(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0124904
(43) 공개일자 2023년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *A61K 31/7088* (2006.01)
A61K 31/7125 (2006.01) *A61K 47/18* (2017.01)
A61K 47/22 (2017.01) *A61K 47/34* (2017.01)
A61K 47/69 (2017.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01) *A61P 17/14* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/00 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7019780
(22) 출원일자(국제) 2021년12월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년06월13일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2021/062226
(87) 국제공개번호 WO 2022/137188
국제공개일자 2022년06월30일
(30) 우선권주장
63/130,121 2020년12월23일 미국(US)

(71) 출원인
주식회사 바이오오케스트라
대전광역시 유성구 과학로 125, 바이오벤처센터 116호, 216호(어은동, 한국생명공학연구원)
(72) 발명자
류진협
대한민국, 대전광역시 서구 둔산북로 175, 5-1501
샤나즈, 베굼
대한민국, 34007, 대전광역시 유성구 봉산로 12번길 9, 201
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

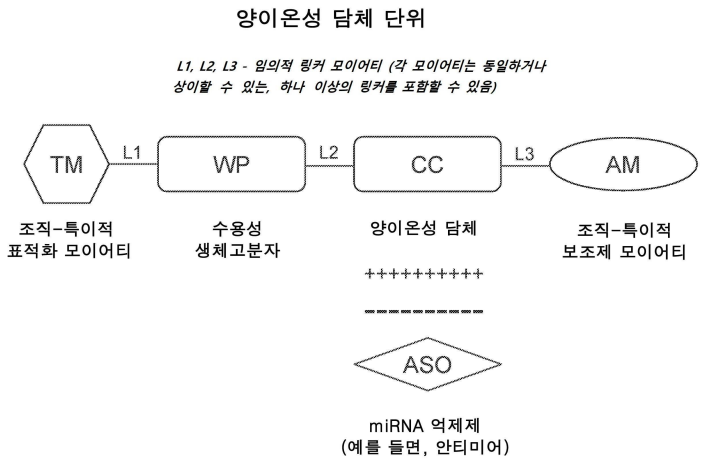
전체 청구항 수 : 총 72 항

(54) 발명의 명칭 **모발 성장을 유도하기 위한 MIRNA-485 억제제의 용도**

(57) 요 약

본 개시내용은 모발 성장 유도, 모발 밀도 증가, 모낭 밀도 증가, 모간 두께 증가, 모발 길이 증가, 탈모 방지, 탈모 감소, 또는 이들의 임의의 조합을 필요로 하는 대상체에서 이를 위한 miRNA 억제제의 용도를 포함한다. 일부 양태에서, 대상체는 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 안드로겐 탈모증, 원형 탈모증, 전신 탈모증, 퇴행기 탈모증, 발모광, 휴지기 탈모, 성장기 탈모, 반모성, 탈모증, 반흔성 탈모증, 두피 가늘어짐, 모간 이상, 감염성 모발 장애, 유전적 장애, 및 화학 요법, 호르몬 불균형, 곰팡이 감염, 약제 섭취, 화학적 모발 치료, 또는 노화로 인한 탈모로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 장애를 갖는다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/7125 (2013.01)
A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 47/34 (2013.01)
A61K 47/6907 (2017.08)
A61K 9/0014 (2013.01)
A61K 9/1075 (2013.01)
A61P 17/14 (2018.01)
(72) 발명자
엠디 호세인, 자밀
대한민국, 34007, 대전광역시 유성구 봉산로 12번길 9, 201
민현수
세종특별자치시 남세종로 302, 604동 1303호 (소담동, 새샘마을6단지)
임유나
대한민국, 34009, 대전광역시 유성구 구즉로52번길 15, 105

명 세 서

청구범위

청구항 1

모발 성장의 유도를 필요로 하는 대상체에서 상기 성장을 유도하는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 2

모발 밀도의 증가를 필요로 하는 대상체에서 상기 밀도를 증가시키는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 3

모낭 밀도의 증가를 필요로 하는 대상체에서 상기 밀도를 증가시키는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 4

모간 두께의 증가를 필요로 하는 대상체에서 상기 두께를 증가시키는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 5

모발 길이의 증가를 필요로 하는 대상체에서 상기 길이를 증가시키는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 6

탈모의 위험에 처한 대상체에서 탈모의 예방 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 7

탈모의 감소를 필요로 하는 대상체에서 상기 탈모를 감소시키는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 8

모낭의 진피초에서 CD36 단백질의 상향조절을 필요로 하는 대상체에서 상기 단백질을 상향조절하는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 안드로겐 탈모증, 원형 탈모증, 전신 탈모증, 퇴행기 탈모증, 발모광, 휴지기 탈모, 성장기 탈모, 반모성, 탈모증, 반흔성 탈모증, 두피 가늘어짐, 모간 이상, 감염성 모발 장애, 유전적 장애, 및 화학 요법, 호르몬 불균형, 곰팡이 감염, 약제 섭취, 화학적 모발 치료, 또는 노화로 인한 탈모로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 장애를 갖는, 방법.

청구항 10

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 인간인, 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 자가포식을 유도하고/거나 염증을 치료

또는 예방하는, 방법.

청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 식세포작용을 유도하는, 방법.

청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 miR485-3p를 억제시키는, 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 miR485-3p가 5'-gucauacacggcucuccucucu-3' (서열번호: 1)를 포함하는, 방법.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2)를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고 상기 miRNA 억제제가 길이가 약 6 내지 약 30개 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1개 뉴클레오티드, 적어도 2개 뉴클레오티드, 적어도 3개 뉴클레오티드, 적어도 4개 뉴클레오티드, 적어도 5개 뉴클레오티드, 적어도 6개 뉴클레오티드, 적어도 7개 뉴클레오티드, 적어도 8개 뉴클레오티드, 적어도 9개 뉴클레오티드, 적어도 10개 뉴클레오티드, 적어도 11개 뉴클레오티드, 적어도 12개 뉴클레오티드, 적어도 13개 뉴클레오티드, 적어도 14개 뉴클레오티드, 적어도 15개 뉴클레오티드, 적어도 16개 뉴클레오티드, 적어도 17개 뉴클레오티드, 적어도 18개 뉴클레오티드, 적어도 19개 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 17

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1개 뉴클레오티드, 적어도 2개 뉴클레오티드, 적어도 3개 뉴클레오티드, 적어도 4개 뉴클레오티드, 적어도 5개 뉴클레오티드, 적어도 6개 뉴클레오티드, 적어도 7개 뉴클레오티드, 적어도 8개 뉴클레오티드, 적어도 9개 뉴클레오티드, 적어도 10개 뉴클레오티드, 적어도 11개 뉴클레오티드, 적어도 12개 뉴클레오티드, 적어도 13개 뉴클레오티드, 적어도 14개 뉴클레오티드, 적어도 15개 뉴클레오티드, 적어도 16개 뉴클레오티드, 적어도 17개 뉴클레오티드, 적어도 18개 뉴클레오티드, 적어도 19개 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 18

제 1 항 내지 제 13 항 및 제 16 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 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), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)으로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는, 방법.

청구항 19

제 1 항 내지 제 13 항 및 제 16 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 30), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 51), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 52), 5'-CCGTGTATGA-3' (서

열번호: 53), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 54), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 55), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 35), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 56), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 57), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 58), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 59), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 60), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 61), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 62); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 63), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 64), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 65), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 66), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 67), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 68), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 69), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 70), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 71), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 72), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 73), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 74), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 75), 및 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 76)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는, 방법.

청구항 20

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제의 서열이 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)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 동일성인, 방법.

청구항 21

제 19 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)에 적어도 90% 유사성을 갖는 서열을 갖는, 방법.

청구항 22

제 1 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 상기 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)를 포함하는, 방법.

청구항 23

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)를 포함하는, 방법.

청구항 24

제 23 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28)를 포함하는, 방법.

청구항 25

제 1 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 26

제 25 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드가 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 및/또는 펩티드 핵산 (PNA)인, 방법.

청구항 27

제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 백본 변형을 포함하는, 방법.

청구항 28

제 27 항에 있어서, 상기 백본 변형이 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형인, 방법.

청구항 29

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 전달 제제로 전달되는, 방법.

청구항 30

제 29 항에 있어서, 상기 전달 제제가 미셀, 엑소좀, 지질 나노입자, 세포외 소포, 또는 합성 소포인, 방법.

청구항 31

제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 바이러스성 벡터에 의해 전달되는, 방법.

청구항 32

제 31 항에 있어서, 상기 바이러스성 벡터가 AAV, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 또는 렌티바이러스인, 방법.

청구항 33

제 32 항에 있어서, 상기 바이러스성 벡터가 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV인, 방법.

청구항 34

제 1 항 내지 제 33 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 전달 제제와 전달되는, 방법.

청구항 35

제 34 항에 있어서, 상기 전달 제제가 미셀, 엑소좀, 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 세포외 소포, 합성 소포, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 접합체, 바이러스성 벡터, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 36

제 34 항 또는 제 35 항에 있어서, 상기 전달 제제가

[WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

또는

[WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[식중

WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

CC는 양으로 하전된 담체 모이어티이고;

AM은 보조제 모이어티이고;

L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커임]

을 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하고,

약 1:1의 이온성 비로 핵산과 혼합된 경우, 상기 양이온성 담체 단위체가 미셀을 형성하는, 방법.

청구항 37

제 36 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 이온성 결합을 통해 상기 양이온성 담체 단위체와 상호작용하는, 방법.

청구항 38

제 36 항 또는 제 37 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레

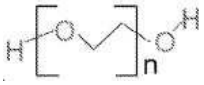
이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 39

제 36 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함하는, 방법.

청구항 40

제 36 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가


, (화학식 I),

[식중 n은 1-1000임]

을 포함하는, 방법.

청구항 41

제 40 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 42

제 40 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 43

제 36 항 내지 제 42 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 선형, 분지형, 또는 수지상인, 방법.

청구항 44

제 36 항 내지 제 43 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 45

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

청구항 46

제 45 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 약 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 47

제 45 항 또는 제 46 항에 있어서, 상기 염기성 아미노산이 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 48

제 36 항 내지 제 47 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 약 40개 라이신 단량체를 포함하는, 방법.

청구항 49

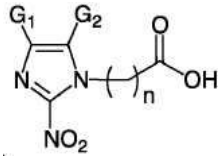
제 36 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있는, 방법.

청구항 50

제 36 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 51

제 50 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가



, (화학식 II),

[식중 G1 및 G2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G1 및 G2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10임]

을 포함하는, 방법.

청구항 52

제 50 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 니트로이미다졸을 포함하는, 방법.

청구항 53

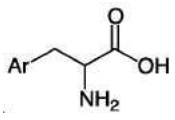
제 50 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 54

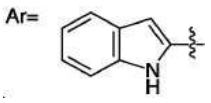
제 36 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 아미노산을 포함하는, 방법.

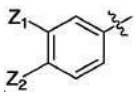
청구항 55

제 54 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가



(화학식 III),

[식중 Ar은 

또는 

이고,

식중 Z1 및 Z2의 각각은 H 또는 OH임]

을 포함하는, 방법.

청구항 56

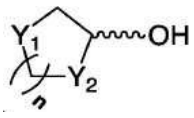
제 36 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 비타민을 포함하는, 방법.

청구항 57

제 56 항에 있어서, 상기 비타민이 환식 고리 또는 환식 헤테로 원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함하는, 방법.

청구항 58

제 57 항에 있어서, 상기 비타민이



(화학식 IV),

[식중 Y1 및 Y2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2임]

을 포함하는, 방법.

청구항 59

제 56 항 내지 제 58 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 60

제 56 항 내지 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 B3인, 방법.

청구항 61

제 56 항 내지 제 60 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 적어도 약 2개, 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3을 포함하는, 방법.

청구항 62

제 61 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 약 10개 비타민 B3을 포함하는, 방법.

청구항 63

제 56 항 내지 제 62 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 64

제 56 항 내지 제 63 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전달 제제가 상기 miRNA 억제제와 연관되고, 이에 의해 미셀을 형성하는, 방법.

청구항 65

제 64 항에 있어서, 상기 회합이 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합인, 방법.

청구항 66

제 64 항 또는 제 65 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 단위체의 양전하 및 상기 miRNA 억제제의 음전하의 상기 이온성 비가 약 1: 1이도록 상기 미셀에서 상기 양이온성 담체 단위체 및 상기 miRNA 억제제가 용액에서 혼합되는, 방법.

청구항 67

제 64 항 내지 제 66 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 단위체가 상기 miRNA 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있는, 방법.

청구항 68

제 1 항 내지 제 67 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 비경구로, 근육내로, 피하로, 안과, 정맥내로, 복강내로, 진피내로, 안와내로, 뇌내로, 두개내로, 뇌실내로, 척수내로, 심실내로, 척수강내로, 수조내로, 낭내로, 종양내로, 국부로, 또는 이들의 임의의 조합으로 투여되는, 방법.

청구항 69

제 1 항 내지 제 68 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 확산, 스프레이, 스팀, 또는 주사에 의해 모발 성장 촉진이 필요한 피부 부위에 투여되는, 방법.

청구항 70

제 1 항 내지 제 68 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 모발 성장 촉진이 필요한 피부 부위에 국부로 투여되는, 방법.

청구항 71

제 1 항 내지 제 68 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 연고, 샴푸, 컨디셔너, 로션, 토닉, 젤, 및 무스로 이루어지는 군으로부터 선택된 형태로 제형화되는, 방법.

청구항 72

제 1 항 내지 제 68 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여 단계가 연고, 샴푸, 컨디셔너, 로션, 토닉, 젤, 및 무스로 이루어지는 군으로부터 선택된 형태로 제형화된 상기 miRNA 억제제에서 상기 대상체를 적시거나 입욕함으로써 수행되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본 출원은 2020년 12월 23일 출원된 미국 가특허 출원 번호 63/130,121의 우선일의 이익을 주장하고; 이의 내용은 이들 전체가 참조로 본원에 편입된다.

[0003] EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록 참조

[0004] 본원과 제출된 ASCII 텍스트 파일 (명칭: Sequence-Listing-4366-037PC02_SL_ST25; 크기: 76,935 바이트; 및 창작일: 2021년 12월 21일)에서 전자적으로 제출된 서열의 내용은 이 전체가 참조로 본원에 편입된다.

[0005] 개시내용의 분야

[0006] 본 개시내용은 모발 성장을 유도하기 위한 miR-485 억제제 (*예를 들면*, 적어도 하나의 miR-485 결합 부위를 포함하는 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드)의 용도를 제공한다.

배 경 기 술

[0007] 개시내용의 배경

[0008] 고령화 인구가 증가하고 스트레스가 현대 사회에서 높아짐에 따라, 머리카락 빠짐 및 탈모의 위협을 받는 사람들의 수가 늘고 있다. 의학적으로 양성이어도, 이들은 영향받는 환자들과 그들의 가족에게 엄청난 정서적, 심리사회적 압박을 유발할 수 있다. 탈모의 원인은 자연적인 노화 과정의 한 부분, 손상된 모발 성장 주기, 유전적 소인, 약제 및/또는 의학적 치료로부터 원치 않는 부작용, 환경적 원인 예컨대 알레르기, 감염, 스트레스, 적절한 식단 및 수면의 부족, 및/또는 기타 전신 장애를 포함한다.

[0009] 미국에서 남성의 40%가 35세가 되면 일부 현저한 탈모가 있을 것으로 추정된다. 이 병태는 남성이 나이가 들수록 악화된다. 60세가 되면, 미국에서 성인 남성의 65%가 현저한 탈모를 겪을 것으로 추정된다. 여성도 탈모로

고통받는다. 여성 탈모는, 남성과 달리, 전형적으로 전체 머리 및 헤어라인에서 현저한 가늘어짐을 포함한다. 미국 피부과 학회는 여성의 40%가 40세까지 현저한 탈모를 경험한다고 보고한다. *예를 들면*, 특허번호 9,173,921 *참조*.

[0010] 그러므로, 모발 성장 유도하기의 새롭고 더욱 효과적인 접근법이 매우 바람직하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0011] 개시내용의 간단한 개요

[0012] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모발 성장의 유도를 필요로 하는 대상체에서 이 성장을 유도하는 방법이 본원에 제공된다.

[0013] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모발 밀도의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이 밀도를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다.

[0014] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모낭 밀도의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이 밀도를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다.

[0015] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모간 두께의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이 두께를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다.

[0016] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모발 길이의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이 길이를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다.

[0017] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 탈모의 위험에 처한 대상체에서 탈모의 예방 방법이 본원에 제공된다.

[0018] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 탈모의 감소를 필요로 하는 대상체에서 탈모를 감소시키는 방법이 본원에 제공된다.

[0019] 일부 양태에서, 대상체는 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 안드로겐 탈모증, 원형 탈모증, 전신 탈모증, 퇴행기 탈모증, 발모광, 휴지기 탈모, 성장기 탈모, 반모성, 탈모증, 반흔성 탈모증, 두피 가늘어짐, 모간 이상, 감염성 모발 장애, 유전적 장애, 및 화학 요법, 호르몬 불균형, 곰팡이 감염, 약제 섭취, 화학적 모발 치료, 또는 노화로 인한 탈모로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 장애를 갖는다. 일부 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0020] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 자가포식을 유도하고/거나 염증을 치료 또는 예방한다.

[0021] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 miR-485-3p를 억제시킨다. 일부 양태에서, miR-485-3p는 5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3' (서열번호: 1)를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2)를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고 여기서 miRNA 억제제는 길이가 약 6 내지 약 30개의 뉴클레오티드를 포함한다.

[0022] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1개 뉴클레오티드, 적어도 2개 뉴클레오티드, 적어도 3개 뉴클레오티드, 적어도 4개 뉴클레오티드, 적어도 5개 뉴클레오티드, 적어도 6개 뉴클레오티드, 적어도 7개 뉴클레오티드, 적어도 8개 뉴클레오티드, 적어도 9개 뉴클레오티드, 적어도 10개 뉴클레오티드, 적어도 11개 뉴클레오티드, 적어도 12개 뉴클레오티드, 적어도 13개 뉴클레오티드, 적어도 14개 뉴클레오티드, 적어도 15개 뉴클레오티드, 적어도 16개 뉴클레오티드, 적어도 17개 뉴클레오티드, 적어도 18개 뉴클레오티드, 적어도 19개 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1개 뉴클레오티드, 적어도 2개 뉴클레오티드, 적어도 3개 뉴클레오티드, 적어도 4개 뉴클레오티드, 적어도 5개 뉴클레오티드, 적어도 6개 뉴클레오티드, 적어도 7개 뉴클레오티드, 적어도 8개 뉴클레오티드, 적어도 9개 뉴클레오티드, 적어도 10개 뉴클레오티드, 적어도 11개 뉴클레오티드, 적어도 12개 뉴클레오티드, 적어도 13개 뉴클레오티드, 적어도 14개 뉴클레오티드, 적어도 15개 뉴

클레오티드, 적어도 16개 뉴클레오티드, 적어도 17개 뉴클레오티드, 적어도 18개 뉴클레오티드, 적어도 19개 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0023] 일부 양태에서, 본원에 기재된 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), 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), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0024] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 30), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 51), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 52), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 53), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 54), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 55), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 35), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 56), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 57), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 58), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 59), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 60), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 61), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 62); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 63), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 64), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 65), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 66), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 67), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 68), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 69), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 70), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 71), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 72), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 73), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 74), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 75), 및 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 76)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0025] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제의 서열은 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)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, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)에 적어도 90% 유사성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28)를 포함한다.

[0026] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 특정 양태에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드는 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 및/또는 펩티드 핵산 (PNA)이다.

[0027] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 백본 변형을 포함한다. 특정 양태에서, 백본 변형은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형이다.

[0028] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 전달 제제로 전달된다. 특정 양태에서, 전달 제제는 미셀, 엑소좀, 지질 나노입자, 세포외 소포, 또는 합성 소포이다.

[0029] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 바이러스성 벡터에 의해 전달된다. 특정 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 또는 렌티바이러스이다. 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV이다.

[0030] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 전달 제제와 전달된다. 특정 양태에서, 전달 제제는 미셀, 엑소

좀, 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 세포외 소포, 합성 소포, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 접합체, 바이러스성 벡터, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0031] 일부 양태에서, 전달 제제는

[0032] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

[0033] 또는

[0034] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[0035] [식중

[0036] WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

[0037] CC는 양으로 하전된 담체 모이어티이고;

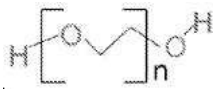
[0038] AM은 보조제 모이어티이고;

[0039] L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커임]

[0040] 을 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하고, 여기서 약 1:1의 이온성 비로 핵산과 혼합된 경우, 양이온성 담체 단위체는 미셀을 형성한다.

[0041] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 이온성 결합을 통해 양이온성 담체 단위체와 상호작용한다. 일부 양태에서, 수용성 중합체는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐 피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 다른 양태에서, 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함한다.

[0042] 일부 양태에서, 수용성 중합체는

[0043] , (화학식 I)

[0044] 를 포함한다,

[0045] 일부 양태에서, n은 1-1000이다. 특정 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. 추가 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.

[0046] 일부 양태에서, 수용성 중합체는 선형, 분지형, 또는 수지상이다.

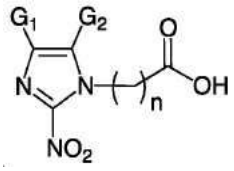
[0047] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다. 특정 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 마침내 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25, 적어도 26, 적어도 27, 적어도 28, 적어도 29, 적어도 30, 적어도 31, 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. 특정 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함한다.

[0048] 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 40개 라이신 단량체를 포함한다.

[0049] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다. 특정 양

태에서, 보조제 모이어티는 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0050] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는



[0051] , (화학식 II),

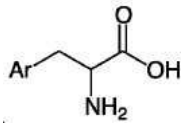
[0052] [식중 G1 및 G2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G1 및 G2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10임]

[0053] 을 포함한다.

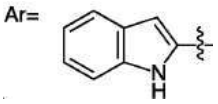
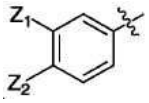
[0054] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 니트로이미다졸을 포함한다. 특정 양태에서, 보조제 모이어티는 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0055] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 아미노산을 포함한다.

[0056] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는



[0057] (화학식 III),

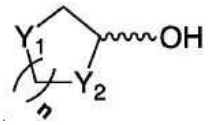
[0058] [식중 Ar은  또는  이고,

[0059] 식중 Z1 및 Z2의 각각은 H 또는 OH임]

[0060] 을 포함한다.

[0061] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 비타민을 포함한다. 특정 양태에서, 비타민은 환식 고리 또는 환식 헤테로원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함한다.

[0062] 일부 양태에서, 비타민은



[0063] (화학식 IV),

[0064] [식중 Y1 및 Y2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2임]

[0065] 을 포함한다.

[0066] 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. 예를 들어, 비타민은 비타민 B3일 수 있다.

