

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-513190

(P2023-513190A)

(43)公表日 令和5年3月30日(2023.3.30)

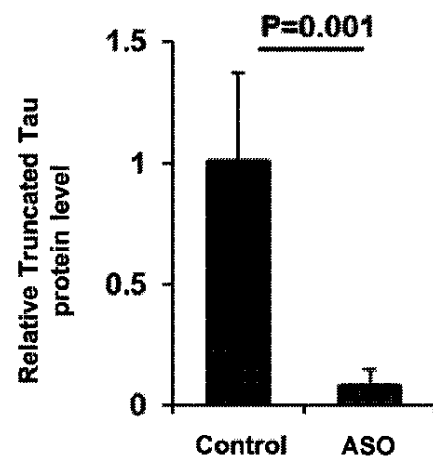
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 B 0 6 5	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	9/107(2006.01)	A 6 1 K	9/107	4 C 0 8 7	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全81頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-547889(P2022-547889)	(71)出願人	521564467		
(86)(22)出願日	令和3年2月6日(2021.2.6)		バイオーケストラ カンパニー, リミテッド		
(85)翻訳文提出日	令和4年10月4日(2022.10.4)		大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソ		
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/050976		シング, クアハク-ロ, 1 2 5, ク		
(87)国際公開番号	WO2021/156833		リップ, ベンチャー-ドン, 2エフ		
(87)国際公開日	令和3年8月12日(2021.8.12)		2 1 6		
(31)優先権主張番号	62/971,775	(74)代理人	100078282		
(32)優先日	令和2年2月7日(2020.2.7)		弁理士 山本 秀策		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413		
(31)優先権主張番号	62/989,489		弁理士 森下 夏樹		
(32)優先日	令和2年3月13日(2020.3.13)	(74)代理人	100181674		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 飯田 貴敏		
(31)優先権主張番号	63/047,151	(74)代理人	100181641		
	最終頁に続く		弁理士 石川 大輔		
			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 タウオパチーを治療するためのM I R N A - 4 8 5 阻害剤の使用

(57)【要約】

本開示は、S I R T 1タンパク質またはS I R T 1遺伝子の発現、P G C - 1 α タンパク質及び／またはP G C - 1 α 遺伝子の発現、及び／またはC D 3 6及び／またはC D 3 6遺伝子の発現のレベルの減少に関連したタウオパチーを治療するためのm i R N A阻害剤の使用を含む。本開示は、タウオパチーを治療するためのm i R - 4 8 5阻害剤（例えば、少なくとも1つのm i R - 4 8 5結合部位を含むヌクレオチド分子をコードするポリヌクレオチド）の使用を提供するものである。

FIG. 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

タウオパチーを治療する必要のある対象において前記タウオパチーを治療する方法であって、 $miR-485$ を阻害する化合物（ $miRNA$ 阻害剤）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

前記 $miR-485$ 阻害剤が、前記対象の $SIRT1$ タンパク質及び／または $SIRT1$ 遺伝子のレベルを増加させる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記対象が、 $SIRT1$ タンパク質及び／または $SIRT1$ 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーを有する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記 $miRNA$ 阻害剤が、オートファジーを誘導し、及び／または／または炎症を治療もしくは予防する、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 $miRNA$ 阻害剤が、前記対象の $CD36$ タンパク質及び／または $CD36$ 遺伝子のレベルを増加させる、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記対象が、 $CD36$ タンパク質及び／または $CD36$ 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーを有する、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記 $miRNA$ 阻害剤が、前記対象の $PGC-1\alpha$ タンパク質及び／または $PGC-1\alpha$ 遺伝子のレベルを増加させる、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記対象が、 $PGC-1\alpha$ タンパク質及び／または $PGC-1\alpha$ 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーを有する、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 $miRNA$ 阻害剤が神経発生を誘導する、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

神経発生を誘導することが、神経幹細胞及び／または前駆細胞の増殖、分化、遊走、及び／または生存率の増加を含む、請求項 9 に記載の方法。

30

【請求項 11】

神経発生を誘導することが、神経幹細胞及び／または前駆細胞の数の増加を含む、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

神経発生を誘導することが、軸索、樹状突起、及び／またはシナプスの発生の増加を含む、請求項 9～11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記 $miRNA$ 阻害剤が食作用を誘導する、請求項 1～12 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 14】

$SIRT1$ タンパク質及び／または $SIRT1$ 遺伝子の異常なレベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において前記タウオパチーを治療する方法であって、 $miR-485$ を阻害する化合物（ $miRNA$ 阻害剤）を前記対象に投与することを含み、前記 $miRNA$ 阻害剤が前記 $SIRT1$ タンパク質及び／または $SIRT1$ 遺伝子のレベルを増加させる、前記方法。

【請求項 15】

$CD36$ タンパク質及び／または $CD36$ 遺伝子の異常なレベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において前記タウオパチーを治療する方法であって、 $miR-$

50

485を阻害する化合物（miRNA阻害剤）を前記対象に投与することを含み、前記miRNA阻害剤が前記CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子のレベルを増加させる、前記方法。

【請求項16】

PGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の異常なレベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において前記タウオパチーを治療する方法であって、miR-485を阻害する化合物（miRNA阻害剤）を前記対象に投与することを含み、前記miRNA阻害剤が前記PGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子のレベルを増加させる、前記方法。

【請求項17】

前記miRNA阻害剤がmiR485-3pを阻害する、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

前記miR485-3pが、5'-gucauacacggcuccuccuccu-3'（配列番号1）を含む、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記miRNA阻害剤が、5'-UGUAUGA-3'（配列番号2）を含むヌクレオチド配列を含み、前記miRNA阻害剤が約6～約30ヌクレオチドの長さである、請求項1～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項20】

前記miRNA阻害剤が、SIRT1、PGC1- α 、及び／またはCD36遺伝子の転写、及び／またはSIRT1、PGC1- α 、及び／またはCD36タンパク質の発現を増加させる、請求項1～19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項21】

前記miRNA阻害剤が、前記ヌクレオチド配列の前記5'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項22】

前記miRNA阻害剤が、前記ヌクレオチド配列の前記3'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む、請求項1～21のいずれか1項に記載の方法。

【請求項23】

前記miRNA阻害剤が、5'-UGUAUGA-3'（配列番号2）、5'-GUGUAUGA-3'（配列番号3）、5'-CGUGUAUGA-3'（配列番号4）、5'-CCGUGUAUGA-3'（配列番号5）、5'-GCCGUGUAUGA-3'（配列番号6）、5'-AGCCGUGUAUGA-3'（配列番号7）、5'-GAGCCGUG

10

20

30

40

50

U A U G A - 3' (配列番号 8)、5' - A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 9)、5' - G A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 10)、5' - G G A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 11)、5' - A G G A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 12)、5' - G A G G A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 13)、5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 14)、5' - G A G A G G A G A G C C G U G U A U G A - 3' (配列番号 15)、5' - U G U A U G A C - 3' (配列番号 16)、5' - G U G U A U G A C - 3' (配列番号 17)、5' - C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 18)、5' - C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 19)、5' - G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 20)、5' - A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 21)、5' - G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 22)、5' - A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 23)、5' - G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 24)、5' - G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 25)、5' - A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 26)、5' - G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 27)、5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 28)、5' - G A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 29)、または 5' - A G A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 30) からなる群から選択される配列を有する、請求項 1～17 及び 20～22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記 miRNA 阻害剤が、5' - T G T A T G A - 3' (配列番号 62)、5' - G T G T A T G A - 3' (配列番号 63)、5' - C G T G T A T G A - 3' (配列番号 64)、5' - C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 65)、5' - G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 66)、5' - A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 67)、5' - G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 68)、5' - A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 69)、5' - G A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 70)、5' - G G A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 71)、5' - A G G A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 72)、5' - G A G G A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 73)、5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 74)、5' - G A G A G G A G A G C C G T G T A T G A - 3' (配列番号 75)、5' - T G T A T G A C - 3' (配列番号 76)、5' - G T G T A T G A C - 3' (配列番号 77)、5' - C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 78)、5' - C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 79)、5' - G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 80)、5' - A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 81)、5' - G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 82)、5' - A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 83)、5' - G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 84)、5' - G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 85)、5' - A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 86)、5' - G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 87)、5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 88)、5' - G A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 89)、及び 5' - A G A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 90) からなる群から選択される配列を有する、請求項 1～17 及び請求項 20～22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記 miRNA 阻害剤の配列が、5' - A G A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 30) または 5' - A G A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 90) と、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、または少なくとも約 95% の配列同一性を有する、請求項 1～23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記miRNA阻害剤が、5'－AGAGAGGAGAGGCCCGUGUAUGAC－3'（配列番号30）または5'－AGAGAGGAGAGGCCCGTGATGAC－3'（配列番号90）と少なくとも90%の類似性を有する、請求項24に記載の方法。

【請求項27】

前記miRNA阻害剤が、1個の置換または2個の置換を有するヌクレオチド配列5'－AGAGAGGAGAGGCCCGUGUAUGAC－3'（配列番号30）または5'－AGAGAGGAGAGGCCCGTGATGAC－3'（配列番号90）を含む、請求項1～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項28】

前記miRNA阻害剤が、ヌクレオチド配列5'－AGAGAGGAGAGGCCCGUGUAUGAC－3'（配列番号30）または5'－AGAGAGGAGAGGCCCGTGATGAC－3'（配列番号90）を含む、請求項1～26のいずれか1項に記載の方法。

【請求項29】

前記miRNA阻害剤が、ヌクレオチド配列5'－AGAGAGGAGAGGCCCGUGUAUGAC－3'（配列番号30）を含む、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記miRNA阻害剤が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む、請求項1～27のいずれか1項に記載の方法。

【請求項31】

前記少なくとも1つの修飾ヌクレオチドが、ロックド核酸（LNA）、アンロックド核酸（UNA）、アラビノ核酸（ABA）、架橋核酸（BNA）、及び／またはペプチド核酸（PNA）である、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記miRNA阻害剤が骨格修飾を含む、請求項1～31のいずれか1項に記載の方法。

【請求項33】

前記骨格修飾が、ホスホロジアミダイトモルホリノオリゴマー（PMO）及び／またはホスホロチオエート（PS）修飾である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記miRNA阻害剤が、送達剤中で送達される、請求項1～33のいずれか1項に記載の方法。

【請求項35】

前記送達剤が、ミセル、エクソソーム、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、または合成小胞である、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記miRNA阻害剤がウイルスベクターによって送達される、請求項1～35のいずれか1項に記載の方法。

【請求項37】

前記ウイルスベクターが、AAV、アデノウイルス、レトロウイルス、またはレンチウイルスである、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

前記ウイルスベクターが、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、またはこれらの任意の組み合わせの血清型を有するAAVである、請求項37に記載の方法。

【請求項39】

前記miRNA阻害剤が、送達剤によって送達される、請求項1～38のいずれか1項に記載の方法。

【請求項40】

前記送達剤が、リポドイド、リポソーム、リポプレックス、脂質ナノ粒子、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、またはコンジュゲ

10

20

30

40

50

ートを含む、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

前記送達剤が、

[WP] - L1 - [CC] - L2 - [AM] (式 I)

または

[WP] - L1 - [AM] - L2 - [CC] (式 II)

(式中、

WP は、水溶性バイオポリマー部分であり、

CC は、正に帯電したキャリア部分であり、

AM は、アジュバント部分であり、

L1 及び L2 は、独立して、任意選択のリンカーである) を有するカチオン性キャリアユニットを含み、

前記カチオン性キャリアユニットは、約 1 : 1 のイオン比で核酸と混合される場合にミセルを形成する、請求項 39 または 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記 miRNA 阻害剤が、イオン結合を介して前記カチオン性キャリアユニットと相互作用する、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記水溶性ポリマーが、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ(α-ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「POZ」)、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 41 または 42 に記載の方法。

【請求項 44】

前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール(「PEG」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール)(「PPG」)を含む、請求項 41 ~ 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記水溶性ポリマーが、下式：

【化 13】



, (式 I),

(式中、n は、1 ~ 1000 である) を有する、請求項 41 ~ 44 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 46】

前記 n が、少なくとも約 110、少なくとも約 111、少なくとも約 112、少なくとも約 113、少なくとも約 114、少なくとも約 115、少なくとも約 116、少なくとも約 117、少なくとも約 118、少なくとも約 119、少なくとも約 120、少なくとも約 121、少なくとも約 122、少なくとも約 123、少なくとも約 124、少なくとも約 125、少なくとも約 126、少なくとも約 127、少なくとも約 128、少なくとも約 129、少なくとも約 130、少なくとも約 131、少なくとも約 132、少なくとも約 133、少なくとも約 134、少なくとも約 135、少なくとも約 136、少なくとも約 137、少なくとも約 138、少なくとも約 139、少なくとも約 140、または少

10

20

30

40

50

なくとも約 141 である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

前記 n が、約 80～約 90、約 90～約 100、約 100～約 110、約 110～約 120、約 120～約 130、約 140～約 150、約 150～約 160 である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 48】

