNA (*즉*, miR-485-3p) 정량. 방법들의 각각의 경우, 모든 사례에서 임상 정보의 조합의 알고리즘은 생성되었다. CFO 방법에서, 알고리즘은 마이크로RNA 정보 없는 환자의 임상 정보만을 사용하여 생성되었다. Ct 값 및 정량 방법의 경우, Ct 값 및 마이크로RNA의 정량의 조합은 CFO 방법, 각각에 추가되었다. 그 다음, 생성된 알고리즘의 AUC는 비교되었고 순위화되었다.

[0375] 도 3a에 도시된 대로, 1,956개의 가능한 알고리즘 중 단지 58개의 알고리즘이 임상 정보의 조합만이 고려된 때 1위를 차지하였다. 대량의 알고리즘이 3위를 차지하였다. 반대로, 정량 통계적 방법을 사용하여, 60개를 제외한 모든 알고리즘 (1,896개 알고리즘)이 1위를 차지하였다. Ct 값을 사용한 방법에 관하여, 1100개를 제외한 모든 알고리즘 (1,856개 알고리즘)이 2위를 차지하였다. 이외에도, 전반적 AUC 값이 고려된 때, Ct 값 또는 정량 값과 임상 정보의 조합을 포함하는 방법이 임상 정보만 사용한 방법과 비교하여 유의미하게 더욱 양호하였다. 여기에 나타난 결과는 임상 정보 단독을 사용하여 당업계에 실재하는 것들과 비교하여 본 개시내용에서 개시된 진단 방법의 우수성을 입증한다.

[0376] **실시예 6: 인간 임상 면봉 샘플에서 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기에 관한 연령의 효과의 분석**

[0377] 상이한 임상 정보가 본원에 개시된 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병)를 진단하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기의 능력에 관해 갖는 효과를 더 잘 사정하기 위해, 인간 구강-유래 무세포 엑소좀 (HOCFE)에서 환자의 연령과 miR-485-3p 발현 사이의 관계는 사정되었다.

[0378] 도 14a에 도시된 대로, HOCFE에서 miR-485-3p의 발현은 환자의 연령이 증가함에 따라 감소하였다. 이 역관계는, HOCFE 샘플이 아밀로이드 PET 음성 및 양성 환자로 나누어진 경우조차, 통계적으로 유의미하게 유지되었다. 게다가, 역관계는 아밀로이드 PET 양성 환자들 중에서 더 가파르게 진행하였다. 그러나 아밀로이드 PET 음성 환자들 중에서, miR-485-3p 발현은 연령에 따라 더 큰 통계적 유의성을 보였다.

[0379] 다음으로, 상기 결과에 기초하여, 상이한 연령 그룹의 환자들에서 아밀로이드-β 축적을 예측하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기의 능력은 사정되었다. 환자들은 하기 그룹으로 나누어졌다: (i) 60세 이하 ("~60"); (ii) 61 내지 70세 ("61 내지 70"); (iii) 71 내지 80세 ("71 내지 80"); 및 (iv) 81세 이상 ("81~"). 도 16b에 도시된 대로, 모든 연령 그룹에서, 확인된 아밀로이드-β 축적이 있는 환자 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성)와 아밀로이드-β 축적을 갖지 않는 것으로 확인된 환자 (*즉*, 아밀로이드 PET 음성) 사이 miR-485-3p 발현에서 통계적으로 유의미한 차이가 있었다. 흥미롭게도, 61세 미만 그룹 내에서, 아밀로이드 PET 양성 환자와 비교하여 아밀로이드 PET 음성 환자 중에서 miR-485-3p의 발현이 증가되었다. 그 관계는 모든 다른 연령 그룹에서 역전되었다 (*즉*, 아밀로이드 PET 양성 대상체에서 더 큰 miR-485-3p 발현). 어느 하나의 이론에 얽매이지 않고, 이 현상은 특정 연령 초과의 아밀로이드 베타 축적이 있는 환자들에서 miR-485-3p의 발현이 급격히 증가했기 때문일 수 있다. 상기 현상은 60세 초과의 환자들에서 발생하기 시작하는 것으로 나타났고 연령이 증가함에 따라 감소하였다. 반대로, 아밀로이드 베타 축적이 없는 환자 (즉, 아밀로이드 PET 음성)에서, miR-485-3p 발현은 60세 이상부터 급격히 감소하였고, 연령에 따라 감소된 수준을 유지하였다. 연령에 따라 miR-485-3p 발현의 불균형은 아밀로이드-β 축적 예측의 정확도에 영향을 미쳤고 그들의 60대 환자들에서 가장 높은 통계적 유의성을 가졌다 (도 16b *참조*). 표 8 (아래)은 결정하는데 사용된 연령 그룹들의 각각에 대하여 특이성 및 민감도 값을 제공한다

표 8. 다양한 알고리즘에 대한 식

연령 범위	특이성	민감도
50 대	0.9167	0.6471
60 대	0.8462	1.0000
70 대	0.9744	0.6486
80 대	0.8750	1.0000

[0380]

[0381] 아밀로이드-β 축적을 진단하기 위한 miR-485-3p 발현의 사용이 특정 연령 그룹 내에서 가장 정확한지 여부를 사정하기 위해, 연령에 대한 기준은 특정 연령 그룹 초과 또는 미만으로 설정되었다. 도 17a 및 17b에 도시된 대로, 가장 높은 정확도 및 AUC는 73세 이하의 연령 그룹에서 관찰되었다. 65세 이하의 연령 그룹 내에서, miR-485-3p의 발현은 아밀로이드 베타 축적이 있거나 없는 그룹들 사이 역전되었고, 정확도가 낮았다. 상기 경향은 연령 기준이 더 높은 별도 독립 실험에서 확인되었고, 이는 높은 정확도 및 AUC가 71세 초과 환자들에서 일관되게 유지되었음을 보였고, 72세 초과 환자 그룹에서 급격히 감소하는 패턴을 보였다. 79 초과의 그룹에서, 샘플의 수가 10개 이하로 감소하였고, 정확도가 크게 변동되었다 (도 17c *참조*). 2가지 기준 (특정 연령 초과 또는 미만)에 대한 포괄적 테스트 결과는 특정 연령 초과 기준의 결과가 특정 연령 미만보다 AUC 및 정확도에서 더 높다는 것을 보였다 (도 17b 및 도 17d *참조*).

[0382] 특정 연령 그룹 내에서 miR-485-3p 발현의 진단 정확도를 추가 입증으로서, 환자는 연령 (낮음에서 높음)에 근거하여 구분되었고, 그 다음 10명의 환자는 AUC 및 정확도를 측정하기 위해 슬라이딩 윈도우로 선정되었다 (도 14c *참조*). 그러한 분석을 위한 슬라이드 윈도우의 사용 방법은 당업계에서 알려진다 (*예를 들면*, 이 전체가 참조로 본원에 포함되는 coleoguy.blogspot.com/2014/04/sliding-window-analysis.html *참조*). 그러한 접근방식은 상이한 연령 그룹에 대한 샘플 크기에서 비롯하는 임의의 변동을 줄였다. 도 14c에 도시된 대로, 73세이었던 환자들과 비교하여 61세 이하 환자들 중에서 정확도 및 AUC가 더 컸다. 61 내지 73세 그룹 내에서, 아밀로이드-β 축적을 예측하는 miR-485-3p 발현의 정확도는 100%에 가까웠다.

[0383] **실시예 7: 인간 임상 면봉 샘플에서 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기에 관한 다른 임상 정보의 효과의 분석**

[0384] 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기의 진단 능력을 개선하기 위해, 하기 임상 정보는 임상 면봉 샘플과 연관된 환자들로부터 모아졌고 값이 할당되었다: (i) 연령, (ii) 성별 (남성 = 1; 여성 = 2), (iii) 교육 연도 (0 내지 16), (iv) APOE 유전자형 (E2/E3 = 1; E3/E3 = 1; E2/E4 = 2; E3/E4 = 2; 및 E4/E4 = 4), 및 (v) 미니 정신 상태 검사 (MMSE) 점수 (상기 표 3 *참조*). 그 다음, miR-485-3p 발현 (*즉*, 나이브 주기 Ct 값) 및 상기 임상 정보 중 하나 이상의 다양한 조합은 창출되었고, 조합들의 각각의 진단 정확도는 결정되었다.

[0385] 도 4는 상이한 가능한 조합에 대하여 진단 정확도를 제공한다. 도시된 대로, 가장 높은 정확도는 임상 면봉 샘플에서의 miR-485-3p 발현이 테스트된 모든 추가의 임상 정보 (*즉*, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수)와 조합하여 사정된 때 관찰되었다. 인자들의 모두가 조합된 때, 정확도는 89.20%로, miR-485-3p 발현 단독이 사용된 경우보다 11.11% 더 높았다 (도 3a 및 3b를 도 1a 및 1b와 비교).

[0386] 아밀로이드-β 축적 검출하기에서 테스트된 모든 임상 정보의 조합 사용하기의 능력을 추가로 사정하기 위해, 하기 식은 상이한 임상 면봉 샘플에 대한 점수를 확립하는데 사용되었다: (나이브 CT x (연령 x $V1_{연령}$ + $V2_{연령}$)) x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$) x (APOE x $V1_{APOE}$ + $V2_{APOE}$) x (MMSE x $V1_{MMSE}$ + $V2_{MMSE}$) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$), 식 중 V1 및 V2는 특정 추가의 임상 정보와 연관된 회귀 계수 값이다. 도 3a에 도시된 대로, 아밀로이드-β 축적이 없는 환자 (좌)로부터 그리고 아밀로이드-β 축적이 있는 환자 (우)로부터 임상 면봉 샘플의 점수에서 통계적 차이가 있었다.

[0387] 상기 결과가 테스트된 임상 정보의 모두 사용하기의 중요성을 시사하지만, 추가의 비용은 환자의 APOE 유전자형 및 MMSE 점수를 결정하는데 필요하다. 그러므로, 인지 장애 진단하기의 비용이 적게 드는 수단을 제공하기 위해, 양쪽 APOE 유전자형 및 MMSE 점수를 배제하는 상이한 조합의 진단 정확도는 비교되었다. 도 4에 도시된

대로, miR-485-3p 발현, 성별, 및 교육 연도의 조합은 APOE 유전자형 및 MMSE 점수를 배제한 조합 중에서 정확도가 가장 높았다. 이 조합의 정확도는 82.95%로, 추가의 임상 정보가 고려되지 않은 경우보다 5.11% 더 높았다 (도 2a 및 2b를 도 1a 및 1b와 비교).

[0388] 이 특정 조합 (*즉*, miR-485-3p 발현, 성별, 및 교육 수준)의 진단 능력을 사정하기 위해, 하기 식은 상이한 임상 면봉 샘플에 대한 점수를 확립하는데 사용되었다: (나이브 Ct x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$)) x (교육 연도 x $V1_{EDU}$ + $V2_{EDU}$), 식중 V1 및 V2는 특정 추가의 임상 정보와 연관된 회귀 계수 값이다. 도 2a에 도시된 대로, 아밀로이드 PET 양성 면봉 샘플에 대한 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 있는 환자로부터) 점수는 아밀로이드-β 축적이 없는 환자로부터의 임상 면봉 샘플과 비교하여 유의미하게 더 낮았다.

[0389] 상기 결과는 추가의 임상 정보 (*예를 들면*, 성별 및 교육 수준)의 조합이 아밀로이드-β 축적이 있거나 없는 환자로부터 임상 면봉 샘플을 구별하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기의 능력을 개선시킬 수 있음을 집합적으로 입증한다.

[0390] **실시예 8: miR-485-3p 발현 및 임상 정보 조합하기의 진단 능력의 부가 분석**

[0391] 상기 실시예 7에 제공된 결과에 더하여, 추가의 알고리즘 또는 식들은 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병) 진단하기에서 하나 이상의 임상 정보와 miR-485-3p 발현 조합하기의 능력을 확인하기 위해 구축되었다. 특히, 첫 번째 알고리즘은 연령, 성별 및 교육을 miR-485-3p 발현과 조합하였다 (본원에 "프리-DX"로 지칭됨; 표 9 *참조*). 두 번째 알고리즘은 연령, 성별, 교육, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수를 miR-485-3p 발현과 조합하였다 (본원에 "프로-DX1"로 지칭됨; 표 9 *참조*). 세 번째 알고리즘은 연령, 성별, 교육, APOE 유전자형, MMSE 점수, 및 임상 치매 등급 (CDR) 점수를 miR-485-3p 발현과 조합하였다 (본원에 "프로-DX2"로 지칭됨; 표 9 *참조*).

표 9. 다양한 알고리즘에 대한 식

알고리즘 유형	계산식
정량	점수 = (miR-485-3p 의 정량 + 0.007) x 10^4
프리-DX	점수 = ((miR-485-3p 의 정량 x (3.5e-02 x 교육 연도 ^{5} + 5.2e-02 x 교육 연도 ^{4} -2e-02 x 교육 연도 ^{3} + 2.8e-03 x 교육 연도 ^{2} - 1.6e-04 x 교육 연도 + 3.1e-06) x (-0.0027 x 성별 + 0.008)) + 7e-0.7) x 10^8
프로-DX1	점수 = ((miR-485-3p 의 정량 x (3.5e-02 x 교육 연도 ^{5} + 5.2e-02 x 교육 연도 ^{4} -2e-02 x 교육 연도 ^{3} + 2.8e-03 x 교육 연도 ^{2} - 1.6e-04 x 교육 연도 + 3.1e-06) x (0.001 x 수치상 APOE 유전자형 + 0.002) x (-4e-07 x MMSE + 2.1e-05) x (-3.27 x 수치상 성별 + 1.77e-10)) + 8e-17) x 10^{18}
프로-DX2	점수 = ((miR-485-3p 의 정량 x (0.034 x CDR + 0.06) x (0.0015 x 수치상 APOE 유전자형 + 0.0016) x (-7e-07 x MMSE + 3.48e-05) x (1.85e-11 x 교육 연도 + 1.51e-10) x (-7.6e-20 x 수치상 성별 + 2.2e-19)) + 7e-31) x 10^{33}
정량 (연령 > 60)	점수 = (miR-485-3p 의 정량 + 0.007) x 10^4
프리-DX (연령 > 60)	점수 = ((miR-485-3p 의 정량 x (-0.0188 x 수치상 성별 + 0.08)) + 0.001) x 10^4
프로-DX1 (연령 > 60)	점수 = ((miR-485-3p 의 정량 x (-0.0188 x 수치상 성별 + 0.08) x (-6.45e-05 x MMSE + 0.004) x (1.345e-06 x 수치상 APOE 유전자형 + 5.86e-06)) + 4e-6) x 10^{13}
프로-DX2 (연령 > 60)	점수 = ((miR-485-3p 의 정량 x (0.033 x CDR + 0.055) x (-7.65e-05 x MMSE + 0.005) x (-2.87e-06 x 수치상 성별 + 1.456e-05) x (2.77e-5 x APOE + 6e-11)) + 9e-23) x 10^{24}

[0392]

[0393] 상기 알고리즘을 구축하기 전에, 분석은 각 임상 정보에 대한 miR-485-3p의 정량적 값에 회귀 모델링 방법을 적용하는 때 적합한 차원 수준을 식별하기 위해 수행되었다. miR-485-3p의 정량적 값 및 회귀 모델링은 각 임상 정보에 대하여 최대 11 차원 수행되었고, 재현성은 각 차원에 대하여 100 회 무작위 샘플링으로 확인되었다. 100개의 무작위 샘플링 실험에서, p값이 유의미하였던 실험 (시뮬레이션)의 채점되었고, AUC는 각 실험에 대하여 측정되었고, 오류율은 AUC의 편차 값을 AUC의 평균 값으로 나눗셈함으로써 계산되었다. 하기 특성을 가진 차원이 선택되었다: (i) 통계적으로 유의미한 실험 결과 (즉, p-값 < 0.05인 총 100개의 시뮬레이션 중 시뮬레이션의 수), (ii) 상대적으로 높은 AUC, 및 (iii) 상대적으로 낮은 오류율 (도 18a 내지 18f 및 19a 내지 19f *참조*).

[0394] 차원 값이 선택되었다면, 상이한 임상 정보는 상기 알고리즘에 적용되었고, 그 다음, 정확도는 상이한 조합에 대하여 결정되었다. 도 20b, 20c, 및 20d에 도시된 대로, 특정한 임상 정보가 주어진 알고리즘에 대하여 동일하지만, 임상 정보가 적용된 차원은 효과를 갖는다. 프리-DX 알고리즘의 경우, 가장 높은 정확도는 성별 단독이 miR-485-3p 발현과 조합된 때 관찰되었다 (도 20b *참조*). 프로-DX1 알고리즘의 경우, 가장 높은 정확도는 (인용된 차원에서) 성별, MMSE 점수, 및 APOE 유전자형이 miR-485-3p 발현과 조합하여 알고리즘에 적용된 때 관찰되었다 (도 20c *참조*). 프로-DX2 알고리즘의 경우, 가장 높은 정확도는 (인용된 차원에서) CDR 점수, MMSE 점수, 성별, 및 APOE 유전자형이 miR-485-3p 발현과 조합하여 알고리즘에 적용된 때 관찰되었다 (도 20d *참조*). 상기 알고리즘의 각각에 대하여 전반적 AUC 값을 고려하여, 대부분의 임상 정보 유형을 적용한 프로-DX2 알고리즘은

가장 높은 평균 AUC 값을 기록하였다 (도 20a *참조*). 유사하게, 가장 높은 정확도 (0.9740)를 가진 알고리즘은 프로-DX2 알고리즘을 사용하여 또한 측정되었다 (도 20d *참조*). 유사한 결과는 61세 미만에서만 (도 21a 내지 21c *참조*) 또는 60세 초과에서만 (도 22a 내지 22f *참조*) 환자들로부터 샘플을 사용하여 관찰되었다.

[0395] 상기 이외에도, 정확도에 관한 개별 임상 정보의 효과는 상기 알고리즘에 대하여 사정되었다. 이를 위해, 정확도 보정률은 실시예 1에 기재된 대로 결정되었다. 도 22c 및 22f에 도시된 대로, CDR 점수는 높은 정확도와 연관되었다. 흥미롭게도, 연령은 정확도를 향상시키지 않았으며, 실제로, 정확도를 낮추는 것으로 나타났다. 어느 하나의 이론에 얽매이지 않고, 앞서 설명한 대로, 그러한 결과는 아밀로이드-PET 양성 환자 그룹 내에서 miR-485-3p 발현의 급격한 상승 및 하락으로 인한 것일 수 있었다.

[0396] **실시예 9: 인지 장애 진단하기 위하여 임상 정보와 miR-485-3p 발현의 조합하기**

[0397] 가장 높은 정확도로 알고리즘을 검증하고 식별하기 위해, K-배수 교차 검증 방법이 사용되었다. *예를 들면*, 이 전체가 참조로 본원에 포함되는 Jung *등*, *J Nonparametr Stat* 27(2):167-179 (2015) *참조*. 간략히, 환자 샘플은 4개의 그룹으로 동등하게 나누어졌다. 그룹 중 3개는 시험 세트로서 사용되었고, 한편 그룹 중 1개는 검증 세트로서 사용되었다. 그 다음, 양쪽 식별 및 검증은 각 그룹별로 총 4회 동안 수행되었다. 검증 후, 높은 AUC 값 (최대 0.86)은 앞서 설명된 3개 알고리즘 (*즉*, 프리-DX, 프로-DX1 및 프로-DX2)의 모두에 대하여 달성되었다. 가장 높은 AUC 값을 가진 K번째 모델은 각 알고리즘에 대한 최종 모델로서 선택되었다 (도 23a 및 23b *참조*). 각 알고리즘의 계산식은 표 9 (상기)에서 나타난다. 상이한 알고리즘에 대한 결과는 도 24a 내지 24d에 제공된다.

[0398] 상기 결과는 상이한 임상 정보 및 miR-485-3p 발현의 조합이 특정 인지 장애 (*예를 들면*, 알츠하이머병)에 대한 진단 도구로서 유용할 수 있음을 시사한다.

[0399] **실시예 10: 인간 혈장 샘플에서 miR-485-3p 발현의 실시간 PCR 분석**

[0400] 다음으로, 인간 혈장 샘플에서 아밀로이드-β 축적을 검출하기 위한 miR-485-3p 발현 사용하기의 능력은 사정되었다. miR-485-3p 발현은, *예를 들면*, 실시예 2에서 앞서 기재된 대로 실시간 PCR을 사용하여 측정되었다.

[0401] 도 5a에 도시된 대로, 임상 면봉 샘플과 달리, 아밀로이드 PET 음성 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 없는 환자로부터)과 아밀로이드 PET 양성 (*즉*, 아밀로이드-β 축적이 있는 환자로부터) 혈장 샘플 사이 나이브 주기 임계 (Ct) 값에서 유의미한 차이가 없었다. 임상 면봉 샘플과 비교하여, AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성 값은 모두 유의미하게 더 낮았다 (도 5b 및 도 1b 비교).

[0402] 하지만, 인간 혈장 샘플에서 miR-485-3p 발현이 환자의 성별 정보와 단독으로 조합된 때, 아밀로이드-β 축적이 있고 없는 환자들로부터 혈장 샘플들 사이 눈에 띄는 차이가 있었다. 가령, 하기 식을 사용하여, 점수는 다양한 혈장 샘플에 대하여 확립되었다: (나이브 CT x (성별 x $V1_{성별}$ + $V2_{성별}$)), 식중 V1 및 V2는 추가의 임상 정보와 연관된 회귀 계수 값이다. 도 6a에 도시된 대로, 통계적 차이는 아밀로이드 PET 음성 및 아밀로이드 PET 양성 혈장 샘플들 사이 관찰되었다. 유사하게, AUC, 정확도, 민감도, 및 특이성에 대한 값은 miR-485-3p 발현 단독이 혈장 샘플로부터 사용된 때 상응하는 값과 비교하여 모두 유의미하게 더 높았다 (도 6b 및 도 5b 비교). miR-485-3p 발현은 검정으로부터 정규화되었고 도 6c에서 비교되었다. 성별 맞춤 점수는 또한 도 6d에 도시된 대로 계산되고 플롯팅된다. 더 높은 miR-485-3p 발현을 의미하는 Y축에서 더 낮은 숫자를 나타내는 도 6a 및 도 6b와 달리, 도 6c 및 6d는 더 높은 miR-485-3p 발현이 Y축에서 더 높은 숫자를 가짐을 도시하도록 플롯팅된다. 도 7은 혈장 샘플에서의 miR-485-3p 발현 그리고 실시예 2에서 앞서 설명된 하나 이상의 추가의 임상 정보 (*즉*, 연령, 성별, 교육 연도, APOE 유전자형, 및 MMSE 점수)의 다양한 조합에 대하여 진단 정확도를 제공한다 (또한 상기 표 3A 및 3B *참조*). 도시된 대로, 인간 혈장 샘플을 사용한 때, miR-485-3p 발현 및 성별 단독의 조합은 가장 높은 정확도 (*즉*, 85.71%)를 초래하였다.