[0067] 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. 특정 양태에서, 보조제 모이어티는 약 10개 비타민 B3을 포함한다.

[0068] 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.

[0069] 일부 양태에서, 전달 제제는 miRNA 억제제와 연관되고, 이에 의해 미셀을 형성한다. 예를 들어, 회합은 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합일 수 있다.

[0070] 일부 양태에서, 미셀에서 양이온성 담체 단위체 및 miRNA 억제제는 양이온성 담체 단위체의 양전하 및 miRNA 억제제의 음전하의 이온성 비가 약 1: 1이도록 용액에서 혼합된다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 miRNA 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있다.

[0071] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 비경구로, 근육내로, 피하로, 안과, 정맥내로, 복강내로, 진피내로, 안와내로, 뇌내로, 두개내로, 뇌실내로, 척수내로, 심실내로, 척수강내로, 수조내로, 낭내로, 종양내로, 또는 이들의 임의의 조합으로 투여된다.

[0072] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 확산, 스프레이, 스팀, 또는 주사에 의해 모발 성장 촉진이 필요한 피부 부위에 투여된다.

[0073] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 모발 성장 촉진이 필요한 피부 부위에 국부로 투여된다.

[0074] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miRNA 억제제는 연고, 샴푸, 컨디셔너, 로션, 토닉, 젤, 및 무스로 이루어지는 군으로부터 선택된 형태로 제형화된다. 일부 양태에서, 투여 단계는 연고, 샴푸, 컨디셔너, 로션, 토닉, 젤, 및 무스로 이루어지는 군으로부터 선택된 형태로 제형화된 본원에 기재된 miRNA 억제제에서 대상체를 적시거나 입욕함으로써 수행된다.

도면의 간단한 설명

[0075] 도면의 간단한 설명

도 1은 본 개시내용의 담체 단위체의 예시적 구성을 도시한다. 제시된 예는 양이온성 담체 모이어티를 포함하고, 이는 miRNA 억제제 (안티미어)와 정전기적으로 상호작용할 수 있다. 일부 양태에서, 조직 특이적 아쥬반트 모이어티 (AM)는 수용성 생체고분자 (WP)와 양이온성 담체 (CC) 사이 위치될 수 있다. CC 및 AM 구성요소는 단순성을 위하여 선형 배열로 묘사된다. 하지만, CC 및 AM은 스캐폴드 방식으로 배열될 수 있다.

도 2a-2f는 0.1 mg/kg (mpk), 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 투여 후 5 일 (도 2a), 7 일 (도 2b), 9 일 (도 2c), 12 일 (도 2d), 14 일 (도 2e), 및 16 일 (도 2f) 제모된 C57BL/6J 마우스에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 모발 성장 효과의 평가를 제공한다.

도 2g는 0.1 mg/kg (mpk), 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 투여 후 5 일, 7 일, 9 일, 12 일, 및 14 일 제모된 C57BL/6J 마우스에서 모발 재성장 정량화를 도시한다. y-축은 모발 재성장 정량화 척도 (0-6)를 도시하고, 여기에서 등급 0 = 피부 분홍색, 색소침착 없음; 등급 1 = 흑화를 나타내는 <30% 피부 부위, 그러나 가시적 모발 없음; 등급 2 = 흑화를 나타내는 30%-70% 피부 부위, 가시적 모발 없음; 등급 3 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 또는 30% 모발 가시적; 등급 4 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 및 30% - 70% 모발 가시적; 등급 5 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 및 >70% 모발 가시적; 및 등급 6 = 흑화를 나타내는 >90% 피부 부위, >90% 및 모발 가시적. 데이터는 평균값 (n=6) ± 평균의 표준 오차 (SEM)로서 표현된다. PBS-처리 대조군과 비교된 miR485-3p 억제제 (485 ASO-001)-처리 그룹의 *p<0.05 및 **p<0.01.

도 3a-3b는 0.1 mg/kg (mpk), 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001) 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) 투여 후 12 일 (도 3a) 및 16 일 (도 3b) 제모된 C57BL/6J 마우스에서 모간 밀도에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 도시한다.

도 3c는 0.1 mg/kg (mpk), 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 투여 후 12 일 (백색 막대) 및 16 일 (음영된 막대) 제모된 C57BL/6J 마우스에서 모발 밀도 정량화를 도시한다. y-축은 이미지 (x200 배율; 실제 면적 3.6 mm^2)를 분석함으로써 모발 밀도의 평가를 도시한다. 데이터는 평균 값 (n=6) ± 평균의 표준 오차 (SEM)로서 표현된다. PBS-처리 대조군과 비교된 485 ASO-001-처리 그룹의 *p<0.05 및 **p<0.01.

도 4a-4b는 0.1 mg/kg (mpk), 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 투여 후 16 일 (도 4a) 및 21 일 (도 4b) 제모된 C57BL/6J 마우스

에서 모발 길이에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 도시한다.

도 4c는 0.1 mg/kg (mpk), 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 투여 후 16 일 (백색 막대) 및 21 일 (음영된 막대) 제모된 C57BL/6J 마우스에서 모발 길이 정량화를 도시한다. y-축은 mm로 모발 길이를 도시한다. 데이터는 평균 값 (n=6) ± 평균의 표준 오차 (SEM)로서 표현된다. PBS-처리 대조군과 비교된 485 ASO-001-처리 그룹의 *p<0.05 및 **p<0.01.

도 4d-4i는 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) 및 양성 대조군 (2% 미녹시딜) 2회 근육내 주사의 투여 후 5 일 (도 4d), 7 일 (도 4e), 10 일 (도 4f), 12 일 (도 4g), 14 일 (도 4h), 및 16 일 (도 4i) C57BL/6J 마우스에서 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 모발 재성장 효과의 평가를 제공한다.

도 4j는 0.3 mg/kg (mpk) 또는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) 및 양성 대조군 미녹시딜의 2회 근육내 주사 후 7 일, 10 일, 12 일, 14 일, 16 일 제모된 C57BL/6J 마우스에서 모발 재성장 정량화를 도시한다. y-축은 모발 재성장 정량화 척도 (0-6)를 도시하고, 여기에서 등급 0 = 피부 분홍색, 색소침착 없음; 등급 1 = 흑화를 나타내는 <30% 피부 부위, 그러나 가시적 모발 없음; 등급 2 = 흑화를 나타내는 30%-70% 피부 부위, 가시적 모발 없음; 등급 3 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 또는 30% 모발 가시적; 등급 4 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 및 30% - 70% 모발 가시적; 등급 5 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 및 >70% 모발 가시적; 및 등급 6 = 흑화를 나타내는 >90% 피부 부위, >90% 및 모발 가시적. 데이터는 그룹당 5마리 마우스에 기초하고 평균 ± SEM으로서 보고된다.

도 5a-5b는 0.3 mg/kg (mpk) (중간 막대) 또는 0.6 mg/kg (mpk) (오른쪽 막대)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001 또는 "ASO") 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) (왼쪽 막대)의 2회 근육내 주사의 투여 후 10 일째 제모후 (PD) (도 5a) 및 16 일 (도 5b)에서 485-3p (FW7_모방체) 발현 수준에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 도시한다.

도 6a-6b는 모낭 주기 10 후제모 (pd) 동안 마우스 등 피부의 H&E 염색 결과를 도시한다. 도 6a는 처리 10 일후 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) 및 양성 대조군 (미녹시딜)으로 처리된 마우스 등 피부의 세로 및 가로 단면을 도시한다. 도 6b는 처리 10 일후 0.3 mg/kg (mpk) 및 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 2회 근육내 주사로 처리된 마우스 등 피부의 세로 및 가로 단면을 도시한다.

도 6c-6h는 10 pd에 관한 제모된 C57BL/6J 마우스에서 진피 (μm) (도 6c) 및 피하조직 (μm) (도 6d)의 두께, 모낭 길이 (μm) (도 6e) 및 모구 직경 (μm) (도 6f), 진피 (도 6g) 및 피하조직 (도 6h)에서의 모낭 밀도에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 도시한다. 상이한 처리 그룹은 도 6a 및 6b에 기재된 것과 동일하다.

도 7a-7b는 16 pd에 관한 마우스 등 피부의 H&E 염색 결과를 도시한다. 도 7a는 처리 16 일후 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) 및 양성 대조군 (미녹시딜)으로 처리된 마우스 등 피부의 세로 및 가로 단면을 도시한다. 도 7b는 처리 16 일후 0.3 mg/kg (mpk) 및 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 2회 근육내 주사로 처리된 마우스 등 피부의 세로 및 가로 단면을 도시한다.

도 7c-7h는 16 pd에 관한 0.3 mg/kg (mpk) 및 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001), 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군) 및 (미녹시딜 양성 대조군)의 2회 근육내 주사후 16 pd에 관한 제모된 C57BL/6J 마우스에서 피하조직 (μm) (도 7c) 및 진피 (μm) (도 7d)의 두께, 모낭 길이 (μm) (도 7e) 및 모구 직경 (μm) (도 7f), 진피 (도 7g) 및 피하조직 (도 7h)에서의 모낭 밀도에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 도시한다. n = 시점당 3-10마리 마우스.

도 8a는 CD36 및 혈관 내피 성장 인자 (VEGF-A)의 발현의 웨스턴 블롯팅 분석을 도시한다.

도 8b-8c는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001) 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 2회 근육내 주사로 처리후 10 pd에 관한 CD36 단백질 (도 8b) 또는 VEGF-A 단백질 (도 8c) 발현 정량화를 도시한다. 단백질의 상대 발현은 β-액틴을 사용하여 정규화되었다. 값은 평균±평균의 표준 오차이다. *p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

도 9a는 Wnt3a 및 β-카테닌 발현의 웨스턴 블롯팅 분석을 도시한다.

도 9b-9c는 0.6 mg/kg (mpk)의 miR-485 억제제 (485 ASO-001) 또는 인산염-완충 식염수 (PBS) (음성 대조군)의 2회 근육내 주사로 처리후 10 pd에 관한 Wnt3a 단백질 (도 9b) 또는 β-카테닌 단백질 (도 9c) 발현 정량화를

도시한다. 단백질의 상대 발현은 β-액틴을 사용하여 정규화되었다. 값은 평균±평균의 표준 오차이다. *p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

도 10a-10b는 CD36에 대하여 면역형광성 염색을 도시한다. PBS 처리된 대조군 (도 10a) 및 CD36-풍부 진피초 (DS) 발현은 miR-485 억제제 (485 ASO-001) 처리된 모낭에서 모낭의 혈관주위 영역에서 관찰된다 (도 10b) 눈금 막대 = 50 ㎛.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0076] 개시내용의 상세한 설명

[0077] 본 개시내용은, 적어도 하나의 miR-485 결합 부위를 포함하는 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 모발 성장 유도, 모발 밀도 증가, 모낭 밀도 증가, 모간 두께 증가, 모발 길이 증가, 탈모 방지, 탈모 감소, 또는 이들의 임의의 조합을 필요로 하는 대상체에서 이를 위한 miR-485 억제제의 용도에 관한 것이고, 여기서 뉴클레오티드 분자는 단백질을 인코딩하지 않는다.

[0078] 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.

[0079] 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.

[0080] *I. 용어*

[0081] 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.

[0082] 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.

[0083] 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.

[0084] 양태가 본원에 언어 "포함하는"으로 기재되는 곳마다, "으로 이루어지는" 및/또는 "으로 본질적으로 이루어지는"의 관점에서 기재된 달리 유사한 양태가 또한 제공됨이 이해된다.

[0085] 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.

[0086] 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.

[0087] 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.

[0088] 용어 "모발"은 비제한적으로 두피, 속눈썹, 눈썹, 콧수염, 턱수염, 귀, 비강, 가슴, 음모, 보조를 포함하는 두피, 머리, 얼굴 및/또는 신체 모발을 본원에서 의미하는데 사용된다.

[0089] 용어 "모발 성장"은, 비제한적으로 모발의 성장의 유도 및 눈에 더 잘 보이게 하는 것을 포함하는, 새로운 모발 주기의 성장 초기 유도, 모발 주기의 활성 성장 단계 (성장기) 연장, 모발의 성장 속도 증가, 및/또는 모간의 폭 증가를 본원에서 의미하는데 사용된다.

[0090] 용어 "탈모" 및 "모발 줄어듬"은, 연령 증가, 유전적 소인 및/또는 기타 원인에 의해 야기될 수 있고, 남성 또는 여성, 젊은이 또는 노인에 의해 고통받을 수 있는, 정상적인 모발 밀도의 축소 및/또는 모발 주기의 정상적인 성장 단계 (성장기)의 단축 및/또는 모간의 폭의 감소, 및 모발 수의 감소를 본원에서 의미하는데 사용된다. 용어 "탈모", "탈모증", "대머리", 및 "패턴 탈모"는 본원에서 교환가능하게 사용된다.

[0091] 용어 "모발 성장을 유도하다", "모발 성장을 촉진하다", "모발 성장을 자극하다", "모발 성장을 용이하게 하다", 또는 "모발 성장을 증가시키다"는 영향받은 피부 (또는 두피) 표면의 적어도 일부에서 모발의 수 및/또는 길이 및/또는 두께에서의 증가의 결과들 중 적어도 하나를 본원에서 의미하는데 사용된다.

[0092] 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.

[0093] 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.

[0094] 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.

[0095] 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 AAV를 포함한다.

[0096] 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.

[0097] 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).

[0098] 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.

[0099] 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.

[0100] 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.

[0101] 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.

[0102] 용어 "상보적" 및 "상보성"은 왓슨-크릭 염기-짝짓기 규칙에 의해 서로 관련되는 둘 이상의 올리고머 (즉, 핵염

기 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.

[0103] 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.

[0104] 용어 "부형제" 및 "담체"는 교환가능하게 사용되고 화합물, 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제의 투여를 추가로 촉진시키기 위해 약학적 조성물에 첨가된 불활성 서브스턴스를 지칭한다.

[0105] 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.

[0106] 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.

[0107] 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.

[0108] 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.

[0109] 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.

[0110] 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.

[0111] 제1 서열에서 한 위치가 제2 서열에서 상응하는 위치와 동일한 아미노산 또는 뉴클레오티드에 의해 점유되는 경

우, 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.

[0112] 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, bl2seq이다. Bl2seq는 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.

[0113] 서열 정렬은 당업계에서 알려진 방법 예컨대 MAFFT, Clustal (ClustalW, Clustal X 또는 Clustal Omega), MUSCLE, 등을 사용하여 실행될 수 있다.

[0114] 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.

[0115] 특정 양태에서, 제2 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)에 대한 제1 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)의 백분율 동일성 (%ID) 또는 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.

[0116] 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.

[0117] 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.

[0118] 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.

[0119] 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.

[0120] 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.

[0121] "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, 본 개시내용의 miR-485 억제제는, miR-485 억제제가 miR-485 서열에 하이브리드화하도록, 표적 miR-485 (예를 들면, miR-485-3p) 핵산 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 추가 양태에서, miR-485 억제제 서열에 대한 miR-485의 하이브리드화는 miR-485의 발현, 기능, 및/또는 활성을 감소, 변경, 및/또는 조절한다 (*예를 들면,* 하이브리드화는 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현에서 증가를 초래한다).

[0122] 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.

[0123] 용어 "미스매치" 또는 "미스매치들"은 염기 짝짓기 규칙에 따라 표적 핵산 서열 (*예를 들면,* miR-485)에 매칭되지 않는 올리고머 핵염기 서열 (*예를 들면,* miR-485 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 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.

[0124] 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 억제제, *예를 들면*, miR-485 억제제는 miR-485 발현, 기능, 및/또는 활성을 조절 (예를 들면, 감소, 변경, 또는 폐지)할 수 있고, 이에 의해, SIRT1 단백질 또는 유전자 발현 및/또는 활성을 조절할 수 있다.

[0125] "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.

[0126] 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.

[0127] 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.

[0128] 용어 "폴리뉴클레오티드"는, 본원에 사용된 경우에, 리보뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드, 이들의 유사체, 또는 이들의 혼합물을 포함하는, 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭한다.

[0129] 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.

[0130] 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.

[0131] 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).

[0132] 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은, *예를 들면*, SIRT1 유전자에 의해 인코딩되는 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.

[0133] 폴리펩티드는 유전자 산물, 자연 발생 폴리펩티드, 합성 폴리펩티드, 동족체, 동원체, 이원체, 단편 및 기타 등가물, 변이체, 및 전술한 것들의 유사체를 포함한다.

[0134] 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 발견된다. 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.

[0135] 용어 "예방하다", "예방하기", 및 이의 이형은 본원에 사용된 경우에, 질환, 장애 및/또는 병태의 발병을 부분

적으로 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.

[0136] 용어 "탈모를 예방하다", "탈모 예방하기", "모발 줄어듬을 예방하다", 및 "모발 줄어듬을 예방하기"는 본원에 사용된 대로 미리 본원에 기재된 대로 임의의 탈모 또는 모발 줄어듬 축소하기에 관한 효과를 의미한다.

[0137] 용어 "탈모를 감소시키다", "탈모 감소시키기", "모발 줄어듬을 감소시키다", 및 "모발 줄어듬을 감소시키기"는 본원에 사용된 대로 축소를 필요로 하는 대상체에서 (예를 들면, 탈모에 의해 영향받은 대상체에서) 본원에 기재된 대로 임의의 탈모 또는 모발 줄어듬 축소하기에 관한 효과를 의미한다.

[0138] 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.

[0139] 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 폴리머라제의 결합을 담당하는 단백질 결합 도메인 (공통 서열)이 발견될 것이다. 일부 양태에서, 본 개시내용과 사용될 수 있는 프로모터는 조직 특이적 프로모터를 포함한다.

[0140] 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.

[0141] 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.

[0142] 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.

[0143] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 (*예를 들면*, 하나 이상의 miR-485 결합 부위를 포함하는 RNA를 포함하는 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 신호

는 유전자 산물 발현을 지시하기 위해 코딩 영역과 작동가능하게 또한 연관될 수 있다.

[0144] 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.

[0145] 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.

[0146] 본원에 사용된 경우에, 어구 "치료를 필요로 하는 대상체" 및 "탈모의 위험에 처한 대상체"는, *예를 들면*, 모발 성장을 유도하기 위해 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*예를 들면,* miR-485 억제제)의 투여로부터 이익을 얻을 대상체, 예컨대 포유류 대상체를 포함한다. 일부 양태에서, 대상체는 알로페시아 그레아타, 안드로겐 탈모증, 원형 탈모증, 전신 탈모증, 퇴행기 탈모증, 발모광, 휴지기 탈모, 성장기 탈모, 반모성, 탈모증, 반흔성 탈모증, 두피 가늘어짐, 모간 이상, 감염성 모발 장애, 유전적 장애, 및 화학 요법, 호르몬 불균형, 곰팡이 감염, 약제 섭취, 화학적 모발 치료, 또는 노화로 인한 탈모로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 장애를 갖는다. 일부 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0147] 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.

[0148] 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.

[0149] 용어 "업스트림"은 참조 뉴클레오티드 서열에 대해 5' 위치되는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0150] "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 폴리뉴클레오티드 단편을 결찰시킴으로써 성취될 수 있다.

[0151] 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.

[0152] ***II. 사용 방법***

[0153] miR-485를 억제시키는 화합물 ("miRNA 억제제")을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모발 성장의 유도를 필요로 하는 대상체 (예를 들면, 탈모의 위험에 처한 대상체)에서 이 성장을 유도하는 방법이 본원에 제공된다. 또한 miR-485를 억제시키는 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 탈모의 감소를 필요로 하는 대상체

(예를 들면, 탈모의 위험에 처한 대상체)에서 탈모를 감소시키는 방법이 본원에 제공된다. 또한 miR-485를 억제시키는 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모발 밀도의 증가를 필요로 하는 대상체 (예를 들면, 탈모의 위험에 처한 대상체)에서 모발 밀도를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다. 또한 miR-485를 억제시키는 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모발 길이의 증가를 필요로 하는 대상체 (예를 들면, 탈모의 위험에 처한 대상체)에서 모발 길이를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다. 또한 miR-485를 억제시키는 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모낭 밀도의 증가를 필요로 하는 대상체 (예를 들면, 탈모의 위험에 처한 대상체)에서 모낭 밀도를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다. 또한 miR-485를 억제시키는 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 모간 두께의 증가를 필요로 하는 대상체 (예를 들면, 탈모의 위험에 처한 대상체)에서 모간 두께를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다. 또한 miR-485를 억제하는 화합물 (miRNA 억제제)을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 탈모의 위험에 처한 대상체에서 탈모를 예방하는 방법이 본원에 제공된다.

[0154] 탈모의 근본적인 원인은 개인마다 항상 동일하지 않다. 또한, 모발이 성장하는 과정은 여러 단계를 포괄하고 정상적인 활발한 모발 성장을 변경시킬 수 있는 많은 기여 요인들이 있다. 모발 성장 주기는 3 단계로 나누어진다: 모낭에서 매우 상당한 수준의 세포 증식이 발생하는, 모발이 활발하게 성장하고 있는 성장기 단계; 모낭이 모발 발달을 허용하기 위해 일시적으로 이의 증식 활성을 늦추는 때, 퇴행기 단계; 그리고 모발이 빠지는 때까지, 모낭이 단순히 성장을 멈추고 퇴행하고, 새로운 성장기 단계가 시작하는 휴지기 단계. 보통 사람이 매일 많은 모발을 잃는 것은 물론 완전히 정상적이고, 그러므로, 이 주기는 손실되는 모발을 보충하기 위해, 지속적으로 평생 동안 정상적으로 반복된다. 주기는 모든 개인에서 나이가 들면서 느려지지만, 정상적인 모발은 점진적으로 가는 모발 (연모)로 대체되고, 주기는 짧아진다. 초기-내지-중기 탈모는, 존재하는 모발이 가늘고 가벼우며 두피에 가까운 반면, 모낭 밀도 및 모낭당 모간이 기본적으로 변화되지 않도록 지연된 모간 성장 그리고 상당 부분의 모낭의 모간의 가늘어짐으로서 거의 전적으로 나타난다. 비정상적인 탈모로 고통받는 개인의 경우, 비정상적인 가속이나 다른 과정의 변경을 통해서이든, 정상적인 주기적 과정이 일부 방식에서 중단되는 것은 명백하다. 이것은 결국 휴지기 단계로 더 빠르게 이동하게 되고, 이는 차례로 점차적으로 더 많은 연모를 생산하게 되고 궁극적으로 대머리를 초래할 수 있다. 말기 대머리에서만 모낭이 비가역적으로 비활성 상태가 된다. *예를 들면*, 국제 공개 번호 WO2004/078117A2 *참조*.

[0155] 모발 두께 또는 밀도 D는 3가지 인자의 곱으로서 정량화될 수 있다: (1) 제곱 센티미터당 모낭으로 측정된 모낭 밀도, F, (2) 모낭당 평균 모간 수, N, 및 (3) 모간의 평균 두께 T. 모발 밀도 D를 나타내는 이들 3개 수량의 곱.