前記水溶性ポリマーが、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である、請求項 41～477 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 49】

前記カチオン性キャリア部分が、1 つ以上の塩基性アミノ酸を含む、請求項 41～48 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 50】

前記カチオン性キャリア部分が、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17 個、少なくとも 18 個、少なくとも 19 個、少なくとも 20 個、少なくとも 21 個、少なくとも 22 個、少なくとも 23 個、少なくとも 24 個、少なくとも 25 個、少なくとも 26 個、少なくとも 27 個、少なくとも 28 個、少なくとも 29 個、少なくとも 30 個、少なくとも 31 個、少なくとも 32 個、少なくとも 33 個、少なくとも 34 個、少なくとも 35 個、少なくとも 36 個、少なくとも 37 個、少なくとも 38 個、少なくとも 39 個、少なくとも 40 個、少なくとも 41 個、少なくとも 42 個、少なくとも 43 個、少なくとも 44 個、少なくとも 45 個、少なくとも 46 個、少なくとも 47 個、少なくとも 48 個、少なくとも 49 個、または少なくとも 50 個の塩基性アミノ酸を含む、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

前記カチオン性キャリア部分が、約 30 個～約 50 個の塩基性アミノ酸を含む、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記塩基性アミノ酸が、アルギニン、リシン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 50 または 51 に記載の方法。

【請求項 53】

前記カチオン性キャリア部分が、約 40 個のリシンモノマーを含む、請求項 41～52 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 54】

前記アジュバント部分が、免疫反応、炎症反応、及び／または組織微小環境を調節することができる、請求項 41～53 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 55】

前記アジュバント部分が、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 41～54 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 56】

前記アジュバント部分が、下式：

10

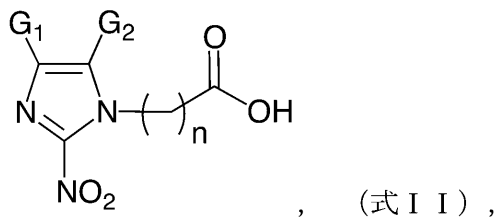
20

30

40

50

【化 1 4】



10

(式中、G 1 及び G 2 のそれぞれは、H、芳香環、もしくは 1 ～ 1 0 アルキルであるか、または G 1 と G 2 はともに芳香環を形成し、n は 1 ～ 1 0 である) を有する、請求項 5 5 に記載の組成物。

【請求項 5 7】

前記アジュバント部分がニトロイミダゾールを含む、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記アジュバント部分が、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 5 に記載の方法。

20

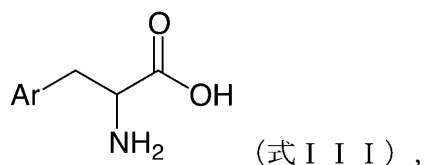
【請求項 5 9】

前記アジュバント部分が、アミノ酸を含む、請求項 4 1 ～ 5 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記アジュバント部分が、下式：

【化 1 5】

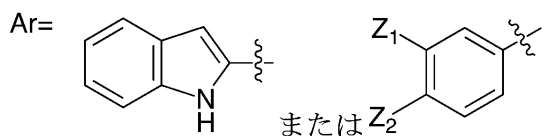


30

(式中、A r は、

【化 1 6】

40



であり、Z 1 及び Z 2 のそれぞれは、H または O H である) を有する、請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 1】

50

前記アジュバント部分が、ビタミンを含む、請求項 4 1 ～ 5 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 2】

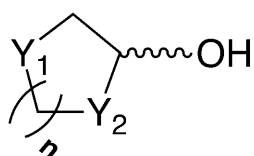
前記ビタミンが、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記ビタミンが、下式：

【化 1 7】

10



(式 I V) ,

(式中、Y 1 及び Y 2 のそれぞれは、C、N、O、または S であり、n は 1 または 2 である) を有する、請求項 6 1 または 6 2 に記載の方法。

20

【請求項 6 4】

前記ビタミンが、ビタミン A、ビタミン B 1、ビタミン B 2、ビタミン B 3、ビタミン B 6、ビタミン B 7、ビタミン B 9、ビタミン B 1 2、ビタミン C、ビタミン D 2、ビタミン D 3、ビタミン E、ビタミン M、ビタミン H、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 6 1 ～ 6 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記ビタミンが、ビタミン B 3 である、請求項 6 1 ～ 6 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記アジュバント部分が、少なくとも約 2 個、少なくとも約 3 個、少なくとも約 4 個、少なくとも約 5 個、少なくとも約 6 個、少なくとも約 7 個、少なくとも約 8 個、少なくとも約 9 個、少なくとも約 1 0 個、少なくとも約 1 1 個、少なくとも約 1 2 個、少なくとも約 1 3 個、少なくとも約 1 4 個、少なくとも約 1 5 個、少なくとも約 1 6 個、少なくとも約 1 7 個、少なくとも約 1 8 個、少なくとも約 1 9 個、または少なくとも約 2 0 個のビタミン B 3 を含む、請求項 6 1 ～ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 6 7】

前記アジュバント部分が、約 1 0 個のビタミン B 3 を含む、請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

約 1 2 0 個～約 1 3 0 個の P E G ユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、約 3 0 個～約 4 0 個のリシンを有するポリリシンを含むカチオン性キャリア部分と、約 5 個～約 1 0 個のビタミン B 3 を有するアジュバント部分と、を含む、請求項 6 1 ～ 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 6 9】

前記送達剤が、前記 m i R N A 阻害剤と結合されることでミセルを形成する、請求項 6 1 ～ 6 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記結合が、共有結合、非共有結合、またはイオン結合である、請求項 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記ミセル中の前記カチオン性キャリアユニットと前記 m i R N A 阻害剤とが、前記カ

50

チオン性キャリアユニットの正電荷と前記m i R N A阻害剤の負電荷とのイオン比が約1 : 1となるように溶液中で混合される、請求項69または70に記載の方法。

【請求項72】

前記カチオン性キャリアユニットが、酵素分解から前記m i R N A阻害剤を保護することができる、請求項69～71のいずれか1項に記載の方法。

【請求項73】

前記タウオパチーが、前頭側頭型認知症（F T D）、進行性核上性麻痺（P S P）、大脳皮質基底核変性症（C B D）、大脳皮質基底核神経節変性症、ボクサー認知症、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症（F T D P - 17）、リティコ・ボディグ病、神経原線維変化優位型認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、結節性硬化症、ハラーフォルデン・シュパッツ病、ピック病、嗜銀顆粒病、大脳皮質基底核変性症、前頭側頭葉変性症、またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項1～72のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項74】

前記m i R N A阻害剤が、タウオパチーの発症を遅延させる、請求項1～73のいずれか1項に記載の方法。

【請求項75】

前記送達剤が、ミセルである、請求項39に記載の方法。

【請求項76】

前記ミセルが、（i）約100個～約200個のPEGユニット、（ii）それぞれがアミン基を有する約30個～約40個のリシン、（iii）それぞれがチオール基を有する約15個～約20個のリシン、及び（iv）それぞれがビタミンB3に結合された約30個～約40個のリシンを含む、請求項75に記載の方法。

20

【請求項77】

前記ミセルが、（i）約120個～約130個のPEGユニット、（ii）それぞれがアミン基を有する約32個のリシン、（iii）それぞれがチオール基を有する約16個のリシン、及び（iv）それぞれがビタミンB3に結合された約32個のリシンを含む、請求項76に記載の方法。

【請求項78】

前記PEGユニットに治療部分がさらに結合されている、請求項76または77に記載の方法。

30

【請求項79】

前記標的化部分が、LAT1標的化リガンドである、請求項78に記載の方法。

【請求項80】

前記標的化部分が、フェニルアラニンである、請求項79に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本PCT出願は、2020年2月7日に提出された米国特許仮出願62／971，775号、2020年3月13日に提出された同第62／989，489号、及び2020年7月1日に提出された同第63／047，151号の優先権の利益を主張するものであり、各出願の全体を参照によって本明細書に援用するものである。

40

【0002】

EFS-WEBを介して電子的に提出された配列表の参照

本出願とともにASCIITEXTファイル（ファイル名：4366__022PC03__SeqListing__ST25.txt、サイズ：263，989バイト、作成日：2021年2月5日）の形で提出される、電子的に提出される配列表の全体を、参照によって本明細書に援用する。

【0003】

50

本開示は、タウオパチーを治療するためのmiR-485阻害剤（例えば、少なくとも1つのmiR-485結合部位を含むヌクレオチド分子をコードするポリヌクレオチド）の使用を提供するものである。

【背景技術】

【0004】

タウタンパク質は、チューブリンを安定化させて微小管への集合を促進する微小管結合タンパク質（MAP）である。微小管は、細胞骨格の極めて重要な構造的要素であり、有糸分裂、細胞質分裂、及び小胞輸送をはじめとする様々な細胞プロセスに関与している。タウタンパク質は、多くの細胞及び組織タイプに存在しているが、非神経細胞と比較して特に神経細胞中に多く存在している。

10

【0005】

タウは微小管を安定化させる役割を果たしているため、タウの発現レベル及び／または機能の変化は重要な細胞プロセスを妨げる可能性があり、これがタウオパチーなどの様々な神経変性疾患に寄与しているものと考えられている。

【0006】

しかしながら、タウは線維変化の主要な要素として知られていることからおよそ30年にわたって研究がなされてきたが、分子レベル及び細胞レベルでタウオパチーを詳細に説明する具体的なエビデンスは依然、限定的であり、病理データのほとんどは死後脳を使用した研究から得られたものである。したがって、タウタンパク質及びその動的変化が様々な神経変性疾患の病因にどう影響しているかは依然として謎のままである。どの翻訳後修飾がタウの毒性の獲得にとって重要であるか、神経変性疾患に関与する他のタンパク質がタウタンパク質と相互するか、どの脳領域または細胞タイプがタウの毒性に対して最も高い感受性を有するか、及び凝集体がどのように細胞機能障害を引き起こすか、及びもつれ（tangle）の形成プロセスにおけるタウのどの形態が毒性を有するか、といった多くの未解決の問題が重要視されている。

20

さらに、タウの過剰リン酸化はタウの微小管からの解離を誘導してその毒性を増大させると従来より考えられているが、最近の知見はある程度のリン酸化はむしろ保護作用を有することが示唆されている（Ittner A. et al., Science 2016; 354 (6314): 904-908; Povelato G. et al., Biology Open. 2014; 3 (1): 1-11.）。したがって、タウオパチーを治療するための効果的な治療薬の開発が依然、求められている。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Ittner A. et al., Science 2016; 354 (6314): 904-908

【非特許文献2】Povelato G. et al., Biology Open. 2014; 3 (1): 1-11

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本明細書では、タウオパチーの治療を必要とする対象のタウオパチーを治療する方法であって、miR-485を阻害する化合物（miRNA阻害剤）を対象に投与することを含む方法を提供する。

【0009】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、対象におけるSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子のレベルを増加させる。いくつかの態様では、対象は、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーを有する。

【0010】

40

50

いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、オートファジーを誘導し、及び／または炎症を治療もしくは予防する。

【0011】

いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、対象におけるC D 3 6タンパク質及び／またはC D 3 6遺伝子のレベルを増加させる。いくつかの態様では、対象は、C D 3 6タンパク質及び／またはC D 3 6遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーを有する。

【0012】

いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、対象におけるP G C - 1 α タンパク質及び／またはP G C - 1 α 遺伝子のレベルを増加させる。いくつかの態様では、対象は、P G C - 1 α タンパク質及び／またはP G C - 1 α 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーを有する。

10

【0013】

いくつかの態様では、上記の方法で使用する事ができるm i R - 4 8 5阻害剤は、神経発生を誘導する。特定の態様では、神経発生を誘導することは、神経幹細胞及び／または前駆細胞の増殖、分化、遊走、及び／または生存率の増加を含む。いくつかの態様では、神経発生を誘導することは、神経幹細胞及び／または前駆細胞の数の増加を含む。いくつかの態様では、神経発生を誘導することは、軸索、樹状突起、及び／またはシナプス発生の増加を含む。特定の態様では、m i R - 4 8 5阻害剤は、食作用を誘導する。

【0014】

本明細書では、S I R T 1タンパク質及び／またはS I R T 1遺伝子の異常なレベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において上記の疾患または状態を治療する方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（m i R N A 阻害剤）を対象に投与することを含み、m i R N A 阻害剤がS I R T 1タンパク質及び／またはS I R T 1遺伝子のレベルを増加させる、方法も提供される。本明細書では、C D 3 6タンパク質及び／またはC D 3 6遺伝子の異常なレベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において上記の疾患または状態を治療する方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（m i R N A 阻害剤）を対象に投与することを含み、m i R N A 阻害剤がC D 3 6タンパク質及び／またはC D 3 6遺伝子のレベルを増加させる、方法も提供される。本明細書では、P G C - 1 α タンパク質及び／またはP G C - 1 α 遺伝子の異常なレベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において上記の疾患または状態を治療する方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（m i R N A 阻害剤）を対象に投与することを含み、m i R N A 阻害剤がP G C - 1 α タンパク質及び／またはP G C - 1 α 遺伝子のレベルを増加させる、方法も提供される。