[0403] 상기 결과는 인간 혈장 샘플에서 miR-485-3p 발현이 다른 임상 정보 (*예를 들면*, 환자의 성별)와 조합된 때 아밀로이드-β 축적에 대한 진단 마커로서 또한 사용될 수 있음을 시사한다.

[0404] **실시예 11: 아밀로이드-β 축적과 miR-485-3p 발현의 관계의 분석**

[0405] 아밀로이드-β 축적과 miR-485-3p 발현 사이 관계를 추가로 사정하기 위해, 인간-유래 구강 상피 세포는 다양한 농도 (*즉*, 0, 0.1, 0.5 또는 1 μM) 어느 한쪽 아밀로이드-β 단량체 또는 올리고머로 처리되었다. 그 다음, miR-485-3p의 발현은 실시간 PCR을 사용하여 양쪽 처리된 세포에서 그리고 처리된 세포의 상청액에서 사정되었다. 처리된 세포에서 miR-485-3p 발현은 2개의 상이한 프라이머를 사용하여 측정되었다: (i) 5'-

GTCATACACGGCTCTCCTCTCT-3' (본원에 "miR-485-3p_FW1"로서 지칭됨; 서열번호: 94); 및 (ii) 5'-CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA-3' (본원에 "miR-485-3p_FW9"로서 지칭됨; 서열번호: 52). 상청액에서 miR-485-3p 발현을 측정하기 위해, miR-485-3p_FW9 프라이머는 사용되었다.

[0406] 도 8a 및 8b에 도시된 대로, miR-485-3p_FW1 프라이머의 경우, 어느 한쪽 아밀로이드-β 단량체 또는 올리고머로 처리된 세포에서 아밀로이드-β 농도와 miR-485-3p 발현 사이 통계적으로 유의미한 양성 상관관계가 있었다. 하지만, miR-485-3p_FW9의 경우, 통계적으로 유의미한 양성 상관관계는 아밀로이드-β 단량체 처리된 세포에서만 관찰되었다 (도 8c *참조*). 아밀로이드-β 올리고머로 처리된 세포에서, 아밀로이드-β 농도가 증가함에 따라 miR-485-3p 발현이 증가하는 경향이었으나, 상관관계는 통계적으로 유의미하지 않았다 (도 8d *참조*).

[0407] 처리된 세포와 대조적으로, 상청액에서 아밀로이드-β 농도와 miR-485-3p 발현 사이 유의미한 상관관계는 없었다 (단지 양성 경향만). 이것은 양쪽 아밀로이드-β 단량체 및 올리고머에 대하여 사실이었다 (도 9a 및 9b *참조*).

[0408] 상기 결과는 적어도 세포, 예컨대 구강 상피 세포 (*예를 들면*, 면봉 샘플)에서 아밀로이드-β 축적과 miR-485-3p 발현 사이 관계를 추가로 입증하여, miR-485-3p가 특정 인지 장애, 예컨대 아밀로이드-β 축적과 연관된 것들 (*예를 들면*, 알츠하이머병)가 있는 환자를 식별하기 위한 진단 마커로서 사용될 수 있음을 확인한다.

[0409] **실시예 12: miR-485-3p 발현을 사용하여 아밀로이드-β 축적의 진단**

[0410] 상기 제공된 실시예에 더하여 (*예를 들면*, 실시예 10 *참조*), 아밀로이드-β 축적을 진단하기 위한 miR-485-3p 발현의 능력은 추가로 사정되었다. 특히, 본원에 기재된 알고리즘 (*즉*, 정량화, 프리-DX, 프로-DX1, 및 프로-DX2; 상기 표 9 *참조*) 그리고 구강 임상 면봉 샘플로부터 단리된 인간 구강-유래 무세포 엑소좀에서 miR-485-3p 발현 값을 사용하여, 진단 점수는 생성되었다. 그 다음, 본원에 기재된 방법 (*예를 들면*, 실시예 1 *참조*)을 사용하여, 가장 높은 정확도를 갖는 최적 컷오프 값은 결정되었고, 회색 구역은 확립되었다.

[0411] 도 24a 내지 24d에서 도시된 대로, 양쪽 높은 AUC 값 (0.92 이상) 및 높은 정확도 (0.91 이상)는 제공된 상이한 알고리즘을 사용하여 달성되었다. 이전 데이터와 일치하게, 상이한 임상 정보의 수가 증가함에 따라, 더 높은 AUC 값은 관찰되었다. 유사한 결과는 연령이 국한되지 않은 때 별도 독립 실험에서 관찰되었다 (도 25a 내지 25d *참조*). 하지만, 연령이 고려된 때, 상대적으로 높은 AUC 및 정확도는 61세 초과의 환자들 중에서 관찰되었다 (도 24a 내지 24d *참조*). 정량 진단 방법 (표 3A 참조)에서 대략 9%, 프리-DX 방법에서 대략 9%, 프로-DX1 방법에서 대략 11%, 그리고 프로-DX2 방법에서 대략 6%의 정확도에서 증가가 있었다. AUC 값은 또한 60세 초과의 환자 그룹에서 더 높았다. 이외에도, 연령이 61세 이상으로 제한된 때, 민감도는 평균 2% 만큼 증가하였고, 특이성은 평균 15% 만큼 증가하였다 (표 3A *참조*).

[0412] 상기 결과는 본원에 기재된 상이한 임상 정보 및 miR-485-3p 발현 조합하기의 진단 능력을 확인한다.

[0413] **실시예 13: miR-485-3p 발현을 사용하여 인지 장애의 진단**

[0414] 인지 장애를 예측하기 위한 miR-485-3p 발현의 능력을 사정하기 위해, 환자들은 인지 장애의 정도 (*즉*, 정상 인지 (NC); 경도 인지 장애 (MCI), 및 알츠하이머병(AD))에 따른 그들의 알츠하이머병 진단에 기초하여 나누어졌다. 상이한 그룹으로부터 양성 및 음성 아밀로이드 PET 환자들 사이 약간의 편향이 있었지만, 표시된 모든 진단 방법 (*즉*, 하기 알고리즘 중 하나 사용하기: 정량, 프리-DX, 프로-DX1, 프로-DX2; 표 9 *참조*)은 강력한 통계적 유의성을 달성하였다 (도 11a, 11b, 및 26a 내지 26c *참조*). 특히, NC 및 MCI 환자 그룹은 매우 높은 통계적 정확도를 보였다 (도 26a 내지 26c *참조*). NC 환자 그룹은 다른 환자 그룹보다 모든 통계적 값에 걸쳐서 더 높은 결과를 보였다. 이외에도, 61세 미만을 포함한 NC 환자들의 그룹은 상대적으로 낮은 예측력을 보였다. NC 환자 그룹은 61세 미만 대부분의 환자를 포함하였다.

[0415] 상기 결과는 NC 및 MCI 환자 그룹에서 아밀로이드-β 축적의 높은 예측력이 AD 발병으로 전이하는 중인 그룹 내에서 환자를 식별하기 위한 매우 유용한 진단 기준으로서 사용될 수 있음을 입증한다.

[0416] ***

[0417] 개요 및 요약 섹션이 아니라, 상세한 설명 섹션이 청구항을 해석하는데 사용되기 위한 것임이 이해되어야 한다. 개요 및 요약 섹션은 본 발명자(들)에 의해 고려된 대로 본 개시내용의 모든 예시적 양태가 아닌 하나 이상을 설명할 수 있고, 그래서, 본 개시내용 및 첨부된 청구항을 어떤 식으로든 제한하기 위한 것은 아니다.

[0418] 본 개시내용은 특정된 기능 및 이들의 관계의 구현을 예시하는 기능적 구축 블록의 도움으로 상기 기재되었다.

이들 기능적 구축 블록의 경계는 설명의 편의를 위해 본원에 임의적으로 정의되었다. 대안적 경계는 특정된 기능 및 이들의 관계가 적절하게 수행되는 한 정의될 수 있다.

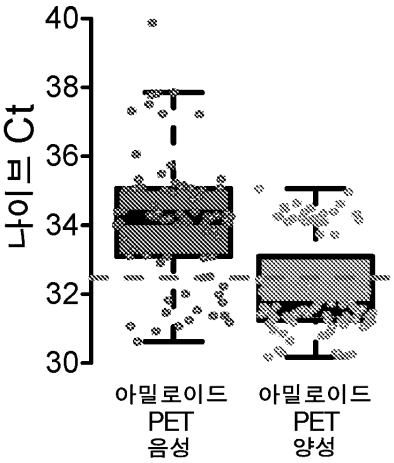
[0419] 특이적 양태의 전술한 설명은 다른 이들이, 과도한 실험작업 없이, 본 개시내용의 일반 개념을 벗어나지 않으면서, 당업계의 기술 내에서 지식을 적용함으로써, 다양한 적용에 대하여 그러한 특이적 양태를 용이하게 수정 및/또는 적응할 수 있는 본 개시내용의 일반 성격을 매우 완전히 드러낼 것이다. 그러므로, 그러한 적응 및 수정은, 본원에 제시된 교시 및 지침에 기반하여, 개시된 양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 있기 위한 것이다. 본원에 술어 또는 전문용어가 제한이 아닌 설명의 목적을 위한 것이어서, 본 명세서의 전문용어 또는 술어가 교시 및 지침에 비추어 숙련된 기술자에 의해 해석되어야 한다는 것이 이해되어야 한다.

[0420] 본 개시내용의 폭 및 범위는 상기-기재된 예시적 양태 중 임의의 것에 의해 제한되지 않아야 하지만, 하기 청구항 및 그들의 등가물에 따라서만 정의되어야 한다.

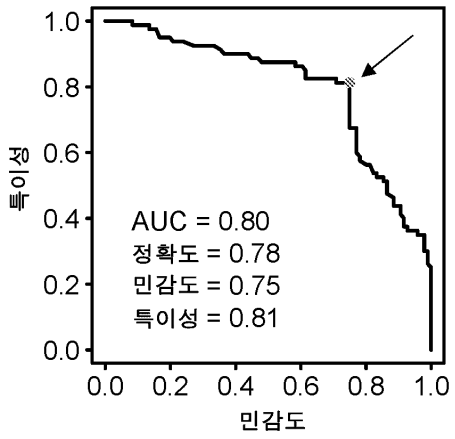
[0421] 본 출원 내내 인용될 수 있는 모든 인용된 참고문헌 (문헌 참조문헌, 특허, 특허 출원, 및 웹사이트 포함)의 내용은, 그안에 인용된 참조문헌이 그러하듯, 임의의 목적을 위하여 그들 전체가 참조로 이로써 명시적으로 포함된다.

도면

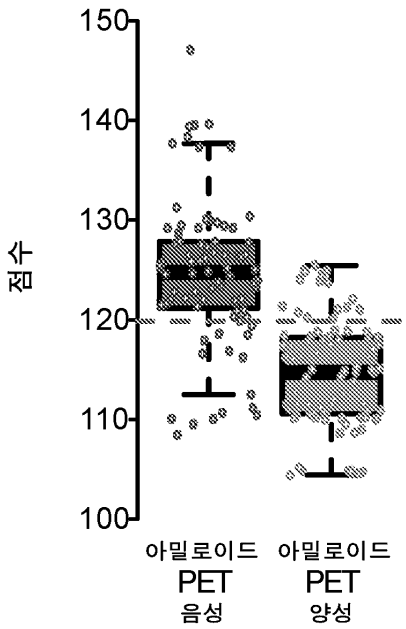
도면1a



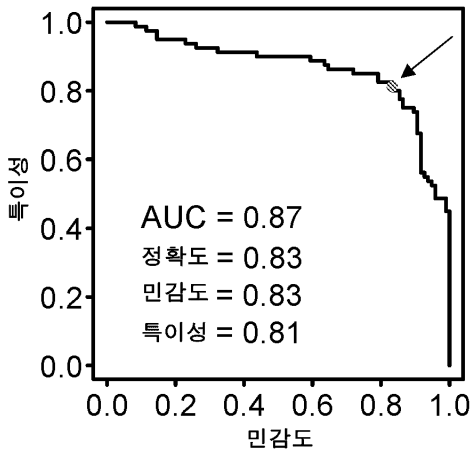
도면1b



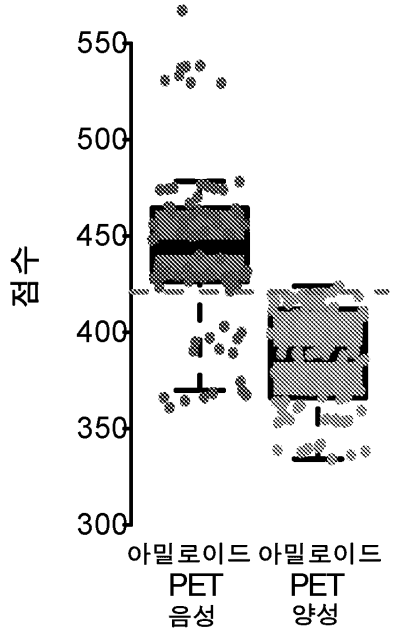
도면2a


150
140
130
120
110
100
점수
아밀로이드 PET 음성
아밀로이드 PET 양성

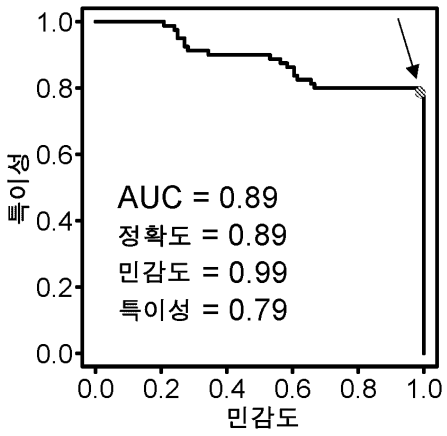
도면2b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.87
정확도 = 0.83
민감도 = 0.83
특이성 = 0.81
0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0
민감도

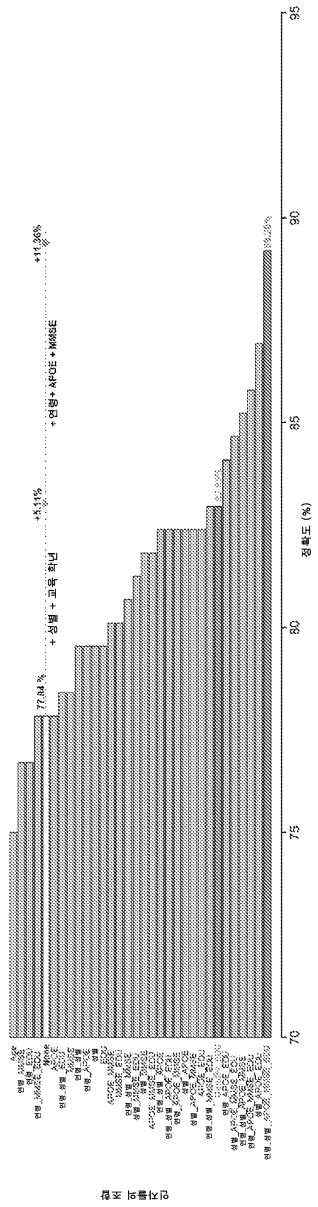
도면3a


550
500
450
400
350
300
점수
아밀로이드 PET 음성
아밀로이드 PET 양성

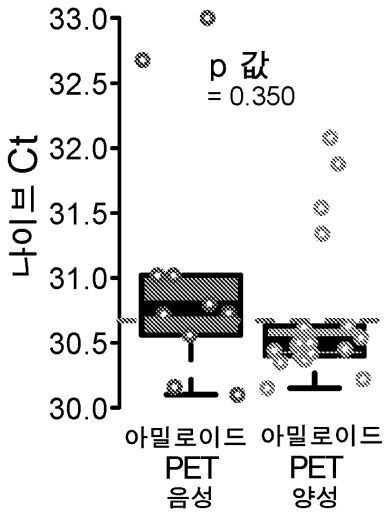
도면3b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.89
정확도 = 0.89
민감도 = 0.99
특이성 = 0.79
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
민감도

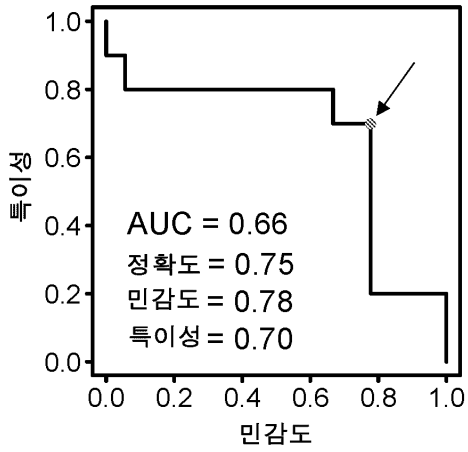
도면4



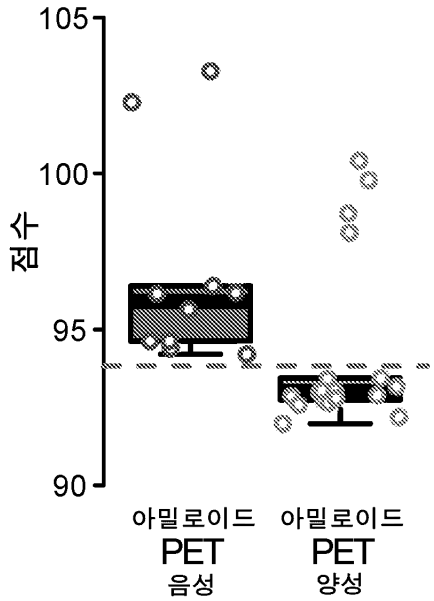
도면5a


33.0
32.5
32.0
31.5
31.0
30.5
30.0
나이브 Ct
p 값
= 0.350
아밀로이드
PET
음성
아밀로이드
PET
양성

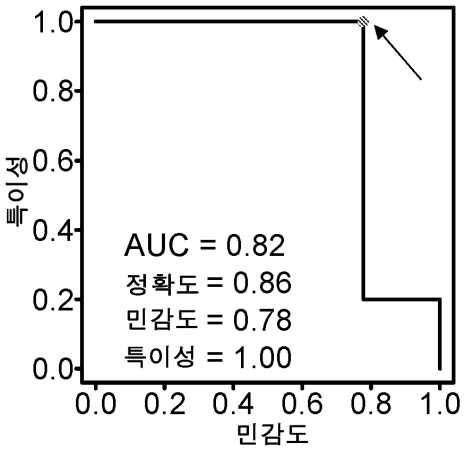
도면5b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.66
정확도 = 0.75
민감도 = 0.78
특이성 = 0.70
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
민감도

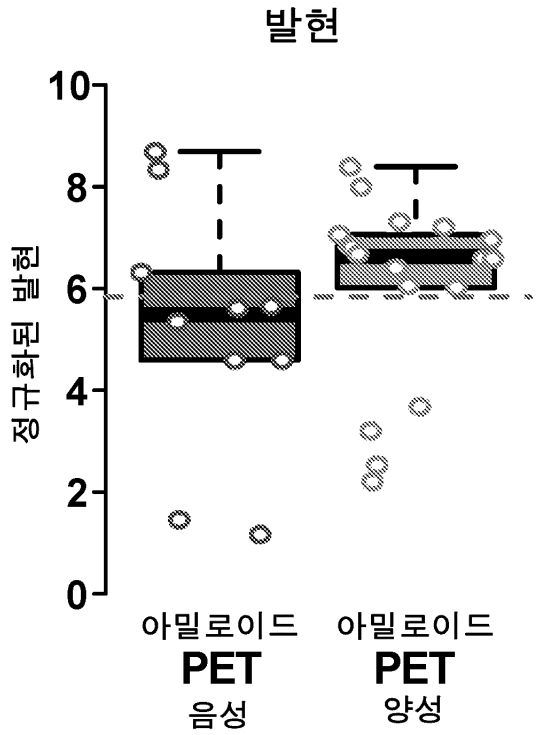
도면6a


105
100
95
90
점수
아밀로이드
PET
음성
아밀로이드
PET
양성

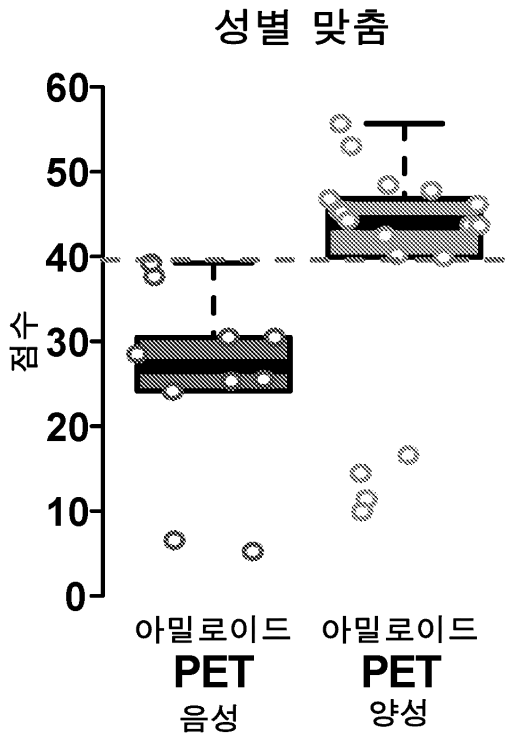
도면6b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.82
정확도 = 0.86
민감도 = 0.78
특이성 = 1.00
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
민감도