[0156] $D = F*N*T$

[0157] 모발 줄어듦의 또 다른 가능한 객관적인 척도는 머리에서 모발의 선택된 서브세트에 대하여 2개의 표준 편차를 벗어난 모발 폭의 분율일 수 있다.

[0158] 모발 밀도의 또 다른 대안적 척도에서, 모발 두께 (직경)는 모발 단면적 $A = \pi T^2/4$로 대체될 수 있다. 머리카락의 "풍만함"의 전반적인 의미 또는 지표는 모발 길이 L을 또한 포함하여, 모발 볼륨 파라미터 $V = F*N*A*L$을 초래할 수 있다. 남은 모발을 자라게 함으로써 모발의 볼륨감을 증가시킬 수 있기 때문에, V는 겉보기 척도의 역할을 하지만 모발 줄어듦을 가린다. 그래서, D = FNA는 사용된 객관적 표준이 될 것이다.

[0159] 전형적인 모낭 단위 밀도는 60-120 cm^{-2} 범위이고 각 모낭은 일반적으로 하나 또는 두 개의 모간, 그러나 드물게 다양한 연령대의 2개 초과의 모간을 포함한다. 모간 두께는 굵은, 중간 또는 가는으로서 분류될 수 있고, 모간 두께의 평균 값은 가는 모발의 경우 폭이 약 40 미크론부터 다양할 것이고, 한편 굵은 모발은 평균 폭이 90 미크론일 것이다. N은 일반적으로 1과 2 사이 숫자일 것이고, 더욱 일반적으로 1-1.25는 밀도 결정에서 제거될 수 있지만 일부 드문 경우에 고려될 필요가 있을 수 있다.

[0160] 모든 개인에 대하여 정규화된 모발 밀도 측정은 상부 및/또는 전방 모발 밀도 대 좌측 및/또는 우측 모발 밀도의 비율이다. 그래서, 개인의 모발 줄어듦 비율은, 각 개별적인 영역에 대하여 $D_{상부}$ 및 $D_{측면} = F*N*T$인, $R = 100 \times (D_{상부})/D_{측면}$으로서 표현될 수 있다. *예를 들면*, 이 전체가 참조로 본원에 포함되는, 미국 공개 번호 2009/0036800 *참조*.

[0161] 일부 양태에서, 대상체는 알로페시아 그레아타, 안드로겐 탈모증, 원형 탈모증, 전신 탈모증, 퇴행기 탈모증, 발모광, 휴지기 탈모, 성장기 탈모, 반모성, 탈모증, 반흔성 탈모증, 두피 가늘어짐, 모간 이상, 감염성 모발 장애, 유전적 장애, 및 화학 요법, 호르몬 불균형, 곰팡이 감염, 약제 섭취, 화학적 모발 치료, 또는 노화로 인

한 탈모로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 장애를 갖는다. 일부 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0162] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 당업계에 알려진 임의의 적합한 루트에 의해 투여될 수 있다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 비경구로, 근육내로, 피하로, 안과, 정맥내로, 복강내로, 진피내로, 안와내로, 뇌내로, 두개내로, 뇌실내로, 척수내로, 심실내로, 척수강내로, 수조내로, 낭내로, 종양내로, 국부로, 또는 이들의 임의의 조합으로 투여된다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 근육내로 투여된다.

[0163] 일부 양태에서, miR-485 억제제는 확산, 스프레이, 스팀, 또는 주사에 의해 모발 성장 촉진이 필요한 피부 부위에 투여된다.

[0164] 일부 양태에서, miR-485 억제제는 모발 성장 촉진이 필요한 피부 부위에 국부로 투여된다.

[0165] 일부 양태에서, miR-485 억제제는 연고, 샴푸, 컨디셔너, 로션, 토닉, 젤, 및 무스로 이루어지는 군으로부터 선택된 형태로 제형화된다. 일부 양태에서, 투여 단계는 연고, 샴푸, 컨디셔너, 로션, 토닉, 젤, 및 무스로 이루어지는 군으로부터 선택된 형태로 제형화된 miRNA 억제제에서 대상체를 적시거나 입욕함으로써 수행된다.

[0166] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 하나 이상의 추가의 치료적 제제와 조합으로 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 추가의 치료적 제제 및 miR-485 억제제는 동시에 투여된다. 특정 양태에서, 추가의 치료적 제제 및 miR-485 억제제는 순차적으로 투여된다.

[0167] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제의 투여는 임의의 역효과를 초래하지 않는다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 대상체에게 투여된 때 체중에 악영향을 미치지 않는다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 대상체에게 투여된 때 증가된 사망률을 초래하지 않거나 병리학적 이상을 유발하지 않는다.

[0168] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 하나 이상의 유전자의 발현 및/또는 활성을 조절함으로써 치료적 효과 (*예를 들면*, 모발 성장 유도 또는 탈모 예방)를 발휘할 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 *CTBP1, TRIP6, SIRT1, CD36, PGC1-a* 또는 이들의 조합으로부터 선택된 유전자의 발현 및/또는 활성을 조절할 수 있다.

[0169] *CTBP1 조절*

[0170] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miR-485 억제제를 세포와 접촉시키는 것은 세포에서 CTBP1 단백질 및/또는 *CTBP1* 유전자의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0171] C-말단 결합 단백질 1 (CTBP1)은 인간에서 *CTBP1* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. CTBP1은 서열-특이적 DNA-결합 단백질에 결합하고, *예를 들면*, 억압적 히스톤 마크를 추가하고 활성화 마크를 제거하는 히스톤 변형 효소를 모집함으로써 유전자를 끄는데 도움을 주는 조절 단백질이다. CTBP1 단백질은 또한 자가-회합하고 유전자 조절 복합체를 화합시킬수 있다.

[0172] 인간에서, *CTBP1* 유전자는 염색체 4 (GenBank 수탁 번호 NC_000004.12의 뉴클레오티드 1,211,444 내지 1,250,355, 마이너스 가닥 배향)에 위치해 있다. *CTBP1* 유전자의 동의어, 및 이의 인코딩된 단백질은 알려지고 "브레펠딘 A-리보실화된 기질", "BARS", "HADDTS", "CtBP1" 또는 "CTBP"를 포함한다.

[0173] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는 인간 CTBP1 단백질의 적어도 2개의 알려진 아이소폼이 있다. CTBP1 아이소폼 1 (UniProt 식별자: Q13363-1; 서열번호: 31)은 440개 아미노산으로 이루어지고 표준 서열로서 선정되었다. CTBP1 아이소폼 2 (UniProt 식별자: Q13363-2; 서열번호: 32)는 429개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 표준 서열과 상이하다: 1-13: MGSSHLLNKGLPL → MS. 하기 표 1은 2개 CTBP1 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 1. CTBP1 단백질 아이소폼

아이소폼 1 (UniProt: Q13363-1) (서열번호: 31)	MGSSHLLNKGLPLGVRPPIMNGPLHPRPLVALLDGRDCTVEMPILKDVATVAFCDAQSTQ EIHEKVLNEAVGALMYHTITLTREDLEKFKALRIIVRIGSGFDNIDIKSAGDLGIAVCNV PAASVEETADSTLCHILNLYRRATWLHQALREGTRVQSVEQIREVASGAARIRGETLGII GLGRVGQAVALRAKAFGFNVLFYDPYLSDGVERALGLQRVSTLQDLLFHSDCVTLHCGLN EHNHHLINDFTVKQMRQGAFLVNTARGGLVDEKALAQALKEGRIRGAALDVHESEPFSFS QGPLKDAPNLICTPHAAWYSEQASIEMREEAAREIRRAITGRIPDSLKNCVNKDHLTAAT HWASMDPAVVHPELNGAAYRYPPGVVGVAPTGIPAAVEGIVPSAMSLSHGLPPVAHPPHA PSPGQTVKPEADRDHASDQL
아이소폼 2 (UniProt: Q13363-2) (서열번호: 32)	MSGVRPPIMNGPLHPRPLVALLDGRDCTVEMPILKDVATVAFCDAQSTQEIHEKVLNEAV GALMYHTITLTREDLEKFKALRIIVRIGSGFDNIDIKSAGDLGIAVCNVPAASVEETADS TLCHILNLYRRATWLHQALREGTRVQSVEQIREVASGAARIRGETLGIIGLGRVGQAVAL RAKAFGFNVLFYDPYLSDGVERALGLQRVSTLQDLLFHSDCVTLHCGLNEHNHHLINDFT VKQMRQGAFLVNTARGGLVDEKALAQALKEGRIRGAALDVHESEPFSFSQGPLKDAPNLI CTPHAAWYSEQASIEMREEAAREIRRAITGRIPDSLKNCVNKDHLTAATHWASMDPAVVH PELNGAAYRYPPGVVGVAPTGIPAAVEGIVPSAMSLSHGLPPVAHPPHAPSPGQTVKPEA DRDHASDQL

[0174]

[0175] 본원에 사용된 경우에, 용어 "CTBP1"은 세포에 의해 자연적으로 발현되는 CTBP1의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CTBP1 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CTBP1 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 CTBP1 아이소폼 1 및 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 나타내지 않는 한, 양쪽 아이소폼 1 및 아이소폼 2는 본원에서 "CTBP1"로서 집합적으로 지칭된다.

[0176] 일부 양태에서, 세포를 miR-485 억제제와 접촉시키는 것은, 참조 세포 (*예를 들면*, miR-485 억제제와 접촉되지 않은 상응하는 세포)에서 발현 및/또는 활성과 비교하여, 세포에서 CTBP1 단백질 및/또는 *CTBP1* 유전자의 발현 및/또는 활성을 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배 또는 그 이상만큼 증가시킨다.

[0177] 임의의 하나의 이론에 의해 구속되지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 CTBP1 단백질 및/또는 *CTBP1* 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0178] *TRIP6 조절*

[0179] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miR-485 억제제를 세포와 접촉시키는 것은 세포에서 TRIP6 단백질 및/또는 *TRIP6* 유전자의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0180] 갑상선 수용체-상호작용 단백질 6 (TRIP6)은 인간에서 *TRIP6* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. TRIP6 단백질은 직신 계열의 구성원이고 3개 LIM 아연-결합 도메인을 포함한다. TRIP6 단백질은 액틴 스트레스 섬유를 따라 그리고 초점 접착 부위에 국한되는 것으로 나타났다.

[0181] 인간에서, *TRIP6* 유전자는 염색체 7 (GenBank 수탁 번호 NC_000007.14의 뉴클레오티드 100,867,387 내지 100,873,454, 플러스 가닥 배향)에 위치해 있다. *TRIP6* 유전자의 동의어, 및 이의 인코딩된 단백질은 알려지고 "갑상선 호르몬 수용체 상호작용자 6", "ZRP-1", "OIP1", "갑상선 호르몬 수용체 상호작용 단백질 6", "OPA-상호작용 단백질 1", 및 "직신 관련된 단백질 1"을 포함한다.

[0182] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는 인간 TRIP6 단백질의 적어도 3개의 알려진 아이소폼이 있다. TRIP6 아이소폼 1 (UniProt 식별자: Q15654-1; 서열번호: 78)은 4766개 아미노산으로 이루어지고 표준 서열로 선정되었다. TRIP6 아이소폼 2 (UniProt 식별자: Q15654-2; 서열번호: 79)는 106개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 표준 서열과 상이하다: (i) 37-106: ALQPHPRVNF...IDLLSSTLAE → VLPGPRGTGG...CVTATRPTGI; (ii) 107-476: 누락. TRIP6 아이소폼 3 (UniProt 식별자: Q15654-2; 서열번호: 80)은 80개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 표준 서열과 상이하다: (i) 37-80: ALQPHPRVNF...SHGVLQHTQG → GAPCRQGGPS...CVTATRPTGI; (ii) 81-476: 누락. 하기 표 2는 상이한 TRIP6 단백질 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 2. TRIP6 단백질 아이소폼

아이소폼 1 (UniProt: Q15654-1) (서열번호: 78)	MSGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAALQPHPRVNFCPLPSEQCYQAPGG PEDRGPAWVGSHGVLQHTQGLPADRGGLRPGSLDAEIDLLSSTLAELNGGRGHASRRPDR QAYEPPPPPAYRTGSLKPNPASPLPASPYGGPTPASYTTASTPAGPAFPVQVKVAQPVRG CGPPRRGASQASGPLPGPHFPLPGRGEVWGPGYRSQREPGPGAKEEAAGVSGPAGRGRGG EHGPQVPLSQPPEDELDRLTKKLVHDMNHPPSGEYFGQCGGCGEDVVGDGAGVVALDRVF HVGCFVCSTCRAQLRGQHFYAVERRAYCEGCYVATLEKCATCSQPILDRILRAMGKAYHP GCFTCVVCHRGLDGIPFTVDATSQIHCIEDFHRKFAPRCSVCGGAIMPEPGQEETVRIVA LDRSFHIGCYKCEECGLLLSSEGECQGCYPLDGHILCKACSAWRIQELSATVTTDC
아이소폼 2 (UniProt: Q15654-2) (서열번호: 79)	SGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAVLPGPRGTGGSGAGVGGVPWSTPA HAGAPCRQGGPSPWKPGRRDRLAEQHAGRAEWGSGSCVTATRPTGI
아이소폼 3 (UniProt: Q15654-2) (서열번호: 80)	MSGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAGAPCRQGGPSPWKPGRRDRLAEQH AGRAEWGSGSCVTATRPTGI

[0183]

[0184] 본원에 사용된 경우에, 용어 "TRIP6"은 세포에 의해 자연적으로 발현되는 TRIP6의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 TRIP6 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 TRIP6 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 TRIP6 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 TRIP6 아이소폼 1, 아이소폼 2, 및 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 나타내지 않는 한, 양쪽 아이소폼 1, 아이소폼 2, 및 아이소폼 3은 본원에서 "TRIP6"으로서 집합적으로 지칭된다.

[0185] 일부 양태에서, 세포를 miR-485 억제제와 접촉시키는 것은, 참조 세포 (*예를 들면*, miR-485 억제제와 접촉되지 않은 상응하는 세포)에서 발현 및/또는 활성과 비교하여, 세포에서 TRIP6 단백질 및/또는 *TRIP6* 유전자의 발현 및/또는 활성을 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배 또는 그 이상만큼 증가시킨다.

[0186] 일부 양태에서, miR-485 억제제는 기타 LIM-도메인 함유 단백질의 발현 및/또는 활성을 또한 증가시킬 수 있다.

[0187] 임의의 하나의 이론에 의해 구속되지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 TRIP6 단백질 및/또는 *TRIP6* 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0188] *SIRT1 조절*

[0189] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miR-485 억제제를 세포 (예를 들면, 신경 줄기 세포)와 접촉시키는 것은 세포에서 SIRT1 단백질 및/또는 *SIRT1* 유전자의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0190] NAD-의존적 데아세틸라제 시르투인-1로서 또한 알려진, 시르투인 1 (SIRT1)은 인간에서 *SIRT1* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. *SIRT1* 유전자는 인간에서 염색체 10에 위치된다 (GenBank 수탁 번호 NC_000010.11의 뉴클레오티드 67,884,656 내지 67,918,390, 더하기 가닥 배향). *SIRT1* 유전자, 및 이의 인코딩된 단백질의 동의어는 알려지고 "조절 단백질 SIR2 동족체 1", "침묵 교배-유형 정보 조절 2 동족체 1", "SIR2", "SIR2-유사 단백질 1", "SIR2L1", "SIR2알파", "시르투인 유형 1", "hSIRT1", 또는 "hSIR2"를 포함한다.

[0191] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는, 인간 SIRT1 단백질의 적어도 2개 알려진 아이소폼이 있다. SIRT1 아이소폼 1 (UniProt 식별자: Q96EB6-1)은 747개 아미노산으로 이루어지고 정규 서열 (서열번호: 31)로서 선정되었다. SIRT1 아이소폼 2 ("델타-엑손8로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q96EB6-2)는 561개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 454-639: 누락 (서열번호: 32). 하기 표 3은 2개 SIRT1 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 3. SIRT1 단백질 아이소폼

아이소폼 1 (UniProt: Q96EB6-1) (서열번호: 31)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGLERSPGEPGGAAPEREV PAAARGCPGAAAAALWREAEAEAAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGPSREPPLADNL YDEDDDDEGEEEEEAAAAAIGYRDNLLFGDEIITNGFHSCESDEEDRASHASSSDWTPRP RIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPETIPPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDI NTIEDAVKLLQECKKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLPDPQAMFDIE YFRKDPRPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGKLLRNYTQNIDTLEQVAGIQRII QCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDIFNQVVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPE QFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSSIPHEVPQILINREPLPHLHFDVELLG DCDVIINELCHRLGGEYAKLCCNPVKLSEITEKPPRTQKELAYLSELPPTPLHVSEDSSS PERTSPPDSSVIVTLLDQAAKSNDDLDVSESKGCMEEKPQEVQTSRNVESIAEQMENPDL KNVGSSTGEKNERTSVAGTVRKCWPNRVAKEQISRRLDGNQYLFLPPNRYIFHGAEVYSD SEDDVLSSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTD GDDQEAINEAISVKQEVTDMNYPSNKS
아이소폼 2 (UniProt: Q96EB6-2) (서열번호: 32)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGLERSPGEPGGAAPEREV PAAARGCPGAAAAALWREAEAEAAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGPSREPPLADNL YDEDDDDEGEEEEEAAAAAIGYRDNLLFGDEIITNGFHSCESDEEDRASHASSSDWTPRP RIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPETIPPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDI NTIEDAVKLLQECKKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLPDPQAMFDIE YFRKDPRPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGKLLRNYTQNIDTLEQVAGIQRII QCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDIFNQVVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPE QFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSNQYLFLPPNRYIFHGAEVYSDSEDDVL SSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTDGDDQEA INEAISVKQEVTDMNYPSNKS

[0192]

[0193] 본원에 사용된 경우에, 용어 "SIRT1"은 세포에 의해 자연적으로 발현되는 SIRT1의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 SIRT1 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 SIRT1 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 SIRT1 아이소폼 1 및 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 양쪽 아이소폼 1 및 아이소폼 2는 본원에 "SIRT1"로서 집합적으로 지칭된다.

[0194] 일부 양태에서, 세포를 miR-485 억제제와 접촉시키는 것은, 참조 세포 (*예를 들면*, miR-485 억제제와 접촉되지 않은 상응하는 세포)에서 발현 및/또는 활성과 비교하여, 세포에서 SIRT1 단백질 및/또는 *SIRT1* 유전자의 발현 및/또는 활성을 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배 또는 그 이상만큼 증가시킨다.

[0195] 임의의 하나의 이론에 구속되지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0196] *CD36 조절*

[0197] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miR-485 억제제를 세포와 접촉시키는 것은 세포에서 CD36 단백질 및/또는 *CD36* 유전자의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0198] 클러스터 결정인자 36 (CD36)은 혈소판 당단백질 4로서 또한 알려지고, 인간에서 *CD36* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. *CD36* 유전자는 염색체 7 (GenBank 수탁 번호 NC_000007.14의 뉴클레오티드 80,602,656 내지 80,679,277, 더하기 가닥 배향)에 위치된다. *CD36* 유전자, 및 이의 인코딩된 단백질의 동의어는 알려지고 "혈소판 당단백질 IV", "지방산 트랜스로카제", "스캐빈저 수용체 클래스 B 구성원 3", "당단백질 88", "당단백질 IIIb", "당단백질 IV", "트롬보스폰딘 수용체", "GPIIIB", "PAS IV", "GP3B", "GPIV", "FAT", "GP4", "BDPLT10", "SCARB3", "CHDS7", "PASIV", 또는 "PAS-4"를 포함한다.

[0199] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는, 인간 CD36 단백질의 적어도 4개 알려진 아이소폼이 있다. CD36 아이소폼 1 (UniProt 식별자: P16671-1)은 472개 아미노산으로 이루어지고 정규 서열 (서열번호: 36)로서 선정되었다. CD36 아이소폼 2 ("ex8-del"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: P16671-2) (서열번호: 37)는 288개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 274-288: SIYAVFESDVNLKGI → ETCVHFTSSFSVCKS; 및 289-472: 누락. CD36 아이소폼 3 ("ex6-7-del"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: P16671-3) (서열번호: 38)은 433개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 234-272: 누락. CD36 아이소폼 4 ("ex4-del"로서 또한 알려짐 (UniProt 식별자: P16671-4) (서열번호: 39)는 412개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 144-203: 누락. 하기 표 4는 4개 CD36 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 4. CD36 단백질 아이소폼

아이소폼 1 (UniProt:P16671-1) (서열번호: 36)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTVGLFYPYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLPSKAF ASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVVMFVAFMISYCACRSKTIK
아이소폼 2 (UniProt:P16671-2) (서열번호: 37)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTVGLFYPYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRETCVHFTSSFSVCKS
아이소폼 3 (UniProt: P16671-3) (서열번호: 38)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTVGLFYPYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRSIYAVF ESDVNLKGIPVYRFVLPSKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPV YISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKI QVLKNLKRNYIVPILWLNETGTIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVVMFVAF MISYCACRSKTIK
아이소폼 4 (UniProt: P16671-4) (서열번호: 39)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLPSKAF ASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVVMFVAFMISYCACRSKTIK

[0200]

[0201] 본원에 사용된 경우에, 용어 "CD36"은 세포에 의해 자연적으로 발현되는 CD36의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 4의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 CD36 아이소폼 1 및 아이소폼 2, 및/또는 아이소폼 3 및 아이소폼 4, 및/또는 아이소폼 1 및 아이소폼 4, 및/또는 아이소폼 2 및 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 모든 CD36 아이소폼의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 아이소폼 1, 아이소폼 2, 아이소폼 3, 및 아이소폼 4는 본원에 "CD36"으로서 집합적으로 지칭된다.

[0202] 일부 양태에서, 세포를 miR-485 억제제와 접촉시키는 것은, 참조 세포 (*예를 들면*, miR-485 억제제와 접촉되지 않은 상응하는 세포)에서 발현 및/또는 활성과 비교하여, 세포에서 CD36 단백질 및/또는 *CD36* 유전자의 발현 및/또는 활성을 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배 또는 그 이상만큼 증가시킨다.

[0203] 임의의 하나의 이론에 구속되지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 CD36 단백질 및/또는 *CD36* 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0204] *PGC1 조절*

[0205] 일부 양태에서, 본원에 기재된 miR-485 억제제를 세포와 접촉시키는 것은 세포에서 PGC-1α 단백질 및/또는 *PGC-1α* 유전자의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0206] PPARG 보조활성자 1 알파 또는 리간드 효과 조절자-6으로서 또한 알려진, 퍼옥시좀 증식자-활성화된 수용체 감마 보조활성자 1-알파 (PGC1-α)는 인간에서 *PPARGC1A* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. *PGC1-α* 유전자는 인간에서 염색체 4 (GenBank 수탁 번호 NC_000004.12의 뉴클레오티드 23,792,021 내지 24,472,905, 더하기 가닥 배향)에 위치된다. *PGC1-α* 유전자, 및 이의 인코딩된 단백질의 동의어는 알려지고 "PPARGC1A", "LEM6", "PGC1", "PGC1A", "PGC-1v", "PPARGC1, "PGC1알파", 또는 "PGC-1(알파)"을 포함한다.