20

30

【0015】

いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、m i R 4 8 5 - 3 pを阻害する。いくつかの態様では、m i R 4 8 5 - 3 pは、5' - G U C A U A C A C G G C U C U C C U C U C U - 3'（配列番号1）を含む。いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、5' - U G U A U G A - 3'（配列番号2）を含むヌクレオチド配列を含み、m i R N A 阻害剤は約6～約30ヌクレオチドの長さである。

【0016】

いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、S I R T 1、P G C - 1 α 、及び／またはC D 3 6遺伝子の転写、及び／またはS I R T 1、P G C - 1 α 、及び／またはC D 3 6タンパク質の発現を増加させる。

40

【0017】

いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、ヌクレオチド配列の5'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも1

50

4 個のヌクレオチド、少なくとも 15 個のヌクレオチド、少なくとも 16 個のヌクレオチド、少なくとも 17 個のヌクレオチド、少なくとも 18 個のヌクレオチド、少なくとも 19 個のヌクレオチド、または少なくとも 20 個のヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、miRNA 阻害剤は、ヌクレオチド配列の 3' 末端に少なくとも 1 個のヌクレオチド、少なくとも 2 個のヌクレオチド、少なくとも 3 個のヌクレオチド、少なくとも 4 個のヌクレオチド、少なくとも 5 個のヌクレオチド、少なくとも 6 個のヌクレオチド、少なくとも 7 個のヌクレオチド、少なくとも 8 個のヌクレオチド、少なくとも 9 個のヌクレオチド、少なくとも 10 個のヌクレオチド、少なくとも 11 個のヌクレオチド、少なくとも 12 個のヌクレオチド、少なくとも 13 個のヌクレオチド、少なくとも 14 個のヌクレオチド、少なくとも 15 個のヌクレオチド、少なくとも 16 個のヌクレオチド、少なくとも 17 個のヌクレオチド、少なくとも 18 個のヌクレオチド、少なくとも 19 個のヌクレオチド、または少なくとも 20 個のヌクレオチドを含む。

10

【0018】

いくつかの態様では、miRNA 阻害剤は、5'-UGUAUGA-3' (配列番号 2)、5'-GUGUAUGA-3' (配列番号 3)、5'-CGUGUAUGA-3' (配列番号 4)、5'-CCGUGUAUGA-3' (配列番号 5)、5'-GCCGUGUAUGA-3' (配列番号 6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 8)、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 9)、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 10)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 11)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 13)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 14)、及び 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号 15)、5'-UGUAUGAC-3' (配列番号 16)、5'-GUGUAUGAC-3' (配列番号 17)、5'-CGUGUAUGAC-3' (配列番号 18)、5'-CCGUGUAUGAC-3' (配列番号 19)、5'-GCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 20)、5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 21)、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 22)、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 23)、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 24)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 25)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 26)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 27)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 28)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 29)、及び AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC (配列番号 30) からなる群から選択される配列を有する。

20

30

【0019】

いくつかの態様では、miRNA 阻害剤は、5'-TGTA TGA-3' (配列番号 62)、5'-GTGTATGA-3' (配列番号 63)、5'-CGTGTATGA-3' (配列番号 64)、5'-CCGTGTATGA-3' (配列番号 65)、5'-GCCGTGTATGA-3' (配列番号 66)、5'-AGCCGTGTATGA-3' (配列番号 67)、5'-GAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 68)、5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 69)、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 70)、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 71)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 72)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 73)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 74)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号 75)、5'-TGTA TGA C-3' (配列番号 76)、5'-GTGTATGA C-3' (配列番号 77)、5'-CGTGTATGA C-3' (配列番号 78)、5'-CCGTGTATGA C-3' (配列番号 79)、5'-GCCGTGTATGA C-3' (配列番号 80)、5'-AGCCGTGTATGA C-3' (配列番号 81)、5'-G

40

50

AGCCGTGTATGAC-3' (配列番号82)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号83)、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号84)、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号85)、5'-AGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号86)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号87)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号88)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号89)、及び5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号90) からなる群から選択される配列を有する。

【0020】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤の配列は、5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号30) または5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号90) と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%の配列同一性を有する。特定の態様では、miRNA阻害剤は、5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号30) または5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号90) と少なくとも90%の類似性を有する。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、1個の置換または2個の置換を有するヌクレオチド配列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号30) または5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号90) を含む。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、ヌクレオチド配列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号30) または5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号90) を含む。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、ヌクレオチド配列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号30) を含む。

【0021】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドは、ロックド核酸 (LNA)、アンロックド核酸 (UNA)、アラビノ核酸 (ABA)、架橋核酸 (BNA)、及び／またはペプチド核酸 (PNA) である。

【0022】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、骨格修飾を含む。特定の態様では、骨格修飾は、ホスホロジアミダイトモルホリノオリゴマー (PMO) 及び／またはホスホロチオエート (PS) 修飾である。

【0023】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、送達剤中で送達される。特定の態様では、送達剤は、ミセル、エクソソーム、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、または合成小胞である。

【0024】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤はウイルスベクターによって送達される。特定の態様では、ウイルスベクターは、AAV、アデノウイルス、レトロウイルス、またはレンチウイルスである。いくつかの態様では、ウイルスベクターは、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、またはこれらの任意の組み合わせの血清型を有するAAVである。

【0025】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は送達剤によって送達される。特定の態様では、送達剤は、リポイド、リポソーム、リポプレックス、脂質ナノ粒子、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、またはコンジュゲートを含む。

【0026】

いくつかの態様では、送達剤は、下式：

10

20

30

40

50

[WP] - L1 - [CC] - L2 - [AM] (式 I)

または

[WP] - L1 - [AM] - L2 - [CC] (式 II)

(式中、

WPは、水溶性バイオポリマー部分であり、

CCは、正に帯電したキャリア部分であり、

AMは、アジュバント部分であり、

L1及びL2は、独立して、任意選択のリンカーである)を有するカチオン性キャリアユニットを含み、

カチオン性キャリアユニットは、約1:1のイオン比で核酸と混合される場合にミセルを形成する。

【0027】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、イオン結合を介してカチオン性キャリアユニットと相互作用する。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ(α-ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「POZ」)、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。他の態様では、水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール(「PEG」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール)(「PPG」)を含む。

【0028】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、下式：

【0029】

【化1】



, (式 I)

を有する。

【0030】

いくつかの態様では、nは、1~1000である。特定の態様では、nは、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、または少なくとも約141である。さらなる態様では、nは、約80~約90、約90~約100、約100~約110、約110~約120、約120~約130、約140~約150、または約150~約160である。

【0031】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である。

【0032】

いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む。特定の態様では、カチオン性キャリア部分は、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個、少なくとも19個、少なくとも20個、少なくとも21個、少なくとも22個、少なくとも23個、少なくとも24個、少なくとも25個、少なくとも26個、少なくとも27個、少なくとも28個、少なくとも29個、少なくとも30個、少なくとも31個、少なくとも32個、少なくとも33個、少なくとも34個、少なくとも35個、少なくとも36個、少なくとも37個、少なくとも38個、少なくとも39個、少なくとも40個、少なくとも41個、少なくとも42個、少なくとも43個、少なくとも44個、少なくとも45個、少なくとも46個、少なくとも47個、少なくとも48個、少なくとも49個、または少なくとも50個の塩基性アミノ酸を含む。特定の態様では、カチオン性キャリア部分は、約30個～約50個の塩基性アミノ酸を含む。

10

【0033】

いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リシン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約40個のリシンモノマーを含む。

【0034】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、免疫反応、炎症反応、及び／または組織微小環境を調節することができる。特定の態様では、アジュバント部分は、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

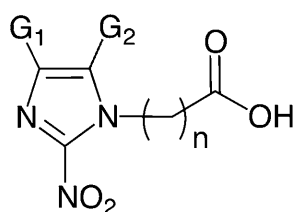
20

【0035】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式：

【0036】

【化2】



(式 I I) ,

30

【0037】

(式中、G1及びG2のそれぞれは、H、芳香環、もしくは1～10アルキルであるか、またはG1とG2はともに芳香環を形成し、nは1～10である)を有する。

【0038】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ニトロイミダゾールを含む。特定の態様では、アジュバント部分は、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

40

【0039】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、アミノ酸を含む。

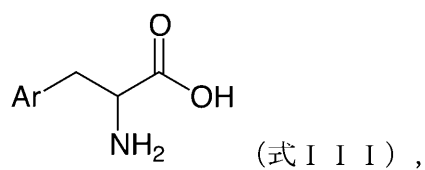
【0040】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式：

【0041】

50

【化 3】

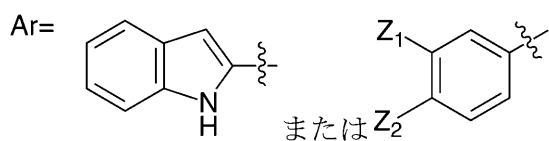


10

【0042】

(式中、Arは、

【化 4】



20

であり、

【0043】

Z1及びZ2のそれぞれは、HまたはOHである)を有する。

【0044】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ビタミンを含む。特定の態様では、ビタミンは、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む。

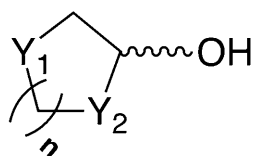
30

【0045】

いくつかの態様では、ビタミンは、下式：

【0046】

【化 5】



(式 I V) ,

40

【0047】

(式中、Y1及びY2のそれぞれは、C、N、O、またはSであり、nは1または2である)を有する。

【0048】

いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンA、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB6、ビタミンB7、ビタミンB9、ビタミンB12、ビタミンC、ビ

50

タミンD2、ビタミンD3、ビタミンE、ビタミンM、ビタミンH、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。例えば、ビタミンは、ビタミンB3であってよい。

【0049】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約2個、少なくとも約3個、少なくとも約4個、少なくとも約5個、少なくとも約6個、少なくとも約7個、少なくとも約8個、少なくとも約9個、少なくとも約10個、少なくとも約11個、少なくとも約12個、少なくとも約13個、少なくとも約14個、少なくとも約15個、少なくとも約16個、少なくとも約17個、少なくとも約18個、少なくとも約19個、または少なくとも約20個のビタミンB3を含む。特定の態様では、アジュバント部分は、約10個のビタミンB3を含む。

10

【0050】

いくつかの態様では、送達剤は、約120個～約130個のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、約30個～約40個のリシンを有するポリリシンを含むカチオン性キャリア部分と、約5個～約10個のビタミンB3を有するアジュバント部分と、を含む。

【0051】

いくつかの態様では、送達剤は、miRNA阻害剤と結合されることでミセルを形成する。例えば、結合は、共有結合、非共有結合、またはイオン結合であってよい。

【0052】

いくつかの態様では、ミセル中のカチオン性キャリアユニットとmiRNA阻害剤とは、カチオン性キャリアユニットの正電荷とmiRNA阻害剤の負電荷とのイオン比が約1:1となるように溶液中で混合される。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、酵素分解からmiRNA阻害剤を保護することができる。

20

【0053】

いくつかの態様では、本開示により治療することが可能なタウオパチーは、前頭側頭型認知症(FTD)、進行性核上性麻痺(PSP)、大脳皮質基底核変性症(CBD)、大脳皮質基底核神経節変性症、ボクサー認知症、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、リティコ・ボディグ病、神経原線維変化優位型認知症、神経節腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、結節性硬化症、ハラーフォルデン・シュパッツ病、ピック病、嗜銀顆粒病、大脳皮質基底核変性症、前頭側頭葉変性症、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

30

【0054】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、タウオパチーの発症を遅延する。

【0055】

いくつかの態様では、送達剤はミセルである。いくつかの態様では、ミセルは、(i) 約100個～約200個のPEGユニット、(ii) それぞれがアミン基を有する約30個～約40個のリシン、(iii) それぞれがチオール基を有する約15個～約20個のリシン、及び(iv) それぞれがビタミンB3に結合された約30個～約40個のリシンを含む。いくつかの態様では、ミセルは、(i) 約120個～約130個のPEGユニット、(ii) それぞれがアミン基を有する約32個のリシン、(iii) それぞれがチオール基を有する約16個のリシン、及び(iv) それぞれがビタミンB3に結合された約32個のリシンを含む。

40

【0056】

いくつかの態様では、PEGユニットに標的化部分がさらに結合されている。いくつかの態様では、標的化部分が、LAT1標的化リガンドである。いくつかの態様では、標的化部分が、フェニルアラニンである。

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図1】miR485阻害剤への曝露後の切断型タウの発現レベルを示す。左側の棒はコ

50

ントロールによる切断型タウの発現を示し、右側の棒はmiR485阻害剤による切断型タウの発現を示す。

【0058】

【図2】推定されるmiR-485-3p標的部位を示すSIRT1の3'-UTRにおける野生型(WT)または変異型(MT)の概略図を示す。MTコンストラクトでは、下線で示されるヌクレオチドは野生型コンストラクトから変異したものを表す。