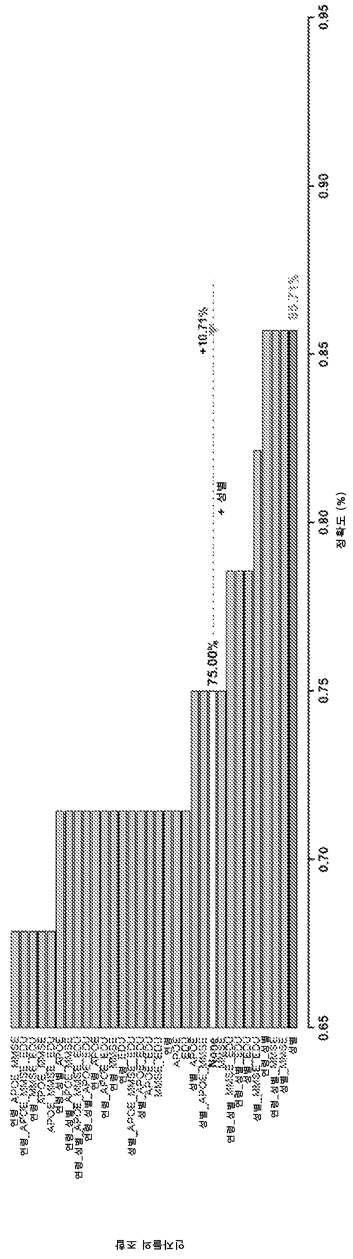
도면6c


발현
정규화된 발현
10
8
6
4
2
0
아밀로이드
PET
음성
아밀로이드
PET
양성

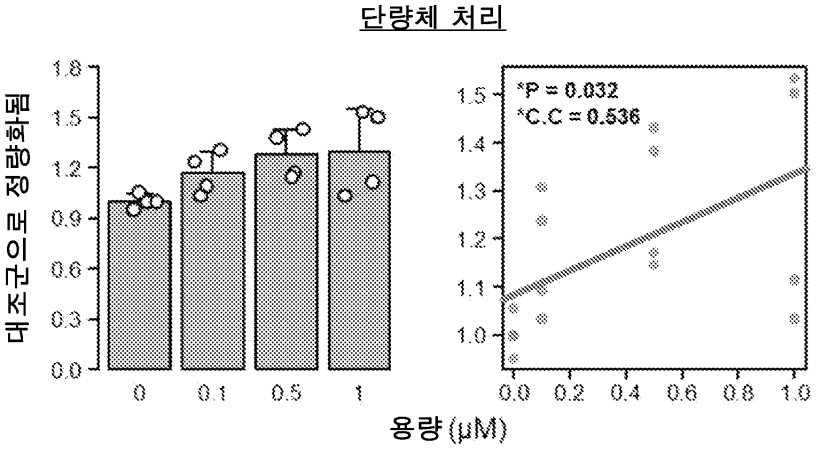
도면6d


성별 맞춤
점수
60
50
40
30
20
10
0
아밀로이드
PET
음성
아밀로이드
PET
양성

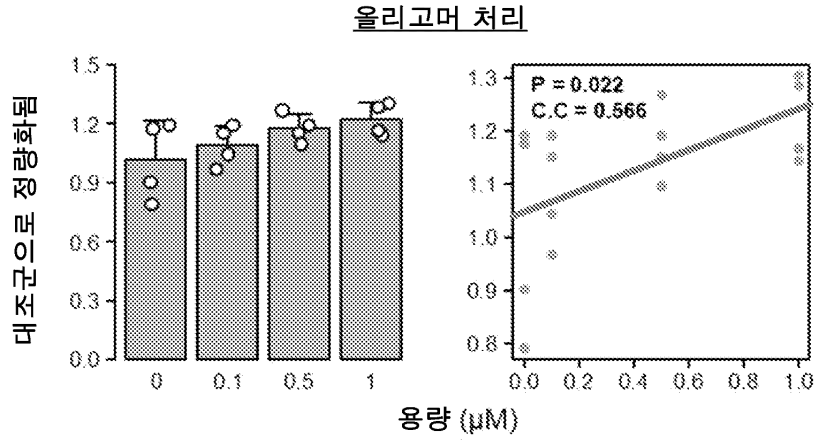
도면7



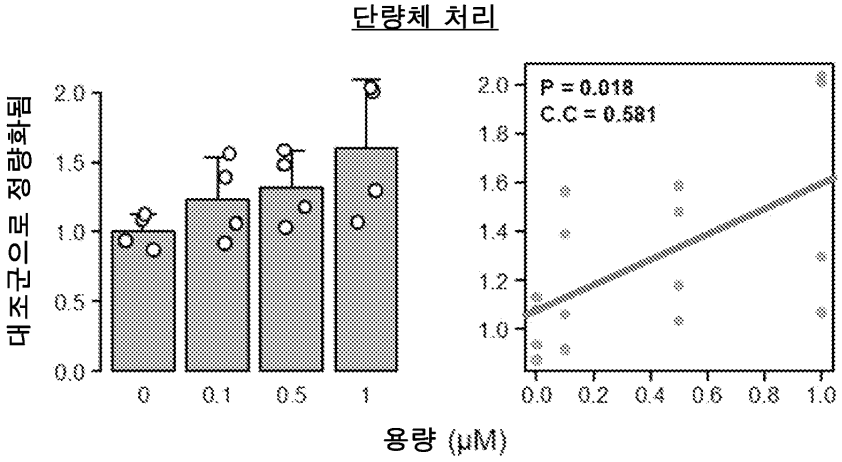
도면8a



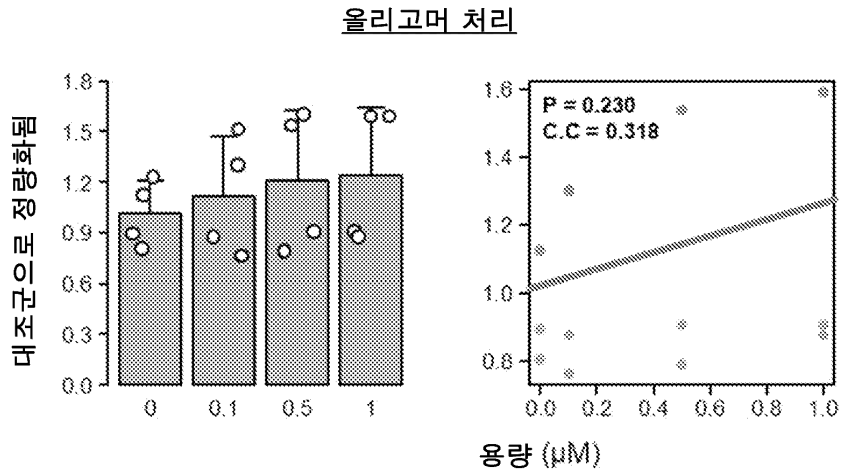
도면8b



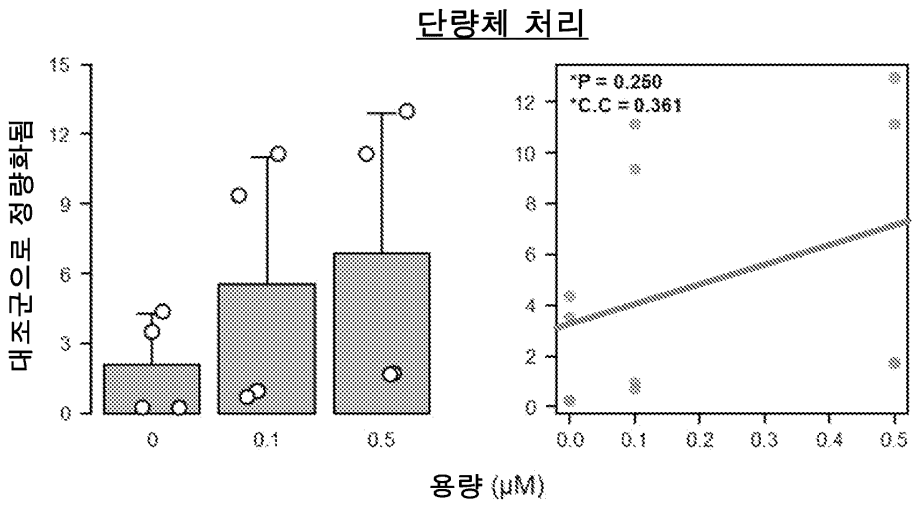
도면8c



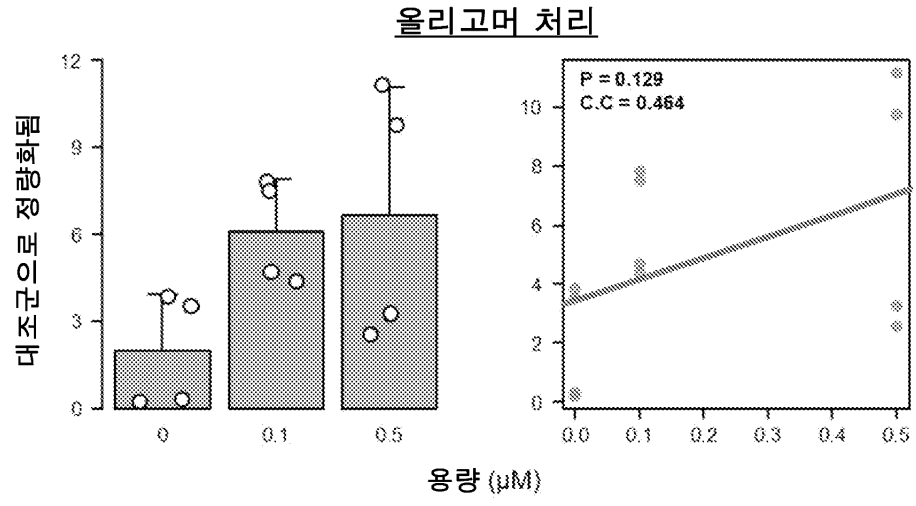
도면8d



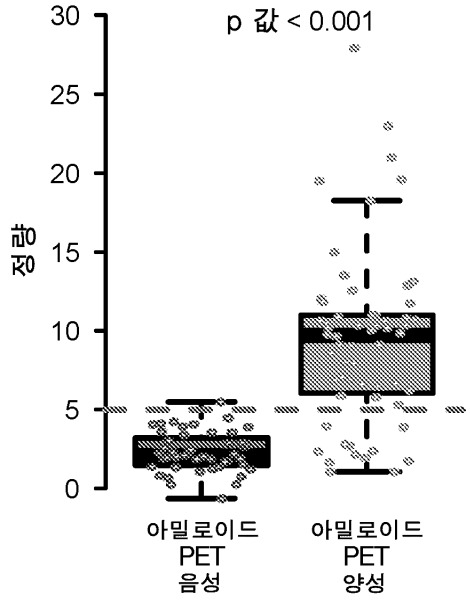
도면9a



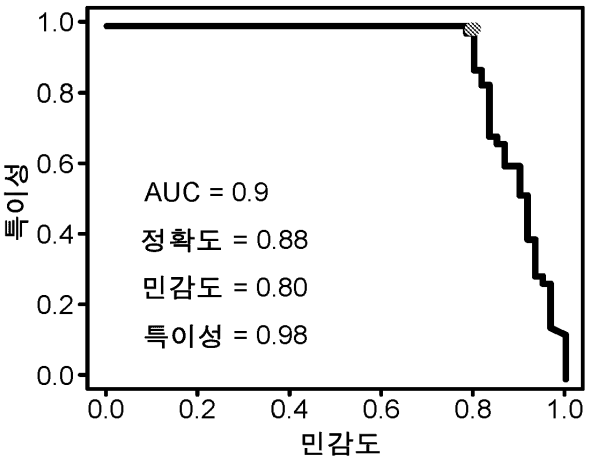
도면9b



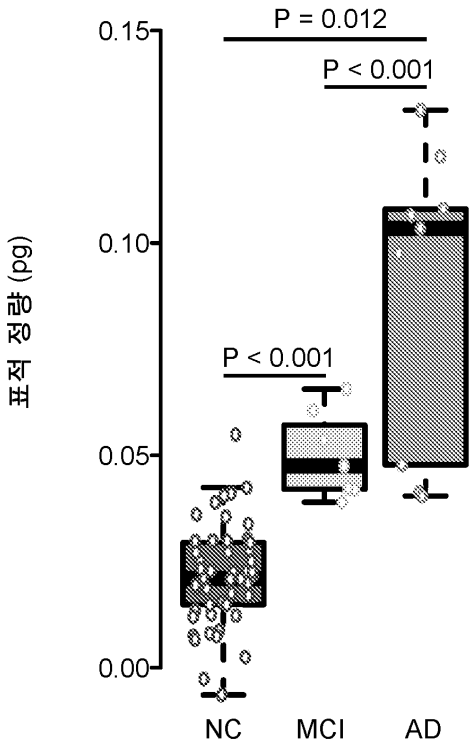
도면10a


p 값 < 0.001
30
25
20
15
10
5
0
정량
아밀로이드 PET 음성
아밀로이드 PET 양성

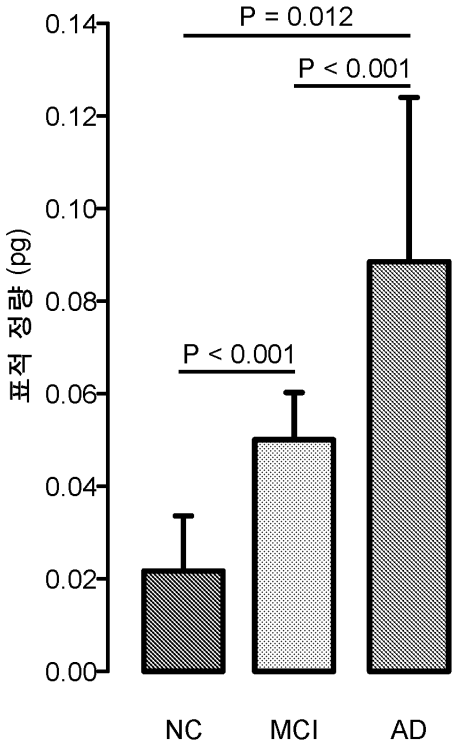
도면10b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.9
정확도 = 0.88
민감도 = 0.80
특이성 = 0.98
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
민감도

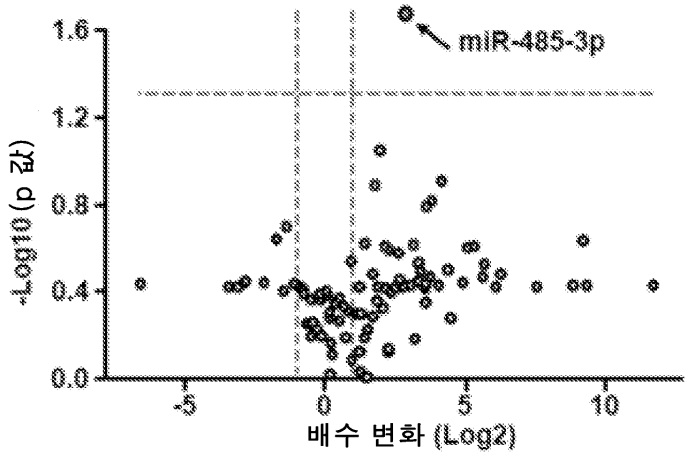
도면11a


P = 0.012
P < 0.001
P < 0.001
0.15
0.10
0.05
0.00
표적 정량 (pg)
NC
MCI
AD

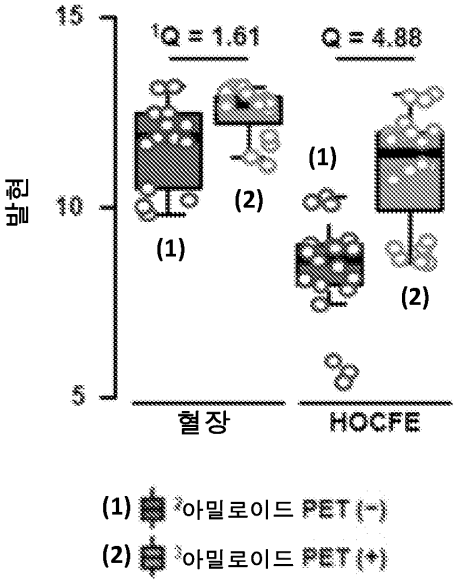
도면11b


P = 0.012
P < 0.001
P < 0.001
0.14
0.12
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
표적 정량 (pg)
NC
MCI
AD

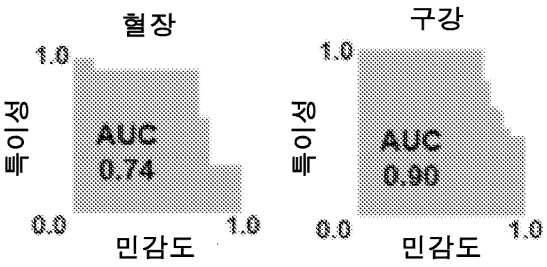
도면12a



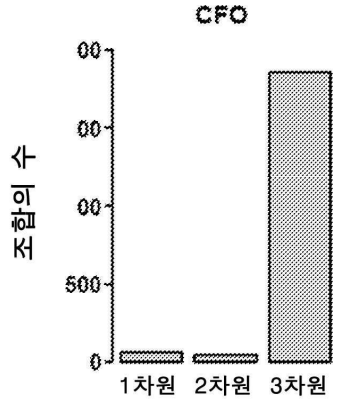
도면12b



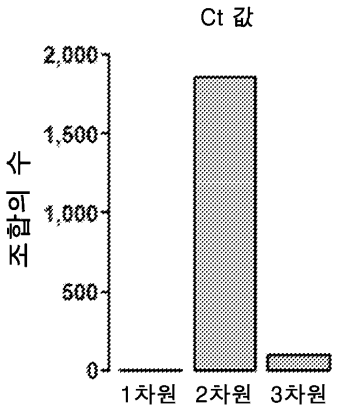
도면12c



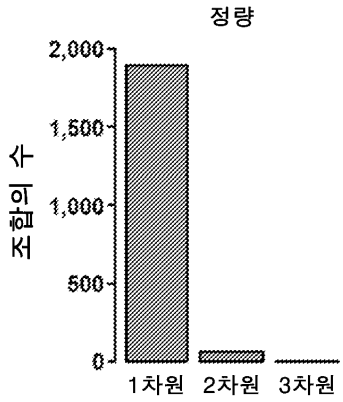
도면13a



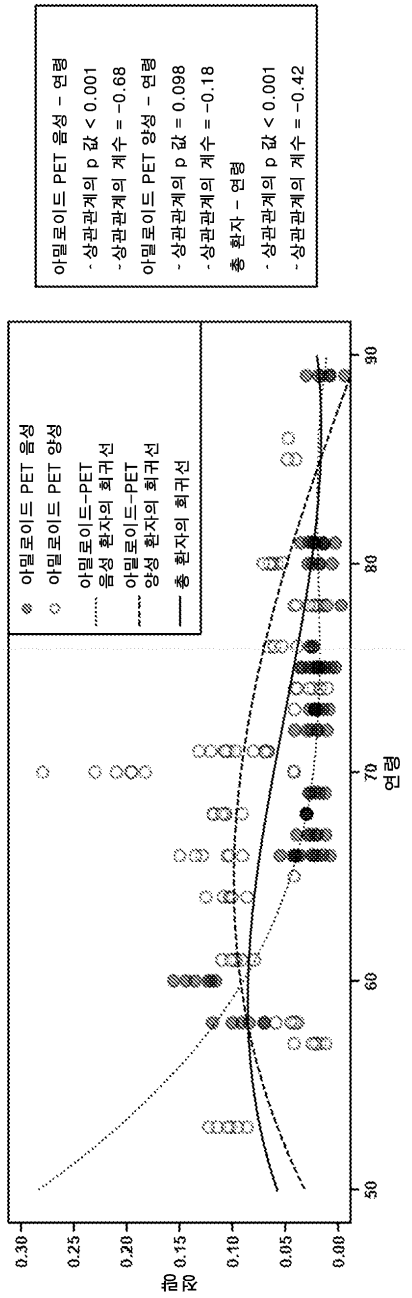
도면13b



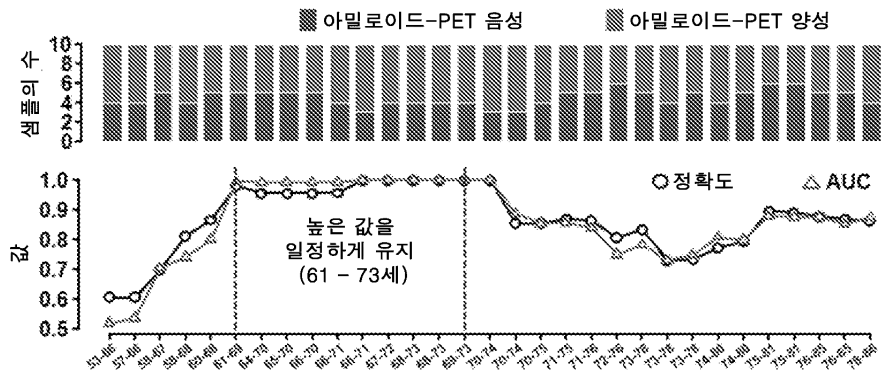
도면13c



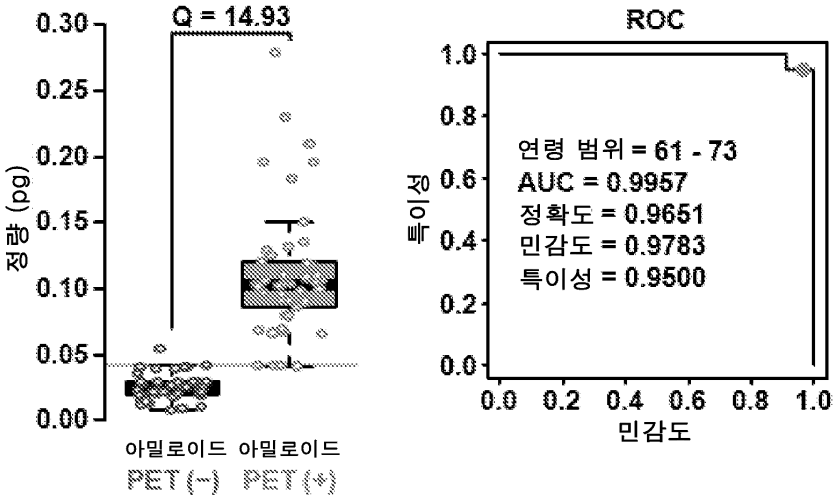
도면14a


아밀로이드 PET 음성 - 연령
- 상관관계의 p 값 < 0.001
- 상관관계의 계수 = -0.68
아밀로이드 PET 양성 - 연령
- 상관관계의 p 값 = 0.098
- 상관관계의 계수 = -0.18
총 환자 - 연령
- 상관관계의 p 값 < 0.001
- 상관관계의 계수 = -0.42
아밀로이드 PET 음성
아밀로이드 PET 양성
아밀로이드-PET 음성 환자의 회귀선
아밀로이드-PET 양성 환자의 회귀선
총 환자의 회귀선
SUVR
연령

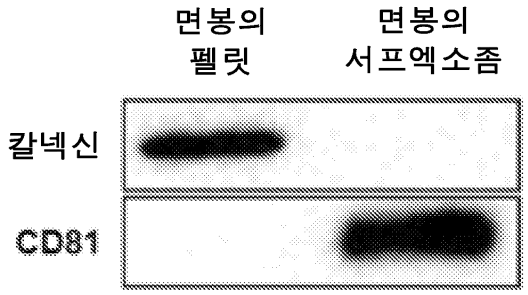
도면14b


아밀로이드-PET 음성
아밀로이드-PET 양성
샘플의 수
값
정확도
AUC
높은 값을
일정하게 유지
(61 – 73세)