[0207] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는, 인간 PGC1-α 단백질의 적어도 9개 알려진 아이소폼이 있다. PGC1-α 아이소

폼 1 (UniProt 식별자: Q9UBK2-1)은 798개 아미노산으로 이루어지고 정규 서열 (서열번호: 40)로서 선정되었다. PGC1-α 아이소폼 2 ("아이소폼 NT-7a"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-2) (서열번호: 41)는 271개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 269-271: DPK → LFL; 272-798: 누락. PGC1-α 아이소폼 3 ("아이소폼 B5"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-3) (서열번호: 42)은 803개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQ. PGC1-α 아이소폼 4 ("아이소폼 B4"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-4) (서열번호: 43)는 786개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF. PGC1-α 아이소폼 5 ("아이소폼 B4-8a"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-5) (서열번호: 44)는 289개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF; 294-301: LTPPTTPP → VKTNLISK; 302-798: 누락. PGC1-α 아이소폼 6 ("아이소폼 B5-NT"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-6) (서열번호: 45)은 276개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQ; 269-271: DPK → LFL; 272-798: 누락. PGC1-α 아이소폼 7 ("B4-3ext"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-7) (서열번호: 46)은 138개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF; 144-150: LKKLLLA → VRTLPTV; 151-798: 누락. PGC1-α 아이소폼 8 ("아이소폼 8a"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-8) (서열번호: 47)은 301개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 294-301: LTPPTTPP → VKTNLISK; 302-798: 누락. PGC1-α 아이소폼 9 ("아이소폼 9" 또는 "L-PGG-1알파"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-9) (서열번호: 48)는 671개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-127: 누락. 하기 표 5는 9개 PGC1-α 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 5. PGC1-α 단백질 아이소폼

아이소폼 1 (UniProt: Q9UBK2-1) (서열번호: 40)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSD QSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTP PHKANQDNPFRASPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSK SSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQ GQICSSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAELNKHFGHPSQAVFDDEADK TGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSC SSFNSPCRDSVSPPKSLFSQRPQRMRSRSRSFSRHRSCSRSPYSRSRSRSPGSRSSSRSC YYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESE RAKQRERQRQKAIEERRVIYVGKIRPDTTRTELRDRFEVFGEIEECTVNLRDDGDSYGFI TYRYTCDAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKY DSLDFDSLLKEAQRSLRR
아이소폼 2 (UniProt: Q9UBK2-2) (서열번호: 41)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSD QSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTLSLPLTPESPNLFL
아이소폼 3 (UniProt: Q9UBK2-3) (서열번호: 42)	MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGL KWCSDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHR IRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDK CTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLT PPTTPPHKANQDNPFRASPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELY AQLSKSSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDV SSDWQGQICSSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAELNKHFGHPSQAVFD DEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFN VSPSCSSFNSPCRDSVSPPKSLFSQRPQRMRSRSRSFSRHRSCSRSPYSRSRSRSPGSRS SSRSCYYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYE KRESERAKQRERQRQKAIEERRVIYVGKIRPDTTRTELRDRFEVFGEIEECTVNLRDDGD SYGFITYRYTCDAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPAS TKSKYDSLDFDSLLKEAQRSLRR
아이소폼 4 (UniProt: Q9UBK2-4) (서열번호: 43)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGGHEERK TKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGQICSSTDSDQC YLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAELNKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRDSDFSNE QFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPCRDSVS PPKSLFSQRPQRMRSRSRSFSRHRSCSRSPYSRSRSRSPGSRSSSRSCYYYESSHYRHRT HRNSPLYVRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRERQRQKA IEERRVIYVGKIRPDTTRTELRDRFEVFGEIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCDAFAAL ENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDSLLKEA QRSLRR

[0208]

아이소폼 5 (UniProt: Q9UBK2-5) (서열번호: 44)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLISK
아이소폼 6 (UniProt: Q9UBK2-6) (서열번호: 45)	MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGL KWCSDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHR IRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDK CTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTLSLPLTPESPNLFL
아이소폼 7 (UniProt: Q9UBK2-7) (서열번호: 46)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLVRTLPTV
아이소폼 8 (UniProt: Q9UBK2-8) (서열번호: 47)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSD QSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLPVDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLIS K
아이소폼 9 (UniProt: Q9UBK2-9) (서열번호: 48)	MPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTEN SWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQ SQHLQAKPTTLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQD NPFRASPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGG HEERKTKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGQICSST DSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAELNKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRDS DFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPC RDSVSPPKSLFSQRPQRMRSRSRSFSRHRSCSRSPYSRSRSRSPGSRSSSRSCYYYESSH YRHRTHRNSPLYVRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRER QRQKAIEERRVIYVGKIRPDTTRTELRDRFEVFGEIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCD AFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDS LLKEAQRSLRR

[0209]

[0210] 본원에 사용된 경우에, 용어 "PGC1-α"는 세포에 의해 자연적으로 발현되는 PGC1-α의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 4의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 5의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 6의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 7의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 8의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 9의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 1, 아이소폼 2, 아이소폼 3, 아이소폼 4, 아이소폼 5, 아이소폼 6, 아이소폼 7, 아이소폼 8, 및 아이소폼 9의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 양쪽 아이소폼 1 및 아이소폼 2는 본원에 "PGC1-α"로서 집합적으로 지칭된다.

[0211] 일부 양태에서, 세포를 miR-485 억제제와 접촉시키는 것은, 참조 세포 (*예를 들면*, miR-485 억제제와 접촉되지 않은 상응하는 세포)에서 발현 및/또는 활성과 비교하여, 세포에서 PGC1-α 단백질 및/또는 *PGC1-α* 유전자의 발현 및/또는 활성을 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배 또는 그 이상만큼 증가시킨다.

[0212] 임의의 하나의 이론에 구속되지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 PGC1-α 단백질 및/또는 *PGC1-α* 유전자의 발현을 증가시킨

다.

[0213] *III. 본 개시내용에 유용한 miRNA-485 억제제*

[0214] miR-485 활성을 억제시킬 수 있는 화합물 (miR-485 억제제)이 본원에 개시된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 적어도 하나의 miR-485 결합 부위를 포함하는 뉴클레오티드 분자를 인코딩하거나 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 뉴클레오티드 분자는 단백질을 인코딩하지 않는다. 본원에 기재된 경우에, 일부 양태에서, miR-485 결합 부위는 표적 miRNA 핵산 서열 (즉, miR-485)에 적어도 부분적으로 상보적이어서, miR-485 억제제는 miR-485 핵산 서열에 하이브리드화한다.

[0215] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR 억제제의 miR-485 결합 부위는 miR-485, 예를 들면, 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 결합 부위는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0216] miR-485 헤어핀 전구체는 양쪽 miR-485-5p 및 miR-485-3p를 생성할 수 있다. 본 개시내용의 맥락에서 "miR-485"는 달리 특정되지 않는 한 양쪽 miR-485-5p 및 miR-485-3p를 포괄한다. 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. 인간 성숙한 miR-485-5p는 서열 5'-AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC-3' (서열번호: 33; miRBase 수탁 번호 MIMAT0002175)를 갖는다. miR-485-5p 5'-GAGGCUG-3' (서열번호: 50)의 5' 말단 하위서열은 씨드 서열이다.

[0217] 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. 마우스 성숙한 miR-485-5p에 대한 서열은 인간의 것과 동일하다: 5'-agaggcuggccgugaugaauuc-3' (서열번호: 33; miRBase 수탁 번호 MIMAT0003128). 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 인간 및 마우스로부터 miR-485-3p 및/또는 miR-485-5p에 결합할 수 있다.

[0218] 일부 양태에서, miR-485 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 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 결합 부위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 제외하고 miR-485-3p에 상보적이다. 추가 양태에서, miR-485 결합 부위는 서열번호: 1에서 제시된 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0219] 일부 양태에서, miR-485 결합 부위는 miR-485-5p의 서열 (또는 이의 하위서열)에 상보적 (*예를 들면*, 완전히 상보적)인 단일-가닥 폴리뉴클레오티드 서열이다. 일부 양태에서, miR-485-5p 하위서열은 씨드 서열을 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 결합 부위는 서열번호: 50에서 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 결합 부위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 제외하고 miR-485-5p에 상보적이다.

[0220] 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 결합 부위는 miR-485의 씨드 서열의 전체 길이에 걸쳐 완전히 상보적 (즉, 100% 상보적)인 하위서열을 포함한다.

[0221] 본 개시내용의 맥락에서 사용될 수 있는 miRNA 서열 및 miRNA 결합 서열 (억제제)은, 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.

[0222] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 결합 서열은, 변형된 서열이 miR-485에 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-485에 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.

[0223] 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.

[0224] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA-485 억제제는 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1개 뉴클레오티드, 적어도 2개 뉴클레오티드, 적어도 3개 뉴클레오티드, 적어도 4개 뉴클레오티드, 적어도 5개 뉴클레오티드, 적어도 6개 뉴클레오티드, 적어도 7개 뉴클레오티드, 적어도 8개 뉴클레오티드, 적어도 9개 뉴클레오티드, 적어도 10개 뉴클레오티드, 적어도 11개 뉴클레오티드, 적어도 12개 뉴클레오티드, 적어도 13개 뉴클레오티드, 적어도 14개 뉴클레오티드, 적어도 15개 뉴클레오티드, 적어도 16개 뉴클레오티드, 적어도 17개 뉴클레오티드, 적어도 18개 뉴클레오티드, 적어도 19개 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA-485 억제제는 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1개 뉴클레오티드, 적어도 2개 뉴클레오티드, 적어도 3개 뉴클레오티드, 적어도 4개 뉴클레오티드, 적어도 5개 뉴클레오티드, 적어도 6개 뉴클레오티드, 적어도 7개 뉴클레오티드, 적어도 8개 뉴클레오티드, 적어도 9개 뉴클레오티드, 적어도 10개 뉴클레오티드, 적어도 11개 뉴클레오티드, 적어도 12개 뉴클레오티드, 적어도 13개 뉴클레오티드, 적어도 14개 뉴클레오티드, 적어도 15개 뉴클레오티드, 적어도 16개 뉴클레오티드, 적어도 17개 뉴클레오티드, 적어도 18개 뉴클레오티드, 적어도 19개 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0225] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 약 6 내지 약 30개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 7개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 8개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 9개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 길이가 10개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 11개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 12개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 13개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 14개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 15개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 16개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 길이가 17개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 18개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 19개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 20개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 길이가 21개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 22개 뉴클레오티드이다.

[0226] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 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 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.

[0227] 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.

[0228] 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), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)를 갖는다.

[0229] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 30), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 51), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 52), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 53), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 54), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 55), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 35), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 56), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 57), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 58), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 59), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 60), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 61), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 62); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 63), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 64), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 65), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 66), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 67), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 68), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 69), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 70), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 71), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 72), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 73), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 74), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 75), 및 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 76)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0230] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miRNA 억제제 (즉, miR-485 억제제)는 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)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: 77)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: 77)를 포함한다. 특정 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28) 또는 5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (서열번호: 77)를 포함한다. 특정 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (서열번호: 28)를 포함한다.

[0231] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 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 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 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 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 억제제는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)를 포함한다.

[0232] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 1개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 적어도 2개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 3개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 4개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 5개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 6개 이상의 miR-485 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 동일하다. 일부 양태에서, 모든 miR-485

결합 부위는 상이하다. 일부 양태에서, miR-485 결합 부위 중 적어도 하나는 상이하다. 일부 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 miR-485-3p 결합 부위이다. 다른 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 miR-485-5p 결합 부위이다. 추가 양태에서, miR-485 억제제는 적어도 하나의 miR-485-3p 결합 부위 및 적어도 하나의 miR-485-5p 결합 부위를 포함한다.

[0233] *III.a. 화학적으로 변형된 폴리뉴클레오티드*

[0234] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 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.

[0235] "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.

[0236] 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.

[0237] 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.

[0238] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 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.

[0239] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 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 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).

[0240] 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.

[0241] 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.

[0242] 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 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.

[0243] 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드에서 핵염기, 당, 백본 연결, 또는 이들의 임의의 조합은 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적

어도 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 약 100% 만큼 변형된다.

[0244] *(i) 염기 변형*

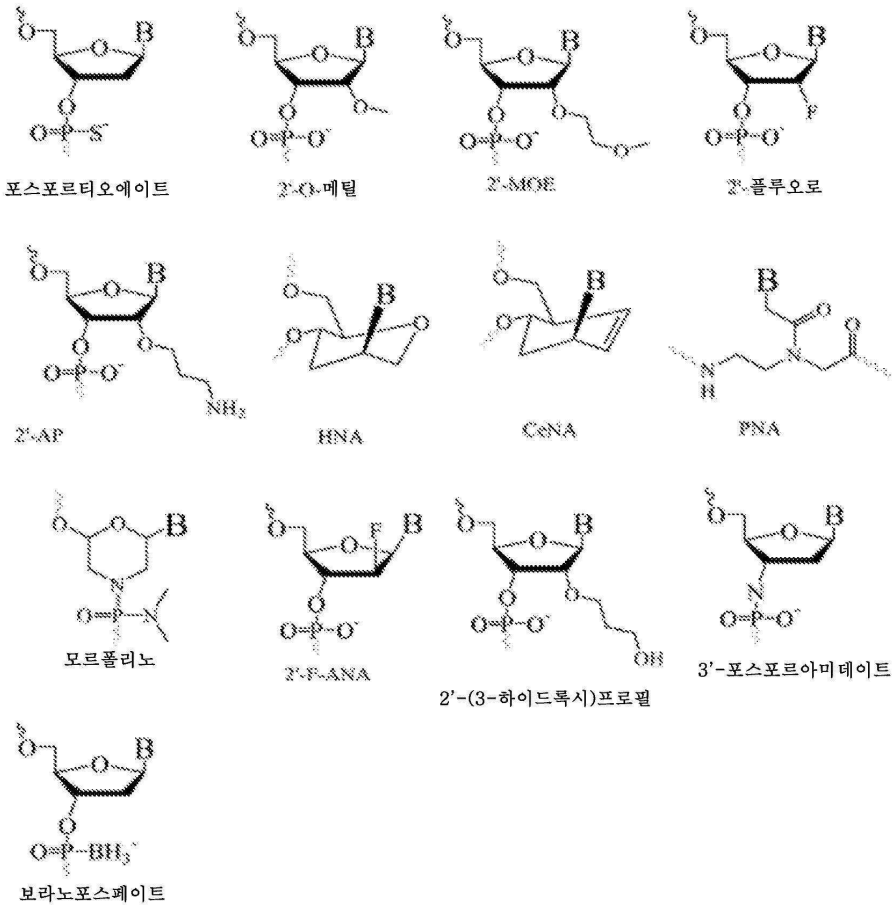
[0245] 특정 양태에서, 화학적 변형은 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)에서 핵염기에 있다. 일부 양태에서, 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오시드는 변형된 우리딘 (*예를 들면,* 슈도우리딘 (ψ), 2-티오우리딘 (s2U), 1-메틸-슈도우리딘 (m1ψ), 1-에틸-슈도우리딘 (e1ψ), 또는 5-메톡시-우리딘 (mo5U)), 변형된 시토신 (*예를 들면,* 5-메틸-시티딘 (m5C)) 변형된 아데노신 (예를 들면, 1-메틸-아데노신 (m1A), N6-메틸-아데노신 (m6A), 또는 2-메틸-아데닌 (m2A)), 변형된 구아노신 (*예를 들면,* 7-메틸-구아노신 (m7G) 또는 1-메틸-구아노신 (m1G)), 또는 이들의 조합이다.

[0246] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 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 서열에서 존재하는 임의의 유형의 뉴클레오시드 잔기에 대하여 균일하게 변형될 수 있다.

[0247] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 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 억제제)에서 핵염기의 한 유형의 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 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%는 변형된 핵염기이다.

[0248] *(ii) 백본 변형*

[0249] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 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.



[0250]

[0251] 일부 양태에서, 상기 개시된 백본 연결의 존재는 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)의 분해에 대한 안정성 및 내성을 증가시킨다.

[0252] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에서 백본 연결의 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 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%는 변형된다 (*예를 들면*, 이들의 전부는 포스포로티오에이트이다).

[0253] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에서 포함될 수 있는 백본 변형은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형을 포함한다.

[0254] *(iii) 당 변형*

[0255] 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에 편입될 수 있는 변형된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 핵산의 당에서 변형될 수 있다. 일부 양태에서, 당 변형은 miR-485 핵산 서열에 miR-485 억제제의 결합의 친화성을 증가시킨다. miR-485 억제제에서 친화성-향상 뉴클레오티드 유사체, 예컨대 LNA 또는 2'-치환된 당 편입하기는 miR-485 억제제의 길이 및/또는 크기가 감소되게 할 수 있다.

[0256] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에서 뉴클레오티드의 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 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 약 100%는 당 변형 (*예를 들면*, LNA)을 함유한다.

[0257] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에서 적어도 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).

[0258] 일반적으로, RNA는 당 그룹 리보스를 포함하고, 이는 산소를 갖는 5-원 고리이다. 예시적, 비-제한 변형된 뉴클

레오티드는 (*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.

[0259] 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.

[0260] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* mir-485 억제제)에서 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-티오O-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 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.

[0261] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 억제제)는 양쪽 변형된 RNA 뉴클레오티드 유사체 (*예를 들면,* LNA) 및 DNA 단위체를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 갭머이다. *예를 들면,* 미국 특허 번호 8,404,649; 8,580,756; 8,163,708; 9,034,837, 참조; 이들의 모두는 그들 전체가 참조로 본원에 편입됨. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 마이크로미르이다. 미국 특허 출원 공개 번호 US20180201928 참조, 이 전체가 참조로 본원에 편입됨.

[0262] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 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.

[0263] ***IV. 벡터 및 전달 시스템***

[0264] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는, *예를 들면,* 당업계에서 알려진 임의의 관련한 전달 시스템을 사용하여, 탈모의 위험에 처한 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 양태에서, 전달 시스템은 벡터이다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 miR-485 억제제를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0265] 일부 양태에서, 벡터는 바이러스성 벡터이다. 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 아데노바이러스성 벡터 또는

아데노연관된 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.

[0266] 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).

[0267] 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.

[0268] 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.

[0269] 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.

[0270] 특정 양태에서, AAV 벡터는 당업계에서 알려진 적어도 2개 상이한 AAV 벡터의 영역을 포함한다.

[0271] 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.

[0272] 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 포함한다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV2를 포함한다.

[0273] 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.

[0274] 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 줄기 세포 바이러스 (MSCV) 및 단순 포진 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0275] 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.

[0276] 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.

[0277] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 전달 제제와 투여된다. 사용될 수 있는 전달 제제의 비-제한 예는 엑소좀, 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 세포외 소포, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 미셀, 바이러스성 벡터, 또는 접합체를 포함한다.

[0278] 그래서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485 억제제) 및 전달 제제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 양태에서, 전달 제제는 *예를 들면* 미셀로 자가-조립되거나 미셀에 혼입될 수 있는 담체 단위를 포함한다. 일부 양태에서, 전달 제제는

[0279] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

[0280] 또는

[0281] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[0282] [식중

[0283] WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

[0284] CC는 양으로 하전된 (*즉*, 양이온성) 담체 모이어티이고;

[0285] AM은 보조제 모이어티이고;

[0286] L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커임]

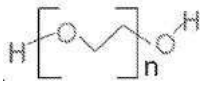
[0287] 을 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하고,

[0288] 여기서 약 1:1의 이온성 비로 핵산과 혼합된 경우, 양이온성 담체 단위체는 미셀을 형성한다. 따라서, 일부 양태에서, miRNA 억제제 및 양이온성 담체 단위는 함께 혼합된 때 미셀을 형성하기 위해 (*예를 들면*, 공유 결합 또는 비-가 결합을 통해) 서로 회합할 수 있다.

[0289] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485 억제제)를 포함하는 조성물은 이온성 결합을 통해 양이온성 담체 단위체와 상호작용한다.

[0290] 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

[0291] , (화학식 III),

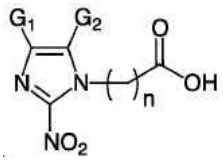
[0292] [식중 n은 1-1000임]

[0293] 을 포함한다.

[0294] 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.

[0295] 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, at last 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.

[0296] 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

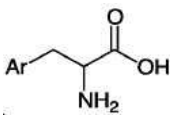
[0297] , (화학식 IV),

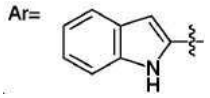
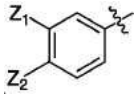
[0298] [식중 G1 및 G2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G1 및 G2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10임]

[0299] 을 포함한다.

[0300] 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.

[0301] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

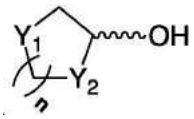
[0302]  (화학식 V),

[0303] [식중 Ar은 Ar=  또는  이고,

[0304] 식중 Z1 및 Z2의 각각은 H 또는 OH임]

[0305] 을 포함한다.

[0306] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 비타민을 포함한다. 일부 양태에서, 비타민은 환식 고리 또는 환식 헤테로원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함한다. 일부 양태에서, 비타민은

[0307]  (화학식 VI),

[0308] [식중 Y1 및 Y2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2임]

[0309] 을 포함한다.

[0310] 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.

[0311] 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.

[0312] 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.

[0313] 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.

[0314] 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: 28)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.

[0315] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (즉, miR-485 억제제)를 포함하는 미셀을 제공하고 여기서 miRNA 억제제 및 전달 제제는 서로 회합된다.

[0316] 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 억제제와 혼합된 경우 미셀을 형성하는데 충분하고, 여기서 용액에서 양이온성 담체 단위체의 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 miR-485 억제제 (또는 억제제를 포함하는 벡터)의 음전하의 전반적 이온성 비는 약 1: 1이다.

[0317] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 효소적 분해로부터 본 개시내용의 miRNA 억제제 (즉, miR-485 억제제)를 보호할 수 있다. 이 전체가 참조로 본원에 편입되는, PCT 공개 번호 WO2020/261227 참조.

[0318] ***V. 약학적 조성물***

[0319] 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 대상체에게 투여에 적합한 본원에 개시된 miR-485 억제제 (*예를 들면,* miR-485 억제제를 포함하는 벡터 또는 폴리뉴클레오티드)를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 약학적 조성물은 일반적으로 대상체에게 투여에 적합한 형태로 본원에 기재된 miR-485 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.