【0059】

【図3】(A)及び(B)はそれぞれ、miR-485阻害剤の投与が雄及び雌のラットの体重に目立った影響を及ぼさないことを示す。図に示されるように、雄及び雌のラットに、miR-485阻害剤の以下の用量、すなわち、(i) 0mg/kg (G1)、(ii) 3.75mg/kg (G2)、(iii) 7.5mg/kg (G3)、及び(iv) 15mg/kg (G4)のうちの1つを投与した。miR-485阻害剤の投与の0、3、7、及び14日後に体重を測定した。

10

【0060】

【図4】(A)及び(B)はそれぞれ、miR-485阻害剤の投与が雄及び雌のラットの死亡率に影響を及ぼさないことを示す。図に示されるように、雄及び雌のラットに、miR-485阻害剤の以下の用量、すなわち、(i) 0mg/kg (G1)、(ii) 3.75mg/kg (G2)、(iii) 7.5mg/kg (G3)、及び(iv) 15mg/kg (G4)のうちの1つを投与した。miR-485阻害剤の投与後、0~14日目まで動物の死亡率を毎日測定した。

20

【0061】

【図5A】雄ラットに投与した場合に、miR-485阻害剤の投与が持続する臨床的副作用を有さないことを示す。図に示されるように、雄ラットに、miR-485阻害剤の以下の用量、すなわち、(i) 0mg/kg (G1)、(ii) 3.75mg/kg (G2)、(iii) 7.5mg/kg (G3)、及び(iv) 15mg/kg (G4)のうちの1つを投与した。測定した副作用には以下が含まれた。(i) NOA (目立った異常なし)、(ii) 鬱血(尾)、(iii) 浮腫(顔)、(iv) 浮腫(前肢)、及び(v) 浮腫(後肢)。miR-485阻害剤の投与の0時間、0.5時間、1時間、2時間、4時間、6時間、1日、3日、5日、8日、11日、及び14日後に副作用を測定した。

【図5B】雌ラットに投与した場合に、miR-485阻害剤の投与が持続する臨床的副作用を有さないことを示す。図に示されるように、雌ラットに、miR-485阻害剤の以下の用量、すなわち、(i) 0mg/kg (G1)、(ii) 3.75mg/kg (G2)、(iii) 7.5mg/kg (G3)、及び(iv) 15mg/kg (G4)のうちの1つを投与した。測定した副作用には以下が含まれた。(i) NOA (目立った異常なし)、(ii) 鬱血(尾)、(iii) 浮腫(顔)、(iv) 浮腫(前肢)、及び(v) 浮腫(後肢)。miR-485阻害剤の投与の0時間、0.5時間、1時間、2時間、4時間、6時間、1日、3日、5日、8日、11日、及び14日後に副作用を測定した。

30

【0062】

【図6】(A)及び(B)はそれぞれ、miR-485阻害剤の投与が雄及び雌のラットにおいて目立った病理学的異常を有さないことを示す。図に示されるように、雄及び雌のラットに、miR-485阻害剤の以下の用量、すなわち、(i) 0mg/kg (G1)、(ii) 3.75mg/kg (G2)、(iii) 7.5mg/kg (G3)、及び(iv) 15mg/kg (G4)のうちの1つを投与した。

40

【0063】

【図7A】PBS (コントロール) またはmiR-485阻害剤のいずれかで処理したマウスにおける切断型タウ(TauC3)の発現の比較を示す。以下の脳組織、(i) 海馬における切断型タウの発現を示す。ウェスタンブロット分析による切断型タウの発現を示す。

【図7B】PBS (コントロール) またはmiR-485阻害剤のいずれかで処理したマウスにおける切断型タウ(TauC3)の発現の比較を示す。以下の脳組織、(i) 海馬

50

における切断型タウの発現を示す。図 7 A に示される結果の定量的比較を示す。

【図 7 C】PBS (コントロール) または miR-485 阻害剤のいずれかで処理したマウスにおける切断型タウ (TauC3) の発現の比較を示す。以下の脳組織、(ii) 前頭皮質における切断型タウの発現を示す。ウエスタンブロット分析による切断型タウの発現を示す。

【図 7 D】PBS (コントロール) または miR-485 阻害剤のいずれかで処理したマウスにおける切断型タウ (TauC3) の発現の比較を示す。以下の脳組織、(ii) 前頭皮質における切断型タウの発現を示す。図 7 C に示される結果の定量的比較を示す。

【図 7 E】PBS (コントロール) または miR-485 阻害剤のいずれかで処理したマウスにおける切断型タウ (TauC3) の発現の比較を示す。以下の脳組織、(iii) 大脳皮質における切断型タウの発現を示す。ウエスタンブロット分析による切断型タウの発現を示す。

【図 7 F】PBS (コントロール) または miR-485 阻害剤のいずれかで処理したマウスにおける切断型タウ (TauC3) の発現の比較を示す。以下の脳組織、(iii) 大脳皮質における切断型タウの発現を示す。図 7 E に示される結果の定量的比較を示す。

【0064】

【図 8】ウエスタンブロット分析を用いて測定された、インビトロで切断型タウの発現を減少させる miR-485 阻害剤の能力を示す。

【0065】

【図 9】本開示のキャリアユニットの例示的な構造を示す。提示される例は、アニオン性ペイロード、例えば、遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドなどの核酸、例えば、miRNA (antimir) と静電的に相互作用することができるカチオン性キャリア部分を含む。いくつかの態様では、AM は、WP と CC との間に配置することができる。CC 及び AM コンポーネントは、簡単のために直線的配置で描かれている。しかしながら、本明細書に述べられるように、いくつかの態様では、CC 及び AM は、スキャフォールドの形で配置することができる。

【発明を実施するための形態】

【0066】

本開示は、少なくとも 1 つの miR-485 結合部位を含み、タンパク質をコードしていないヌクレオチド分子をコードするヌクレオチド配列を含む、miR-485 阻害剤の使用に関する。いくつかの態様では、miRNA 結合部位 (複数可) は、内因性 SIRT1 タンパク質及び／または SIRT1 遺伝子を阻害するか、及び／またはその発現レベルを減少させる内因性の miR-485 に結合することができる。いくつかの態様では、内因性 miR-485 の miRNA 結合部位 (複数可) に対する結合は、内因性の CD36 タンパク質及び／または CD36 遺伝子を阻害するか、及び／またはその発現レベルを減少させることができる。同様に、いくつかの態様では、内因性 miR-485 の miRNA 結合部位 (複数可) に対する結合は、内因性 PGC-1 α を阻害するか、及び／またはその発現レベルを減少させることができる。したがって、いくつかの態様では、本開示は、SIRT1 タンパク質及び／または SIRT1 遺伝子のレベルを増加させる必要のある対象において SIRT1 タンパク質及び／または SIRT1 遺伝子のレベルを増加させる方法であって、miR-485 阻害剤を対象に投与することを含む方法に関する。さらなる態様では、対象における SIRT1 タンパク質及び／または SIRT1 遺伝子のレベルを増加させることは、SIRT1 タンパク質及び／または SIRT1 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーの治療に有用となり得る。いくつかの態様では、本開示は、CD36 タンパク質及び／または CD36 遺伝子のレベルを増加させる必要のある対象において CD36 タンパク質及び／または CD36 遺伝子のレベルを増加させる方法であって、miR-485 阻害剤を対象に投与することを含む方法に関する。さらなる態様では、対象における CD36 タンパク質及び／または CD36 遺伝子のレベルを増加させることは、CD36 タンパク質及び／または CD36 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーの治療に有用となり得る。いくつかの態様では、本開示は、PGC-1 α タンパク質

及び／またはPGC-1 α 遺伝子のレベルを増加させる必要のある対象においてPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子のレベルを増加させる方法であって、miR-485阻害剤を対象に投与することを含む方法に関する。さらなる態様では、対象におけるPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子のレベルを増加させることは、SIRT1タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子のレベルの減少に関連したタウオパチーの治療に有用となり得る。

【0067】

記載される特定の組成物またはプロセスステップは無論のこと異なり得ることから、本開示をより詳細に記載するのに先立って、本開示は特定の組成物またはプロセスステップに限定されない点を理解されたい。本開示を読むことで当業者にとって明らかとなるように、本明細書に記載及び例示される個々の態様の各々は、本開示の範囲または趣旨から逸脱することなく、他のいくつかの態様のいずれかの特徴から容易に分離するかまたはそれらの特徴と組み合わせることができる個別の構成要素及び特徴を有する。記載されるいずれの方法も、記載される事象の順序で、または論理的に可能な他の任意の順序で実施することが可能である。

【0068】

本明細書に示される見出しは本開示の様々な態様を限定するものではなく、本開示の態様は、本明細書の全体を参照することによって定義され得るものである。本開示の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるものであるので、本明細書で使用される用語は、あくまで特定の態様を説明することを目的としたものであって、限定することを目的としたものではない点も理解されるべきである。

【0069】

I. 用語

本開示をより容易に理解できるように、特定の用語を最初に定義する。本出願で使用する場合、本明細書に別段明記されない限り、以下の用語のそれぞれは、下記に記載する意味を有するものとする。追加の定義は、本出願の全体を通じて記載される。

【0070】

「a」または「an」なる用語で示される実体は、その実体の1つ以上を指し、例えば、「a nucleotide sequence (ヌクレオチド配列)」は、1つ以上のヌクレオチド配列を表すものとして理解される点に留意されたい。したがって、「a」(または「an」)、ならびに「one or more (1つ以上の)」、及び「at least one (少なくとも1つの)」は、本明細書では互換的に用いられる場合がある。各請求項は、あらゆる任意選択的な要素を除外するように起草される場合もある点にも留意されたい。したがって、この記載は、請求項の要素の記載との関連において「～だけの」、「～のみ」などといった除外的な語の使用に対する、または否定による限定の使用に対する先行詞としての役割を有するものとする。

【0071】

さらに、「及び／または」は、本明細書において使用される場合、2つの指定された特徴または構成要素の各々の、他方を伴うか、または伴わない具体的な開示とみなされるものである。したがって、本明細書で「A及び／またはB」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、「A及びB」、「AまたはB」、「A」(単独)、及び「B」(単独)を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び／またはC」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、以下の態様、すなわち、A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；A及びC；A及びB；B及びC；A(単独)；B(単独)；ならびにC(単独)の各々を包含することが意図される。

【0072】

本明細書において「comprising (含む)」なる文言で態様が説明されている場合は常に、「consisting of (からなる)」及び／または「consisting essentially of (から本質的になる)」なる用語で記載される他の類似の態様も提供される点を理解されたい。

【0073】

別段の定義がなされないかぎり、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本開示が関連する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有するものとする。例えば、The 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、及びThe Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressは、本開示で使用される用語の多くについての一般的な辞書を当業者に与えるものである。

10

【0074】

単位、接頭辞、及び記号は、それらの国際単位系（SI）で承認された形式で示される。数値範囲は、その範囲を規定する数値を含むものとする。数値の範囲が記載されている場合、その範囲の記載された上限と下限との間にあるそれぞれの介在する整数値、及びそのそれぞれの分数もまた、そのような値の間のそれぞれの部分範囲とともに具体的に開示される点は理解されるべきである。任意の範囲の上限値及び下限値は独立してその範囲に含まれる場合も、その範囲から除外される場合もあるが、どちらかの限界値が含まれるか、どちらの限界値も含まれないか、または両方の限界値が含まれるそれぞれの範囲もまた、本開示に包含される。したがって、本明細書に記載される範囲は、記載される端点を含む、その範囲内のすべての値の簡略的な表記であるものとして理解される。例えば、1～10の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び10からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、または部分範囲を含むものとして理解される。

20

【0075】

値が明示的に記載されている場合、記載されている値とほぼ同じ数または量である値もまた、本開示の範囲内に含まれる点を理解されたい。ある組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素の部分的な組み合わせのそれぞれも具体的に開示され、本開示の範囲内に含まれる。逆に、異なる要素または要素群が個別に開示される場合、それらの組み合わせも開示される。ある開示の任意の要素が複数の選択肢を有するものとして開示される場合、各選択肢が単独で、または他の選択肢との任意の組み合わせとして除外されるその開示の例もまた、本明細書に開示される。つまり、ある開示の複数の要素がそのような除外を有することができ、そのような除外を有する要素のすべての組み合わせが本明細書に開示される。

30

【0076】

ヌクレオチドは、それらの広く認められている1文字の略号で呼称する。特に断らない限り、ヌクレオチド配列は5'から3'の方向に左から右に記載する。本明細書においてヌクレオチドは、IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される一般的に公知のヌクレオチドの1文字記号により表記される。したがって、「a」はアデニンを表し、「c」はシトシンを表し、「g」はグアニンを表し、「t」はチミンを表し、「u」はウラシルを表す。

40

【0077】

アミノ酸配列はアミノ末端からカルボキシ末端の方向に左から右に記載する。本明細書においてアミノ酸は、IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される、一般的に公知のアミノ酸の3文字記号または1文字記号により表記される。