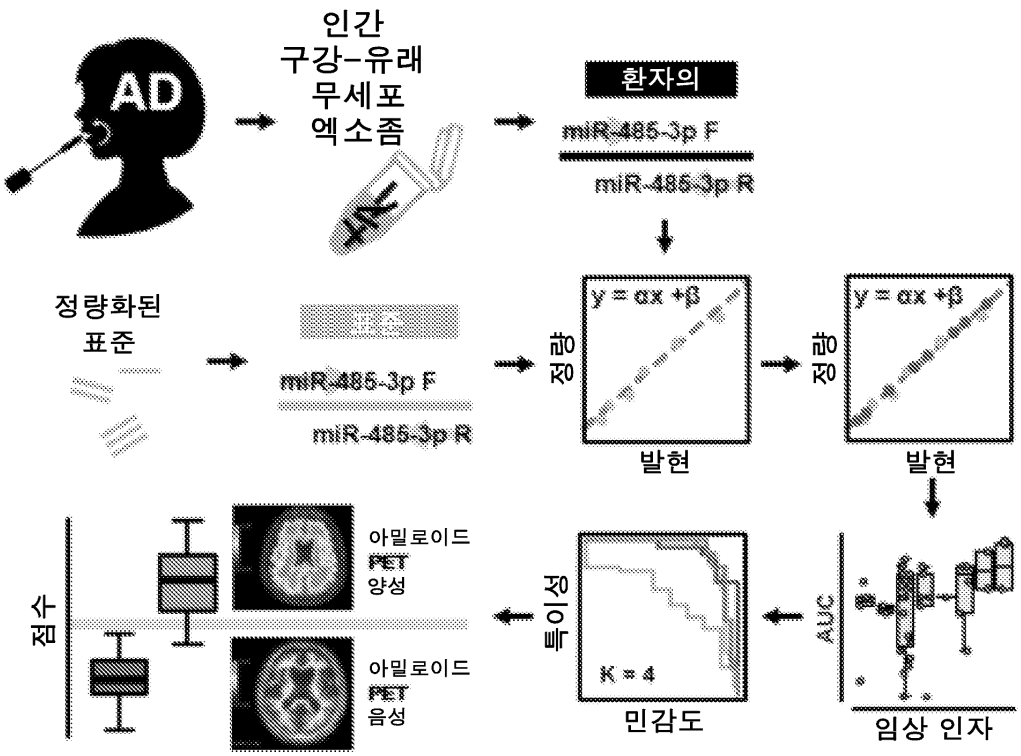
도면14c


Q = 14.93
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
정량 (pg)
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
연령 범위 = 61 - 73
AUC = 0.9957
정확도 = 0.9651
민감도 = 0.9783
특이성 = 0.9500
0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0
민감도

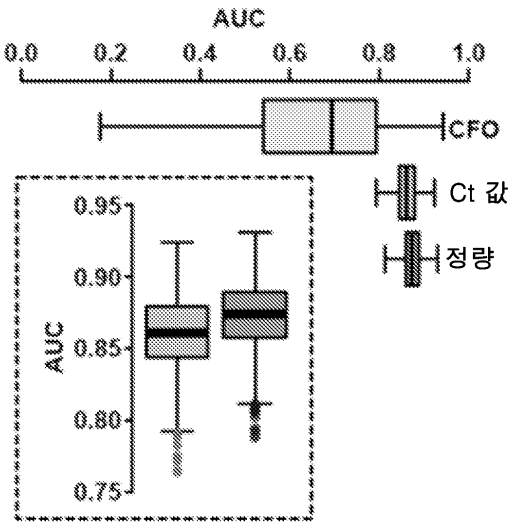
도면15a


면봉의 펠릿
면봉의 서프엑소좀
칼넥신
CD81

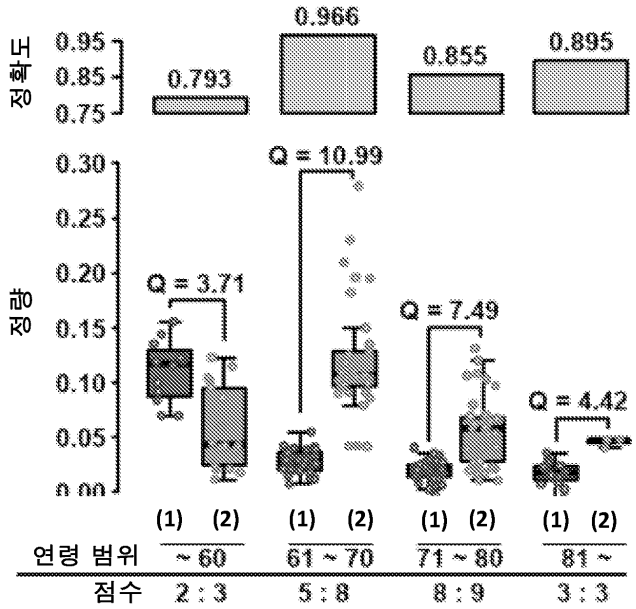
도면15b


AD
인간
구강-유래
무세포
엑소좀
환자의
miR-485-3p F
miR-485-3p R
정량화된
표준
miR-485-3p F
miR-485-3p R
정량
y = αx +β
발현
정량
y = αx +β
발현
아밀로이드
PET
양성
아밀로이드
PET
음성
점수
특이성
K = 4
민감도
AUC
임상 인자

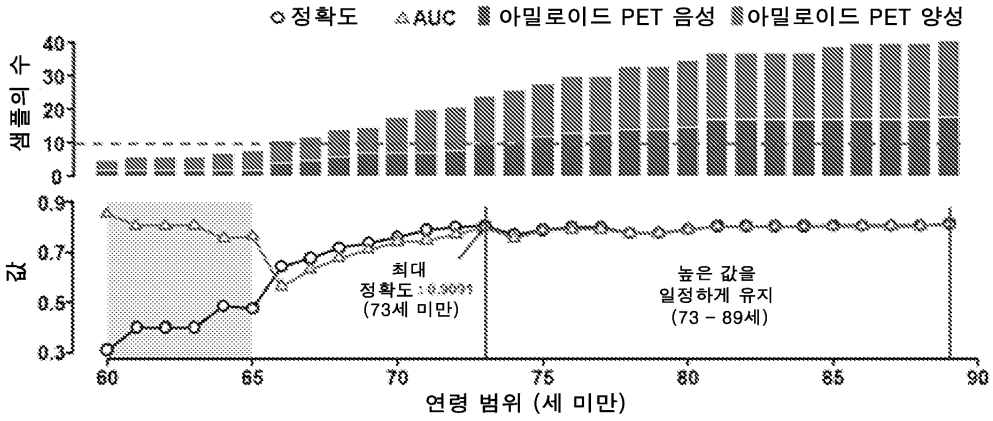
도면16a


AUC
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
CFO
Ct 값
정량
AUC
0.95
0.90
0.85
0.80
0.75