[0320] 따라서, 본 개시내용의 miR-485 억제제를 포함하는 약학적 조성물의 매우 다양한 적합한 제형이 있다. (*예를 들면,* Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990), 참조). 약학적 조성물은 일반적으로 멸균 제형화되고 미국 식품의약국의 모든 우수 의약품 제조관리 기준 (GMP) 규정을 완전히 준수한다.

[0321] ***VI. 키트***

[0322] 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 억제제 (*예를 들면,* 벡터, *예를 들면,* 본 개시내용의 AAV 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 약학적 조성물)를 포함한다. 일부 양태에서, 키트 또는 제조 제품은 miR-485 억제제 (*예를 들면,* 벡터, *예를 들면,* 본 개시내용의 AAV 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 약학적 조성물) 및 브로셔를 포함한다. 당업자는 본원에 개시된 miR-485 억제제 (*예를 들면,* 본 개시내용의 벡터, 폴리뉴클레오티드, 및 약학적 조성물, 또는 이들의 조합)가 당업계에서 잘 알려지는 확립된 키트 형식 중 하나로 용이하게 편입될 수 있음을 용이하게 인식할 것이다.

[0323] 하기 실시예는 제한의 방식이 아닌 예시의 방식으로 제공된다.

[0324] 실시예

[0325] **실시예 1: miR-485 억제제의 제조**

[0326] **(a) 알킨 변형된 티로신의 합성:** 알킨 변형된 티로신은 BBB에서 LAT1 수송체로 본 개시내용의 미셀을 유도하기 위해 양이온성 담체 단위체의 조직 특이적 표적화 모이어티 (TM, 도 1 참조)의 합성을 위한 중간체로서 생성되었다.

[0327] 아세토니트릴 (4.0 ml)내 N-(tert-부톡시카르보닐)-L-티로신 메틸 에스테르 (Boc-Tyr-OMe) (0.5g, 1.69 mmol) 및 K_2CO_3 (1.5 당량, 2.54 mmol)의 혼합물은 프로파르길 브로마이드 (1.2 당량, 2.03 mmol)에 한 방울씩 첨가되었다. 반응 혼합물은 60 ℃에서 밤새 가열되었다. 반응 후, 반응 혼합물은 물:에틸 아세테이트 (EA)를 사용하여 추출되었다. 그 다음, 유기 층은 염수 용액을 사용하여 세정되었다. 조 물질은 플래시 컬럼 (헥산 10%내 EA)에 의해 정제되었다. 다음에, 생성된 생성물은 1,4-디옥산 (1.0 ml) 및 6.0 M HCl (1.0 ml)에 용해되었다. 반응 혼합물은 100 ℃에서 밤새 가열되었다. 다음에, 디옥산은 제거되었고 EA에 의해 추출되었다. 수성 NaOH (0.5 M) 용액은 pH 값이 7이 되는 때까지 혼합물에 첨가되었다. 반응물은 증발기에 의해 농축되었고 0℃에 12,000 rpm으로 원심분리되었다. 침전물은 탈이온수로 세정되었고 동결건조되었다.

[0328] **(b) 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신) (PEG-PLL)의 합성:** 이 합성 단계는 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체의 수용성 생체고분자 (WP) 및 양이온성 담체 (CC)를 생성하였다 (도 1 참조).

[0329] 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신)은 거대개시제로서 모노메톡시 PEG (MeO-PEG)와 Lys(TFA)-NCA의 개환 중합에 의해 합성되었다. 간략하게, MeO-PEG (600 mg, 0.12 mmol) 및 Lys(TFA)-NCA (2574 mg, 9.6 mmol)는 1M 티오우레아 및 DMF(또는 NMP)를 함유하는 DMF에 별도로 용해되었다. Lys(TFA)-NCA 용액은 마이크로 주사기에 의해 MeO-PEG 용액에 적하되었고 반응 혼합물은 37 ℃에서 4 일 동안 교반되었다. 반응 병은 아르곤 및 진공으로 퍼징되었다. 모든 반응은 아르곤 대기에서 수행되었다. 반응 후, 혼합물은 과량의 디에틸 에테르에 침전되었다. 침전물은 메탄올에 재-용해되었고 차가운 디에틸 에테르에 재차 침전되었다. 그 다음 여과되었고 백색 분말은 진공에서 건조 후 수득되었다. PEG-PLL(TFA)내 TFA 기의 탈보호를 위하여, 다음 단계는 이어졌다.

[0330] MeO-PEG-PLL(TFA) (500 mg)은 메탄올 (60 mL)에 용해되었고 1N NaOH (6 mL)는 교반하면서 중합체 용액에 적하되었다. 혼합물은 37℃에서 교반하면서 1 일 동안 유지되었다. 반응 혼합물은 10 mM HEPES에 대해 4회 동안 그리고 증류수에 대해 투석되었다. PEG-PLL의 백색 분말은 동결건조 후 수득되었다.

[0331] **(b) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신) (N_3-PEG-PLL)의 합성:** 이 합성 단계는 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체의 수용성 생체고분자 (WP) 및 양이온성 담체 (CC)를 생성하였다 (도 1 참조).

[0332] 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신)은 아지도- PEG (N_3-PEG)와 Lys(TFA)-NCA의 개환 중합에 의해 합성되었다. 간략하게, N_3-PEG (300 mg, 0.06 mmol) 및 Lys(TFA)-NCA (1287 mg, 4.8 mmol)는 1M 티오우레아 및 DMF(또는 NMP)를 함유하는 DMF에 별도로 용해되었다. Lys(TFA)-NCA 용액은 마이크로 주사기에 의해 N_3-PEG 용액에 적하되었고 반응 혼합물은 37 ℃에서 4 일 동안 교반되었다. 반응 병은 아르곤 및 진공으로 퍼징되었다. 모든 반응은 아르곤 대기에서 수행되었다. 반응 후, 혼합물은 과량의 디에틸 에테르에 침전되었다. 침전물은 메탄올에 재-용해되었고 차가운 디에틸 에테르에 재차 침전되었다. 그 다음 여과되었고 백색 분말은 진공에서 건조 후 수득되었다. PEG-PLL(TFA)내 TFA 기의 탈보호를 위하여, 다음 단계가 이어졌다.

[0333] N_3-PEG-PLL (500 mg)은 메탄올 (60 mL)에 용해되었고 1N NaOH (6 mL)는 교반하면서 중합체 용액에 적하되었다. 혼합물은 37℃에서 교반하면서 1 일 동안 유지되었다. 반응 혼합물은 10 mM HEPES에 대해 4회 동안 그리고 증류수에 대해 투석되었다. N_3-PEG-PLL의 백색 분말은 동결건조 후 수득되었다.

[0334] **(c) (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-라이신/니코틴아미드/메르캅토프로판아미드) (N_3-PEG-PLL(Nic/SH))의 합성:** 이 단계에서, 조직-특이적 보조제 모이어티 (AM, 도 1 참조)는 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체의 WP-CC 구성요소에 부착되었다. 양이온성 담체 단위체에서 사용된 조직-특이적 보조제 모이어티 (AM)는 니코틴아미드 (비타민 B3)이었다. 이 단계는 도 1에 묘사된 양이온성 담체 단위체의 WP-CC-AM 구성요소를 산출할 것이다.

[0335] 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-라이신/니코틴아미드/메르캅토프로판아미드) (N_3-PEG-PLL(Nic/SH))는 EDC/NHS의 존재 하에서 N_3-PEG-PLL 및 니코틴산의 화학적 변형에 의해 합성되었다. N_3-PEG-PLL (372 mg, 25.8 μmol) 및 니코틴산 (556.7 mg, PEG-PLL의 NH2에 대해 1.02 당량)은 탈이온수 및 메탄올 (1:1)의 혼합물에 별도로 용해되었다. EDC·HCl (556.7 mg, N_3-PEG-PLL의 NH_2에 대해 1.5 당량)은 니코틴산 용액에 첨가되었고 NHS (334.2 mg, PEG-PLL의 NH2에 대해 1.5 당량)는 혼합물에 적가되었다.

[0336] 반응 혼합물은 N_3-PEG-PLL 용액에 첨가되었다. 반응 혼합물은 교반하면서 16 시간 동안 37 ℃에서 유지되었다. 16 시간 후, 3,3'-디티오디프로폰산 (36.8 mg, 0.1 당량)은 메탄올에 용해되었고, EDC·HCl (40.3 mg, 0.15 당량), 및 NHS (24.2 mg, 0.15 당량)는 탈이온수에 각각 용해되었다. 그 다음, NHS 및 EDC·HCl은 3,3'-디티오디프로폰산 용액에 순차적으로 첨가되었다. 혼합물 용액은 조 N_3-PEG-PLL(Nic) 용액을 첨가한 후 37 ℃에서 4 시간 동안 교반되었다.

[0337] 정제를 위하여, 혼합물은 2 시간 동안 메탄올에 대해 투석되었고, DL-디티오트레이톨 (DTT, 40.6 mg, 0.15 당량) 첨가되었고, 그 다음 30 분 동안 활성화되었다.

[0338] DTT를 제거하기 위하여, 혼합물은 메탄올, 탈이온수내 50 % 메탄올, 탈이온수 순차적으로 투석되었다.

[0339] **(d) 페닐 알라닌-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-라이신/니코틴아미드/메르캅토프로판아미드) (Phe-PEG-PLL(Nic/SH))의 합성:** 이 단계에서, 조직-특이적 표적화 모이어티 (TM)는 이전의 단계에서 합성된 WP-CC-AM 구성요소에 부착되었다. TM 구성요소 (페닐 알라닌)은 단계 (c)의 생성물과 단계 (a)에서 생성된 중간체의 반응에 의해 생성되었다.

[0340] 혈관내 뇌 내피 조직을 표적하기 위해, LAT1 표적화 아미노산으로서, 페닐 알라닌은 구리 촉매의 존재 하에서 N_3-PEG-PLL(Nic/SH)와 알킨 변형된 티로신 사이 클릭 반응에 의해 도입되었다 간략하게, N_3-PEG-PLL(Nic/SH) (130 mg, 6.5 μmol) 및 알킨 변형된 페닐 알라닌 (5.7 mg, 4.0 당량)은 탈이온수 (또는 50 mM 인산나트륨 완충액)에 용해되었다. 그 다음, CuSO4·H2O (0.4 mg, 25 mol%) 및 트리스(3-하이드록시프로필트리아졸릴메틸)아민 (THPTA, 3.4 mg, 1.2 당량)은 탈이온수가 용해되었고 N_3-PEG-PLL(Nic/SH) 용액이 첨가되었다. 그 다음, 아스코르브산나트륨 (3.2 mg, 2.5 당량)은 혼합물 용액에 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 16 시간 동안 교반하면서 유지되었다. 반응 후, 혼합물은 투석 막 (MWCO = 7,000)으로 전달되었고 탈이온수에 대해 1 일 동안 투석되었다. 최종 생성물은 동결건조 후 수득되었다.

[0341] (e) **다중이온 복합체 (PIC) 미셀 제조** - 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체가 상기 기재된 대로

생성되었다면, 미셀은 생산되었다. 본 실시예에서 기재된 미셀은 안티센스 올리고뉴클레오티드 페이로드와 조합된 양이온성 담체 단위체를 포함하였다.

[0342] 나노 크기조정된 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG-PLL(Nic) 및 miRNA를 혼합시킴으로써 제조되었다. PEG-PLL(Nic)은 0.5 mg/mL 농도로 HEPES 완충액 (10 mM)에 용해되었다. 그 다음 RNAase 없는 물내 miRNA 용액 (22.5 μM)은 miRNA 억제제 (서열번호: 28) (485 ASO-001) 대 중합체의 2:1 (v/v) 비로 중합체 용액과 혼합되었다.

[0343] 중합체 대 항-miRNA의 혼합 비는 미셀 형성 조건, 즉, 중합체 (본 개시내용의 담체)내 아민 대 항-miRNA (페이로드)내 포스페이트 사이 비를 최적화함으로써 결정되었다. 중합체 (담체) 및 항-miRNA (페이로드)의 혼합물은 3000 rpm으로 다중-와동에 의해 90 초 동안 격렬하게 혼합되었고, 실온에서 30 분 동안 유지되어 미셀을 안정화시켰다.

[0344] 미셀 (10 μM의 항-miRNA 농도)는 사용에 앞서 4 ℃에서 보관되었다. MeO- 또는 Phe- 미셀은 동일한 방법을 사용하여 제조되었고, 상이한 양의 Phe-함유 미셀 (25% ~75%)은 미셀 제조 동안 양쪽 중합체를 혼합시킴으로써 또한 제조되었다.

[0345] **실시예 2: 물질 및 방법**

[0346] 달리 제공되지 않는 한, 하기 기재된 실시예는 하기 물질 및 방법 중 하나 이상을 사용한다:

[0347] *C57BL/6J 마우스의 생체내 모발 성장에 대한 검정*

[0348] C57BL/6J 마우스를 생후 6주된 DBL Co. Ltd. 동물 실험실로부터 수득하였고 1 주 동안 그들의 새로운 환경에 적응하도록 허용하였다. 동기화된 휴지기 단계를 관찰하기 위해, 전기 클리퍼를 사용함으로써 각 마우스로부터 모발을 제거하였고 휴지기에서 제모 크림으로 등쪽으로 면도하였다. 비히클 대조군 (PBS)의 근육내 (IM) 주사, 달리 명시되지 않는 한 또는 (PD PD0 및 PD7)에서 2회 miR-485 억제제-485 ASO-001 (0.3 mpk 및 0.6 mpk)의 근육내 (IM) 주사. 피부 색소침착의 외관 및 모발 성장을 모니터링하였고 디지털 현미경사진으로 문서화하였고, 실험자(들)는 처리 조건에 맹검되었다. 또한 색소침착 수준 및 모간 밀도에 기초하여 0에서 6까지의 값으로 진행을 할당하였고, 0은 모발 성장 없음 (및 색소침착 없음)을 나타내었고 더 높은 숫자는 더 어두운 피부와 더 넓은 면적의 빽빽한 모발 성장에 해당하였다. 채점을 맹목적으로 실시하였다. 상이한 점수를 나타내는 이미지는 모발 재성장 정량화 척도 (0-6)로 제시되고, 여기서 등급 0 = 피부 분홍색, 색소침착 없음; 등급 1 = 흑화를 나타내는 <30% 피부 부위, 그러나 가시적 모발 없음; 등급 2 = 흑화를 나타내는 30%-70% 피부 부위, 가시적 모발 없음; 등급 3 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 또는 30% 모발 가시적; 등급 4 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 및 30% - 70% 모발 가시적; 등급 5 = 흑화를 나타내는 >70% 피부 부위, 및 >70% 모발 가시적; 및 등급 6 = 흑화를 나타내는 >90% 피부 부위, >90% 및 모발 가시적.

[0349] *조직 염색, 피부 및 모낭의 조직학적 구조의 측정*

[0350] 모든 그룹의 등 피부를 PD10 및 PD16에서 4% PFA로 고정하였고 헤마톡실린 및 에오신 (H&E) 염색으로 평가하였다. HF의 수를 진피 및 피하조직에서 (단면) 계수하였다. 진피 및 피하조직의 두께를 가시적 현미경 필드 (3개 필드)에서 최소 7회 측정으로 취하였다. Motic 이미지 플러스 2.0 ML로 이미지를 분석함으로써 등 피부의 종단면 및 횡단면으로부터 모낭의 길이 및 모구의 직경을 측정하였다.

[0351] *실시간 PCR*

[0352] 소형 및 대형 RNA 키트 (Macherey Nagel, Dren)를 사용하여 총 RNA를 단리하였다. 수집된 RNA의 농도를 핵산 정량화 시스템 (Nanodrop. Thermo Scientific Inc.)으로 측정하였다. miScript II RT 키트 (Qiagen, Hilden, 독일)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 분석을 위하여 CFX 연결 시스템 (Bio-Rad)에서 TOPREAL™ qPCR 2X PreMIX (Enzynomics, 한국)를 사용하여 TaqMan miRNA 분석으로 miR-485-3p의 발현을 수행하였다. Bio-Rad 실시간 PCR 시스템으로 이중체 DNA 형성을 측정하기 위해 Taq man 프로브를 사용하여 개별 cDNA의 실시간 PCR 측정을 수행하였다. 프라이머는 다음과 같았다:

[0353] 프로브:FAM-CGAGGTCGACTTCCCTAGA-NFQ.miR-485 3p

[0354] 정방향:5'CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA-3'. 상대 유전자 발현을 $2^{-\Delta\Delta C}{}_{T}$로 분석하였다.

[0355] 웨스턴 블롯팅

[0356] 제모 후 10 일째 및 16 일째에 피부 샘플을 수확하였다. 프로테아제/포스파타제 억제제 칵테일 (Cell Signaling Technology, Cat#5872)을 함유하는 빙냉된 RIPA 완충액 (iNtRON Biotechnology)에서 균질화로 마우스 피부 조직 용해물을 제조하였다. 4 ℃에서 15 분 동안 13,000 rpm에서 원심분리함으로써 조직 파편을 제거하였고, 상청액을 수집하였다. 용해물을 5% β-메르캅토에탄올 (Fisher Scientific)을 함유하는 1 x SDS (Fisher Scientific) 로딩 완충액에서 5 분 동안 비등시켰다. 샘플을 그 다음 MOPS SDS 운용 완충액 (Invitrogen)내 PAGE 8%, 12% Bis-Tris 겔 (Invitrogen)에서 SDS-PAGE에 적용하였고 PVDF 막으로 옮겼고 다음 1차 항체와 인큐베이션하였다: 토끼 항-CD36 (Abcam, Cat# ab80080, 1:1000), 토끼 항-VEGF-A (Abcam, Cat# ab51745, 1:1000), 토끼 항-Wnt3a (IBL,Cat#11088, 1:1000), 토끼 항-β-액틴 (Abcam, Cat#ab1997, 1:100), 항-액틴 (Santa Cruz, Cat#sc-47778). 향상된 화학발광 시스템을 사용하여 결과를 시각화하였고, 밀도측정 분석 (Image J 소프트웨어, NIH)으로 정량화하였다. 모든 실험을 최소 3회 독립적으로 수행하였다.

[0357] *면역형광성 염색*

[0358] C57BL/6J 마우스의 피부 조직을 동결 조직-포매 제제 (OTC Compound, Sakura Finetek Japan Co., Ltd.)에 포매하였고, 동결된 절편 생산 시스템 (Cryostat, Leica Camera AG Co., Ltd.)으로 동결된 절편 슬라이드를 제조하였다. 4% PFA로 15 분 동안 고정한 후, PBS로 조직을 세정하였고 PBS에 5% 탈지유, 1% 당나귀 혈청 및 0.1% TritonX-100을 첨가함으로써 수득된 차단 용액을 사용하여 1 시간 동안 반응시켰다. 다음으로, CD36 항체 용액 (Invitrogen Cat# PA1-16813)을 차단 용액으로 50배 희석시킴으로써 수득된 1차 항체 용액을 사용하여 실온에서 1 시간 또는 4℃에서 밤새 조직을 반응시켰다. PBS로 3회 세정한 후, FITC-표지 항-마우스 IgG 항체 (Invitrogen Corp.)를 차단 용액으로 각각 200배 희석함으로써 수득된 2차 항체 용액을 사용하여 실온에서 1 시간 동안 조직을 반응시켰다. DAPI 용액과 반응시킨 후, 조직을 PBS로 3회 세정하였고 변색방지 시약 (Prolong Gold Antifade Reagent) 및 커버 글라스로 밀봉하였다. 형광 현미경 (Olympus Corp.)을 사용하여 조직을 관찰하였다.

[0359] **실시예 3: miR-485 억제제의 용량 의존적 모발 성장 촉진 효과의 분석**

[0360] 제모된 마우스에서 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (실시예 1에 나타낸 대로 제조됨)의 모발 재성장 효과 평가를 시작하기 위해, 6주령 C57BL/6J 마우스를 구입하여 일주일 동안 그들의 새로운 환경에 적응시켰다. 동기화된 휴지기 단계를 관찰하기 위해, 제모 크림을 사용함으로써 각 마우스에서 모발을 제거하였다. 그 다음 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 모발 재성장 효과를 평가하기 위해 동물을 5개 그룹 (n = 6)으로 나누었다. 음성 대조군 (PBS) 및 485 ASO-001 (0.1 mpk, 0.3 mpk 및 0.6 mpk)을 1회 근육내 주사로 투여하였다. 마우스의 디지털 사진을 처리 후 5 (도 2a), 7 (도 2b), 9 (도 2c), 12 (도 2d), 14 (도 2E), 및 16 일째 (도 2f)에 제모후 (pd.) 촬영하였고, 모발 성장 부위를 형태학적 관찰을 통해 0-6의 점수로 분석하였다 (도 2g).

[0361] 도 2g에 나타난 대로, PBS-처리 대조군 그룹과 비교하여 485 ASO-001 (0.3 mpk 및 0.6 mpk) 처리된 마우스 그룹에서 7 및 12 일째에 모발 성장 점수에서 상당한 증가를 관찰하였다. 게다가, 485마리의 ASO-001 (0.6mpk) 처리된 마우스 그룹은 485마리의 ASO-001 (0.1mpk 및 0.3mpk) 처리된 마우스 그룹과 비교하여 더 많은 모발 재성장을 나타냈다 (도 2g).

[0362] 게다가, miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 모발 재성장 효과를 평가하기 위해 C57BL/6J 마우스를 5개 그룹 (n = 5)으로 나누었다. 음성 대조군 (PBS) 및 양성 대조군 (2% 미녹시딜) 및 485 ASO-001 (0.3 mpk 및 0.6 mpk)을 2회 (PD0 및 PD7) 근육내 주사로 투여하였다. 마우스의 디지털 사진을 처리 후 5 (도 4d), 7 (도 4e), 10 (도 4f), 12 (도 4g), 14 (도 4h), 16 일째 (도 4i)에 제모후 (pd.) 촬영하였고, 모발 성장 부위를 형태학적 관찰을 통해 0-6의 점수로 분석하였다 (도 4j). PBS-처리 대조군 그룹 및 양성 대조군 미녹시딜 처리 그룹과 비교하여 485 ASO-001 2회 반복 근육내 주사 (0.3 mpk 및 0.6 mpk) 처리된 마우스 그룹에서 7, 10, 12, 14, 및 16 일째에 모발 성장 점수에서 상당한 증가를 관찰하였다 (도 4j). 게다가, 485 ASO-001 (0.6 mpk-2회) 처리된 마우스 그룹은 485 ASO-001 (0.3 mpk-2회) 처리된 마우스 그룹과 비교하여 더 많은 모발 재성장을 나타냈다 (도 4j).