【0078】

「約」という用語は、本明細書では、およそ、大体、おおよそ、またはその範囲内の意味で使用される。「約」なる用語が数値範囲とともに使用される場合、記載される数値よりも上及び下の境界値を広げることによって、その範囲を修飾する。一般に、「約」とい

50

う用語は、例えば、上または下に10パーセント（より高いまたはより低い）の変動で、明示される値の上及び下に数値を修正することができる。

【0079】

本明細書で使用する場合、「アデノ随伴ウイルス」（AAV）なる用語には、これらに限定されるものではないが、AAVタイプ1、AAVタイプ2、AAVタイプ3（タイプ3A及び3Bを含む）、AAVタイプ4、AAVタイプ5、AAVタイプ6、AAVタイプ7、AAVタイプ8、AAVタイプ9、AAVタイプ10、AAVタイプ11、AAVタイプ12、AAVタイプ13、AAVrh.74、ヘビAAV、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヒツジAAV、ヤギAAV、エビAAV、Gao et al. (J. Virol. 78:6381 (2004)) 及びMoris et al. (Virol. 33:375 (2004)) に開示されるAAV血清型及び系統群、ならびに現在知られているかもしくは今後発見される他の任意のAAVが含まれる（例えば、FIELDS et al. VIROLOGY, volume 2, chapter 69 (4th ed., Lippincott-Raven Publishers) を参照）。いくつかの態様では、「AAV」には、既知のAAVの誘導体が含まれる。いくつかの態様では、「AAV」には、改変された、または人工AAVが含まれる。

10

【0080】

「投与」、「投与すること」なる用語、及びその文法的変化形は、本開示のmiRNA阻害剤などの組成物を、薬学的に許容される経路により対象に導入することを指す。本開示のmiRNA阻害剤を含むミセルなどの組成物の対象への導入は、腫瘍内、経口、肺、鼻腔内、非経口（静脈内、動脈内、筋肉内、腹腔内、もしくは皮下）、直腸、リンパ内、髄腔内、眼周または局所を含む任意の好適な経路によるものである。投与は、自己投与及び他者による投与を含む。適当な投与経路によって、組成物または薬剤はその目的とする機能を実行することができる。例えば、適当な経路が静脈内である場合、組成物は、組成物または薬剤を対象の静脈内に導入することによって投与される。

20

【0081】

本明細書で使用する場合、「～に関連した」という用語は、2つ以上の実体または性質間の密接な関係性のことを指す。例えば、本開示によって治療することが可能な疾患または状態を記述するために用いられる場合（例えば、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の異常なレベルに関連した疾患または状態）、「～に関連した」という用語は、対象がタンパク質及び／または遺伝子の異常な発現を示す場合に対象がその疾患または状態を罹患している可能性が高いことを指す。いくつかの態様では、タンパク質及び／または遺伝子の異常な発現は、疾患または状態を引き起こす。いくつかの態様では、異常な発現は疾患または状態を必ずしも引き起こさないが相関している。対象が、疾患または状態に関連したタンパク質及び／または遺伝子の異常な発現を示すかどうかを判定するために使用することができる適当な方法の非限定的な例を、本開示の他の箇所に示す。

30

【0082】

本明細書で使用する場合、関心対象の1つ以上の値に適用される「ほぼ」という用語は、明示される参照値と同程度である値を指す。ある特定の態様では、「ほぼ」という用語は、特に明記しない限り、または他のことが文脈から明らかでない限り、明示される参照値の両方向に（数を超えるか、またはそれ未満の）10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下の範囲内の値の範囲を指す（かかる数がとり得る値の100%を超える場合を除く）。

40

【0083】

本明細書で使用する場合、「保存された」という用語は、比較されている2つ以上の配列の同じ位置において不変に見出されるものである、それぞれポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列のヌクレオチドまたはアミノ酸残基を指す。相対的に保存されているヌクレオチドまたはアミノ酸は、配列の他の部分で出現するヌクレオチドまたはアミノ酸と比べてより関連する配列の間で保存されているものである。

【0084】

50

いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに100%同一である場合、「完全に保存されている」または「同一である」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも70%同一であるか、少なくとも80%同一であるか、少なくとも90%同一であるか、または少なくとも95%同一である場合、「高度に保存されている」と言われる。いくつかの態様において、2つ以上の配列は、互いに約70%同一である、約80%同一である、約90%同一である、約95%、約98%、または約99%同一である場合、「高度に保存された」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも30%同一であるか、少なくとも40%同一であるか、少なくとも50%同一であるか、少なくとも60%同一であるか、少なくとも70%同一であるか、少なくとも80%同一であるか、少なくとも90%同一であるか、または少なくとも95%同一である場合、「保存されている」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに約30%同一であるか、約40%同一であるか、約50%同一であるか、約60%同一であるか、約70%同一であるか、約80%同一であるか、約90%同一であるか、約95%同一であるか、約98%同一であるか、または約99%同一である場合、「保存されている」と言われる。配列の保存は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの全長に適用することができ、または部分、領域、もしくはそれらの特徴に適用することができる。

10

【0085】

本明細書で使用する場合、「由来する」という用語は、特定の分子もしくは生物または情報（例えば、アミノ酸または核酸の配列）を使用して、特定の分子もしくは生物から単離されるか、製造される構成要素を指す。例えば、第2の核酸配列に由来する核酸配列は、第2の核酸配列のヌクレオチド配列と同一であるか、または実質的に類似するヌクレオチド配列を含み得る。ヌクレオチドまたはポリペプチドの場合、派生した種は、例えば、自然に生じる変異誘発、人為的定方向突然変異誘発、または人為的ランダム変異誘発により得られ得る。ヌクレオチドまたはポリペプチドを派生させるために使用される変異誘発は、意図的に定方向、もしくは意図的にランダムであるか、または各々の組み合わせである。最初のものに由来する異なるヌクレオチドまたはポリペプチドを作製するためのヌクレオチドまたはポリペプチドの変異誘発は、ランダム事象（例えば、ポリメラーゼの不忠実さにより引き起こされる）であり得、派生したヌクレオチドまたはポリペプチドの同定は、例えば、本明細書において述べられる適切なスクリーニング法によりなされ得る。一部の態様では、第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列に由来するヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、それぞれ第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列に対する少なくとも約50%、少なくとも約51%、少なくとも約52%、少なくとも約53%、少なくとも約54%、少なくとも約55%、少なくとも約56%、少なくとも約57%、少なくとも約58%、少なくとも約59%、少なくとも約60%、少なくとも約61%、少なくとも約62%、少なくとも約63%、少なくとも約64%、少なくとも約65%、少なくとも約66%、少なくとも約67%、少なくとも約68%、少なくとも約69%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列同一性を有し、ここで、第1のヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列の生物活性を保持する。

20

30

40

【0086】

本明細書で使用する場合、「コーディング領域」または「コーディング配列」とは、アミノ酸に翻訳可能なコドンからなるポリヌクレオチドの部分である。「終止コドン」（T

50

A G、T G A、またはT A A)は通常はアミノ酸に翻訳されないがコーディング領域の一部とみなすことができる。ただし、すべてのフランキング配列、例えば、プロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、イントロンなどはコーディング領域の一部ではない。コーディング領域の境界は、得られるポリペプチドのアミノ末端をコードする5'末端の開始コドンと、得られるポリペプチドのカルボキシ末端をコードする3'末端の翻訳終止コドンとによって一般的に決定される。

【0087】

「相補的」及び「相補性」という用語は、ワトソン・クリック型塩基対形成則により互いに関連する2つ以上のオリゴマー（すなわち、それぞれが核酸塩基配列を含む）、またはオリゴマーと標的遺伝子との間を指す。例えば、核酸塩基配列「T-G-A (5'→3')」は、核酸塩基配列「A-C-T (3'→5')」に相補的である。相補性は「部分的」であってよく、その場合、所与の核酸塩基配列の核酸塩基のすべてより少ないものが塩基対形成則に従って他の核酸塩基配列と一致している。例えば、いくつかの態様では、所与の核酸塩基配列と他の核酸塩基配列との間の相補性は、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、または約95%であり得る。したがって、特定の態様では、「相補性」という用語は、標的核酸配列（例えば、miR-485の核酸配列）との少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の一致または相補性を指す。または例のような、「完璧な」または「完全な」（100%）相補性が、所与の核酸塩基配列と他の核酸塩基配列との間に存在し得る。いくつかの態様では、核酸塩基配列間の相補性の程度は、配列間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に顕著な影響を与える。

【0088】

「下流」という用語は、参照ヌクレオチド配列の3'側に存在するヌクレオチド配列を指す。ある特定の態様では、下流ヌクレオチド配列は、転写開始点に続く配列に関する。例えば、遺伝子の翻訳開始コドンは、転写開始部位の下流に存在する。

【0089】

「賦形剤」及び「キャリア」という用語は、互換的に使用され、化合物、例えば本開示のmiRNA阻害剤の投与をさらに容易にするために医薬組成物に添加される不活性物質を指す。

【0090】

本明細書で使用する場合、「発現」という用語は、ポリヌクレオチドが遺伝子産物、例えばRNAまたはポリペプチドを生成するプロセスを指す。発現には、マイクロRNA結合部位、小分子ヘアピンRNA (shRNA)、小分子干渉RNA (siRNA)、または他の任意のRNA産物へのポリヌクレオチドの転写が限定されることなく含まれる。発現には、メッセンジャーRNA (mRNA)へのポリヌクレオチドの転写、及びmRNAのポリペプチドへの翻訳が限定されることなく含まれる。発現によって、「遺伝子産物」が生成される。本明細書で使用する場合、遺伝子産物は、例えば遺伝子の転写によって生成されるRNAなどの核酸であってよい。本明細書で使用する場合、遺伝子産物は、核酸、遺伝子の転写によって生成されるRNAもしくはmiRNA、または転写産物から翻訳されたポリペプチドであってよい。本明細書に記載される遺伝子産物には、例えばポリアデニル化またはスプライシングなどの転写後修飾を有する核酸、または、例えばリン酸化、メチル化、グリコシル化、脂質の付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、またはタンパク質分解開裂などの翻訳後修飾を有するポリペプチドがさらに含まれる。

【0091】

本明細書で使用する場合、「相同性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば核酸分子間の全体的関連性を指す。一般に、「相同性」という用語は、2つの分子の進化的関係を意味する。したがって、相同な2つの分子は、共通の進化的祖先を有する。本開示との関連で、相同性という用語は、同一性及び類似性の両方を包含する。

10

20

30

40

50

【0092】

いくつかの態様では、ポリマー分子は、分子における少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%のモノマーが同一（厳密に同じモノマー）であるか、または類似する（保存的置換）場合、互いに「相同である」とみなされる。「相同である」という用語は、必然的に少なくとも2つの配列（ポリヌクレオチド配列）間の比較を指す。

【0093】

本開示との関連で、置換（それらがアミノ酸置換と称される場合でも）は、核酸レベルで行われ、すなわち、アミノ酸残基を代替アミノ酸残基で置換することは、第1のアミノ酸をコードするコドンで第2のアミノ酸をコードするコドンで置換することによって行われる。

【0094】

本明細書で使用する場合、「同一性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、ポリヌクレオチド分子間の全体的なモノマー保存性を指す。いかなる追加の修飾語もない「同一である」という用語、例えば、「ポリヌクレオチドAはポリヌクレオチドBと同一である」は、ポリヌクレオチド配列同士が100%同一（100%の配列同一性）であることを意味する。例えば、「70%同一である」と2つの配列を表現することは、例えば、「70%配列同一性」を有するとそれらを表現することに等しい。

【0095】

2つのポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列の同一率（%）の計算は、例えば、最適な比較のために2つの配列をアラインメントすることにより実行され得る（例えば、最適なアラインメントのために第1及び第2のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列の一方または両方にギャップが導入され得、同一でない配列が比較のために無視され得る）。ある特定の態様において、比較目的のためにアラインメントされた配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%である。次いで、対応するアミノ酸位のアミノ酸、またはポリヌクレオチドの場合は塩基が比較される。

【0096】

第1の配列におけるある位置が第2の配列における対応する位置と同じアミノ酸またはヌクレオチドにより占められる場合、分子はその位置で同一である。2つの配列間の同一率（%）は、2つの配列の最適なアラインメントのために導入される必要があるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮した、配列により共有される同一の位置の数の関数である。配列の比較及び2つの配列間の同一率（%）の決定は、数学アルゴリズムを使用して達成され得る。

【0097】

異なる配列同士（例えば、ポリヌクレオチド配列）をアラインするために使用することができる適当なソフトウェアプログラムは様々なソースから入手可能である。配列同一率（%）を決定するための適当なプログラムの1つに、米国政府のNational Center for Biotechnology Information BLAST ウェブサイト（blast.ncbi.nlm.nih.gov）から入手可能なBLASTパッケージプログラムの一部であるbl2seqがある。bl2seqは、BLASTNまたはBLASTPアルゴリズムのいずれかを使用して、2つの配列間の比較を行う。BLASTNが核酸配列を比較するために使用されるのに対して、BLASTPはアミノ酸配列を比較するために使用される。他の適当なプログラムとしては、例えば、バイオインフォマティクスプログラムパッケージEMBOSSの一部であり、European Bioinformatics Institute（EBI）よりworldwide