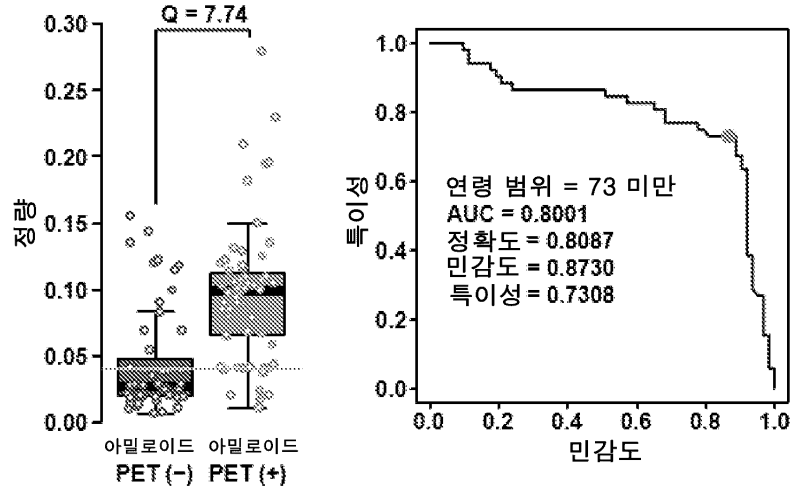
도면16b



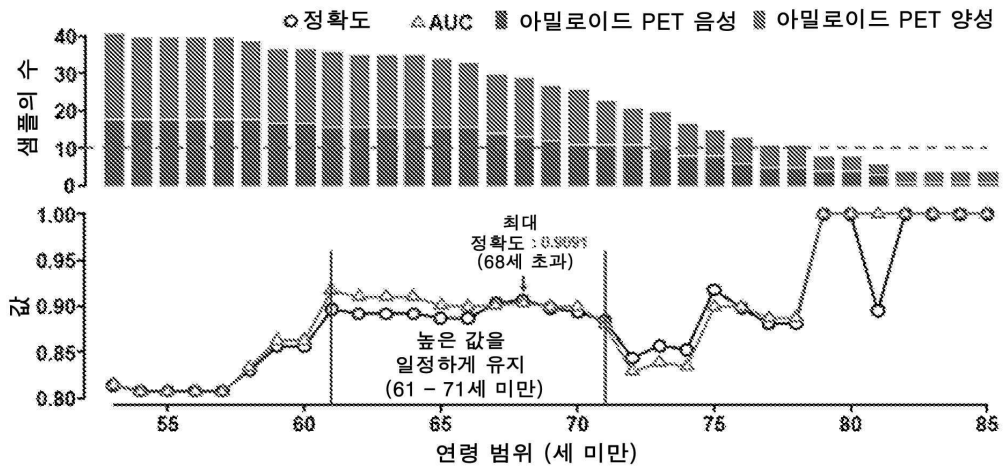
도면17a



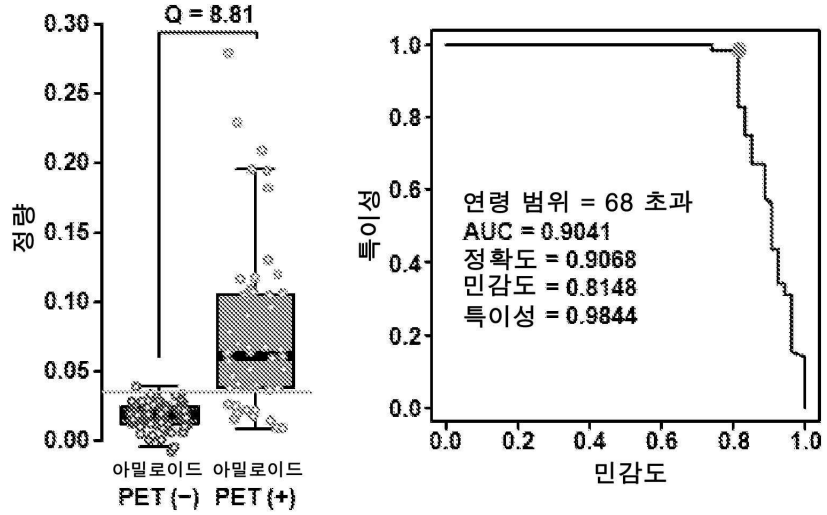
도면17b



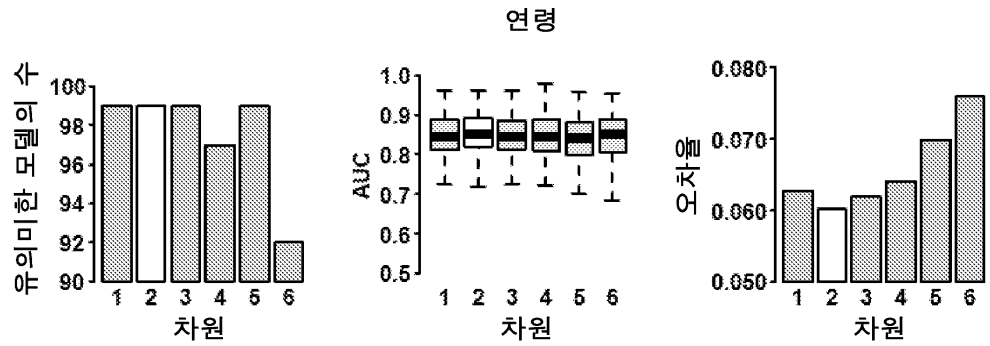
도면17c



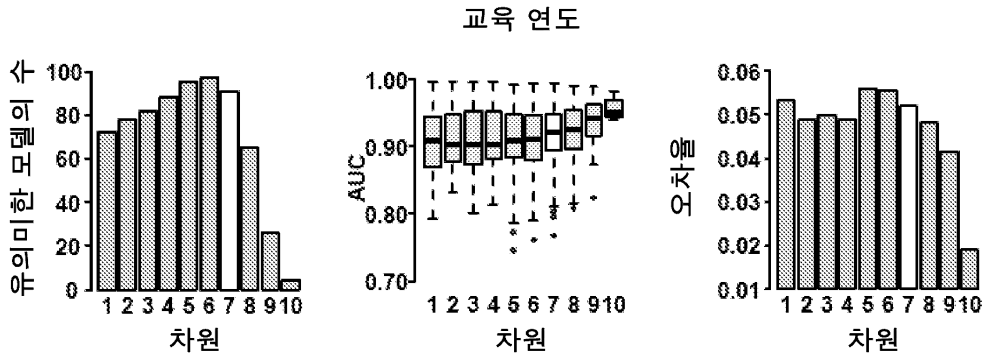
도면17d



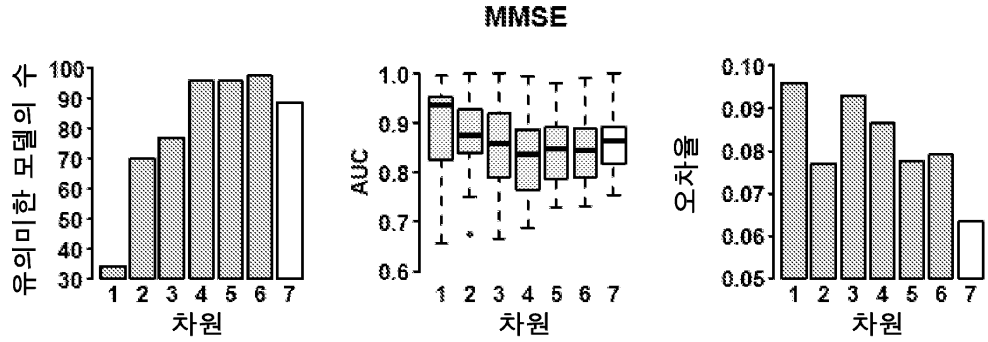
도면18a



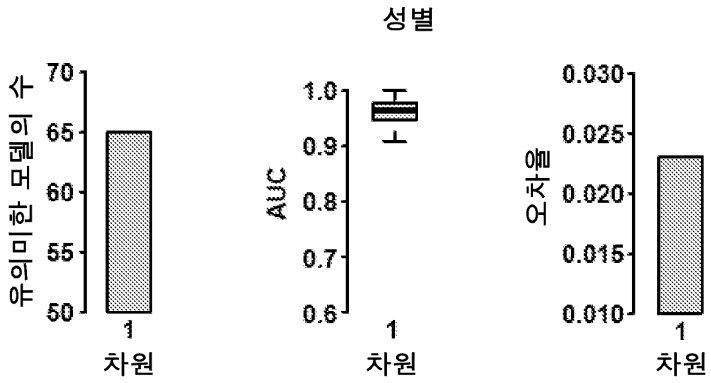
도면18b



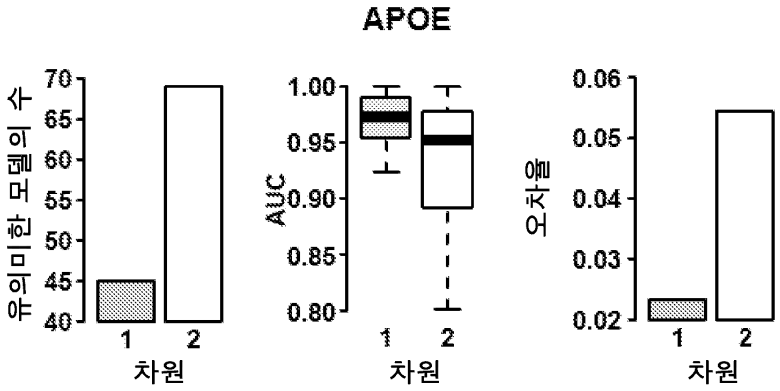
도면18c



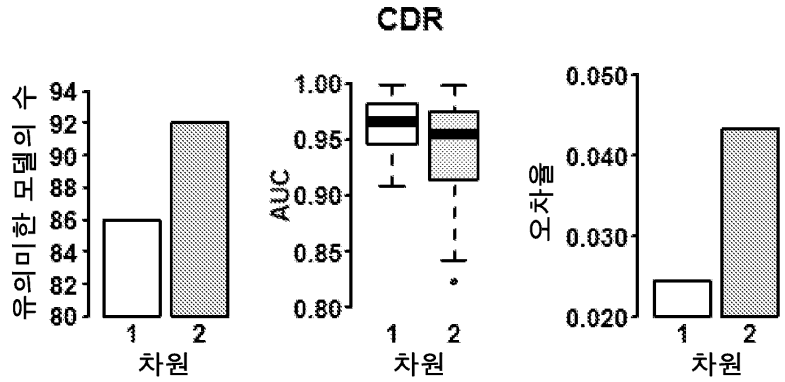
도면18d



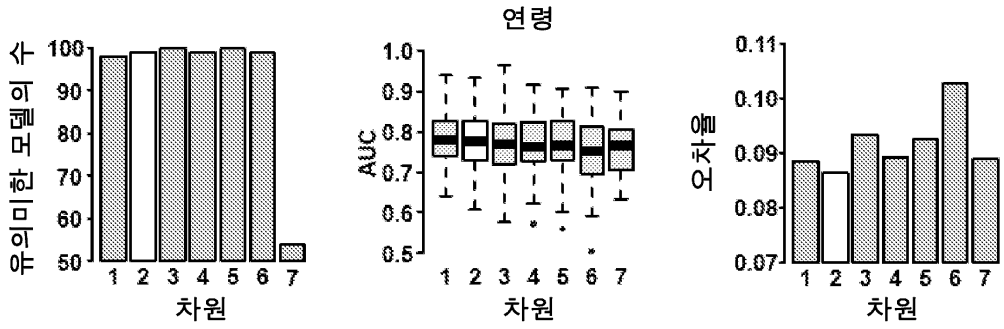
도면18e



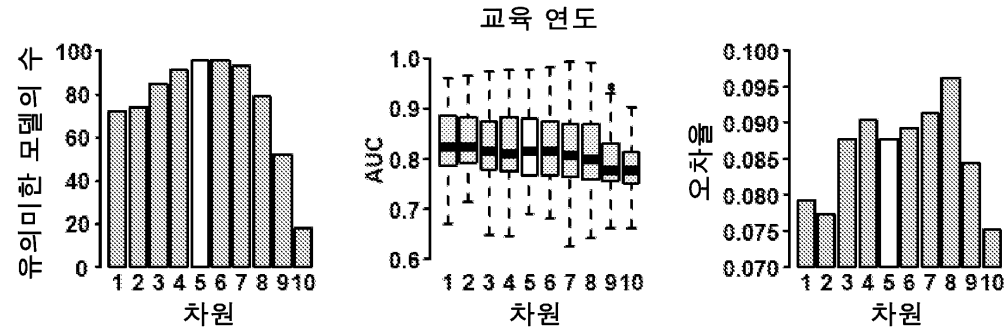
도면18f



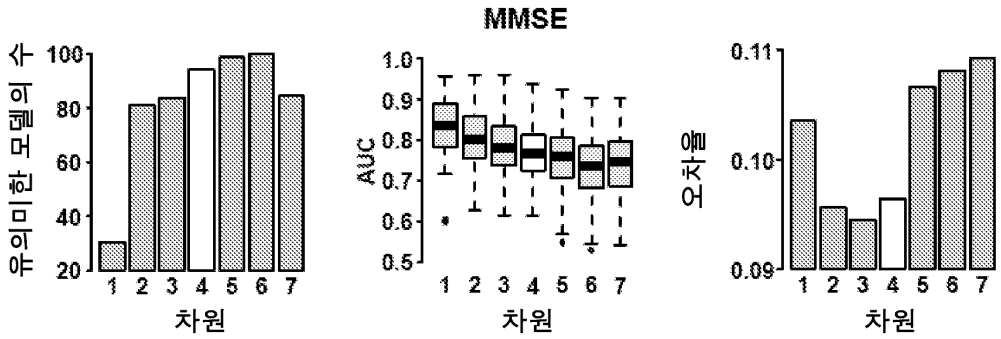
도면19a



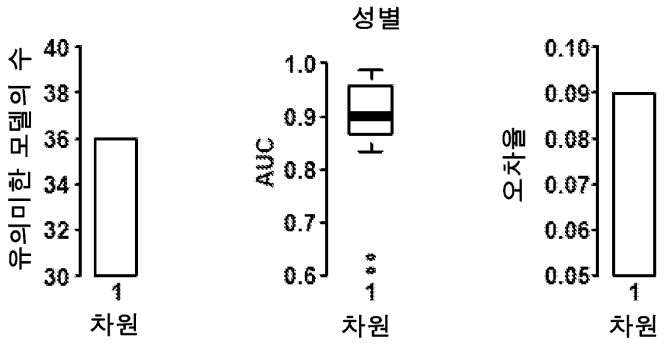
도면19b



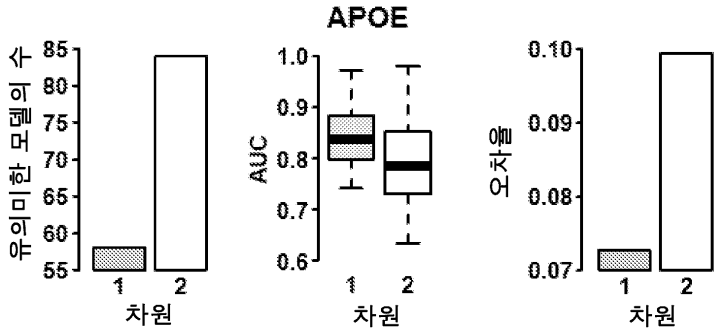
도면19c



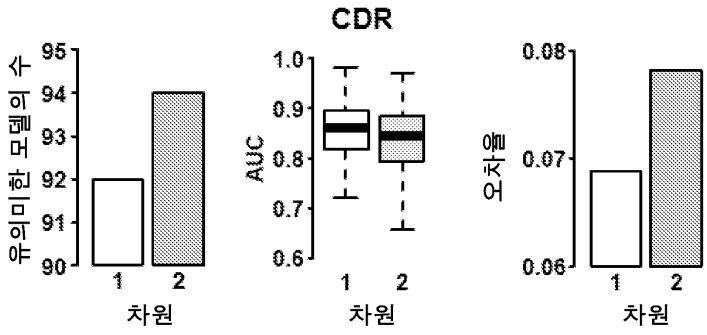
도면19d



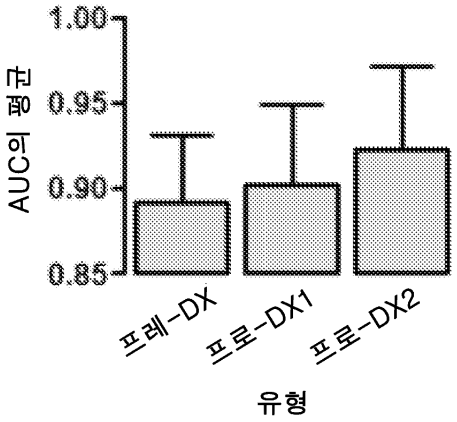
도면19e



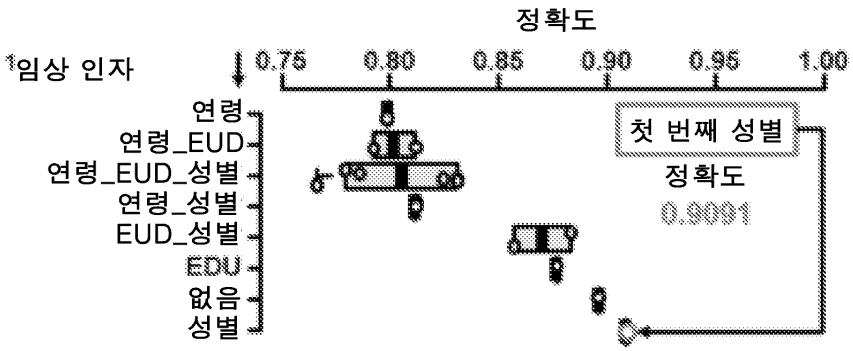
도면19f



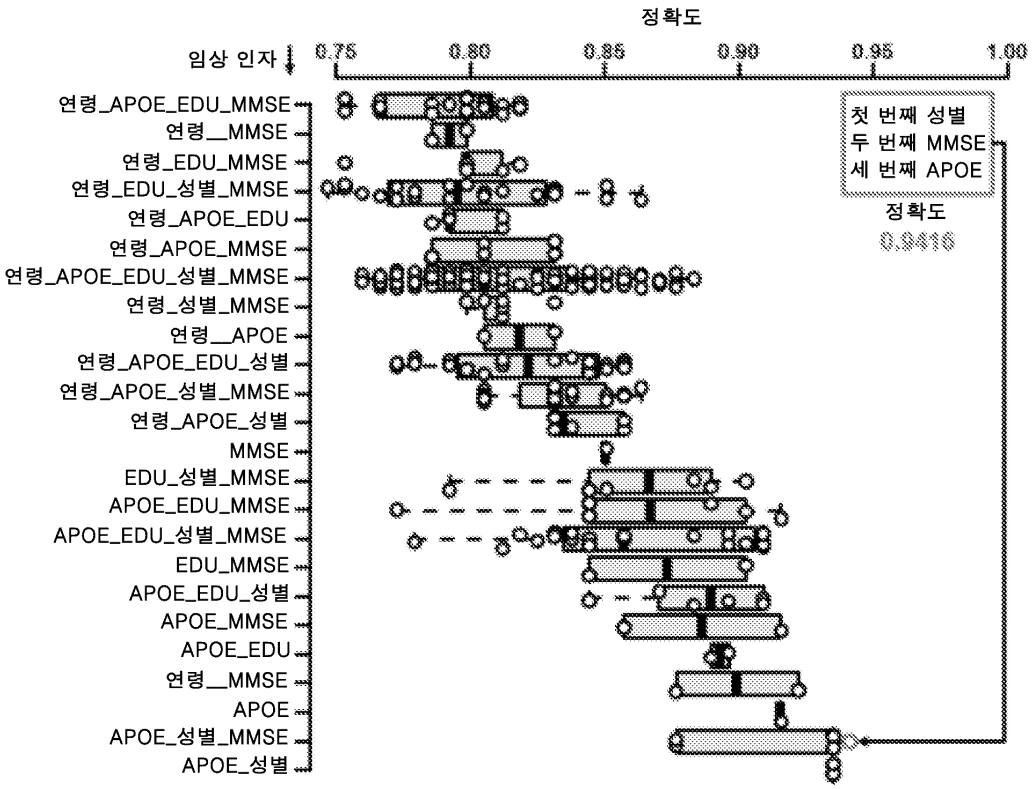
도면20a


AUC의 평균
1.00
0.95
0.90
0.85
프레-DX
프로-DX1
프로-DX2
유형

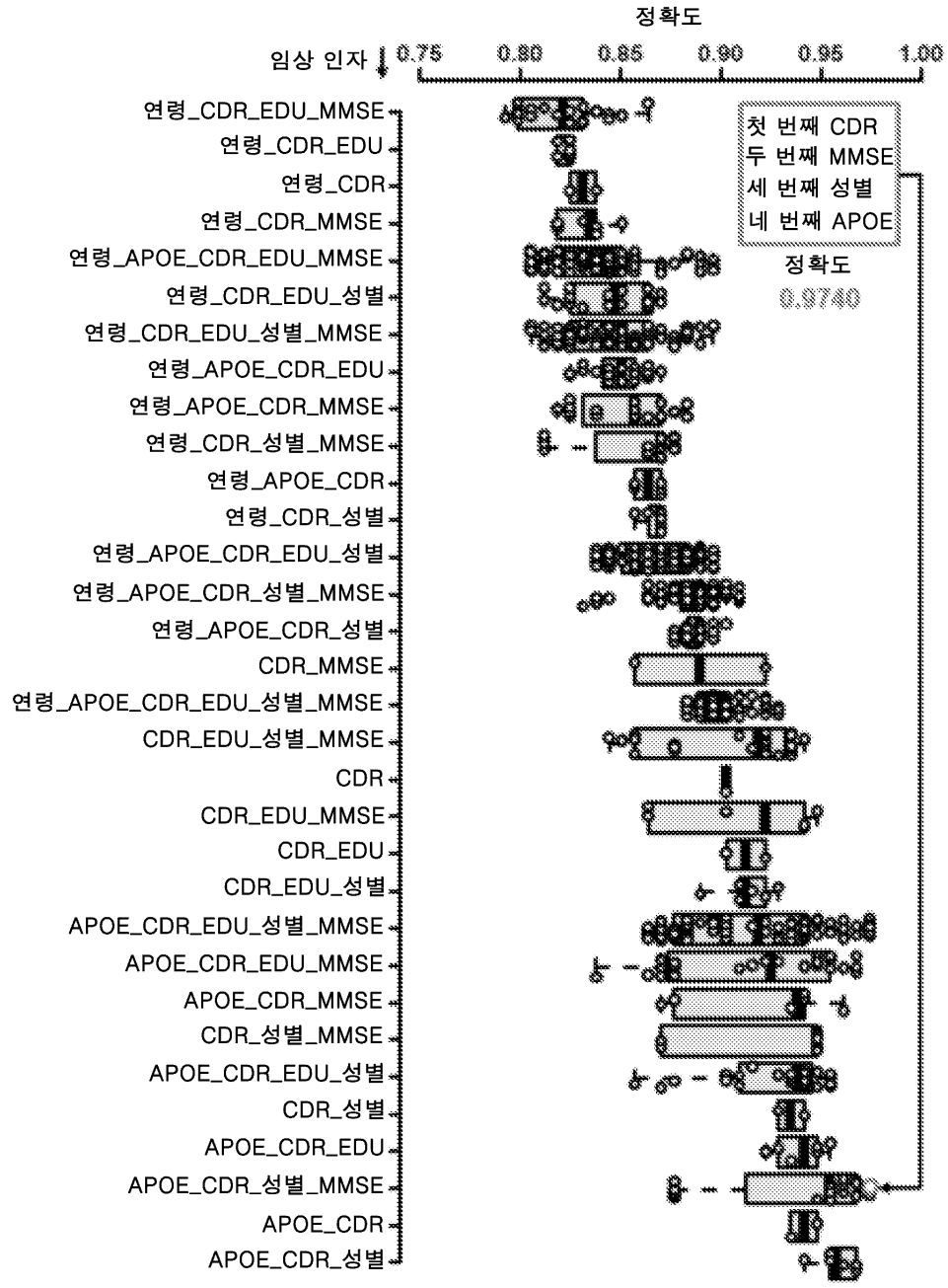
도면20b


정확도
[1]임상 인자
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
연령
연령_EUD
연령_EUD_성별
연령_성별
EUD_성별
EDU
없음
성별
첫 번째 성별
정확도
0.9001

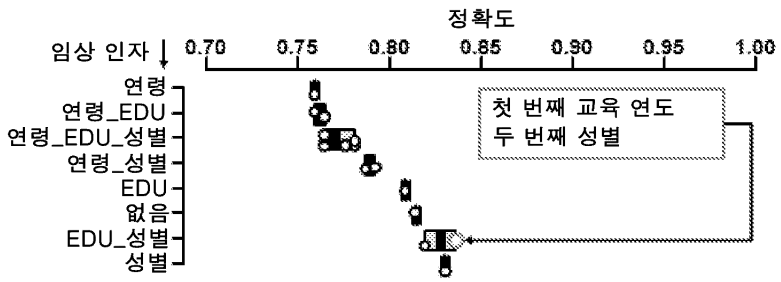
도면20c


정확도
임상 인자
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
연령_APOE_EDU_MMSE
연령__MMSE
연령_EDU_MMSE
연령_EDU_성별_MMSE
연령_APOE_EDU
연령_APOE_MMSE
연령_APOE_EDU_성별_MMSE
연령_성별_MMSE
연령__APOE
연령_APOE_EDU_성별
연령_APOE_성별_MMSE
연령_APOE_성별
MMSE
EDU_성별_MMSE
APOE_EDU_MMSE
APOE_EDU_성별_MMSE
EDU_MMSE
APOE_EDU_성별
APOE_MMSE
APOE_EDU
연령__MMSE
APOE
APOE_성별_MMSE
APOE_성별
첫 번째 성별
두 번째 MMSE
세 번째 APOE
정확도
0.9416

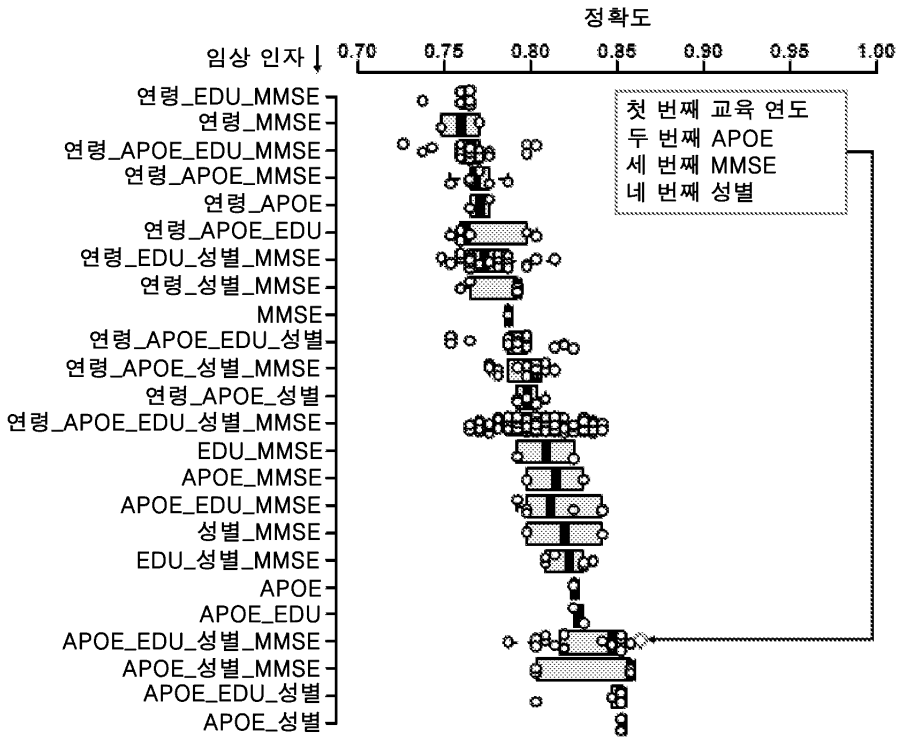
도면20d


정확도
임상 인자
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
연령_CDR_EDU_MMSE
연령_CDR_EDU
연령_CDR
연령_CDR_MMSE
연령_APOE_CDR_EDU_MMSE
연령_CDR_EDU_성별
연령_CDR_EDU_성별_MMSE
연령_APOE_CDR_EDU
연령_APOE_CDR_MMSE
연령_CDR_성별_MMSE
연령_APOE_CDR
연령_CDR_성별
연령_APOE_CDR_EDU_성별
연령_APOE_CDR_성별_MMSE
연령_APOE_CDR_성별
CDR_MMSE
연령_APOE_CDR_EDU_성별_MMSE
CDR_EDU_성별_MMSE
CDR
CDR_EDU_MMSE
CDR_EDU
CDR_EDU_성별
APOE_CDR_EDU_성별_MMSE
APOE_CDR_EDU_MMSE
APOE_CDR_MMSE
CDR_성별_MMSE
APOE_CDR_EDU_성별
CDR_성별
APOE_CDR_EDU
APOE_CDR_성별_MMSE
APOE_CDR
APOE_CDR_성별
첫 번째 CDR
두 번째 MMSE
세 번째 성별
네 번째 APOE
정확도
0.9748

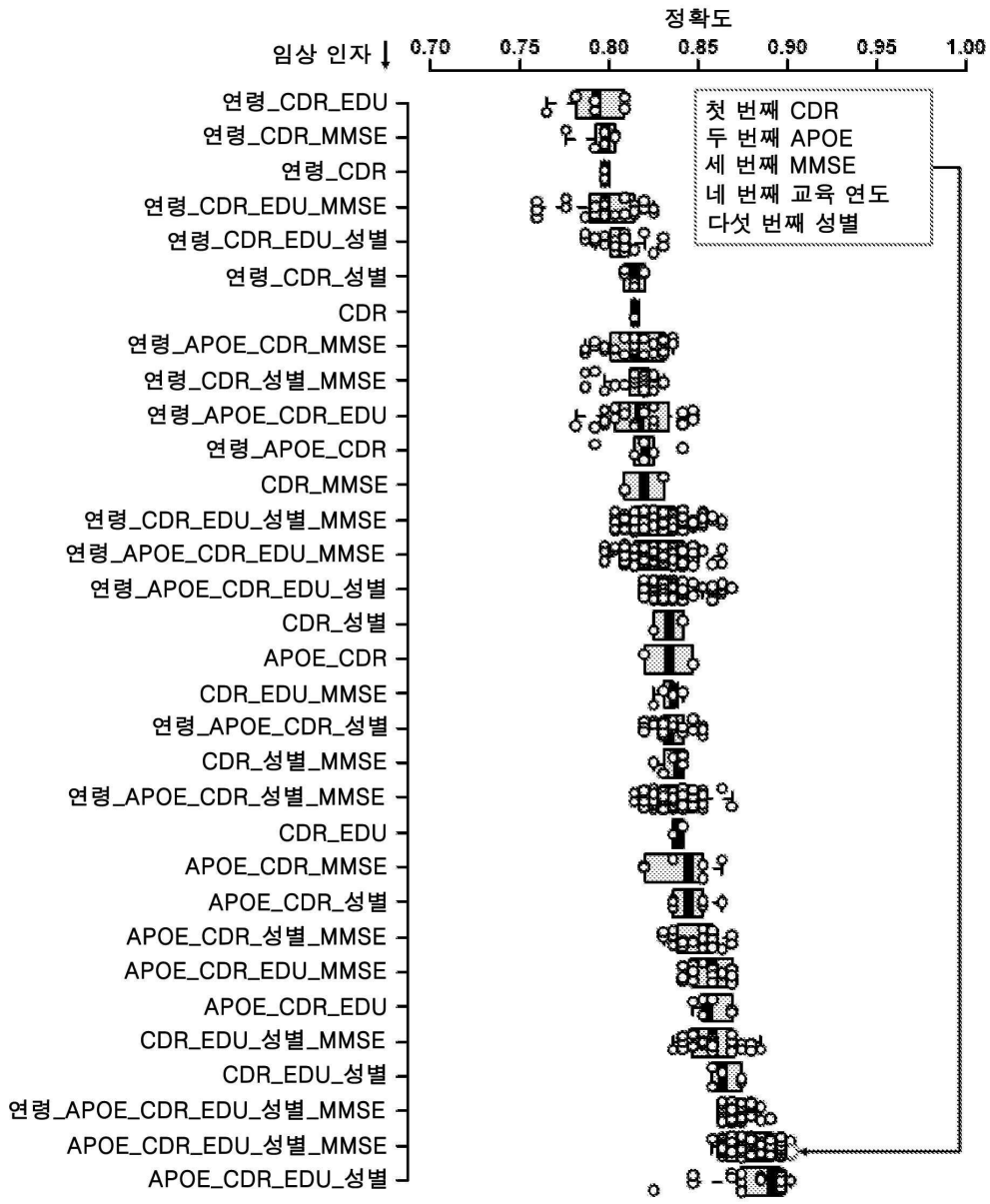
도면21a


정확도
임상 인자
0.70
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
연령
연령_EDU
연령_EDU_성별
연령_성별
EDU
없음
EDU_성별
성별
첫 번째 교육 연도
두 번째 성별

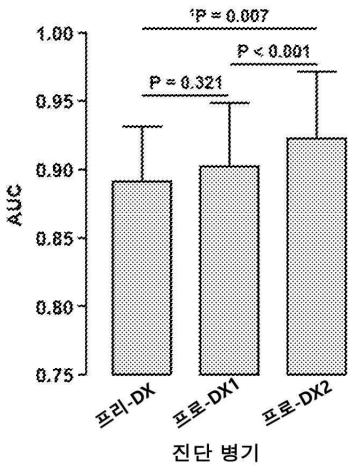
도면21b


정확도
임상 인자
0.70
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
연령_EDU_MMSE
연령_MMSE
연령_APOE_EDU_MMSE
연령_APOE_MMSE
연령_APOE
연령_APOE_EDU
연령_EDU_성별_MMSE
연령_성별_MMSE
MMSE
연령_APOE_EDU_성별
연령_APOE_성별_MMSE
연령_APOE_성별
연령_APOE_EDU_성별_MMSE
EDU_MMSE
APOE_MMSE
APOE_EDU_MMSE
성별_MMSE
EDU_성별_MMSE
APOE
APOE_EDU
APOE_EDU_성별_MMSE
APOE_성별_MMSE
APOE_EDU_성별
APOE_성별
첫 번째 교육 연도
두 번째 APOE
세 번째 MMSE
네 번째 성별

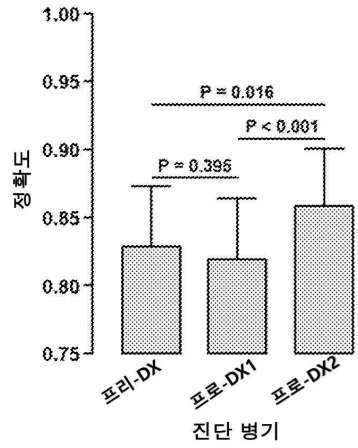
도면21c


정확도
임상 인자
0.70
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
연령_CDR_EDU
연령_CDR_MMSE
연령_CDR
연령_CDR_EDU_MMSE
연령_CDR_EDU_성별
연령_CDR_성별
CDR
연령_APOE_CDR_MMSE
연령_CDR_성별_MMSE
연령_APOE_CDR_EDU
연령_APOE_CDR
CDR_MMSE
연령_CDR_EDU_성별_MMSE
연령_APOE_CDR_EDU_MMSE
연령_APOE_CDR_EDU_성별
CDR_성별
APOE_CDR
CDR_EDU_MMSE
연령_APOE_CDR_성별
CDR_성별_MMSE
연령_APOE_CDR_성별_MMSE
CDR_EDU
APOE_CDR_MMSE
APOE_CDR_성별
APOE_CDR_성별_MMSE
APOE_CDR_EDU_MMSE
APOE_CDR_EDU
CDR_EDU_성별_MMSE
CDR_EDU_성별
연령_APOE_CDR_EDU_성별_MMSE
APOE_CDR_EDU_성별_MMSE
APOE_CDR_EDU_성별
첫 번째 CDR
두 번째 APOE
세 번째 MMSE
네 번째 교육 연도
다섯 번째 성별

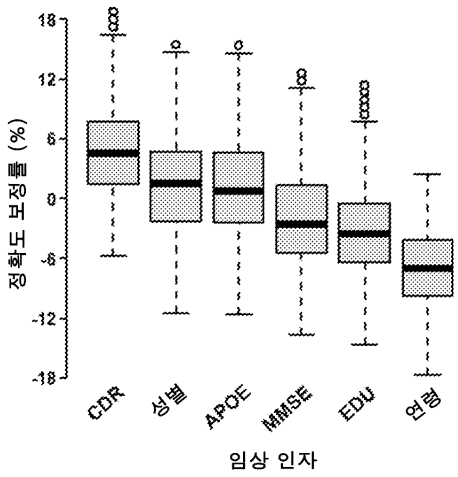
도면22a


¹P = 0.007
P < 0.001
P = 0.321
AUC
1.00
0.95
0.90
0.85
0.80
0.75
프리-DX
프로-DX1
프로-DX2
진단 병기