[0363] 상기 결과는 모발 성장 유도에서 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 용량-의존적 효능을 입증한다. 예를 들어, 결과는 miR-485 억제제 (485 ASO-001)가 텔레제닉 마우스 (예를 들면, 도 4d-4j 참조)에서 성장기 모발 성장의 초기 표시를 향상시켰다는 것을 보여주었다. 특히, miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk-2회) 처리된 마우스 그룹은 PBS-처리 대조군 그룹 및 미녹시딜 처리 그룹과 비교해서 강력하게 활성화되고 유지된 성장기 모발 성장 (도 4d-4j)을 나타냈다. 이들 결과는 miR-485 억제제 (485 ASO-001)가 휴지기에서 성장기 단계로의 전이를 활성

화하였고, 그러므로 모발 성장을 촉진시켰다는 것을 시사한다.

[0364] **실시예 4: 모발 밀도에 관한 miR-485 억제제의 용량 의존적 효과의 분석**

[0365] 실시예 1에 기재된 대로, PBS 및 485 ASO-001로 처리된 제모된 마우스에 관한 실시예 1에 나타난 대로 제조된 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 모발 재성장 효과를 추가로 평가하기 위해, 485 ASO-001 (0.1 mpk, 0.3 mpk, 0.6 mpk)로 처리후 모발 밀도를 PBS-처리 대조군 그룹과 비교하였다. Kong, Bom-Viewer Plus 소프트웨어 (Bomtech Electronics Co., Ltd., 서울, 한국)를 사용하여 12 (도 3a) 및 16 일째 (도 3b)에 견갑골간 피부의 동일한 영역 (3.6 mm^2)에서 각 마우스의 피부확대경 이미지를 획득하였다. 이미지 (x200 배율; 실제 면적 3.6mm^2)을 분석함으로써 모발 밀도를 평가하였다.

[0366] 도 3c에 나타난 대로, PBS-처리 대조군 그룹과 비교하여 485 ASO-001 (0.6 mpk) 처리된 마우스 그룹에서 12 및 16 일째에 모발 밀도에서 상당한 증가를 관찰하였다. 485 ASO-001 (0.6 mpk) 처리된 마우스 그룹은 485 ASO-001 (0.1 mpk) 및 485 ASO-001 (0.3 mpk) 처리된 마우스 그룹과 비교하여 증가된 모발 밀도를 나타냈다.

[0367] 상기 결과는 모발 밀도 증가에서 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 용량-의존적 효능을 입증한다.

[0368] **실시예 5: 모발 길이에 관한 miR-485 억제제의 용량 의존적 효과의 분석**

[0369] 실시예 1에 기재된 대로, PBS 및 485 ASO-001로 처리된 제모된 마우스에 관한 실시예 1에서 제조된 대로 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 모발 재성장 효과를 추가로 평가하기 위해, 485 ASO-001 (0.1 mpk, 0.3 mpk, 0.6 mpk)로 처리후 모발 길이를 PBS-처리 대조군 그룹과 비교하였다. 처리후 16 (도 4a) 및 21 일째 (도 4b)에 등의 제모된 등쪽 견갑골간 영역에서 대표적 부위로부터 모발을 뽑았고 마우스당 30개의 모발로부터의 평균 모발 길이를 계산하였다.

[0370] 도 4c에 나타난 대로, PBS-처리 대조군 그룹과 비교하여 485 ASO-001 (0.3 mpk 및 0.6 mpk) 처리된 마우스 그룹에서 16 일째에 모발 길이에서 상당한 증가를 관찰하였다.

[0371] 상기 결과는 모발 길이 증가에서 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 용량-의존적 효능을 입증한다.

[0372] **실시예 6: 피부 발달 및 모낭 순환 동안 miR-485-3p의 발현**

[0373] miR-485-3p (FW7_모방체) 발현 수준에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 시험하기 위해, 초기 성장기에서 후기 성장기까지 뮤린 모발 주기의 pd10 (도 5a) 및 pd16 (도 5b) 조직 샘플을 수득하였다. miRNA 발현을, 초기 성장기와 비교해서, 성체 모발 주기의 후기 성장기 성장 단계 동안 감소시켰다. (485 ASO-001) (0.3 mpk-2회) 및 PBS-처리 대조군 그룹과 비교해서 pd10 (p=0.01) 및 pd16 (p=0.03)에서 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6mpk-2배) 처리된 마우스 그룹에서 관찰된 miRNA 발현이 상당히 감소하였다. 상기 결과는 miR-485 억제제 (485 ASO-001)에 의한 miR-485-3p의 발현의 용량-의존적 하향 조절을 입증한다.

[0374] **실시예 7: 피부 및 모낭 밀도에 관한 miR-485 억제제의 용량 의존적 효과의 평가**

[0375] 모발 성장에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.3 mpk 및 0.6 mpk)의 효과를 H&E 염색에 의해 추가로 평가하였다 (도 6a, 도 6b, 도 7a, 도 7b). pd 10 일째에 진피 (p=0.03) (도 6c), 피하조직 (p=0.0001) (도 6d), 모낭 직경 (p=0.001) (도 6e), 모구 직경 (p=0.01) (도 6f), 진피에서의 모낭 밀도 (p<0.0009) (도 6g), 및 피하조직에서의 모낭 밀도 (p<0.0009)(도 6h)에서 상당한 증가를 관찰하였다. PBS-처리 대조군 처리된 그룹과 비교하여 485 ASO-001 (0.6 mpk-2회) 처리된 마우스 그룹에서 피하조직 (p=0.0003) (도 7c), 모낭 직경 (p=0.008) (도 7f), 진피에서의 모낭 밀도 (p<0.0001)(도 7g), 및 피하조직에서의 모낭 밀도 (p<0.0001) (도 7h)에서 상당한 증가를 관찰하였다. 485 ASO-001 (0.6 mpk) 처리된 마우스 그룹은 미녹시딜-처리 마우스 그룹과 비교하여 pd 10 일째에 피하조직에서 모낭의 증가된 수 (p<0.001) (도 6h) 그리고 pd 16 일째에 진피에서 모낭의 증가된 수 (p=0.004) (도 7g)를 나타냈다. miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.3 mpk 및 0.6 mpk) (p < 0.001)로의 처리는 대조군과 비교하여 용량-의존적 방식으로 모낭 수를 증가시켰다 (도 6g, 도 6h, 도 7g, 도 7h). 미녹시딜 처리가 또한 음성 대조군과 비교하여 모낭 수를 상당히 (p<0.01) 증가시켰지만, 이 증가는 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk) 처리를 이용한 것보다 낮았다 (도 6g, 도 6h). miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk) 및 미녹시딜 처리는 대조군 그룹과 비교해서 진피의 두께를 상당히 증가시켰으나 (p<0.03, p<0.04), 진피 및 피하조직 두께에서의 미녹시딜 처리 증가는 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk) (p < 0.001) 처리를 이용한 것보다 낮았다 (도 6c, 도 6d). miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk) 처리는 pd 10 일째에 대조군 및 미녹시딜 처리 그룹과 비교하여 모구의 직경을 상당히 증가시켰다 (p < 0.01). pd 16 일째에,

miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.3 mpk 및 0.6 mpk) ($p < 0.001$ 및 0.0003)를 이용한 처리는 대조군과 비교하여 용량-의존적 방식으로 피하조직의 두께를 증가시켰다.

[0376] **실시예 8: miR-485 억제제는 Wnt 및 β-카테닌 단백질 발현을 증가시켰다**

[0377] Wnt3a 및 β-카테닌 단백질 발현에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001)의 효과를 웨스턴 블롯팅으로 평가하였다. Wnt/β-카테닌 신호전달을 구체적으로 모낭 형태형성, 재생, 및 성장에 관여시킨다. Wnt3a는 진피 유두 (DP) 세포에서 Wnt/β-카테닌 신호전달 경로를 활성화하는 능력으로 인해 모발 성장을 유도한다. β-카테닌은 진피 유두에서 발현되고 성장기 유도 및 지속기간, 뿐만 아니라 각질세포 조절 및 분화를 촉진시킨다. miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk)는 Wnt3a (도 9b) 및 β-카테닌 (도 9c)의 발현을 상향 조절하였다. 피부 및 모낭 발달에 관여된 β-카테닌은 Wnt 신호전달 경로에서 필수 분자이다. 상기 결과는 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk)가 모간의 신장 및 분화를 상당히 촉진시킨다는 것을 입증한다.

[0378] **실시예 9: miR-485 억제제는 CD36 및 VEGF-A 단백질 발현을 증가시켰다**

[0379] CD36 및 혈관 내피 성장 인자-A (VEGF-A) 단백질 발현에 관한 miR-485 억제제-485 ASO-001의 효과를 웨스턴 블롯팅으로 평가하였다. miR-485 억제제-485 ASO-001 (0.6 mpk)로 처리는 PBS 대조군 그룹과 비교하여 CD36 (도 8b) 및 VEGF-A (도 8c)의 단백질 발현 수준을 상향 조절하였다. VEGF-A는 가장 강력하고 특이적인 혈관 성장 인자이며 생리학적 및 병리학적 혈관신생 (혈액 모세관 형성)의 주요 조절자이다. 전사 제어 및 mRNA 안정성을 통해서 VEGF-A 수준을 조절한다.

[0380] 뮤린 체모 모낭의 중간엽은 진피초 (DS)로서 알려진 모낭-내벽 평활근으로 구성된다. DS는 모발 순환과 관련하여 모낭의 모세혈관을 조절한다. 면역형광 실험을 수행하여 DS 영향받은 혈관신생에서 CD36의 발현에 관한 miR-485 억제제 (485 ASO-001) (0.6 mpk)의 효과 평가를 실행하였다. 면역형광 결과 (도 10b)는 CD36 발현 세포가 miR-485 억제제 (485 ASO-001) 처리된 모낭내 DS에서 증가함을 보여주었다. 이것은 특히 성장기 모낭에서 혈관신생과 연관될 수 있다.

[0381] ***

[0382] 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.

[0383] 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.

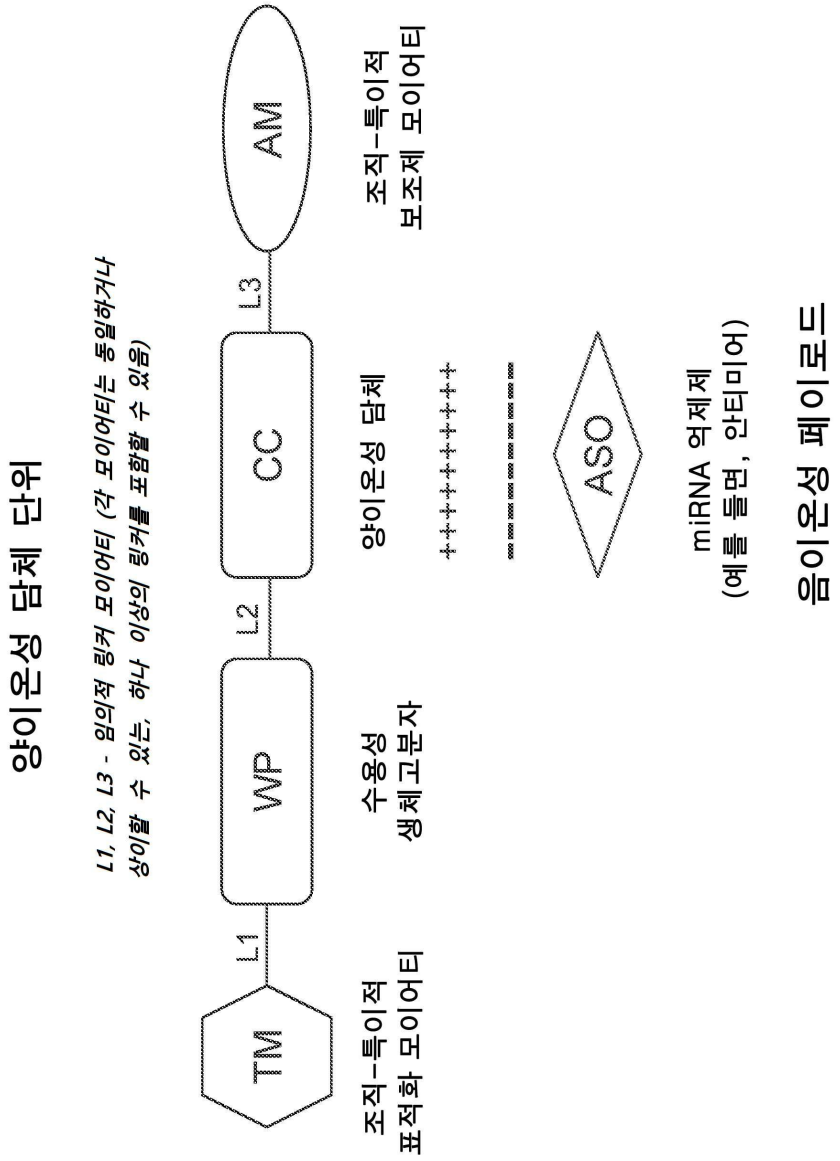
[0384] 특이적 양태의 전술한 설명은 다른 이들이, 과도한 실험작업 없이, 본 개시내용의 일반 개념을 벗어나지 않으면서, 당업계의 기술 내에서 지식을 적용함으로써, 다양한 적용에 대하여 그러한 특이적 양태를 용이하게 수정 및/또는 적응할 수 있는 본 개시내용의 일반 성격을 매우 완전히 드러낼 것이다. 그러므로, 그러한 적응 및 수정은, 본원에 제시된 교시 및 지침에 기반하여, 개시된 양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 있기 위한 것이다. 본원에 술어 또는 전문용어가 제한이 아닌 설명의 목적을 위한 것이어서, 본 명세서의 전문용어 또는 술어가 교시 및 지침에 비추어 숙련된 기술자에 의해 해석되어야 한다는 것이 이해되어야 한다.

[0385] 본 개시내용의 폭 및 범위는 상기-기재된 예시적 양태 중 임의의 것에 의해 제한되지 않아야 하지만, 하기 청구항 및 그들의 등가물에 따라서만 정의되어야 한다.

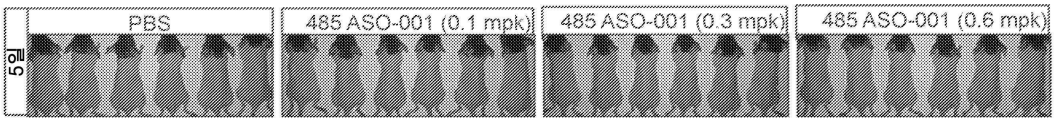
[0386] 본 출원 내내 인용될 수 있는 모든 인용된 참고문헌 (문헌 참조문헌, 특허, 특허 출원, 및 웹사이트 포함)의 내용은, 그안에 인용된 참조문헌이 그러하듯, 임의의 목적을 위하여 그들 전체가 참조로 이로써 명시적으로 편입된다.