10

20

30

40

50

web.ebi.ac.uk/Tools/psaにおいてやはり入手可能なNeedle、Stretcher、Water、またはMatcherがある。

【0098】

配列アライメントは、当該技術分野において公知の方法、例えば、MAFFT、Clustal (ClustalW、Clustal X、またはClustal Omega)、MUSCLEなどを使用して実施され得る。

【0099】

ポリヌクレオチドまたはポリペプチド参照配列と整列する単一のポリヌクレオチドまたはポリペプチド標的配列内の異なる領域は、それぞれ、それら自体の配列同一率(%)を有することができる。配列同一率(%)は、10分の1の位に四捨五入される点に留意されたい。たとえば、80.11、80.12、80.13、及び80.14は、80.1に切り捨てられ、80.15、80.16、80.17、80.18、及び80.19は80.2に切り上げられる。また、長さの値は常に整数である点に留意されたい。

【0100】

ある特定の態様では、同一性パーセンテージ(%ID)または第1のアミノ酸配列(または核酸配列)の第2のアミノ酸配列(または核酸配列)に対する同一性パーセンテージ(%ID)は、 $\%ID = 100 \times (Y/Z)$ として計算され、式中、Yは、第1及び第2の配列のアラインメント(目視検査または特定の配列アライメントプログラムによりアラインメントされる)において完全な一致と評価されたアミノ酸残基(または核酸塩基)の数であり、Zは、第2の配列における残基の総数である。第1の配列の長さが第2の配列を超える場合、第1の配列の第2の配列に対する同一率(%)は、第2の配列の第1の配列に対する同一率(%)より高くなるであろう。

【0101】

当業者であれば、配列同一率(%)を計算するための配列アラインメントの生成が、一次配列データによってのみ行われるバイナリー配列間比較に限定されない点は理解されよう。配列アライメントは、配列データを異種の供給源由来のデータ、例えば、構造データ(例えば、タンパク質結晶構造)、機能データ(例えば、変異の位置)、または系統学的データと統合することにより生成され得ることも理解されよう。異種データを統合してマルチプル配列アラインメントを生成する適当なプログラムとしてworldwideweb.tcoffee.orgで入手できるか、あるいは例えばEBIからも入手できるT-Coffeeがある。配列同一率(%)を計算するために使用される最終的なアラインメントは、自動または手動のいずれかで管理され得ることも理解されよう。

【0102】

本明細書で使用する場合、「単離された」、「精製された」、「抽出された」という用語、及びそれらの文法的変化形は、互換的に使用され、1つ以上の精製プロセスを受けた本開示の所望の組成物、例えば、本開示のmiRNA阻害剤の調製状態を指す。いくつかの態様では、本明細書で使用する場合、単離または精製は、夾雑物を含有する試料から本開示の組成物、例えば本開示のmiRNA阻害剤を取り出す、(例えば、画分を)部分的に取り出すプロセスである。

【0103】

いくつかの態様では、単離された組成物は、検出可能な望ましくない活性を有さないか、または代替的に、望ましくない活性のレベルもしくは量が許容可能なレベルまたは量以下である。他の態様では、単離された組成物は、許容可能な量及び/または濃度及び/または活性以上の量及び/または濃度の本開示の所望の組成物を有する。他の態様では、単離された組成物は、組成物が取得される出発物質と比較して濃縮される。この濃縮は、出発物質と比較して少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、少なくとも約99.9%、少なくとも約99.99%、少なくとも約99.999%、少なくとも約99.9999

%、または99.9999%超であり得る。

【0104】

いくつかの態様では、単離された調製物は、残留する生物学的産物を実質的に含まない。いくつかの態様では、単離された調製物は、任意の混入している生物学的物質を100%、少なくとも約99%、少なくとも約98%、少なくとも約97%、少なくとも約96%、少なくとも約95%、少なくとも約94%、少なくとも約93%、少なくとも約92%、少なくとも約91%、または少なくとも約90%含まない。残留する生物学的産物は、非生物物質（化学物質を含む）または不要な核酸、タンパク質、脂質、もしくは代謝産物を含み得る。

【0105】

本明細書で使用する場合、「連結された」という用語は、共有結合または非共有結合によりそれぞれ第2のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列に結合された、第1のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列を指す。第1のアミノ酸またはポリヌクレオチド配列は、第2のアミノ酸またはポリヌクレオチド配列に直接的に結合もしくは並列され得るか、または代替的に介在配列が第1の配列から第2の配列までに共有結合により加わり得る。「連結された」という用語は、第1のポリヌクレオチド配列の第2のポリヌクレオチド配列への5'末端または3'末端での融合を意味するだけでなく、第2のポリヌクレオチド配列（または第1のポリヌクレオチド配列）における任意の2つのヌクレオチドへの第1のポリヌクレオチド配列（またはそれぞれ第2のポリヌクレオチド配列）全体の挿入も含む。第1のポリヌクレオチド配列は、ホスホジエステル結合またはリンカーにより第2のポリヌクレオチド配列に連結され得る。リンカーは、例えば、ポリヌクレオチドであり得る。

【0106】

本明細書で使用する場合、「miRNA阻害剤」とは、miRNAの発現、機能、及び／または活性を減少させるか、変化させるか、及び／または調節することができる化合物を指す。miRNA阻害剤は、標的miRNA核酸配列と少なくとも部分的に相補的であるポリヌクレオチド配列であってよく、それにより、miRNA阻害剤は標的miRNA配列とハイブリダイズする。例えば、本開示のmiR-485阻害剤は、標的miR-485核酸配列と少なくとも部分的に相補的であるヌクレオチド分子をコードしたヌクレオチド配列を含み、それにより、miR-485阻害剤はmiR-485配列とハイブリダイズする。さらなる態様では、miR-485配列に対するmiR-485のハイブリダイゼーションは、miR-485の発現、機能、及び／または活性を減少させるか、変化させるか、及び／または調節する（例えば、ハイブリダイゼーションによって、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現の増大がもたらされる）。

【0107】

「miRNA」、「miR」、及び「マイクロRNA」という用語は、互換的に使用され、RNAによる遺伝子調節に関与する真核生物において見出されるマイクロRNA分子を指す。この用語は、前駆体からプロセシングされた一本鎖RNA分子を指すために使用される。いくつかの態様では、「アンチセンスオリゴマー」という用語は、本開示のマイクロRNA分子を記述するために使用することもできる。本開示に関連するmiRNAの名称及びそれらの配列は、本明細書において提供される。マイクロRNAは、不完全な塩基対形成により標的mRNAを認識及びそれに結合し、標的mRNAの不安定化または翻訳阻害をもたらす、これにより、標的遺伝子発現を下方調節する。逆に、miRNA結合部位を含む分子（一般にmiRNAのシード領域に相補的な配列を含む分子）によるmiRNAの標的化は、miRNAにより誘発される翻訳阻害を低減または阻害し得、標的遺伝子の上方調節をもたらす。

【0108】

「ミスマッチ」または「複数のミスマッチ」という用語は、オリゴマー核酸塩基配列（例えば、miR-485阻害剤）における塩基対形成則に従って標的核酸配列（例えば、miR-485阻害剤）と一致しない1つ以上の核酸塩基（連続しているまたは離れてい

10

20

30

40

50

るにかかわらず)を指す。多くの場合、完全な相補性が所望されるが、いくつかの態様では、標的核酸配列に対する1つ以上(好ましくは6つ、5つ、4つ、3つ、2つ、または1つ)のミスマッチが生じ得る。オリゴマー内の任意の位置でのバリエーションが含まれる。ある特定の態様では、本開示のアンチセンスオリゴマー(例えば、miR-485阻害剤)は、末端近くでの核酸塩基配列のバリエーション、内部でのバリエーションを含み、存在する場合、通常、5'及び/または3'末端の約6、5、4、3、2、または1サブユニット以内に存在する。いくつかの態様では、1つ、2つ、または3つの核酸塩基が除去されてもよく、依然としてオンターゲットの結合を与えることができる。

【0109】

本明細書で使用する場合、「調節する」、「修飾する」という用語、及びそれらの文法的変化形は、一般に、特定の濃度、レベル、発現、機能、または行動に適用される場合、例えば、アンタゴニストまたはアゴニストとして作用するために、特定の濃度、レベル、発現、機能、または行動を増加または減少させること、例えば、直接または間接的に、促進すること/刺激すること/上方調節することまたはそれらに干渉すること/それらを阻害すること/それらを下方調節することにより変化させる能力を指す。場合によっては、修飾因子は、ある特定の濃度、レベル、活性、または機能を、コントロールと比較して、または一般に予想される活性の平均レベルと比較して、もしくは活性のコントロールレベルと比較して増加及び/または減少させ得る。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiRNA阻害剤、例えばmiR-485阻害剤は、miR-485の発現、機能及び/または活性を調節する(例えば減少させる、変化させる、または失わせる)ことができ、それにより、SIRT1タンパク質もしくは遺伝子の発現及び/または活性を調節することができる。

【0110】

「核酸」、「核酸分子」、「ヌクレオチド配列」、「ポリヌクレオチド」、及びそれらの文法的変化形は、互換的に使用され、一本鎖形態または二重螺旋のいずれかでのリン酸エステルポリマー形態のリボヌクレオシド(アデノシン、グアノシン、ウリジン、またはシチジン;「RNA分子」)もしくはデオキシリボヌクレオシド(デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシチミジン、またはデオキシシチジン;「DNA分子」)、またはそれらの任意のホスホエステルアナログ、例えば、ホスホロチオネート及びチオエステルを指す。一本鎖核酸配列は、一本鎖DNA(ssDNA)または一本鎖RNA(ssRNA)を指す。二本鎖DNA-DNA、DNA-RNA、及びRNA-RNA螺旋が可能である。核酸分子及び特にDNAまたはRNA分子という用語は、分子の一次及び二次構造のみを指し、任意の特定の三次形態に限定されない。したがって、この用語は、とりわけ線形または環状DNA分子(例えば、制限フラグメント)、プラスミド、スーパーコイルDNA、及び染色体に見出される二本鎖DNAを含む。特定の二本鎖DNA分子の構造について述べる際、配列は、DNAの非転写鎖(すなわち、mRNAに相同な配列を有する鎖)に沿った5'~3'方向での配列のみを提供する通常の慣例に従って本明細書に記載され得る。「組換えDNA分子」は、分子生物学的操作を受けたDNA分子である。DNAとしては、限定されるものではないが、cDNA、ゲノムDNA、プラスミドDNA、合成DNA、及び半合成DNAが挙げられる。本開示の「核酸組成物」は、本明細書に記載されるような1つ以上の核酸を含む。

【0111】

「薬学的に許容されるキャリア」、「薬学的に許容される賦形剤」という用語、及びそれらの文法的変化形は、ヒトを含む動物に使用するための米国連邦政府の規制機関により承認されたか、または米国薬局方に列挙される薬剤のいずれか、ならびに対象への組成物の投与を禁止する程度まで望ましくない生理作用の発生を引き起こさず、投与される化合物の生物活性及び特性を抑制しない任意のキャリアまたは希釈剤を包含する。医薬組成物を調製するのに有用であり、一般に安全で、非毒性であり、望ましい賦形剤及び担体が含まれる。

【0112】

10

20

30

40

50

本明細書で使用する場合、「医薬組成物」という用語は、1種以上の他の化学成分、例えば、薬学的に許容されるキャリア及び賦形剤と混合もしくは混ぜ合わされたか、またはそれらの中に懸濁された、例えば、本開示のmiRNA阻害剤などの本明細書に記載される化合物のうちの1種以上を指す。医薬組成物の1つの目的は、本開示のmiRNA阻害剤を含む製剤の対象への投与を促進することである。

【0113】

本明細書で使用する場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、それらのアナログ、またはそれらの混合物が挙げられるヌクレオチドの任意の長さのポリマーを指す。

【0114】

いくつかの態様では、この用語は分子の一次構造を指す。したがって、この用語は、三本鎖、二本鎖、及び一本鎖デオキシリボ核酸（「DNA」）、ならびに三本鎖、二本鎖、及び一本鎖リボ核酸（「RNA」）を含む。この用語は、例えば、アルキル化及び／またはキャッピングにより修飾されたポリヌクレオチド及び未修飾形態のポリヌクレオチドも含む。

【0115】

いくつかの態様では、「ポリヌクレオチド」という用語は、ポリデオキシリボヌクレオチド（2-デオキシ-D-リボースを含有する）、スプライシングされたまたはスプライシングされていないにかかわらず、tRNA、rRNA、shRNA、siRNA、miRNA及びmRNAを含む、ポリリボヌクレオチド（D-リボースを含有する）、プリンまたはピリミジン塩基のN-またはC-配糖体である任意の他の種類のポリヌクレオチド、ならびに非ヌクレオチド骨格を含有する他のポリマー、例えば、ポリアミド（例えば、ペプチド核酸「PNA」）及びポリモルホリノポリマー、ならびにDNA及びRNAにおいて見出されるような塩基対形成及び塩基スタッキングを可能にする配置で核酸塩基を含有することを条件とする他の配列特異的合成核酸ポリマーを含む。