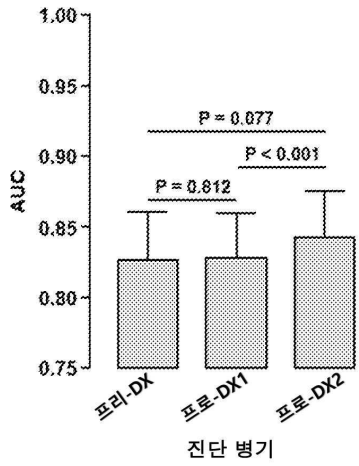
도면22b



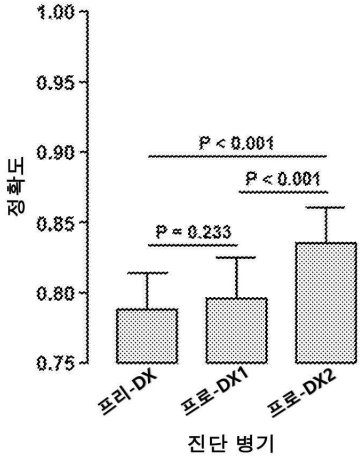
도면22c



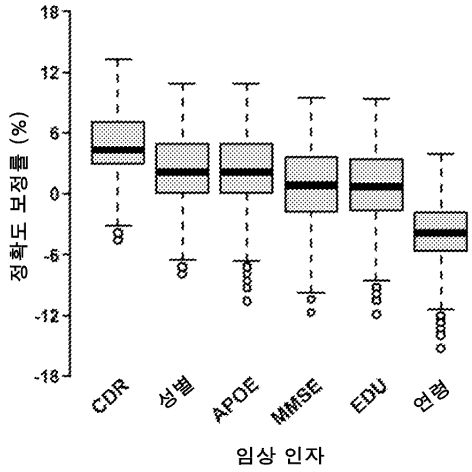
도면22d



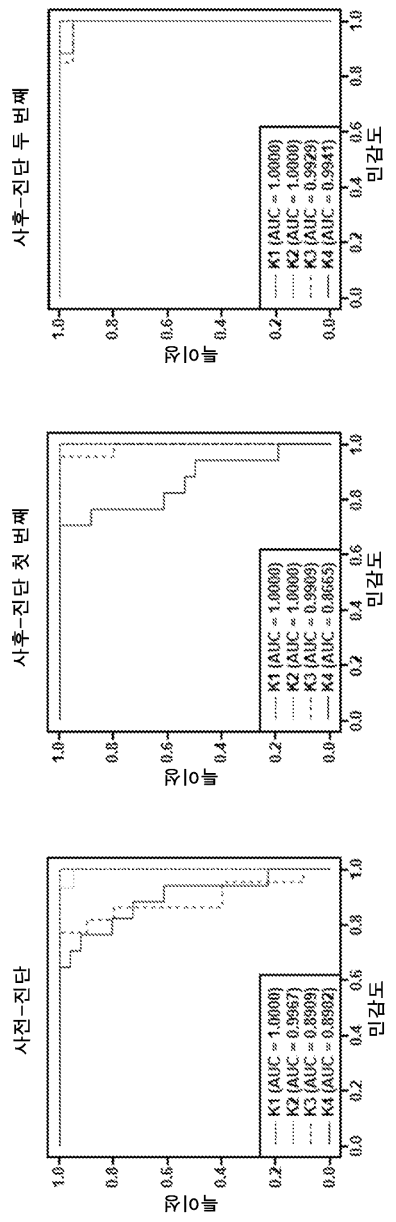
도면22e


1.00
0.95
0.90
0.85
0.80
0.75
정확도
P < 0.001
P < 0.001
P = 0.233
프리-DX
프로-DX1
프로-DX2
진단 병기

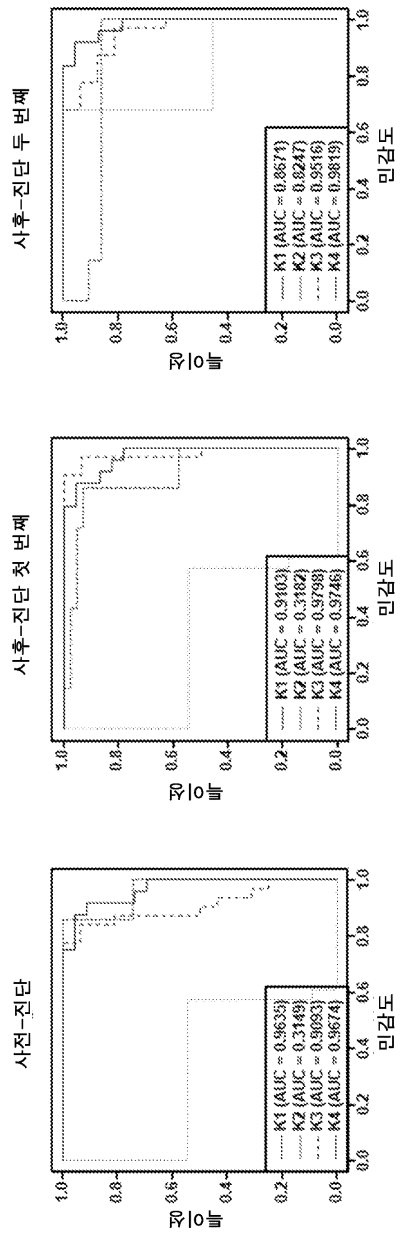
도면22f


18
12
6
0
-6
-12
-18
정확도 보정률 (%)
CDR
성별
APOE
MMSE
EDU
연령
임상 인자

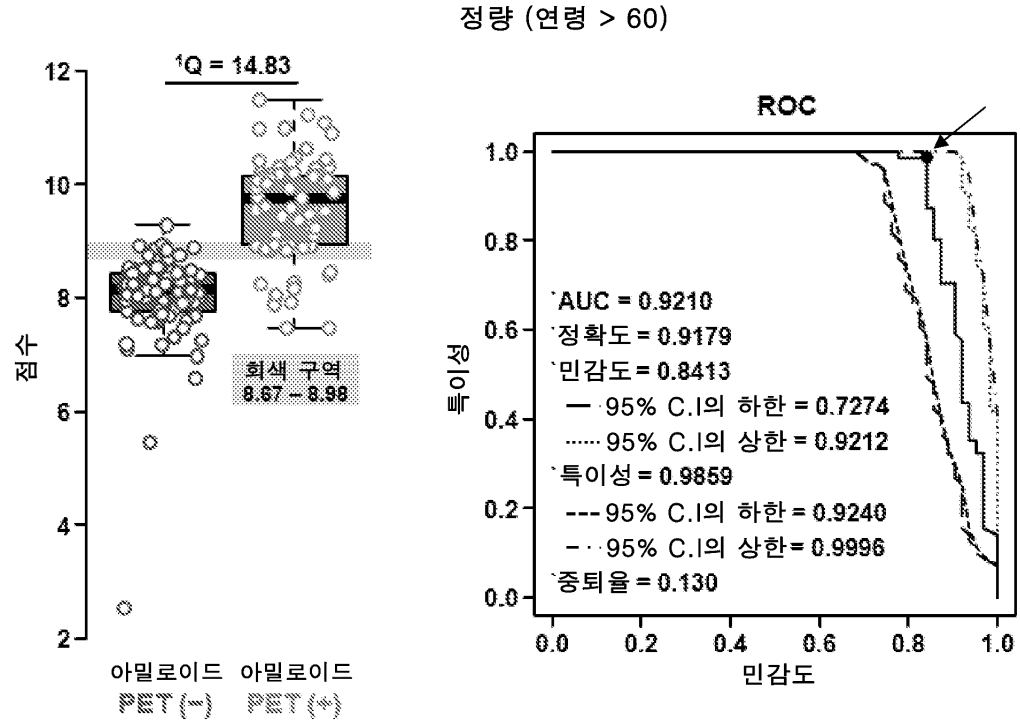
도면23a


사전-진단
사후-진단 첫 번째
사후-진단 두 번째
민감도
특이성
K1 (AUC = 1.0000)
K2 (AUC = 0.9967)
K3 (AUC = 0.8909)
K4 (AUC = 0.8982)
K1 (AUC = 1.0000)
K2 (AUC = 1.0000)
K3 (AUC = 0.9909)
K4 (AUC = 0.8665)
K1 (AUC = 1.0000)
K2 (AUC = 1.0000)
K3 (AUC = 0.9929)
K4 (AUC = 0.9941)

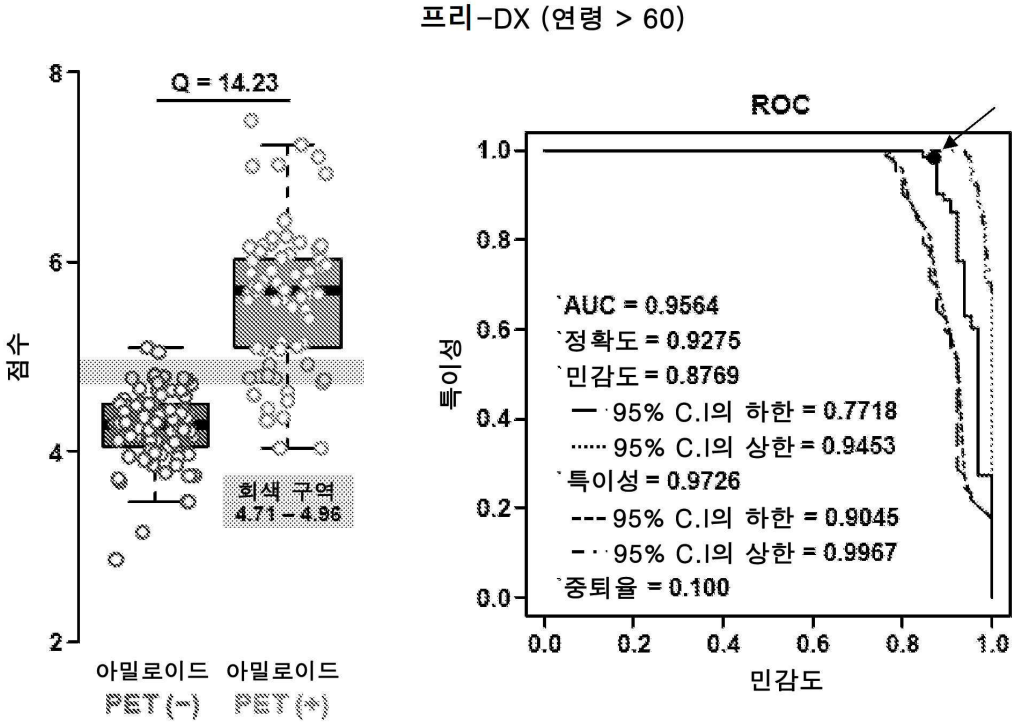
도면23b


사후-진단 두 번째
민감도
특이성
K1 (AUC = 0.8671)
K2 (AUC = 0.8247)
K3 (AUC = 0.9516)
K4 (AUC = 0.9819)
사후-진단 첫 번째
민감도
특이성
K1 (AUC = 0.9103)
K2 (AUC = 0.3182)
K3 (AUC = 0.9798)
K4 (AUC = 0.9746)
사전-진단
민감도
특이성
K1 (AUC = 0.9635)
K2 (AUC = 0.3149)
K3 (AUC = 0.9093)
K4 (AUC = 0.9674)

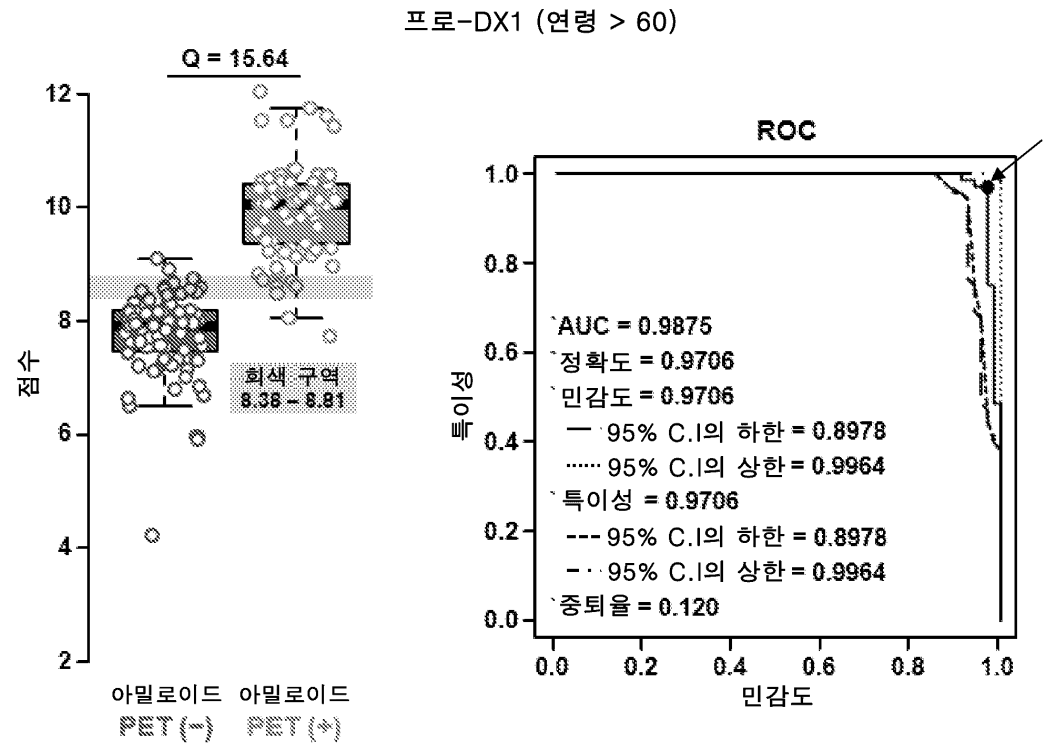
도면24a


정량 (연령 > 60)
1Q = 14.83
12
10
8
6
4
2
점수
회색 구역
8.67 – 8.98
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.9210
정확도 = 0.9179
민감도 = 0.8413
95% C.I의 하한 = 0.7274
95% C.I의 상한 = 0.9212
특이성 = 0.9859
95% C.I의 하한 = 0.9240
95% C.I의 상한 = 0.9996
중퇴율 = 0.130
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
민감도

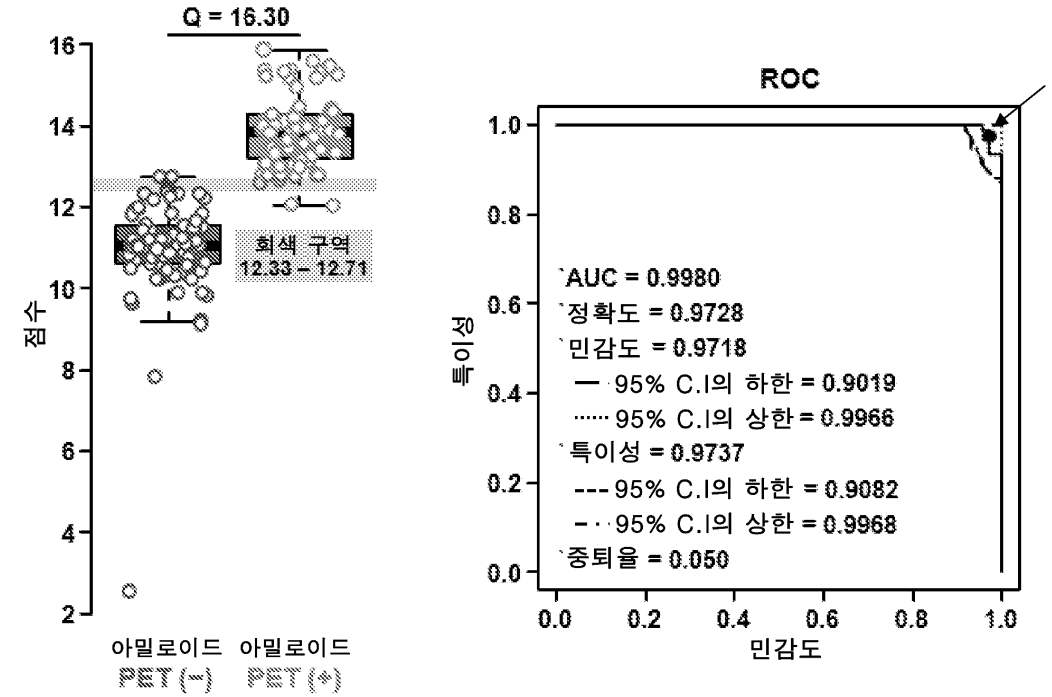
도면24b


프리-DX (연령 > 60)
Q = 14.23
8
6
4
2
점수
회색 구역
4.71 – 4.96
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
특이성
AUC = 0.9564
정확도 = 0.9275
민감도 = 0.8769
95% C.I의 하한 = 0.7718
95% C.I의 상한 = 0.9453
특이성 = 0.9726
95% C.I의 하한 = 0.9045
95% C.I의 상한 = 0.9967
중퇴율 = 0.100
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
민감도

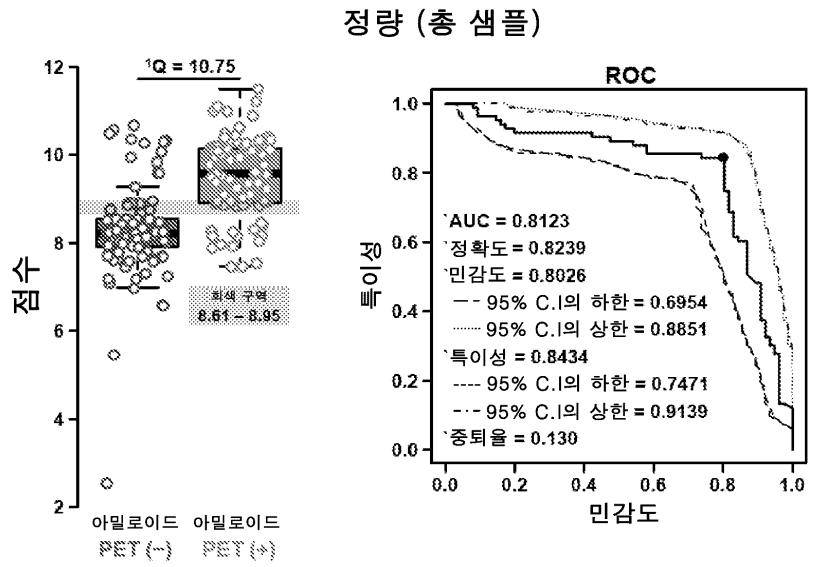
도면24c


프로-DX1 (연령 > 60)
Q = 15.64
점수
회색 구역
8.38 – 8.81
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
특이성
민감도
AUC = 0.9875
정확도 = 0.9706
민감도 = 0.9706
95% C.I의 하한 = 0.8978
95% C.I의 상한 = 0.9964
특이성 = 0.9706
95% C.I의 하한 = 0.8978
95% C.I의 상한 = 0.9964
중퇴율 = 0.120

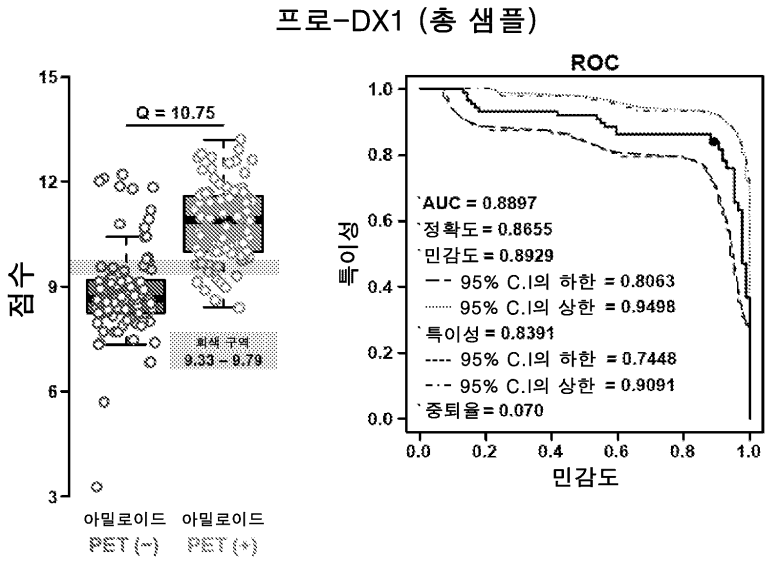
도면24d


프로-DX2 (연령 > 60)
Q = 16.30
점수
회색 구역
12.33 – 12.71
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
특이성
민감도
AUC = 0.9980
정확도 = 0.9728
민감도 = 0.9718
95% C.I의 하한 = 0.9019
95% C.I의 상한 = 0.9966
특이성 = 0.9737
95% C.I의 하한 = 0.9082
95% C.I의 상한 = 0.9968
중퇴율 = 0.050

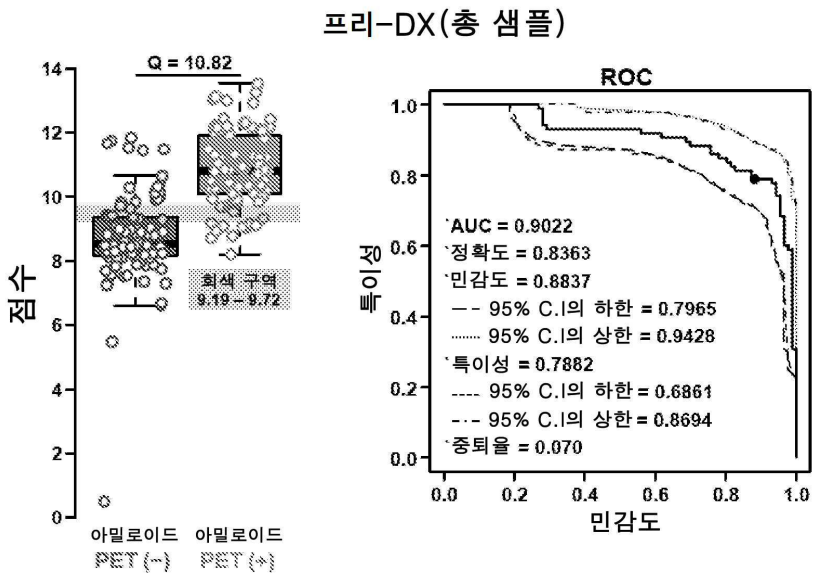
도면25a


정량 (총 샘플)
Q = 10.75
점수
회색 구역
8.61 – 8.95
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
특이성
민감도
AUC = 0.8123
정확도 = 0.8239
민감도 = 0.8026
95% C.I의 하한 = 0.6954
95% C.I의 상한 = 0.8851
특이성 = 0.8434
95% C.I의 하한 = 0.7471
95% C.I의 상한 = 0.9139
중퇴율 = 0.130

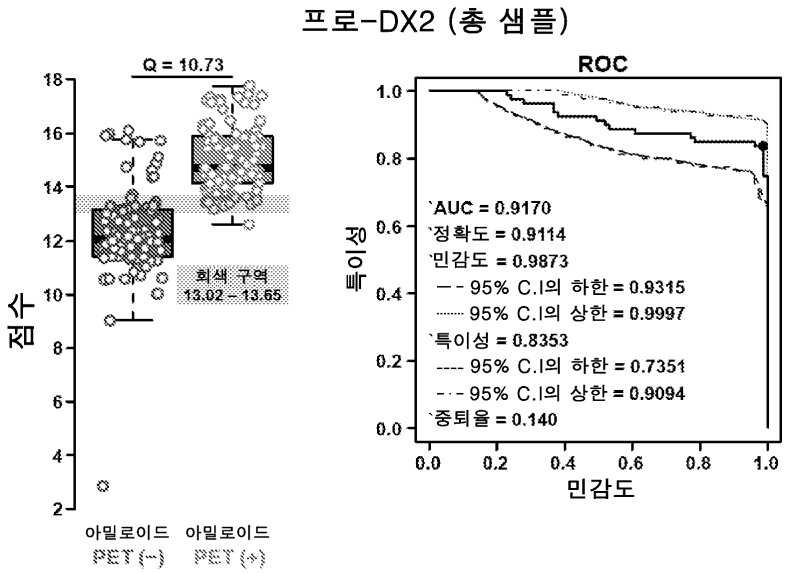
도면25b


프로-DX1 (총 샘플)
Q = 10.75
점수
회색 구역
9.33 – 9.79
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
특이성
민감도
AUC = 0.8897
정확도 = 0.8655
민감도 = 0.8929
95% C.I의 하한 = 0.8063
95% C.I의 상한 = 0.9498
특이성 = 0.8391
95% C.I의 하한 = 0.7448
95% C.I의 상한 = 0.9091
중퇴율 = 0.070