도면

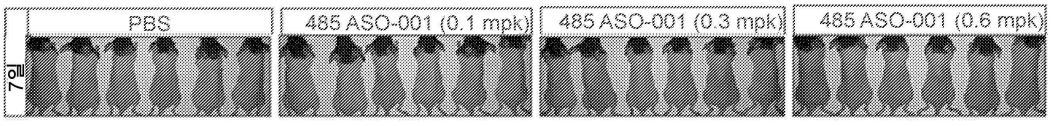
도면1



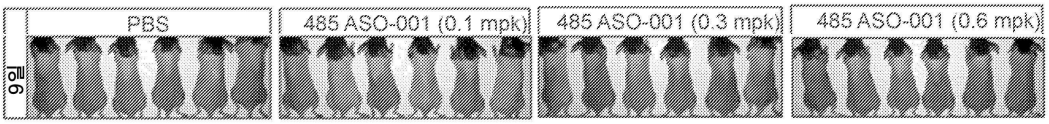
도면2a



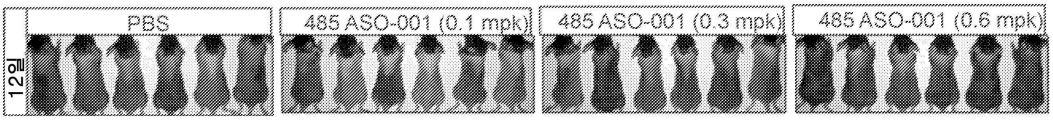
도면2b



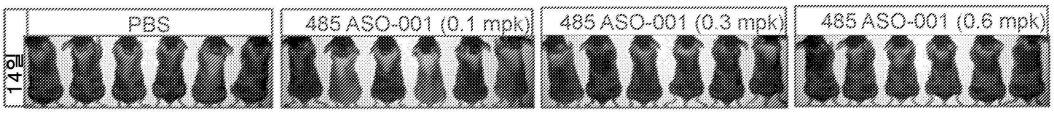
도면2c



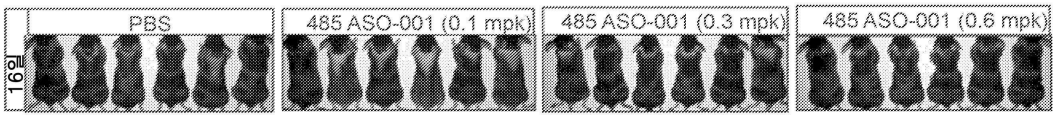
도면2d



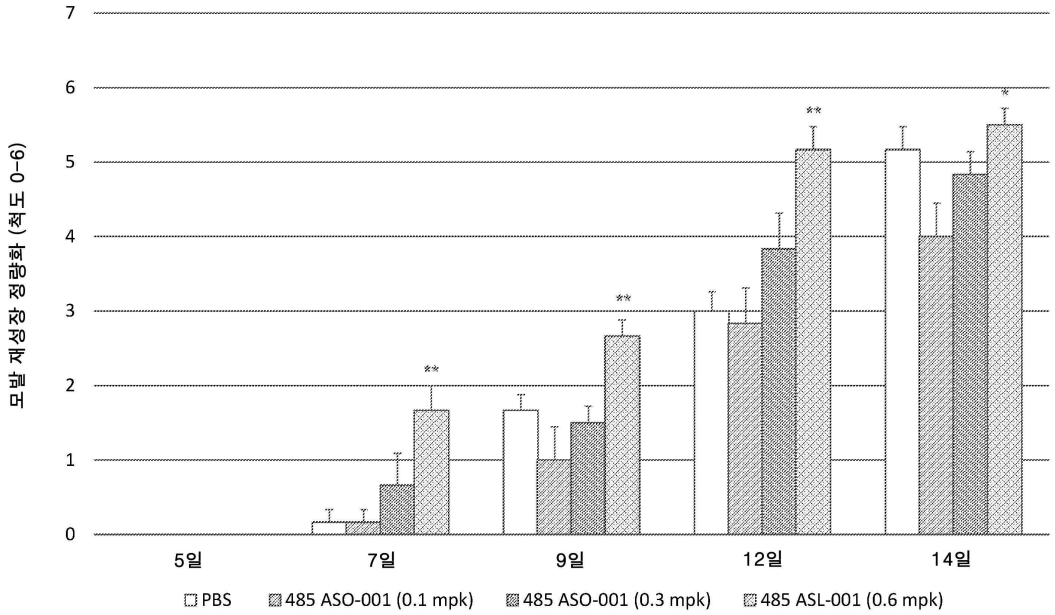
도면2e



도면2f

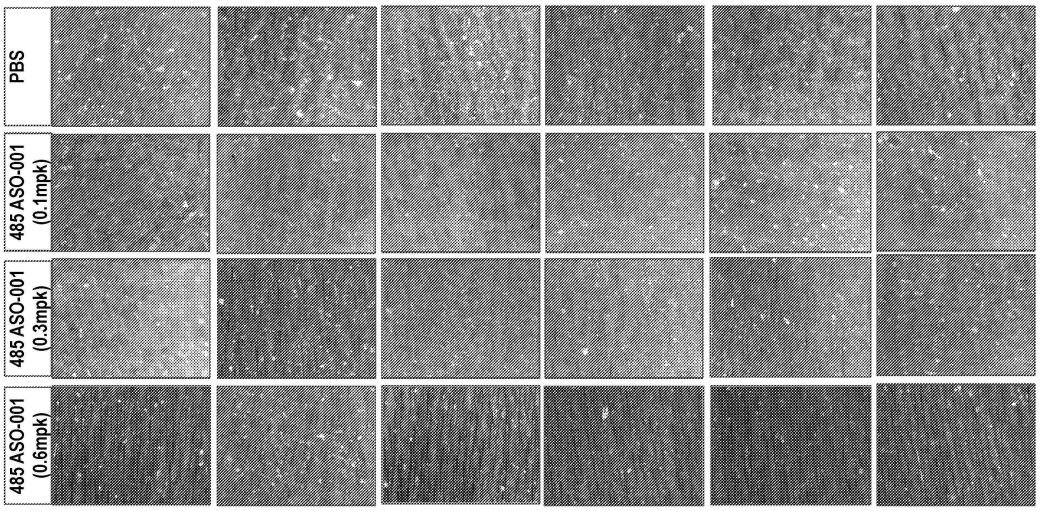


도면2g



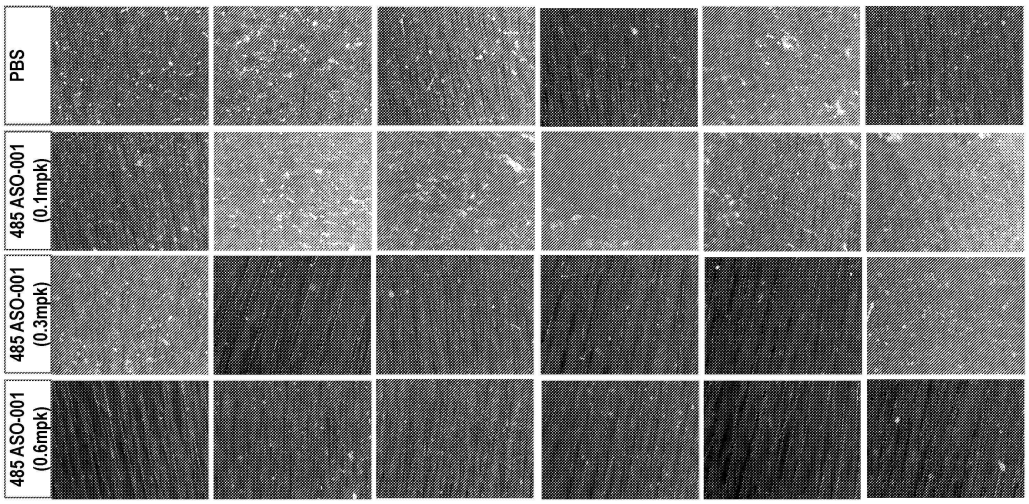
도면3a

12일

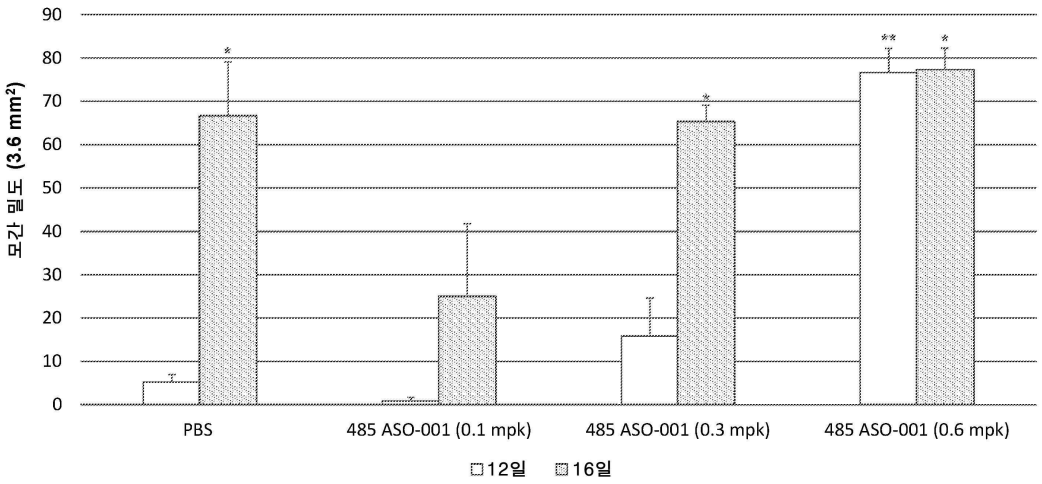


도면3b

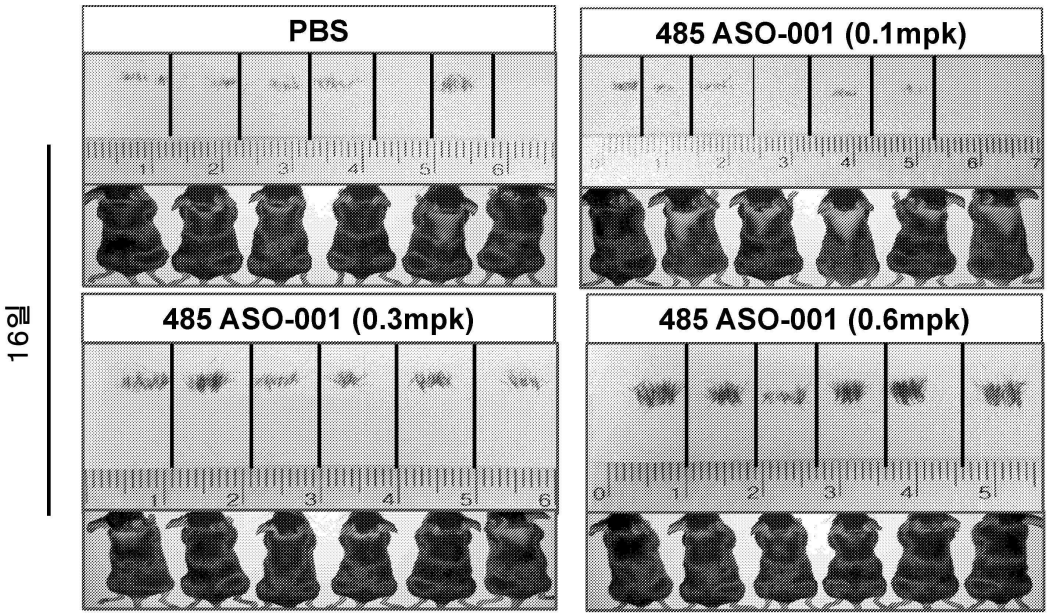
16일



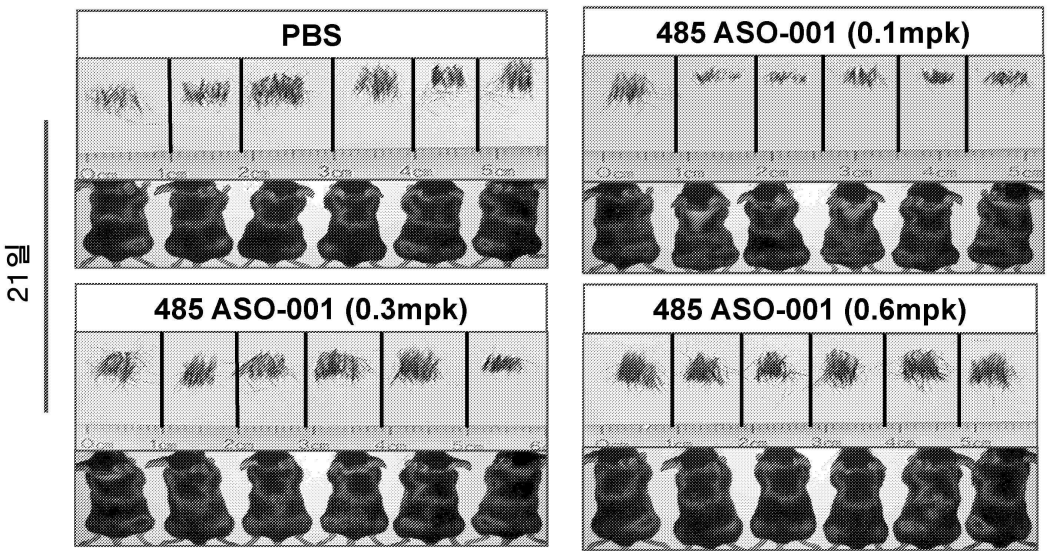
도면3c


90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
모간 밀도 (3.6 mm²)
PBS
485 ASO-001 (0.1 mpk)
485 ASO-001 (0.3 mpk)
485 ASO-001 (0.6 mpk)
12일
16일

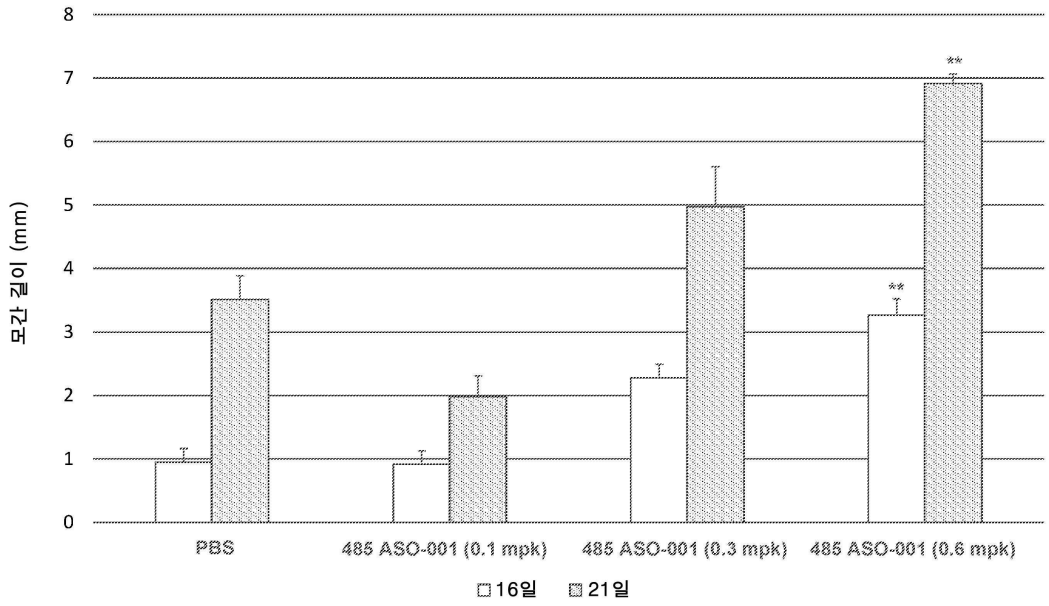
도면4a


16일
PBS
485 ASO-001 (0.1mpk)
485 ASO-001 (0.3mpk)
485 ASO-001 (0.6mpk)