【0116】

本開示のいくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのオリゴヌクレオチドであってよい。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、RNAである。いくつかの態様では、RNAは、合成RNAである。いくつかの態様では、合成RNAは、少なくとも1つの非天然核酸塩基を含む。いくつかの態様では、ある特定の種類のすべての核酸塩基が、非天然核酸塩基と置き換えられている（例えば、本明細書において開示されるポリヌクレオチドにおけるすべてのウリジンが、非天然核酸塩基、例えば、5-メトキシウリジンと置き換えられ得る）。

【0117】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、例えばSIRT1遺伝子によりコードされた、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指して本明細書において互換的に使用される。ポリマーは、修飾アミノ酸を含み得る。これらの用語は、自然に修飾された、または、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分との結合など、他の任意の操作もしくは改変などの介入により修飾されたアミノ酸ポリマーも包含される。例えば、1つ以上のアミノ酸アナログ（例えば、ホモシステイン、オルニチン、p-アセチルフェニルアラニン、D-アミノ酸、及びクレアチンなどの非天然アミノ酸が挙げられる）、及び当該技術分野において公知の他の修飾を含有するポリペプチドも定義の範囲内に含まれる。本明細書で使用する場合、「ポリペプチド」という用語は、任意のサイズ、構造、または機能のタンパク質、ポリペプチド、及びペプチドを指す。

【0118】

ポリペプチドとしては、遺伝子産物、天然に存在するポリペプチド、合成ポリペプチド、上述のもののホモログ、オーソログ、パラログ、フラグメント及び他の等価物、バリエーション、ならびにアナログが挙げられる。

【0119】

10

20

30

40

50

ポリペプチドは、単一のポリペプチドであり得るか、またはダイマー、トリマー、もしくはテトラマーなどの多分子複合体であり得る。それらは、一本鎖または多連鎖ポリペプチドも含み得る。最も一般的に、ジスルフィド結合は、多鎖ポリペプチドに見られる。ポリペプチドという用語は、1つ以上のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人工的な化学的アナログであるようなアミノ酸ポリマーにも適用され得る。いくつかの態様では、「ペプチド」は、アミノ酸約50個以下の長さ、例えば、アミノ酸約5個、約10個、約15個、約20個、約25個、約30個、約35個、約40個、約45個、または約50個の長さであり得る。

【0120】

本明細書で使用する場合、「予防する」、「予防すること」という用語、及びそれらの変化形は、疾患、障害、及び／または状態の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の症状、特徴、または臨床徴候の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の症状、特徴、または徴候の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び／または状態の進行を部分的または完全に遅延させること；及び／または疾患、障害、及び／または状態に関連する病理を生じるリスクを減少させることを指す。いくつかの態様では、転帰の予防は、予防的治療によって実現される。

【0121】

本明細書で使用する場合、「プロモーター」及び「プロモーター配列」という用語は互換可能であり、コーディング配列または機能性RNAの発現を制御することができるDNA配列を指す。一般的に、コーディング配列は、プロモーター配列の3'側に位置する。プロモーターは、天然遺伝子にその全体が由来してもよく、または自然界にみられる異なるプロモーターに由来する異なるエレメントで構成されてもよく、またはさらには、合成DNAセグメントを含んでもよい。異なるプロモーターは、異なる組織または細胞タイプにおいて、または発生の異なる段階において、または異なる環境的もしくは生理学的条件に応じて、遺伝子の発現を誘導することができる点は、当業者には理解されよう。ほとんどの細胞タイプでほとんどの時間に遺伝子を発現させるプロモーターは一般的に「構成的プロモーター」と呼ばれる。特定の細胞タイプにおいて遺伝子を発現させるプロモーターは、一般的に「細胞特異的プロモーター」または「組織特異的プロモーター」と呼ばれる。発生または細胞分化の特定の段階で遺伝子を発現させるプロモーターは、一般的に「発生特異的プロモーター」または「細胞分化特異的プロモーター」と呼ばれる。プロモーターを誘導する薬剤、生物学的分子、化学物質、リガンド、光などによる細胞の曝露または処理後に誘導されて遺伝子を発現させるプロモーターは、一般的に「誘導性プロモーター」または「調節可能なプロモーター」と呼ばれる。多くの場合で調節配列の正確な境界は完全には定義されていないことから、異なる長さのDNAフラグメントが同じプロモーター活性を有し得る点もさらに認識されよう。

【0122】

プロモーター配列の境界はその3'末端では転写開始部位であり、バックグラウンドよりも高い検出可能なレベルで転写を開始するのに必要な最小の数の塩基またはエレメントを含むように上流(5'方向)に延びている。プロモーター配列内には、転写開始部位(例えばヌクレアーゼS1によるマッピングによって簡便に定義される)ばかりでなく、RNAポリメラーゼの結合に関与するタンパク質結合ドメイン(コンセンサス配列)も見出される。いくつかの態様では、本開示とともに使用することができるプロモーターには、組織特異的プロモーターが含まれる。

【0123】

本明細書で使用する場合、「予防」とは、タウオパチーの発症を予防するために、またはタウオパチーに関連する症状を予防または遅延させるために使用される治療的行動または行動方針を指す。

【0124】

本明細書で使用する場合、「予防法」は、健康を維持し、タウオパチーの発症を予防す

10

20

30

40

50

るために、またはタウオパチーに関連する症状を予防もしくは遅延させるために取られる手段を指す。

【0125】

本明細書で使用する場合、「タウオパチー」という用語は、脳内（例えば、神経原線維変化またはグリア細胞原線維変化における）の異常タウ（チューブリン結合単位）タンパク質の沈着を特徴とする神経変性疾患のクラスを指す。タウオパチーは、一次タウオパチー（primary tauopathy）または二次タウオパチー（secondary tauopathy）としてさらに分類することができる。「一次タウオパチー」とは、タウタンパク質の蓄積が唯一または優勢な脳内タンパク質蓄積であるようなタウオパチーを指す。「二次タウオパチー」とは、タウ蓄積が、他のタンパク質、例えば、 $\alpha\beta$ アミロイドまたはプリオンタンパク質の脳内蓄積を伴うようなタウオパチーを指す。いくつかの態様では、本開示によって治療することが可能なタウオパチーは、一次タウオパチーである。いくつかの態様では、本開示によって治療することが可能なタウオパチーは、二次タウオパチーである。いくつかの態様では、本開示によって治療することが可能なタウオパチーは、一次及び二次タウオパチーの両方を含む。

10

【0126】

一次タウオパチーの非限定的な例としては、進行性核上性麻痺（PSP）、嗜銀顆粒病（AGD）、大脳皮質基底核変性症（CBD）、タウ蓄積を伴う前頭側頭葉変性症（FTLD-tau；孤発性またはMAPT変異により引き起こされる）、パーキンソニズム-17を伴う前頭側頭型認知症（FTDP-17）、ピック病（PID）、神経原線維変化優性認知症、グアドループパーキンソン認知症複合、グアムパーキンソン認知症複合（リティコ・ボディグ病）、ボクサー認知症（慢性外傷性脳症）、進行性皮質下グリオーシス、及びこれらの組み合わせが挙げられる。二次タウオパチーの非限定的な例としては、アルツハイマー病（AD）、ハンチントン病（HD）、パーキンソン病（PD）、多系統萎縮症（MSA）、神経原線維変化を伴う運動ニューロン病（MND）、ハラーフォルデン・シュパッツ病（HSD）、クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ニーマンピック病C型、鉛脳症、筋強直性ジストロフィー、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、脳炎後パーキンソニズム、亜急性硬化性全脳炎（SSPE）、結節性硬化症、ダウン症候群、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

20

30

【0127】

本明細書で使用する場合、「遺伝子調節領域」または「調節領域」という用語は、コーディング領域の上流（5'側のノンコーディング配列）、その内部、またはその下流（3'側のノンコーディング配列）に位置して、転写、RNAプロセッシング、または関連するコーディング領域の翻訳に影響を及ぼすヌクレオチド配列を指す。調節領域には、プロモーター、翻訳リーダー配列、イントロン、ポリアデニル化認識配列、RNAプロセッシング部位、エフェクター結合部位、またはステムループ構造が含まれ得る。コーディング領域が真核細胞内での発現のためのものである場合、ポリアデニル化シグナル及び転写終結配列がコーディング配列の3'側に通常は配置される。

【0128】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤（例えば、1つ以上のmiR-485結合部位を含むRNAをコードしたポリヌクレオチド）は、1つ以上のコーディング領域と機能的に関連付けられたプロモーター及び／または他の発現（例えば、転写）制御エレメントを含むことができる。機能的関連付けにおいて、遺伝子産物のコーディング領域は、1つ以上の調節領域と、その遺伝子産物の発現が調節領域（複数可）の影響または制御下に置かれるようにして関連付けられる。例えば、コーディング領域とプロモーターとは、プロモーター機能の誘導が、そのコーディング領域によってコードされたmRNAの転写をもたらし、かつプロモーターとコーディング領域との連結の性質が、プロモーターが遺伝子産物の発現を誘導する能力を妨げず、またはDNA鋳型が転写される能力も妨げない場合に、「機能的に関連付けられている」。プロモーター以外の他の

40

50

発現制御エレメント、例えば、エンハンサー、オペレーター、リプレッサー、及び転写終結シグナルを、遺伝子産物の発現を誘導するようにコーディング領域と機能的に関連付けることもできる。

【0129】

本明細書で使用する場合、「類似性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、ポリヌクレオチド分子（例えばm i R N A分子）間の全体的関連性を指す。ポリマー分子同士の互いに対する類似率（%）の計算は、類似率（%）の計算が当該技術分野で理解される場所の保存的置換を考慮している点を除いて、同一率（%）の計算と同様にして行うことができる。類似率（%）は、用いられる比較尺度、すなわち、核酸同士が、例えばそれらの進化的な近さ、電荷、体積、柔軟性、極性、疎水性、芳香族性、等電点、抗原性、またはそれらの組み合わせのどれにしたがって比較されるかによって左右されることが理解される。

10

【0130】

「対象」、「患者」、「個体」、及び「宿主」なる用語、及びそれらの変化形は、本明細書において互換的に使用され、限定されるものではないが、ヒト、家庭用動物（例えば、イヌ、ネコなど）、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマなど）、及び実験動物（例えば、サル、ラット、マウス、ウサギ、モルモットなど）が挙げられる、診断、処置、または治療が所望される任意の哺乳動物対象、特にヒトを指す。本明細書に記載される方法は、ヒトの治療及び獣医学的用途の両方に適用可能である。

【0131】

本明細書で使用する場合、「その必要がある対象」という表現は、例えば、S I R T 1タンパク質及び／またはS I R T 1遺伝子の発現レベルを増加させるためなど、本開示のm i R N A阻害剤（例えば、m i R - 4 8 5阻害剤）の投与から恩恵を受ける哺乳動物対象などの対象を含む。

20

【0132】

本明細書で使用する場合、「治療有効量」という用語は、所望の治療効果、薬理学的、及び／または生理学的効果をもたらす必要がある対象において所望の治療効果、薬理学的、及び／または生理学的効果をもたらすのに十分な、本開示のm i R N A阻害剤を含む試薬または医薬化合物の量である。治療上有効量は、予防が治療とみなされ得る場合、「予防上有効量」であり得る。

30

【0133】

本明細書で使用する場合、「処置する」、「処置」、または「処置すること」という用語は、例えば、タウオパチーの重症度の低減、疾患経過の期間の低減、タウオパチー（例えば、糖尿病）に関連する1つ以上の症状の改善または除去、タウオパチーを必ずしも治療しない、タウオパチーを有する対象に対する有益な効果の提供を指す。この用語には、タウオパチーまたはその症状の予防または防止も含まれる。

【0134】

「上流」という用語は、参照ヌクレオチド配列の5'側に位置するヌクレオチド配列を指す。

【0135】

「ベクター」とは、宿主細胞内に核酸をクローニング及び／または導入するための任意の担体を指す。ベクターは、結合されたセグメントの複製をもたらすように別の核酸セグメントを結合させることができるレプリコンとすることができる。「レプリコン」とは、インビボで自律的な複製ユニットとして機能する（すなわち、それ自身の制御下で複製することができる）任意の遺伝子エレメント（例えば、プラスミド、ファージ、コスミド、染色体、ウイルス）のことを指す。「ベクター」という用語には、細胞に核酸をインビトロ、エクスピボ、またはインビボで導入するためのウイルス性及び非ウイルス性の担体が含まれる。例えば、プラスミド、改変真核生物ウイルス、または改変細菌ウイルスを含む数多くのベクターが当該技術分野で知られており、使用されている。適当なベクターへのポリヌクレオチドの挿入は、適当なポリヌクレオチドフラグメントを、相補的な粘着末端