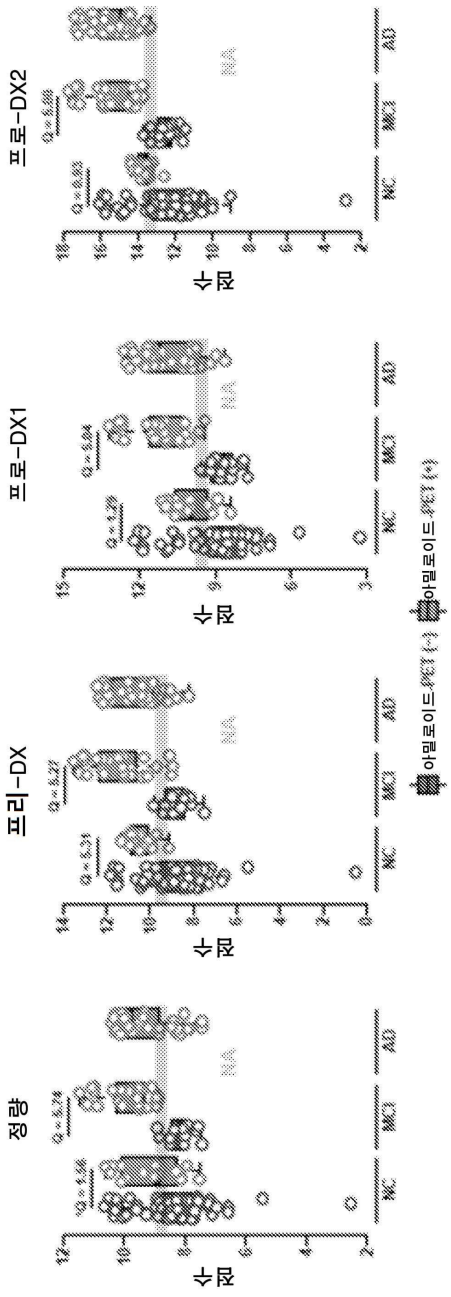
도면25c


프리-DX(총 샘플)
Q = 10.82
회색 구역
9.19 – 9.72
점수
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
AUC = 0.9022
정확도 = 0.8363
민감도 = 0.8837
95% C.I의 하한 = 0.7965
95% C.I의 상한 = 0.9428
특이성 = 0.7882
95% C.I의 하한 = 0.6861
95% C.I의 상한 = 0.8694
중퇴율 = 0.070
특이성
민감도

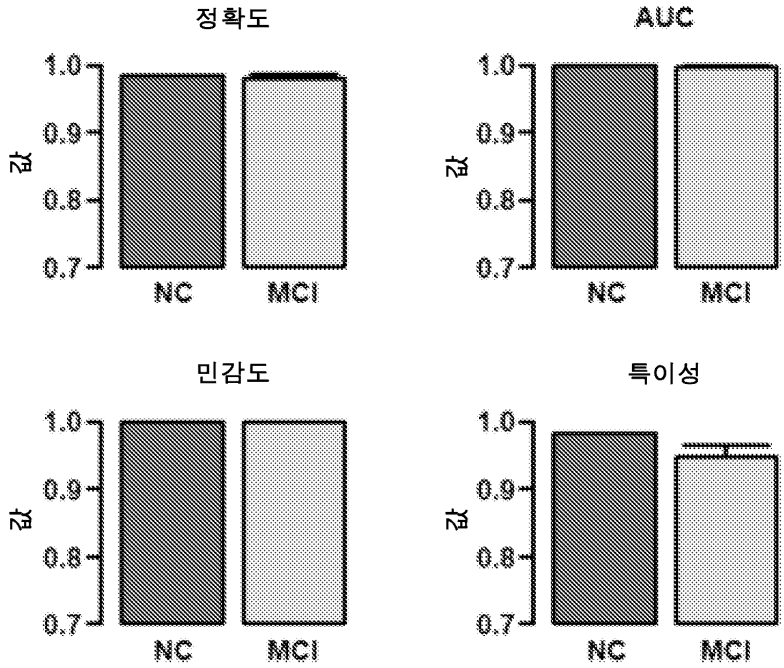
도면25d


프로-DX2 (총 샘플)
Q = 10.73
회색 구역
13.02 – 13.65
점수
아밀로이드 PET (-)
아밀로이드 PET (+)
ROC
AUC = 0.9170
정확도 = 0.9114
민감도 = 0.9873
95% C.I의 하한 = 0.9315
95% C.I의 상한 = 0.9997
특이성 = 0.8353
95% C.I의 하한 = 0.7351
95% C.I의 상한 = 0.9094
중퇴율 = 0.140
특이성
민감도

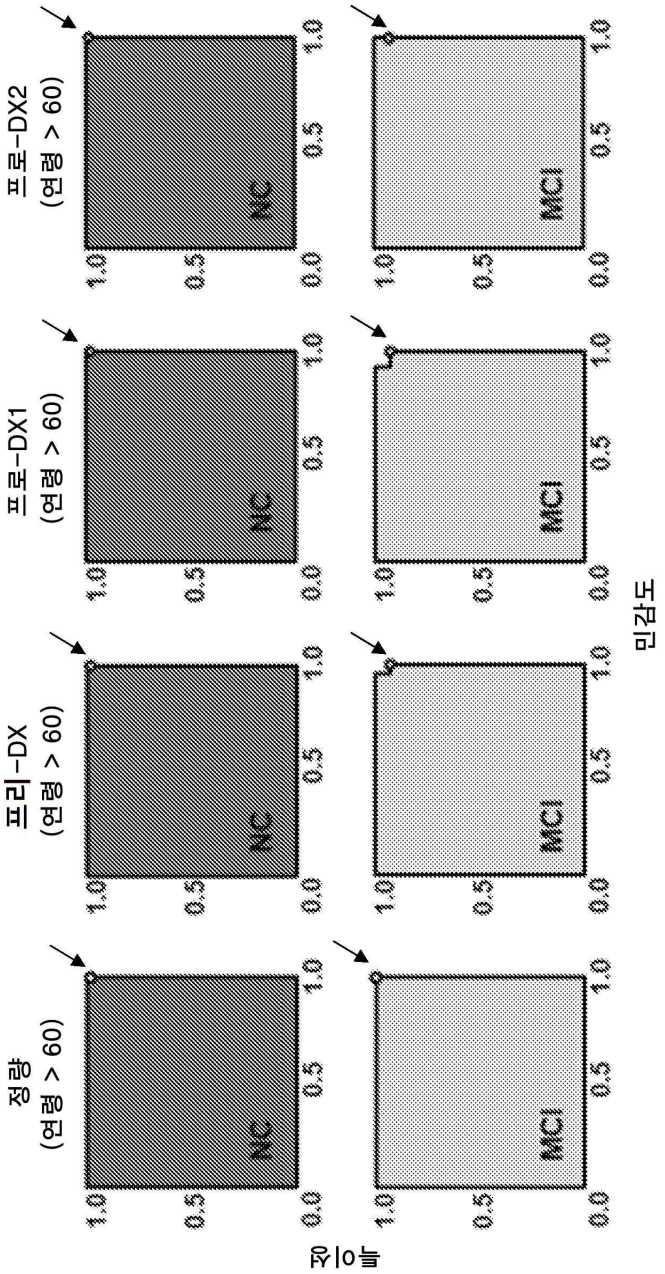
도면26a



도면26b



도면26c



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BIORCHESTRA CO., LTD.

<120> DIAGNOSTIC METHODS USING MIR-485-3P EXPRESSION

<130> 4366.025PC03

<150> US 63/014,633

<151> 2020-04-23

<150> US 63/047,206

<151> 2020-07-01

<150> US 63/064,305

<151> 2020-08-11

<160> 114

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 1

gucauacacg gcucuccucu cu 22

<210> 2

<211> 7

<

212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 2

uguauga 7

<210> 3

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 3

guguauga 8

<210> 4

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 4

cguguauga 9

<210> 5

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 5

ccguguauga 10

<210> 6

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 6

gccguguaug a 11

<210> 7

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 7

agccguguau ga 12

<210> 8

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 8

gagccgugua uga 13

<210> 9

<211> 14

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 9

agagccgugu auga 14

<210> 10

<211> 15

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 10

gagagccgug uauga 15

<210> 11

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 11

ggagagccgu guauga 16

<210> 12

<211> 17

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 12

aggagagccg uguauga 17

<210> 13

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 13

gaggagagcc guguauga 18

<210> 14

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 14

agaggagagc cguguauga 19

<210> 15

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 15

gagaggagag ccguguauga 20

<210> 16

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 16

uguaugac 8

<210> 17

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 17

guguaugac 9

<210> 18

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 18

cguguaugac 10

<210> 19

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 19

ccguguauga c 11

<210> 20

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 20

gccguguaug ac 12

<210> 21

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 21

agccguguau gac 13

<210> 22

<211> 14

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 22

gagccgugua ugac 14

<210> 23

<211> 15

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 23

agagccgugu augac 15

<210> 24

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 24

gagagccgug uaugac 16

<210> 25

<211> 17

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 25

ggagagccgu guaugac 17

<210> 26

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 26

aggagagccg uguaugac 18

<210> 27

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 27

gaggagagcc guguaugac 19

<210> 28

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 28

agaggagagc cguguaugac 20

<210> 29

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 29

gagaggagag ccguguauga c 21

<210> 30

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 30

agagaggaga gccguguaug ac 22

<210> 31

<211> 747

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met Ala Asp Glu Ala Ala Leu Ala Leu Gln Pro Gly Gly Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ala Ala Gly Ala Asp Arg Glu Ala Ala Ser Ser Pro Ala Gly Glu Pro
20 25 30

Leu Arg Lys Arg Pro Arg Arg Asp Gly Pro Gly Leu Glu Arg Ser Pro
35 40 45

Gly Glu Pro Gly Gly Ala Ala Pro Glu Arg Glu Val Pro Ala Ala Ala
50 55 60

Arg Gly Cys Pro Gly Ala Ala Ala Ala Ala Leu Trp Arg Glu Ala Glu
65 70 75 80

Ala Glu Ala Ala Ala Ala Gly Gly Glu Gln Glu Ala Gln Ala Thr Ala
85 90 95

Ala Ala Gly Glu Gly Asp Asn Gly Pro Gly Leu Gln Gly Pro Ser Arg
100 105 110
Glu Pro Pro Leu Ala Asp Asn Leu Tyr Asp Glu Asp Asp Asp Asp Glu
115 120 125
Gly Glu Glu Glu Glu Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ile Gly Tyr Arg Asp
130 135 140

Asn Leu Leu Phe Gly Asp Glu Ile Ile Thr Asn Gly Phe His Ser Cys
145 150 155 160
Glu Ser Asp Glu Glu Asp Arg Ala Ser His Ala Ser Ser Ser Asp Trp
165 170 175
Thr Pro Arg Pro Arg Ile Gly Pro Tyr Thr Phe Val Gln Gln His Leu
180 185 190
Met Ile Gly Thr Asp Pro Arg Thr Ile Leu Lys Asp Leu Leu Pro Glu
195 200 205

Thr Ile Pro Pro Pro Glu Leu Asp Asp Met Thr Leu Trp Gln Ile Val
210 215 220
Ile Asn Ile Leu Ser Glu Pro Pro Lys Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ile
225 230 235 240
Asn Thr Ile Glu Asp Ala Val Lys Leu Leu Gln Glu Cys Lys Lys Ile
245 250 255
Ile Val Leu Thr Gly Ala Gly Val Ser Val Ser Cys Gly Ile Pro Asp
260 265 270

Phe Arg Ser Arg Asp Gly Ile Tyr Ala Arg Leu Ala Val Asp Phe Pro
275 280 285
Asp Leu Pro Asp Pro Gln Ala Met Phe Asp Ile Glu Tyr Phe Arg Lys
290 295 300
Asp Pro Arg Pro Phe Phe Lys Phe Ala Lys Glu Ile Tyr Pro Gly Gln
305 310 315 320
Phe Gln Pro Ser Leu Cys His Lys Phe Ile Ala Leu Ser Asp Lys Glu
325 330 335

Gly Lys Leu Leu Arg Asn Tyr Thr Gln Asn Ile Asp Thr Leu Glu Gln

340 345 350

Val Ala Gly Ile Gln Arg Ile Ile Gln Cys His Gly Ser Phe Ala Thr

355 360 365

Ala Ser Cys Leu Ile Cys Lys Tyr Lys Val Asp Cys Glu Ala Val Arg

370 375 380

Gly Asp Ile Phe Asn Gln Val Val Pro Arg Cys Pro Arg Cys Pro Ala

385 390 395 400

Asp Glu Pro Leu Ala Ile Met Lys Pro Glu Ile Val Phe Phe Gly Glu

405 410 415

Asn Leu Pro Glu Gln Phe His Arg Ala Met Lys Tyr Asp Lys Asp Glu

420 425 430

Val Asp Leu Leu Ile Val Ile Gly Ser Ser Leu Lys Val Arg Pro Val

435 440 445

Ala Leu Ile Pro Ser Ser Ile Pro His Glu Val Pro Gln Ile Leu Ile

450 455 460

Asn Arg Glu Pro Leu Pro His Leu His Phe Asp Val Glu Leu Leu Gly

465 470 475 480

Asp Cys Asp Val Ile Ile Asn Glu Leu Cys His Arg Leu Gly Gly Glu

485 490 495

Tyr Ala Lys Leu Cys Cys Asn Pro Val Lys Leu Ser Glu Ile Thr Glu

500 505 510

Lys Pro Pro Arg Thr Gln Lys Glu Leu Ala Tyr Leu Ser Glu Leu Pro

515 520 525

Pro Thr Pro Leu His Val Ser Glu Asp Ser Ser Ser Pro Glu Arg Thr

530 535 540

Ser Pro Pro Asp Ser Ser Val Ile Val Thr Leu Leu Asp Gln Ala Ala

545 550 555 560

Lys Ser Asn Asp Asp Leu Asp Val Ser Glu Ser Lys Gly Cys Met Glu

565 570 575

Glu Lys Pro Gln Glu Val Gln Thr Ser Arg Asn Val Glu Ser Ile Ala

580 585 590

Glu Gln Met Glu Asn Pro Asp Leu Lys Asn Val Gly Ser Ser Thr Gly
595 600 605

Glu Lys Asn Glu Arg Thr Ser Val Ala Gly Thr Val Arg Lys Cys Trp
610 615 620

Pro Asn Arg Val Ala Lys Glu Gln Ile Ser Arg Arg Leu Asp Gly Asn
625 630 635 640

Gln Tyr Leu Phe Leu Pro Pro Asn Arg Tyr Ile Phe His Gly Ala Glu
645 650 655

Val Tyr Ser Asp Ser Glu Asp Asp Val Leu Ser Ser Ser Ser Cys Gly
660 665 670

Ser Asn Ser Asp Ser Gly Thr Cys Gln Ser Pro Ser Leu Glu Glu Pro
675 680 685

Met Glu Asp Glu Ser Glu Ile Glu Glu Phe Tyr Asn Gly Leu Glu Asp
690 695 700

Glu Pro Asp Val Pro Glu Arg Ala Gly Gly Ala Gly Phe Gly Thr Asp
705 710 715 720

Gly Asp Asp Gln Glu Ala Ile Asn Glu Ala Ile Ser Val Lys Gln Glu
725 730 735

Val Thr Asp Met Asn Tyr Pro Ser Asn Lys Ser
740 745

<210> 32

<211> 561

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Met Ala Asp Glu Ala Ala Leu Ala Leu Gln Pro Gly Gly Ser Pro Ser
1 5 10 15

Ala Ala Gly Ala Asp Arg Glu Ala Ala Ser Ser Pro Ala Gly Glu Pro
20 25 30

Leu Arg Lys Arg Pro Arg Arg Asp Gly Pro Gly Leu Glu Arg Ser Pro
35 40 45

Gly Glu Pro Gly Gly Ala Ala Pro Glu Arg Glu Val Pro Ala Ala Ala

50 55 60

Arg Gly Cys Pro Gly Ala Ala Ala Ala Ala Leu Trp Arg Glu Ala Glu

65 70 75 80

Ala Glu Ala Ala Ala Ala Gly Gly Glu Gln Glu Ala Gln Ala Thr Ala

85 90 95

Ala Ala Gly Glu Gly Asp Asn Gly Pro Gly Leu Gln Gly Pro Ser Arg

100 105 110

Glu Pro Pro Leu Ala Asp Asn Leu Tyr Asp Glu Asp Asp Asp Asp Glu

115 120 125

Gly Glu Glu Glu Glu Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ile Gly Tyr Arg Asp

130 135 140

Asn Leu Leu Phe Gly Asp Glu Ile Ile Thr Asn Gly Phe His Ser Cys

145 150 155 160

Glu Ser Asp Glu Glu Asp Arg Ala Ser His Ala Ser Ser Ser Asp Trp

165 170 175

Thr Pro Arg Pro Arg Ile Gly Pro Tyr Thr Phe Val Gln Gln His Leu

180 185 190

Met Ile Gly Thr Asp Pro Arg Thr Ile Leu Lys Asp Leu Leu Pro Glu

195 200 205

Thr Ile Pro Pro Pro Glu Leu Asp Asp Met Thr Leu Trp Gln Ile Val

210 215 220

Ile Asn Ile Leu Ser Glu Pro Pro Lys Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ile

225 230 235 240

Asn Thr Ile Glu Asp Ala Val Lys Leu Leu Gln Glu Cys Lys Lys Ile

245 250 255

Ile Val Leu Thr Gly Ala Gly Val Ser Val Ser Cys Gly Ile Pro Asp

260 265 270

Phe Arg Ser Arg Asp Gly Ile Tyr Ala Arg Leu Ala Val Asp Phe Pro

275 280 285

Asp Leu Pro Asp Pro Gln Ala Met Phe Asp Ile Glu Tyr Phe Arg Lys

290 295 300

Asp Pro Arg Pro Phe Phe Lys Phe Ala Lys Glu Ile Tyr Pro Gly Gln
305 310 315 320
Phe Gln Pro Ser Leu Cys His Lys Phe Ile Ala Leu Ser Asp Lys Glu
325 330 335
Gly Lys Leu Leu Arg Asn Tyr Thr Gln Asn Ile Asp Thr Leu Glu Gln
340 345 350

Val Ala Gly Ile Gln Arg Ile Ile Gln Cys His Gly Ser Phe Ala Thr
355 360 365
Ala Ser Cys Leu Ile Cys Lys Tyr Lys Val Asp Cys Glu Ala Val Arg
370 375 380
Gly Asp Ile Phe Asn Gln Val Val Pro Arg Cys Pro Arg Cys Pro Ala
385 390 395 400
Asp Glu Pro Leu Ala Ile Met Lys Pro Glu Ile Val Phe Phe Gly Glu
405 410 415

Asn Leu Pro Glu Gln Phe His Arg Ala Met Lys Tyr Asp Lys Asp Glu
420 425 430
Val Asp Leu Leu Ile Val Ile Gly Ser Ser Leu Lys Val Arg Pro Val
435 440 445
Ala Leu Ile Pro Ser Asn Gln Tyr Leu Phe Leu Pro Pro Asn Arg Tyr
450 455 460
Ile Phe His Gly Ala Glu Val Tyr Ser Asp Ser Glu Asp Asp Val Leu
465 470 475 480

Ser Ser Ser Ser Cys Gly Ser Asn Ser Asp Ser Gly Thr Cys Gln Ser
485 490 495
Pro Ser Leu Glu Glu Pro Met Glu Asp Glu Ser Glu Ile Glu Glu Phe
500 505 510
Tyr Asn Gly Leu Glu Asp Glu Pro Asp Val Pro Glu Arg Ala Gly Gly
515 520 525
Ala Gly Phe Gly Thr Asp Gly Asp Asp Gln Glu Ala Ile Asn Glu Ala
530 535 540

Ile Ser Val Lys Gln Glu Val Thr Asp Met Asn Tyr Pro Ser Asn Lys

545 550 555 560

Ser

<210> 33

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 33

agaggcuggc cgugaugaau uc 22

<210> 34

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR-485-3p

<400> 34

agucauacac ggcucuccuc uc 22

<210> 35

<211> 22

<212> RNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> miR-485-5p

<400> 35

agaggcuggc cgugaugaau uc 22

<210> 36

<211> 472

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly

1 5 10 15

Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu

20 25 30

Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr

35 40 45

Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln

50 55 60

Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser

65 70 75 80

Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg

85 90 95

Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val

100 105 110

Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val

115 120 125

Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Ala

130 135 140

Ala Ser His Ile Tyr Gln Asn Gln Phe Val Gln Met Ile Leu Asn Ser

145 150 155 160

Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg

165 170 175

Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr

180 185 190

Pro Val Thr Thr Thr Val Gly Leu Phe Tyr Pro Tyr Asn Asn Thr Ala

195 200 205

Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn Ile Ser Lys Val

210 215 220

Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Asn Leu Ser Tyr Trp Glu

225 230 235 240

Ser His Cys Asp Met Ile Asn Gly Thr Asp Ala Ala Ser Phe Pro Pro

245 250 255

Phe Val Glu Lys Ser Gln Val Leu Gln Phe Phe Ser Ser Asp Ile Cys

260 265 270

Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe Glu Ser Asp Val Asn Leu Lys Gly Ile

275 280 285

Pro Val Tyr Arg Phe Val Leu Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Pro Val

290 295 300

Glu Asn Pro Asp Asn Tyr Cys Phe Cys Thr Glu Lys Ile Ile Ser Lys

305 310 315 320

Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val Leu Asp Ile Ser Lys Cys Lys Glu Gly