도면4b



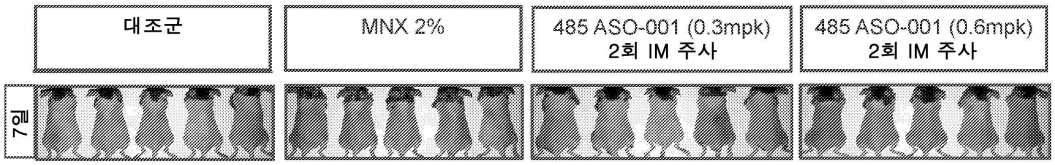
도면4c



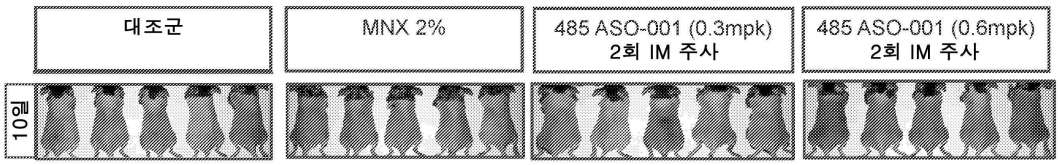
도면4d



도면4e



도면4f



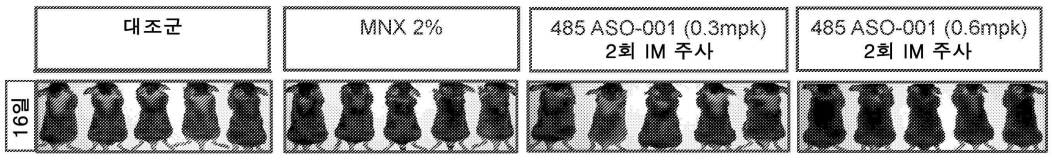
도면4g



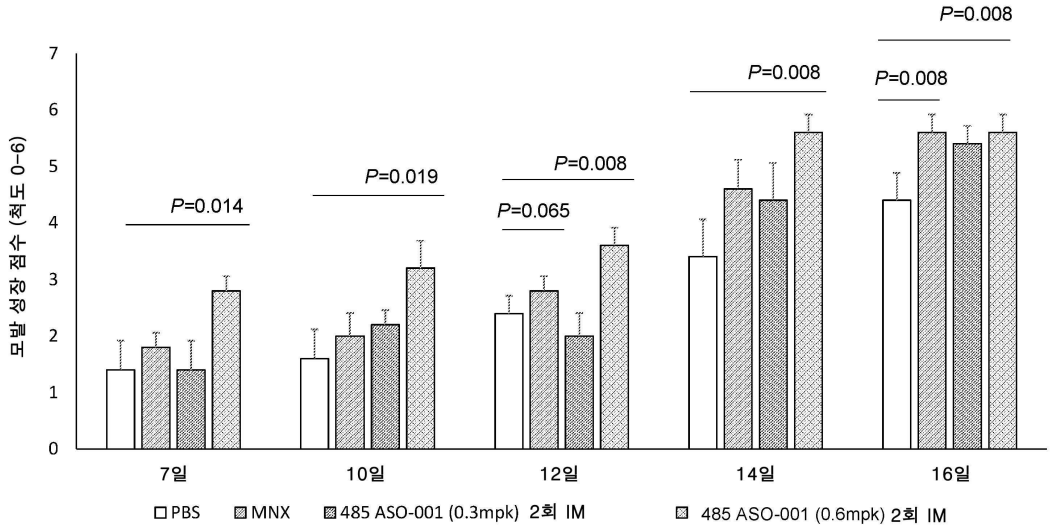
도면4h



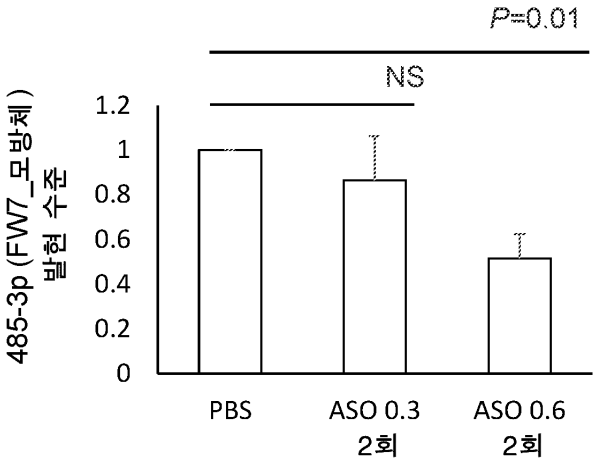
도면4i



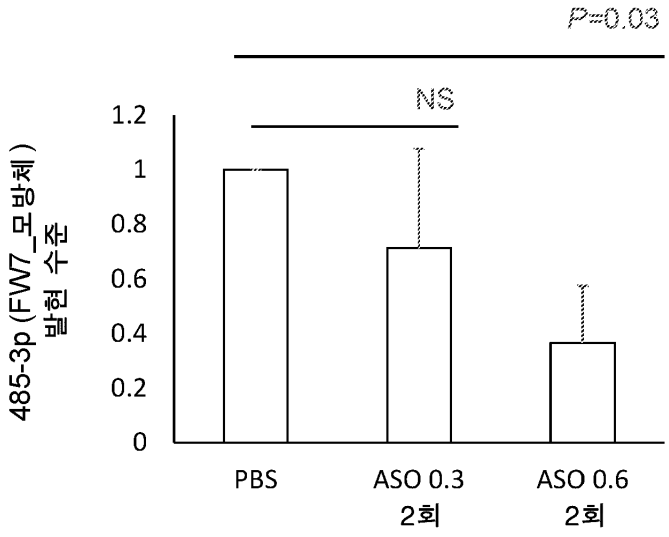
도면4j



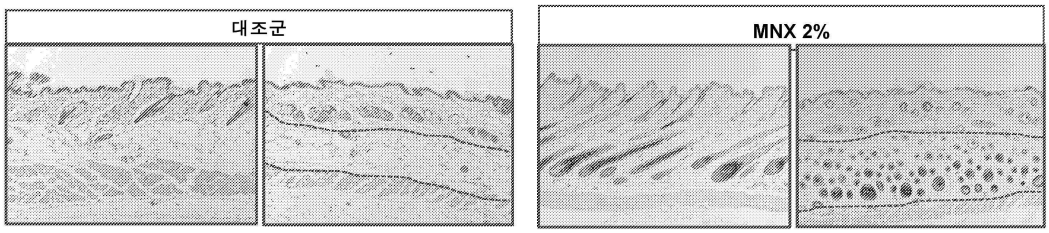
도면5a



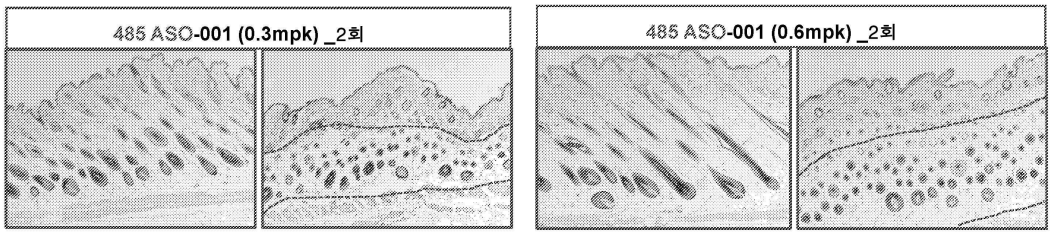
도면5b



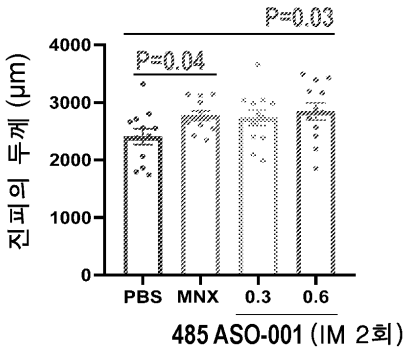
도면6a



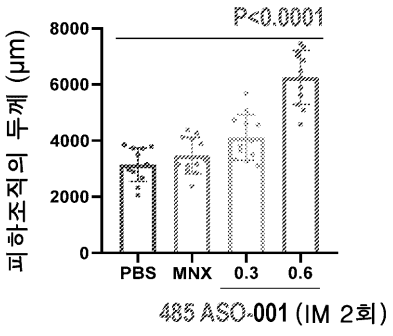
도면6b



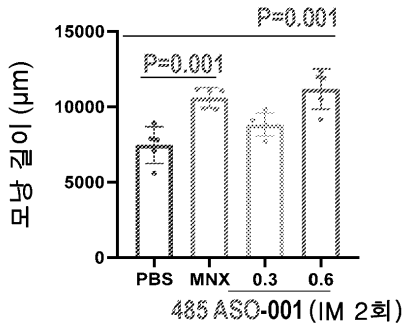
도면6c



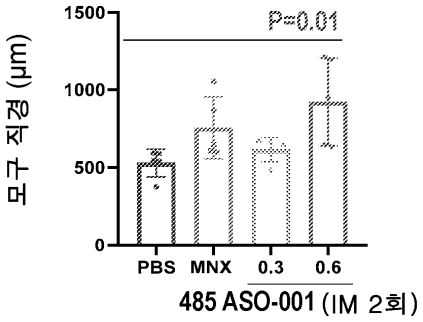
도면6d



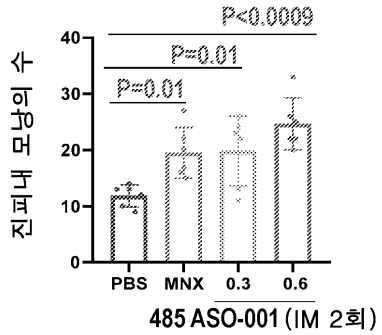
도면6e



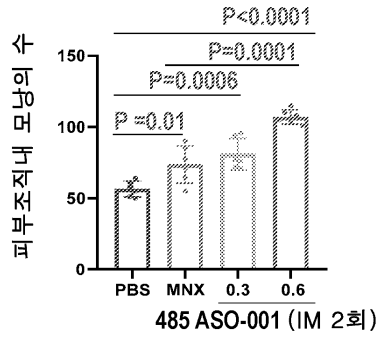
도면6f



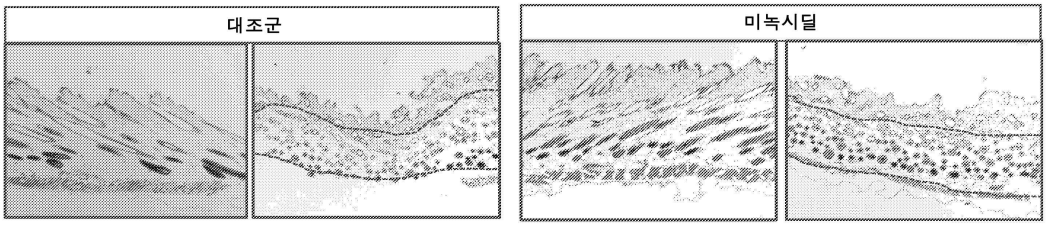
도면6g



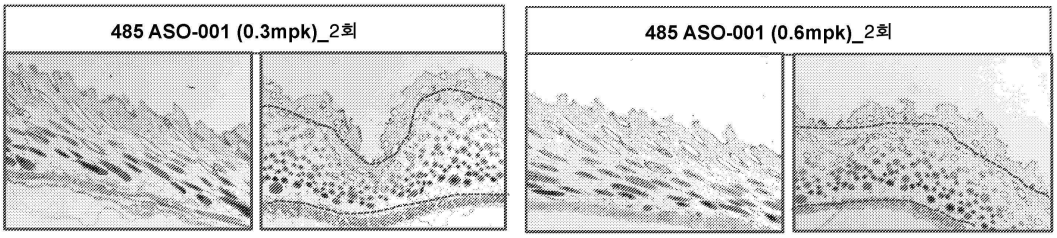
도면6h



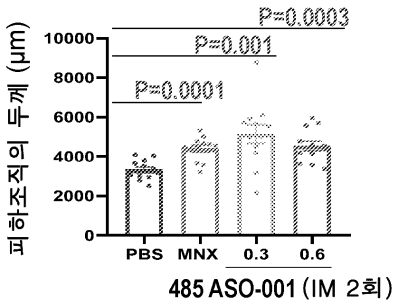
도면7a



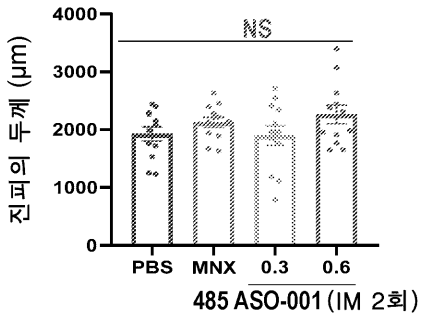
도면7b



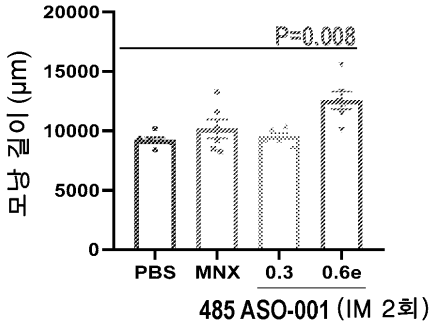
도면7c



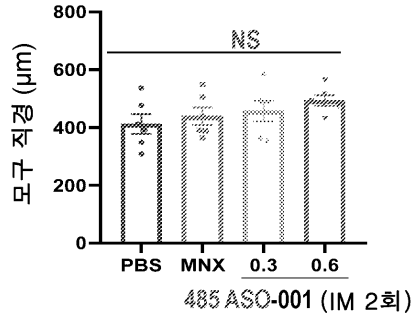
도면7d



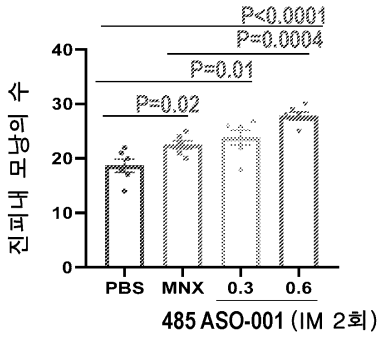
도면7e



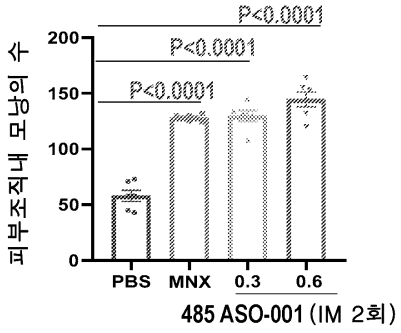
도면7f



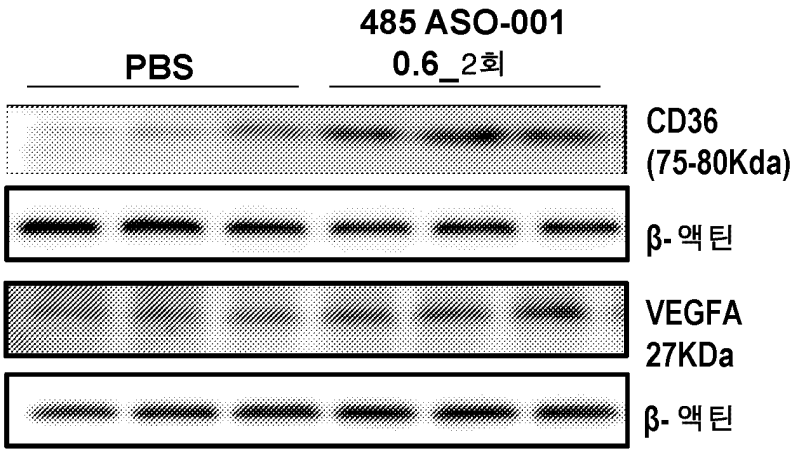
도면7g



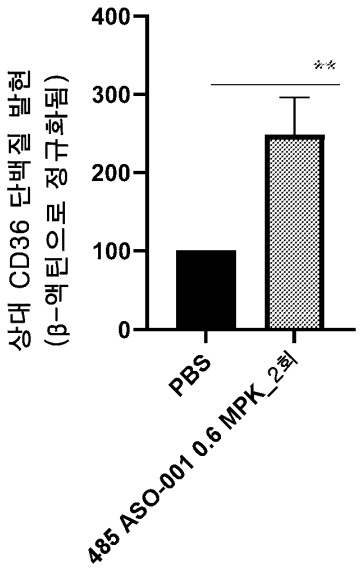
도면7h



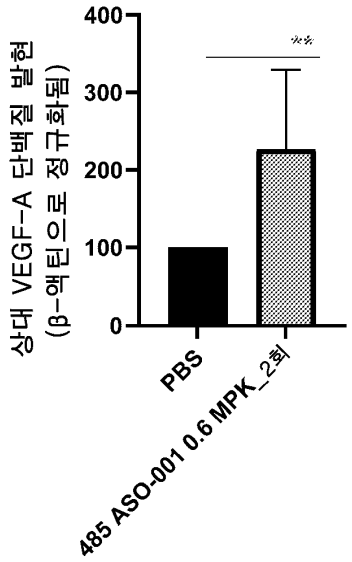
도면8a


485 ASO-001
0.6_2회
PBS
CD36
(75-80Kda)
β-액틴
VEGFA
27KDa
β-액틴

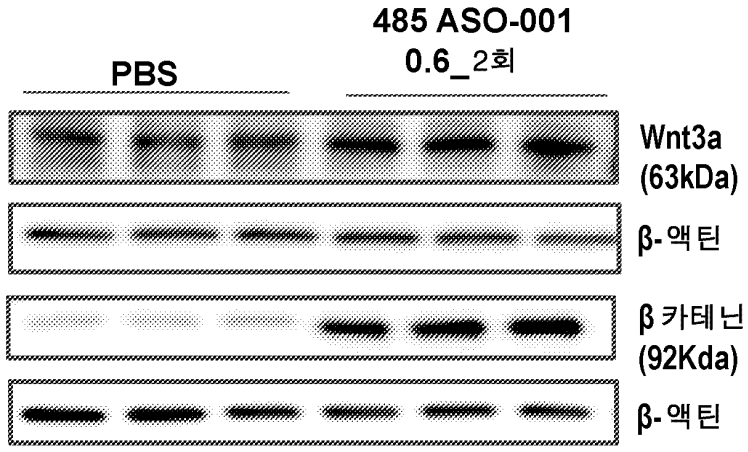
도면8b


400
300
200
100
0
**
상대 CD36 단백질 발현
(β-액틴으로 정규화됨)
PBS
485 ASO-001 0.6 MPK_2회

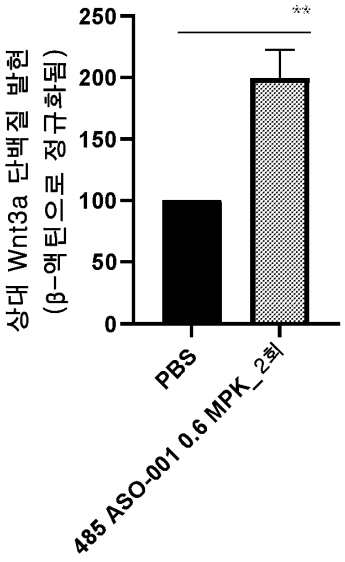
도면8c


400
300
200
100
0
상대 VEGF-A 단백질 발현
(β-액틴으로 정규화됨)
**
PBS
485 ASO-001 0.6 MPK_2회

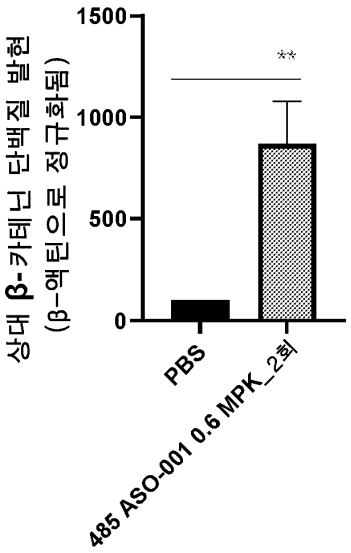
도면9a


PBS
485 ASO-001
0.6_2회
Wnt3a
(63kDa)
β-액틴
β 카테닌
(92Kda)
β-액틴

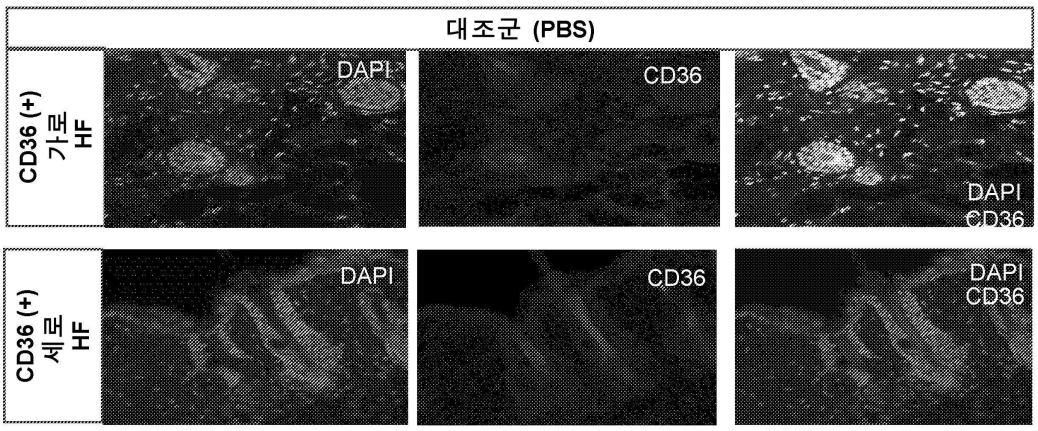
도면9b



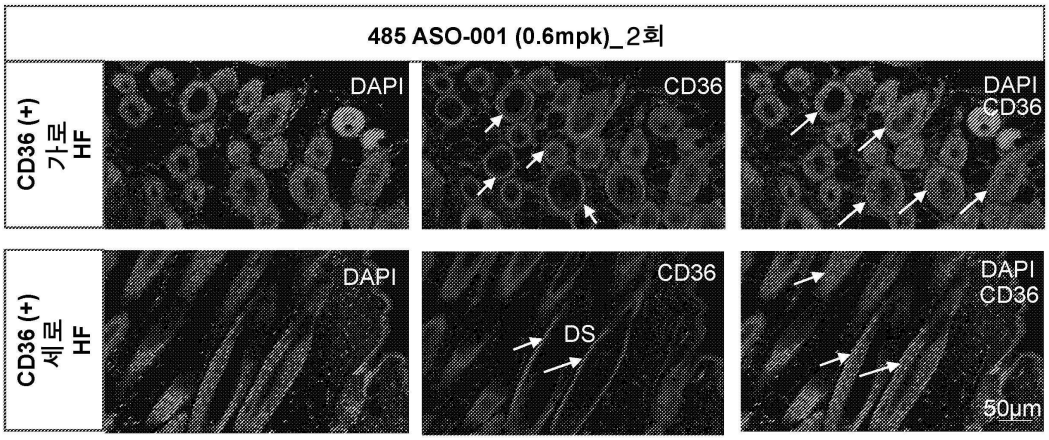
도면9c



도면10a



도면10b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BIORCHESTRA Co., Ltd

<120> USE OF MIRNA-485 INHIBITORS FOR INDUCING HAIR GROWTH

<130> 4366.037PC02

<150> US 63/130,121

<151> 2020-12-23

<160> 80

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 1

gucauacacg gcucuccucu cu 22

<210> 2

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 2

uguauga 7

<210> 3

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 3

guguauga 8

<210> 4

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 4

cguguauga 9

<210> 5

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 5

ccguguauga 10

<210> 6

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 6

gccguguaug a 11

<210> 7

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 7

agccguguau ga 12

<210> 8

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 8

gagccgugua uga 13

<210> 9

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 9

agagccgugu auga 14

<210> 10

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 10

gagagccgug uauga 15

<210> 11

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 11

ggagagccgu guauga 16

<210> 12

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 12

aggagagccg uguauga 17

<210> 13

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 13

gaggagagcc guguauga 18

<210> 14

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 14

agaggagagc cguguauga 19

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 15

gagaggagag ccguguauga 20

<210> 16

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 16

uguaugac 8

<210> 17

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 17

guguaugac 9

<210> 18

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 18

cguguaugac 10

<210> 19

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 19

ccguguauga c 11

<210> 20

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 20

gccguguaug ac 12

<210> 21

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 21

agccguguau gac 13

<210> 22

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 22

gagccgugua ugac 14

<210> 23

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 23

agagccgugu augac 15

<210> 24

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 24

gagagccgug uaugac 16

<210> 25

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 25

ggagagccgu guaugac 17

<210> 26

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 26

aggagagccg uguaugac 18

<210> 27

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 27

gaggagagcc guguaugac 19

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 28

agaggagagc cguguaugac 20

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 29

gagaggagag ccguguauga c 21

<210> 30

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 30

tgtatga 7

<210> 31

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 31

Met Gly Ser Ser His Leu Leu Asn Lys Gly Leu Pro Leu Gly Val Arg
1 5 10 15

Pro Pro Ile Met Asn Gly Pro Leu His Pro Arg Pro Leu Val Ala Leu
20 25 30

Leu Asp Gly Arg Asp Cys Thr Val Glu Met Pro Ile Leu Lys Asp Val
35 40 45

Ala Thr Val Ala Phe Cys Asp Ala Gln Ser Thr Gln Glu Ile His Glu
50 55 60

Lys Val Leu Asn Glu Ala Val Gly Ala Leu Met Tyr His Thr Ile Thr
65 70 75 80

Leu Thr Arg Glu Asp Leu Glu Lys Phe Lys Ala Leu Arg Ile Ile Val
85 90 95

Arg Ile Gly Ser Gly Phe Asp Asn Ile Asp Ile Lys Ser Ala Gly Asp
100 105 110

Leu Gly Ile Ala Val Cys Asn Val Pro Ala Ala Ser Val Glu Glu Thr
115 120 125

Ala Asp Ser Thr Leu Cys His Ile Leu Asn Leu Tyr Arg Arg Ala Thr
130 135 140

Trp Leu His Gln Ala Leu Arg Glu Gly Thr Arg Val Gln Ser Val Glu
145 150 155 160

Gln Ile Arg Glu Val Ala Ser Gly Ala Ala Arg Ile Arg Gly Glu Thr
165 170 175

Leu Gly Ile Ile Gly Leu Gly Arg Val Gly Gln Ala Val Ala Leu Arg
180 185 190

Ala Lys Ala Phe Gly Phe Asn Val Leu Phe Tyr Asp Pro Tyr Leu Ser
195 200 205

Asp Gly Val Glu Arg Ala Leu Gly Leu Gln Arg Val Ser Thr Leu Gln
210 215 220

Asp Leu Leu Phe His Ser Asp Cys Val Thr Leu His Cys Gly Leu Asn

225 230 235 240

Glu His Asn His His Leu Ile Asn Asp Phe Thr Val Lys Gln Met Arg

245 250 255

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

260 265 270

Lys Ala Leu Ala Gln Ala Leu Lys Glu Gly Arg Ile Arg Gly Ala Ala

275 280 285

Leu Asp Val His Glu Ser Glu Pro Phe Ser Phe Ser Gln Gly Pro Leu

290 295 300

Lys Asp Ala Pro Asn Leu Ile Cys Thr Pro His Ala Ala Trp Tyr Ser

305 310 315 320

Glu Gln Ala Ser Ile Glu Met Arg Glu Glu Ala Ala Arg Glu Ile Arg

325 330 335

Arg Ala Ile Thr Gly Arg Ile Pro Asp Ser Leu Lys Asn Cys Val Asn

340 345 350

Lys Asp His Leu Thr Ala Ala Thr His Trp Ala Ser Met Asp Pro Ala

355 360 365

Val Val His Pro Glu Leu Asn Gly Ala Ala Tyr Arg Tyr Pro Pro Gly

370 375 380

Val Val Gly Val Ala Pro Thr Gly Ile Pro Ala Ala Val Glu Gly Ile

385 390 395 400

Val Pro Ser Ala Met Ser Leu Ser His Gly Leu Pro Pro Val Ala His

405 410 415

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

420 425 430

Arg Asp His Ala Ser Asp Gln Leu

435 440

<210> 32

<211> 429

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 32

Met Ser Gly Val Arg Pro Pro Ile Met Asn Gly Pro Leu His Pro Arg
1 5 10 15
Pro Leu Val Ala Leu Leu Asp Gly Arg Asp Cys Thr Val Glu Met Pro
20 25 30

Ile Leu Lys Asp Val Ala Thr Val Ala Phe Cys Asp Ala Gln Ser Thr
35 40 45
Gln Glu Ile His Glu Lys Val Leu Asn Glu Ala Val Gly Ala Leu Met
50 55 60
Tyr His Thr Ile Thr Leu Thr Arg Glu Asp Leu Glu Lys Phe Lys Ala
65 70 75 80
Leu Arg Ile Ile Val Arg Ile Gly Ser Gly Phe Asp Asn Ile Asp Ile
85 90 95

Lys Ser Ala Gly Asp Leu Gly Ile Ala Val Cys Asn Val Pro Ala Ala
100 105 110
Ser Val Glu Glu Thr Ala Asp Ser Thr Leu Cys His Ile Leu Asn Leu
115 120 125
Tyr Arg Arg Ala Thr Trp Leu His Gln Ala Leu Arg Glu Gly Thr Arg
130 135 140
Val Gln Ser Val Glu Gln Ile Arg Glu Val Ala Ser Gly Ala Ala Arg
145 150 155 160

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

His Cys Gly Leu Asn Glu His Asn His His Leu Ile Asn Asp Phe Thr
225 230 235 240

Val Lys Gln Met Arg Gln Gly Ala Phe Leu Val Asn Thr Ala Arg Gly
245 250 255

Gly Leu Val Asp Glu Lys Ala Leu Ala Gln Ala Leu Lys Glu Gly Arg
260 265 270

Ile Arg Gly Ala Ala Leu Asp Val His Glu Ser Glu Pro Phe Ser Phe
275 280 285

Ser Gln Gly Pro Leu Lys Asp Ala Pro Asn Leu Ile Cys Thr Pro His
290 295 300

Ala Ala Trp Tyr Ser Glu Gln Ala Ser Ile Glu Met Arg Glu Glu Ala
305 310 315 320

Ala Arg Glu Ile Arg Arg Ala Ile Thr Gly Arg Ile Pro Asp Ser Leu
325 330 335

Lys Asn Cys Val Asn Lys Asp His Leu Thr Ala Ala Thr His Trp Ala
340 345 350

Ser Met Asp Pro Ala Val Val His Pro Glu Leu Asn Gly Ala Ala Tyr
355 360 365

Arg Tyr Pro Pro Gly Val Val Gly Val Ala Pro Thr Gly Ile Pro Ala
370 375 380

Ala Val Glu Gly Ile Val Pro Ser Ala Met Ser Leu Ser His Gly Leu
385 390 395 400

Pro Pro Val Ala His Pro Pro His Ala Pro Ser Pro Gly Gln Thr Val
405 410 415

Lys Pro Glu Ala Asp Arg Asp His Ala Ser Asp Gln Leu
420 425

<210> 33

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 33

agaggcuggc cgugaugaau uc 22

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 34

agucauacac ggcucuccuc uc 22

<210> 35

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 35

gagccgtgta tga 13

<210> 36

<211> 472

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<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> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 49

ucauaca 7

<210> 50

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 50

gaggcug 7

<210> 51

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 51

gtgtatga 8

<210> 52

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 52

cgtgtatga 9

<210> 53

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 53

ccgtgtatga 10

<210> 54

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 54

gccgtgtatg a 11

<210> 55

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 55

agccgtgtat ga 12

<210> 56

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 56

agagccgtgt atga 14

<210> 57

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 57

gagagccgtg tatga 15

<210> 58

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 58

ggagagccgt gtatga 16

<210> 59

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 59

aggagagccg tgtatga 17

<210> 60

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 60

gaggagagcc gtgtatga 18

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 61

gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 62

gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 63

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 63

tgtatgac 8

<210> 64

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 64

gtgtatgac 9

<210> 65

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 65

cgtgtatgac 10

<210> 66

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 66

ccgtgtatga c 11

<210> 67

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 67

gccgtgtatg ac 12

<210> 68

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 68

agccgtgtat gac 13

<210> 69

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 69

gagccgtgta tgac 14

<210> 70

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 70

agagccgtgt atgac 15

<210> 71

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 71

gagagccgtg tatgac 16

<210> 72

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 72

ggagagccgt gtatgac 17

<210> 73

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 73

aggagagccg tgtatgac 18

<210> 74

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 74

gaggagagcc gtgtatgac 19

<210> 75

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 75

agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 76

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 76

gagaggagag ccgtgtatga c 21

<210> 77

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 77

agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 78

<211> 476

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 78

Met Ser Gly Pro Thr Trp Leu Pro Pro Lys Gln Pro Glu Pro Ala Arg
1 5 10 15

Ala Pro Gln Gly Arg Ala Ile Pro Arg Gly Thr Pro Gly Pro Pro Pro
20 25 30

Ala His Gly Ala Ala Leu Gln Pro His Pro Arg Val Asn Phe Cys Pro
35 40 45

Leu Pro Ser Glu Gln Cys Tyr Gln Ala Pro Gly Gly Pro Glu Asp Arg
50 55 60

Gly Pro Ala Trp Val Gly Ser His Gly Val Leu Gln His Thr Gln Gly
65 70 75 80

Leu Pro Ala Asp Arg Gly Gly Leu Arg Pro Gly Ser Leu Asp Ala Glu
85 90 95

Ile Asp Leu Leu Ser Ser Thr Leu Ala Glu Leu Asn Gly Gly Arg Gly
100 105 110

His Ala Ser Arg Arg Pro Asp Arg Gln Ala Tyr Glu Pro Pro Pro Pro
115 120 125

Pro Ala Tyr Arg Thr Gly Ser Leu Lys Pro Asn Pro Ala Ser Pro Leu
130 135 140

Pro Ala Ser Pro Tyr Gly Gly Pro Thr Pro Ala Ser Tyr Thr Thr Ala
145 150 155 160

Ser Thr Pro Ala Gly Pro Ala Phe Pro Val Gln Val Lys Val Ala Gln
165 170 175

Pro Val Arg Gly Cys Gly Pro Pro Arg Arg Gly Ala Ser Gln Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Trp Gly Pro Gly Tyr Arg Ser Gln Arg Glu Pro Gly Pro Gly Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu His Gly Pro Gln Val Pro Leu Ser Gln Pro Pro Glu Asp Glu Leu

245 250 255

Asp Arg Leu Thr Lys Lys Leu Val His Asp Met Asn His Pro Pro Ser

260 265 270

Gly Glu Tyr Phe Gly Gln Cys Gly Gly Cys Gly Glu Asp Val Val Gly

275 280 285

Asp Gly Ala Gly Val Val Ala Leu Asp Arg Val Phe His Val Gly Cys

290 295 300

Phe Val Cys Ser Thr Cys Arg Ala Gln Leu Arg Gly Gln His Phe Tyr

305 310 315 320

Ala Val Glu Arg Arg Ala Tyr Cys Glu Gly Cys Tyr Val Ala Thr Leu

325 330 335

Glu Lys Cys Ala Thr Cys Ser Gln Pro Ile Leu Asp Arg Ile Leu Arg

340 345 350

Ala Met Gly Lys Ala Tyr His Pro Gly Cys Phe Thr Cys Val Val Cys

355 360 365

His Arg Gly Leu Asp Gly Ile Pro Phe Thr Val Asp Ala Thr Ser Gln

370 375 380

Ile His Cys Ile Glu Asp Phe His Arg Lys Phe Ala Pro Arg Cys Ser

385 390 395 400

Val Cys Gly Gly Ala Ile Met Pro Glu Pro Gly Gln Glu Glu Thr Val

405 410 415

Arg Ile Val Ala Leu Asp Arg Ser Phe His Ile Gly Cys Tyr Lys Cys

420 425 430

Glu Glu Cys Gly Leu Leu Leu Ser Ser Glu Gly Glu Cys Gln Gly Cys

435 440 445

Tyr Pro Leu Asp Gly His Ile Leu Cys Lys Ala Cys Ser Ala Trp Arg

450 455 460

Ile Gln Glu Leu Ser Ala Thr Val Thr Thr Asp Cys

465 470 475

<210> 79

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 79

Ser Gly Pro Thr Trp Leu Pro Pro Lys Gln Pro Glu Pro Ala Arg Ala

1 5 10 15

Pro Gln Gly Arg Ala Ile Pro Arg Gly Thr Pro Gly Pro Pro Pro Ala

20 25 30

His Gly Ala Val Leu Pro Gly Pro Arg Gly Thr Gly Gly Ser Gly Ala

35 40 45

Gly Val Gly Gly Val Pro Trp Ser Thr Pro Ala His Ala Gly Ala Pro

50 55 60

Cys Arg Gln Gly Gly Pro Ser Pro Trp Lys Pro Gly Arg Arg Asp Arg

65 70 75 80

Leu Ala Glu Gln His Ala Gly Arg Ala Glu Trp Gly Ser Gly Ser Cys

85 90 95

Val Thr Ala Thr Arg Pro Thr Gly Ile

100 105

<210> 80

<211> 80

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 80

Met Ser Gly Pro Thr Trp Leu Pro Pro Lys Gln Pro Glu Pro Ala Arg
1 5 10 15
Ala Pro Gln Gly Arg Ala Ile Pro Arg Gly Thr Pro Gly Pro Pro Pro
20 25 30

Ala His Gly Ala Gly Ala Pro Cys Arg Gln Gly Gly Pro Ser Pro Trp
35 40 45
Lys Pro Gly Arg Arg Asp Arg Leu Ala Glu Gln His Ala Gly Arg Ala
50 55 60
Glu Trp Gly Ser Gly Ser Cys Val Thr Ala Thr Arg Pro Thr Gly Ile
65 70 75 80