325 330 335

Arg Pro Val Tyr Ile Ser Leu Pro His Phe Leu Tyr Ala Ser Pro Asp

340 345 350

Val Ser Glu Pro Ile Asp Gly Leu Asn Pro Asn Glu Glu Glu His Arg

355 360 365

Thr Tyr Leu Asp Ile Glu Pro Ile Thr Gly Phe Thr Leu Gln Phe Ala

370 375 380

Lys Arg Leu Gln Val Asn Leu Leu Val Lys Pro Ser Glu Lys Ile Gln

385 390 395 400

Val Leu Lys Asn Leu Lys Arg Asn Tyr Ile Val Pro Ile Leu Trp Leu

405 410 415

Asn Glu Thr Gly Thr Ile Gly Asp Glu Lys Ala Asn Met Phe Arg Ser

420 425 430

Gln Val Thr Gly Lys Ile Asn Leu Leu Gly Leu Ile Glu Met Ile Leu

435 440 445

Leu Ser Val Gly Val Val Met Phe Val Ala Phe Met Ile Ser Tyr Cys

450 455 460

Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile Lys

465 470

<210> 37

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly

1 5 10 15

Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu
20 25 30
Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr
35 40 45
Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln
50 55 60
Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser

65 70 75 80
Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg
85 90 95
Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val
100 105 110
Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val
115 120 125
Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Ala

130 135 140
Ala Ser His Ile Tyr Gln Asn Gln Phe Val Gln Met Ile Leu Asn Ser
145 150 155 160
Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg
165 170 175
Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr
180 185 190
Pro Val Thr Thr Thr Val Gly Leu Phe Tyr Pro Tyr Asn Asn Thr Ala

195 200 205
Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn Ile Ser Lys Val
210 215 220
Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Asn Leu Ser Tyr Trp Glu
225 230 235 240
Ser His Cys Asp Met Ile Asn Gly Thr Asp Ala Ala Ser Phe Pro Pro
245 250 255
Phe Val Glu Lys Ser Gln Val Leu Gln Phe Phe Ser Ser Asp Ile Cys

260 265 270

Arg Glu Thr Cys Val His Phe Thr Ser Ser Phe Ser Val Cys Lys Ser

275 280 285

<210> 38

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly

1 5 10 15

Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu

20 25 30

Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr

35 40 45

Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln

50 55 60

Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser

65 70 75 80

Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg

85 90 95

Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val

100 105 110

Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val

115 120 125

Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Ala

130 135 140

Ala Ser His Ile Tyr Gln Asn Gln Phe Val Gln Met Ile Leu Asn Ser

145 150 155 160

Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg

165 170 175

Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr

180 185 190

Pro Val Thr Thr Thr Val Gly Leu Phe Tyr Pro Tyr Asn Asn Thr Ala
195 200 205

Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn Ile Ser Lys Val
210 215 220

Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe
225 230 235 240

Glu Ser Asp Val Asn Leu Lys Gly Ile Pro Val Tyr Arg Phe Val Leu
245 250 255

Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Pro Val Glu Asn Pro Asp Asn Tyr Cys
260 265 270

Phe Cys Thr Glu Lys Ile Ile Ser Lys Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val
275 280 285

Leu Asp Ile Ser Lys Cys Lys Glu Gly Arg Pro Val Tyr Ile Ser Leu
290 295 300

Pro His Phe Leu Tyr Ala Ser Pro Asp Val Ser Glu Pro Ile Asp Gly
305 310 315 320

Leu Asn Pro Asn Glu Glu Glu His Arg Thr Tyr Leu Asp Ile Glu Pro
325 330 335

Ile Thr Gly Phe Thr Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Gln Val Asn Leu
340 345 350

Leu Val Lys Pro Ser Glu Lys Ile Gln Val Leu Lys Asn Leu Lys Arg
355 360 365

Asn Tyr Ile Val Pro Ile Leu Trp Leu Asn Glu Thr Gly Thr Ile Gly
370 375 380

Asp Glu Lys Ala Asn Met Phe Arg Ser Gln Val Thr Gly Lys Ile Asn
385 390 395 400

Leu Leu Gly Leu Ile Glu Met Ile Leu Leu Ser Val Gly Val Val Met
405 410 415

Phe Val Ala Phe Met Ile Ser Tyr Cys Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile
420 425 430

Lys

<210> 39

<211> 412

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly
1 5 10 15

Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu
20 25 30

Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr
35 40 45

Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln
50 55 60

Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser
65 70 75 80

Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg
85 90 95

Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val
100 105 110

Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val
115 120 125

Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Tyr
130 135 140

Asn Asn Thr Ala Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn
145 150 155 160

Ile Ser Lys Val Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Asn Leu
165 170 175

Ser Tyr Trp Glu Ser His Cys Asp Met Ile Asn Gly Thr Asp Ala Ala
180 185 190

Ser Phe Pro Pro Phe Val Glu Lys Ser Gln Val Leu Gln Phe Phe Ser
195 200 205

Ser Asp Ile Cys Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe Glu Ser Asp Val Asn

210 215 220

Leu Lys Gly Ile Pro Val Tyr Arg Phe Val Leu Pro Ser Lys Ala Phe

225 230 235 240

Ala Ser Pro Val Glu Asn Pro Asp Asn Tyr Cys Phe Cys Thr Glu Lys

245 250 255

Ile Ile Ser Lys Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val Leu Asp Ile Ser Lys

260 265 270

Cys Lys Glu Gly Arg Pro Val Tyr Ile Ser Leu Pro His Phe Leu Tyr

275 280 285

Ala Ser Pro Asp Val Ser Glu Pro Ile Asp Gly Leu Asn Pro Asn Glu

290 295 300

Glu Glu His Arg Thr Tyr Leu Asp Ile Glu Pro Ile Thr Gly Phe Thr

305 310 315 320

Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Gln Val Asn Leu Leu Val Lys Pro Ser

325 330 335

Glu Lys Ile Gln Val Leu Lys Asn Leu Lys Arg Asn Tyr Ile Val Pro

340 345 350

Ile Leu Trp Leu Asn Glu Thr Gly Thr Ile Gly Asp Glu Lys Ala Asn

355 360 365

Met Phe Arg Ser Gln Val Thr Gly Lys Ile Asn Leu Leu Gly Leu Ile

370 375 380

Glu Met Ile Leu Leu Ser Val Gly Val Val Met Phe Val Ala Phe Met

385 390 395 400

Ile Ser Tyr Cys Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile Lys

405 410

<210> 40

<211> 798

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp

1 5 10 15

Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp

20 25 30

Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr

35 40 45

Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile

50 55 60

Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile

65 70 75 80

Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu

85 90 95

Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu

100 105 110

Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met

115 120 125

Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu

130 135 140

Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu

145 150 155 160

Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile

165 170 175

Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys

180 185 190

Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser

195 200 205

Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys

210 215 220

Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys

225 230 235 240

Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr

245 250 255

Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Asp Pro Lys Gly

260 265 270

Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu Ser Val Glu Leu

275 280 285

Ser Gly Thr Ala Gly Leu Thr Pro Pro Thr Thr Pro Pro His Lys Ala

290 295 300

Asn Gln Asp Asn Pro Phe Arg Ala Ser Pro Lys Leu Lys Ser Ser Cys

305 310 315 320

Lys Thr Val Val Pro Pro Pro Ser Lys Lys Pro Arg Tyr Ser Glu Ser

325 330 335

Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys Gly Pro Glu Gln Ser

340 345 350

Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val Leu Thr Gly Gly His

355 360 365

Glu Glu Arg Lys Thr Lys Arg Pro Ser Leu Arg Leu Phe Gly Asp His

370 375 380

Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu Ile Leu Ile Asn Ile

385 390 395 400

Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn Lys Asp Val Ser

405 410 415

Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr Asp Ser Asp Gln Cys

420 425 430

Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln Val Ser Pro Cys Ser

435 440 445

Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala Glu Leu Asn Lys

450 455 460

His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp Glu Ala Asp Lys

465 470 475 480

Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu Gln Phe Ser Lys

485 490 495

Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe Asp
500 505 510
Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly Thr

515 520 525
Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe Asn
530 535 540
Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser Gln
545 550 555 560
Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His Arg
565 570 575
Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Gly

580 585 590
Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His Tyr
595 600 605
Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val Arg Ser Arg Ser
610 615 620
Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu Tyr
625 630 635 640
Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg Glu Tyr Glu Lys

645 650 655
Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln Arg Gln Lys Ala
660 665 670
Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp Thr
675 680 685
Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe Gly Glu Ile Glu
690 695 700
Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp Ser Tyr Gly Phe Ile

705 710 715 720
Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly Tyr
725 730 735
Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu Tyr Phe Cys Gly

740 745 750

Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Ser Asn Ser

755 760 765

Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr Asp Ser Leu Asp

770 775 780

Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg

785 790 795

<210> 41

<211> 271

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp

1 5 10 15

Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp

20 25 30

Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr

35 40 45

Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile

50 55 60

Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile

65 70 75 80

Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu

85 90 95

Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu

100 105 110

Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met

115 120 125

Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu

130 135 140

Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu

145 150 155 160

Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile
165 170 175
Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys
180 185 190
Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser
195 200 205
Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys
210 215 220

Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys
225 230 235 240
Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr
245 250 255
Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Leu Phe Leu
260 265 270

<210> 42
<211> 803
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 42

Met Asp Glu Thr Ser Pro Arg Leu Glu Glu Asp Trp Lys Lys Val Leu

1 5 10 15
Gln Arg Glu Ala Gly Trp Gln Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln
20 25 30
Pro Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val
35 40 45
Asn Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser
50 55 60
Asp Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn

65 70 75 80
Ile Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val

85 90 95

Leu Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro

100 105 110

Ser Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala

115 120 125

Ser Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu

130 135 140

Glu Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln

145 150 155 160

Leu Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn

165 170 175

His Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn

180 185 190

Ser Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln

195 200 205

Arg Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp

210 215 220

Pro Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys

225 230 235 240

Cys Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu

245 250 255

Gln Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro

260 265 270

Asn Asp Pro Lys Gly Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr

275 280 285

Leu Ser Val Glu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Leu Thr Pro Pro Thr Thr

290 295 300

Pro Pro His Lys Ala Asn Gln Asp Asn Pro Phe Arg Ala Ser Pro Lys

305 310 315 320

Leu Lys Ser Ser Cys Lys Thr Val Val Pro Pro Pro Ser Lys Lys Pro

325 330 335

Arg Tyr Ser Glu Ser Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys
340 345 350
Gly Pro Glu Gln Ser Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val
355 360 365
Leu Thr Gly Gly His Glu Glu Arg Lys Thr Lys Arg Pro Ser Leu Arg
370 375 380
Leu Phe Gly Asp His Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu

385 390 395 400
Ile Leu Ile Asn Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu
405 410 415
Asn Lys Asp Val Ser Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr
420 425 430
Asp Ser Asp Gln Cys Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln
435 440 445
Val Ser Pro Cys Ser Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg

450 455 460
Ala Glu Leu Asn Lys His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp
465 470 475 480
Asp Glu Ala Asp Lys Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn
485 490 495
Glu Gln Phe Ser Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met
500 505 510
Asp Gly Leu Phe Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr

515 520 525
Pro Trp Asp Gly Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser
530 535 540
Cys Ser Ser Phe Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys
545 550 555 560
Ser Leu Phe Ser Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser
565 570 575
Phe Ser Arg His Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg

580 585 590

Ser Arg Ser Pro Gly Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr

595 600 605

Glu Ser Ser His Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr

610 615 620

Val Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp

625 630 635 640

Ser Tyr Glu Glu Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg

645 650 655

Arg Glu Tyr Glu Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg

660 665 670

Gln Arg Gln Lys Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys

675 680 685

Ile Arg Pro Asp Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val

690 695 700

Phe Gly Glu Ile Glu Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp

705 710 715 720

Ser Tyr Gly Phe Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala

725 730 735

Leu Glu Asn Gly Tyr Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu

740 745 750

Leu Tyr Phe Cys Gly Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp

755 760 765

Leu Asp Ser Asn Ser Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys

770 775 780

Tyr Asp Ser Leu Asp Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser

785 790 795 800

Leu Arg Arg

<210> 43

<211> 786

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro
1 5 10 15

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn
20 25 30

Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp
35 40 45

Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile
50 55 60

Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu
65 70 75 80

Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser
85 90 95

Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser
100 105 110

Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu
115 120 125

Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu
130 135 140

Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His
145 150 155 160

Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser
165 170 175

Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg
180 185 190

Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro
195 200 205

Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys
210 215 220

Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln

225 230 235 240

Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn

245 250 255

Asp Pro Lys Gly Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu

260 265 270

Ser Val Glu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Leu Thr Pro Pro Thr Thr Pro

275 280 285

Pro His Lys Ala Asn Gln Asp Asn Pro Phe Arg Ala Ser Pro Lys Leu

290 295 300

Lys Ser Ser Cys Lys Thr Val Val Pro Pro Pro Ser Lys Lys Pro Arg

305 310 315 320

Tyr Ser Glu Ser Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys Gly

325 330 335

Pro Glu Gln Ser Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val Leu

340 345 350

Thr Gly Gly His Glu Glu Arg Lys Thr Lys Arg Pro Ser Leu Arg Leu

355 360 365

Phe Gly Asp His Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu Ile

370 375 380

Leu Ile Asn Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn

385 390 395 400

Lys Asp Val Ser Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr Asp

405 410 415

Ser Asp Gln Cys Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln Val

420 425 430

Ser Pro Cys Ser Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala

435 440 445

Glu Leu Asn Lys His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp

450 455 460

Glu Ala Asp Lys Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu

465 470 475 480

Gln Phe Ser Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp
485 490 495
Gly Leu Phe Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro
500 505 510
Trp Asp Gly Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys
515 520 525
Ser Ser Phe Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser
530 535 540

Leu Phe Ser Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe
545 550 555 560
Ser Arg His Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser
565 570 575
Arg Ser Pro Gly Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu
580 585 590
Ser Ser His Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val
595 600 605

Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser
610 615 620
Tyr Glu Glu Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg
625 630 635 640
Glu Tyr Glu Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln
645 650 655
Arg Gln Lys Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile
660 665 670

Arg Pro Asp Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe
675 680 685
Gly Glu Ile Glu Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp Ser
690 695 700
Tyr Gly Phe Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu
705 710 715 720
Glu Asn Gly Tyr Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu

725 730 735

Tyr Phe Cys Gly Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp Leu
740 745 750

Asp Ser Asn Ser Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr
755 760 765

Asp Ser Leu Asp Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu
770 775 780

Arg Arg
785

<210> 44

<211> 289

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro

1 5 10 15

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn
20 25 30

Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp
35 40 45

Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile
50 55 60

Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu

65 70 75 80

Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser
85 90 95

Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser
100 105 110

Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu
115 120 125

Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu

130 135 140

Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His

145 150 155 160

Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser

165 170 175

Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg

180 185 190

Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro

195 200 205

Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys

210 215 220

Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln

225 230 235 240

Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn

245 250 255

Asp Pro Lys Gly Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu

260 265 270

Ser Val Glu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Val Lys Thr Asn Leu Ile Ser

275 280 285

Lys

<210> 45

<211> 276

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Asp Glu Thr Ser Pro Arg Leu Glu Glu Asp Trp Lys Lys Val Leu

1 5 10 15

Gln Arg Glu Ala Gly Trp Gln Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln

20 25 30

Pro Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val

35 40 45

Asn Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser
50 55 60
Asp Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn
65 70 75 80
Ile Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val
85 90 95

Leu Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro
100 105 110
Ser Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala
115 120 125
Ser Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu
130 135 140
Glu Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln
145 150 155 160

Leu Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn
165 170 175
His Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn
180 185 190
Ser Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln
195 200 205
Arg Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp
210 215 220

Pro Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys
225 230 235 240
Cys Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu
245 250 255
Gln Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro
260 265 270
Asn Leu Phe Leu
275
<210> 46
<211> 138

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro

1 5 10 15

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn

20 25 30

Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp

35 40 45

Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile

50 55 60

Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu

65 70 75 80

Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser

85 90 95

Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser

100 105 110

Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu

115 120 125

Pro Ser Leu Val Arg Thr Leu Pro Thr Val

130 135

<210> 47

<211> 301

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp

1 5 10 15

Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp

20 25 30

Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr

35 40 45

Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile

50 55 60

Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile

65 70 75 80

Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu

85 90 95

Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu

100 105 110

Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met

115 120 125

Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu

130 135 140

Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu

145 150 155 160

Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile

165 170 175

Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys

180 185 190

Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser

195 200 205

Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys

210 215 220

Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys

225 230 235 240

Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr

245 250 255

Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Asp Pro Lys Gly

260 265 270

Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu Ser Val Glu Leu

275 280 285

Ser Gly Thr Ala Gly Val Lys Thr Asn Leu Ile Ser Lys

290 295 300

<210> 48

<211> 671

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu
1 5 10 15
Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn
20 25 30
Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg
35 40 45
Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn
50 55 60

Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys
65 70 75 80
Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr
85 90 95
Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys
100 105 110
Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro
115 120 125

Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Asp Pro Lys
130 135 140
Gly Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu Ser Val Glu
145 150 155 160
Leu Ser Gly Thr Ala Gly Leu Thr Pro Pro Thr Thr Pro Pro His Lys
165 170 175
Ala Asn Gln Asp Asn Pro Phe Arg Ala Ser Pro Lys Leu Lys Ser Ser
180 185 190

Cys Lys Thr Val Val Pro Pro Pro Ser Lys Lys Pro Arg Tyr Ser Glu

195 200 205

Ser Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys Gly Pro Glu Gln

210 215 220

Ser Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val Leu Thr Gly Gly

225 230 235 240

His Glu Glu Arg Lys Thr Lys Arg Pro Ser Leu Arg Leu Phe Gly Asp

245 250 255

His Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu Ile Leu Ile Asn

260 265 270

Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn Lys Asp Val

275 280 285

Ser Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr Asp Ser Asp Gln

290 295 300

Cys Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln Val Ser Pro Cys

305 310 315 320

Ser Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala Glu Leu Asn

325 330 335

Lys His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp Glu Ala Asp

340 345 350

Lys Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu Gln Phe Ser

355 360 365

Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe

370 375 380

Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly

385 390 395 400

Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe

405 410 415

Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser

420 425 430

Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His

435 440 445

Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro
450 455 460
Gly Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His
465 470 475 480
Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val Arg Ser Arg
485 490 495
Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu
500 505 510

Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg Glu Tyr Glu
515 520 525
Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln Arg Gln Lys
530 535 540
Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp
545 550 555 560
Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe Gly Glu Ile
565 570 575

Glu Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp Ser Tyr Gly Phe
580 585 590
Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly
595 600 605
Tyr Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu Tyr Phe Cys
610 615 620
Gly Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Ser Asn
625 630 635 640

Ser Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr Asp Ser Leu
645 650 655
Asp Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg
660 665 670

<210> 49
<211> 7
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 49

ucauaca 7

<210> 50

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><

223> oligonucleotide

<400> 50

gaggcug 7

<210> 51

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 51

cgaggtcgac ttcctaga 18

<210> 52

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 52

catacacggc tctcctctct aaa 23

<210> 53

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 53

tcctgtggca tccatgaaac 20

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 54

caatgcctgg gtacatggtg 20

<210> 55

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 55

ccaagtggag gagcagct 18

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 56

gacaaggtac aacccatcgg 20

<210> 57

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 57

ttcgacacat gggataacga gg 22

<210> 58

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 58

tttttgctgt gagtcccgga g 21

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 59

cagcctagca gcacgtaaat 20

<210> 60

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 60

gaatcgagca ccagttacg 19

<210> 61

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 61

ccttccctga aggttcctcc tt 22

<210> 62

<211> 7

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 62

tgtatga 7

<210> 63

<211> 8

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 63

gtgtatga 8

<210> 64

<211> 9

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 64

cgtgtatga 9

<210> 65

<211> 10

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 65

ccgtgtatga 10

<210> 66

<211> 11

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 66

gccgtgtatg a 11

<210> 67

<211> 12

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 67

agccgtgtat ga 12

<210> 68

<211> 13

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 68

gagccgtgta tga 13

<210> 69

<211> 14

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 69

agagccgtgt atga 14

<210> 70

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 70

gagagccgtg tatga 15

<210> 71

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 71

ggagagccgt gtatga 16

<210> 72

<211> 17

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 72

aggagagccg tgtatga 17

<210> 73

<211> 18

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 73

gaggagagcc gtgtatga 18

<210> 74

<211> 19

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 74

agaggagagc cgtgtatga 19

<210> 75

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 75

gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 76

<211> 8

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 76

tgtatgac 8

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 77

gtgtatgac 9

<210> 78

<211> 10

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 78

cgtgtatgac 10

<210> 79

<211> 11

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 79

ccgtgtatga c 11

<210> 80

<211> 12

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 80

gccgtgtatg ac 12

<210> 81

<211> 13

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 81

agccgtgtat gac 13

<210> 82

<211> 14

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 82

gagccgtgta tgac 14

<210> 83

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 83

agagccgtgt atgac 15

<210> 84

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 84

gagagccgtg tatgac 16

<210> 85

<211> 17

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 85

ggagagccgt gtatgac 17

<210> 86

<211> 18

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 86

aggagagccg tgtatgac 18

<210> 87

<211> 19

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 87

gaggagagcc gtgtatgac 19

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 88

agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 89

<211> 21

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 89

gagaggagag ccgtgtatga c 21

<210> 90

<211> 22

<212> DNA

<213> artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 90

agagaggaga gccgtgtatg ac 22

<210> 91

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide

<400> 91

ucucuccucu cggcacauac ug 22

<210> 92

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide

<400> 92

uuuaaagguu cauuuguaug au 22

<210> 93

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide

<400> 93

uuuaaagguu cauuagatag tu 22

<210> 94

<211> 22

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> miR485-3p_FW1 primer

<400> 94

gtcatacacg gctctcctct ct 22

<210> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW2 primer

<400> 95

tcatacacgg ctctcctctc 20

<210> 96

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW3 primer

<400> 96

catacacggc tctcctctc 19

<210> 97

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW4 primer

<400> 97

catacacggc tctcctctct a 21

<210> 98

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW5 primer

<400> 98

catacacggc tctcgtctc 19

<210> 99

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW6 primer

<400> 99

catacacggc tctcgtctct aa 22

<210> 100

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW7 primer

<400> 100

gtcatacacg gctctcctct ctaa 24

<210> 101

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW8 primer

<400> 101

gtcatacacg gctctcctc 19

<210> 102

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW10 primer

<400> 102

gtcatacacg gctctcctct g 21

<210> 103

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW11 primer

<400> 103

tcatacacgg ctctcctctc t 21

<210> 104

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW12 primer

<400> 104

tcatacacgg ctctcctc 18

<210> 105

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW13 primer

<400> 105

tcatacacgg ctctcctctc taa 23

<210> 106

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW14 primer

<400> 106

catacacggc tctcctctct aa 22

<210> 107

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miR485-3p_FW15 primer

<400> 107

atacacggct ctcctctcta a 21

<210> 108

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fluorescent probe

<400> 108

cgaggtcgac ttcctaga 18

<210> 109

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2-Forward primer

<400> 109

gcggacatgg aggacgtgt 19

<210> 110

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2-Reverse primer

<400> 110

cctggtacac tgccaggca 19

<210> 111

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E3-Forward primer

<400> 111

cggacatgga ggacgtgt 18

<210> 112

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E3/E4-Reverse primer

<400> 112

ctggtacact gccaggcg 18

<210> 113

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E4-Forward primer

<400> 113

cggacatgga ggacgtgc 18

<210> 114

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ApoE flouorescent probe

<400> 114

cagctcctcg gtgctctggc 20