40

50

を有する選択されたベクターにライゲートすることによって行うことができる。

【0136】

ベクターは、ベクターを取り込んだ細胞の選択または特定を可能とする選択マーカーマたはレポーターをコードするように操作することができる。選択マーカーマたはレポーターの発現によって、ベクターに含まれる他のコーディング領域を取り込んで発現する宿主細胞を特定し、及び／または選択することが可能となる。当該技術分野において知られ、使用されている選択マーカの例としては、アンピシリン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ヒグロマイシン、ピアラホス除草剤、スルホンアミドなどに対する耐性を与える遺伝子、ならびに表現型マーカーとして用いられる遺伝子、すなわち、アントシアン調節遺伝子、イソペンテニル基転移酵素遺伝子などが挙げられる。当該技術分野において知られ、使用されているレポーターの例としては、ルシフェラーゼ（Luc）、緑色蛍光タンパク質（GFP）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）、 β -ガラクトシダーゼ（LacZ）、 β -グルクロニダーゼ（Gus）などが挙げられる。選択マーカーマたはレポーターとみなすこともできる。

10

【0137】

II. 使用方法

SIRT1の調節

いくつかの態様では、本開示は、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させる必要のある対象においてSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させる方法であって、miR-485活性を阻害する化合物（すなわち、miR-485阻害剤）を対象に投与することを含む方法を提供する。特定の態様では、miR-485活性を阻害することは、対象におけるSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させる。

20

【0138】

サーチュイン1（SIRT1）は、NAD依存性脱アセチル化酵素サーチュイン1としても知られ、ヒトではSIRT1遺伝子によってコードされているタンパク質である。SIRT1遺伝子はヒトの第10番染色体上に位置している（GenBankアクセッション番号NC_000010.11のヌクレオチド67,884,656～67,918,390（+鎖の方向））。SIRT1遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「調節タンパク質SIR2ホモログ1」、「サイレント接合型情報調節因子2ホモログ1（silent mating-type information regulation 2 homolog 1）」、「SIR2」、「SIR2様タンパク質1」、「SIR2L1」、「SIR2 α 」、「1型サーチュイン」、「hSIRT1」、または「hSIR2」が挙げられる。

30

【0139】

ヒトSIRT1タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも2種類の既知のアイソフォームがある。SIRT1アイソフォーム1（UniProt識別番号：Q96EB6-1）は747個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている（配列番号31）。SIRT1アイソフォーム2（「 Δ エクソン8」としても知られる（UniProt識別番号：Q96EB6-2））は、561個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：454～639：欠失（配列番号32）。下記表1に、2つのSIRT1アイソフォームの配列を示す。

40

【表 1】

表 1. S I R T 1 タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム 1 (UniProt: Q96EB6-1) (配列番号 31)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGGLERSPGE PGGAAPEREPVAAAARGCPGAAAAALWREAEAEAAAAGGEQEAQATAAA GEGDNGPGLQGPSREPPLADNLYDEDDDDDEGEEEEEEAAAAAIGYRDNLLF GDEIITNGFHSCESEEDRASHASSSDWTPRPRIGPYTFVQQHLMIGTDPRT ILKDLLPETIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDINTIEDAVKLLQEC KKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPQAMFDIEYFRKD PRPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGKLLRNYTQNIDTLEQVAGIQ RIIQCCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDIFNQVPRCPRCPADEPLAIMK PEIVFFGENLPEQFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSSIPHEVPQ ILINREPLPHLHFDVELLDGDCDVIINELCHRLGGEYAKLCCNPVKLSEITEK PPRTQKELAYLSELPPTPLHVSEDSSSPERTSPPDSSVIVTLLDQAAKSND LDVSESKGCMEEKPQEVQTSRNVESIAEQMENPDLKNVGSSTGEKNERTS VAGTVRKCWPNRVAKEQISRRLDGNQYLFLPPNRYIFHGAEVYSDSEDDV LSSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGF GTDGDDQEAINAISVKQEVTDNMNYPNSKS
アイソフォーム 2 (UniProt: Q96EB6-2) (配列番号 32)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGGLERSPGE PGGAAPEREPVAAAARGCPGAAAAALWREAEAEAAAAGGEQEAQATAAA GEGDNGPGLQGPSREPPLADNLYDEDDDDDEGEEEEEEAAAAAIGYRDNLLF GDEIITNGFHSCESEEDRASHASSSDWTPRPRIGPYTFVQQHLMIGTDPRT ILKDLLPETIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDINTIEDAVKLLQEC KKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPQAMFDIEYFRKD PRPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGKLLRNYTQNIDTLEQVAGIQ RIIQCCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDIFNQVPRCPRCPADEPLAIMK PEIVFFGENLPEQFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSNQYLFLP PNRYIFHGAEVYSDSEDDVLSSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIEEF YNGLEDEPDVPERAGGAGFGTDGDDQEAINAISVKQEVTDNMNYPNSKS

【0140】

本明細書で使用する場合、「S I R T 1」なる用語は、細胞によって天然に発現される S I R T 1 のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される m i R - 4 8 5 阻害剤は S I R T 1 アイソフォーム 1 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される m i R - 4 8 5 阻害剤は S I R T 1 アイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示される m i R - 4 8 5 阻害剤は S I R T 1 アイソフォーム 1 及びアイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。特に断らない限り、本明細書では、アイソフォーム 1 及びアイソフォーム 2 の両方を併せて「S I R T 1」と呼ぶ。

【0141】

いくつかの態様において、本開示の m i R - 4 8 5 阻害剤は、参照（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を投与しなかった対応する対象における S I R T 1 タンパク質及び／または S I R T 1 遺伝子の発現）と比較して S I R T 1 タンパク質及び／または S I R T 1 遺伝子の発現を少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 150 %、少なくとも約 200 %、または少なくとも約 300 % 増加させる。

【0142】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485、例えばmiR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることにより、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させる。miR-485-3p及びmiR-485-5pのmiR-485の2つの既知の成熟型が知られている。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、miR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることができる。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、miR-485-5pの発現及び／または活性を低下させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485-3p及びmiR-485-5pの両方の発現及び／または活性を低下させることができる。

10

【0143】

いくつかの態様において、本開示のmiR-485阻害剤は、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対応する対象におけるmiR-485-3pの発現）と比較してmiR-485-3pの発現及び／または活性を少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または少なくとも約100%減少させる。特定の態様において、本開示のmiR-485阻害剤は、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対応する対象におけるmiR-485-5pの発現）と比較してmiR-485-5pの発現及び／または活性を少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または少なくとも約100%減少させる。さらなる態様において、本開示のmiR-485阻害剤は、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対応する対象におけるmiR-485-3p及びmiR-485-5pの発現）と比較してmiR-485-3p及びmiR-485-5pの両方の発現及び／または活性を少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または少なくとも約100%減少させる。いくつかの態様では、miR-485-3p及び／またはmiR-485-5pの発現は、miR-485阻害剤の投与後に完全に阻害される。

20

30

【0144】

本明細書に記載されるように、本開示のmiR-485阻害剤は、対象に投与された場合にSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本開示は、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連したタウオパチーの治療を必要とする対象において、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の異常なレベルに関連した疾患または状態を治療する方法を提供する。特定の態様において、方法は、miR-485の活性を阻害する化合物（例えば、miR-485阻害剤）を対象に投与することを含み、miR-485阻害剤はSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子のレベルを増加させる。

40

【0145】

CD36の調節

本明細書に記載されるように、本出願人は、ヒトCD36の3'UTRがmiR-485-3pの標的部位を含み、miR-485-3pの結合がCD36の発現を減少させ得ることを特定した（例えば、実施例7及び8を参照）。したがって、いくつかの態様では、本開示は、CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を増加させる必要のある対象においてCD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を増加させる方法であって、miR-485活性を阻害する化合物（すなわち、miR-485阻害剤）を対象に投与することを含む方法を提供する。特定の態様では、miR-485活性を阻害することは、対象におけるCD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を増

50

加させる。

【0146】

クラスター決定因子36 (CD36) は、血小板糖タンパク質4としても知られ、ヒトではCD36遺伝子によってコードされているタンパク質である。CD36遺伝子は第7番染色体上に位置している (GenBankアクセッション番号NC_000007.14のヌクレオチド80,602,656~80,679,277 (+鎖の方向))。CD36遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「血小板糖タンパク質IV」、「脂肪酸転移酵素」、「スカベンジャー受容体クラスBメンバー3」、「糖タンパク質88」、「糖タンパク質IIIB」、「糖タンパク質IV」、「トロンボスポンジン受容体」、「GPIIIB」、「PAS IV」、「GP3B」、「GPIV」、「FAT」、「GP4」、「BDPLT10」、「SCARB3」、「CHDS7」、「PASIV」、または「PAS-4」が挙げられる。

10

【0147】

ヒトCD36タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも4種類の既知のアイソフォームがある。CD36アイソフォーム1 (UniProt識別番号:P16671-1) は472個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている (配列番号36)。CD36アイソフォーム2 (「ex8-del」としても知られる (UniProt識別番号:P16671-2)) は、288個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 274~288: SIYAVFESDVNLKGI→ETCVHF TSSFSVC KS、及び289~472: 欠失 (配列番号37)。CD36アイソフォーム3 (「ex6-7-del」としても知られる (UniProt識別番号:P16671-3)) は、433個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 234~272: 欠失 (配列番号38)。CD36アイソフォーム4 (「ex4-del」としても知られる (UniProt識別番号:P16671-4)) は、412個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 144~203: 欠失 (配列番号39)。下記表2に、4つのCD36アイソフォームの配列を示す。

20

30

40

50

【表 2】

表 2. CD36 タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム 1(UniProt:P16671- 1)(配列番号 36)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEE GTIAFKNWVKTGTEVYRQFWFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPY TYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGAIFEPSLSVGTEADNFTVL NLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLWGYRD PFLSLVPYPVTTTTLVGLFYYPYNNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYK GKRNL SYWESHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAV FESDVNLKGIPVYRFVLPSKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYG VLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEP ITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETGTIG DEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYCACRSK TIK
アイソフォーム 2(UniProt:P16671- 2)(配列番号 37)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEE GTIAFKNWVKTGTEVYRQFWFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPY TYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGAIFEPSLSVGTEADNFTVL NLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLWGYRD PFLSLVPYPVTTTTLVGLFYYPYNNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYK GKRNL SYWESHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRETCVH FTSSFSVCKS
アイソフォーム 3(UniProt:P16671- 3)(配列番号 38)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEE GTIAFKNWVKTGTEVYRQFWFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPY TYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGAIFEPSLSVGTEADNFTVL NLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLWGYRD PFLSLVPYPVTTTTLVGLFYYPYNNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYK GKR SIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLPSKAFASPVENPDNYCFCTEKI SKNCTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEE HRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPIL WLNETGTIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFM ISYCACRSKTIK
アイソフォーム 4(UniProt:P16671- 4)(配列番号 39)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEE GTIAFKNWVKTGTEVYRQFWFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPY TYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGAIFEPSLSVGTEADNFTVL NLAVAYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNL SYWESH CDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPV YRFVLPSKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPV YISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQ VNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETGTIGDEKANMFRSQVT GKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYCACRSKTIK

10

20

30

40

【0148】

本明細書で使用する場合、「CD36」なる用語は、細胞によって天然に発現される CD36 のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は CD36 アイソフォーム 1 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は CD36 アイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は CD36 アイソフォーム 3 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は CD36 アイソフォーム 4 の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明

50

細書に開示されるmiR-485阻害剤はCD36のアイソフォーム1とアイソフォーム2、及び／またはアイソフォーム3とアイソフォーム4、及び／またはアイソフォーム1とアイソフォーム4、及び／またはアイソフォーム2とアイソフォーム3の両方の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はすべてのCD36アイソフォームの発現を増加させることができる。特に断らない限り、アイソフォーム1、アイソフォーム2、アイソフォーム3、及びアイソフォーム4を本明細書ではまとめて「CD36」と呼ぶ。

【0149】

いくつかの態様において、本開示のmiR-485阻害剤は、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対応する対象におけるCD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現）と比較してCD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、または少なくとも約300%増加させる。

【0150】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485の発現及び／または活性を低下させることにより、CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を増加させる。miR-485-3p及びmiR-485-5pの2つの成熟型が知られている。本明細書で開示されるように、いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、miR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることができる。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、miR-485-5pの発現及び／または活性を低下させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485-3p及びmiR-485-5pの両方の発現及び／または活性を低下させることができる。

【0151】

PGC1の調節

本明細書に提供される開示は、本開示のmiR-485阻害剤が、例えば、本明細書に開示される疾患または障害を罹患した対象におけるPGC-1 α の発現をさらに調節することができることを実証する（例えば、実施例3を参照）。したがって、いくつかの態様では、本開示は、PGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現を増加させる必要のある対象においてPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現を増加させる方法であって、miR-485活性を阻害する化合物（すなわち、miR-485阻害剤）を対象に投与することを含む方法を提供する。特定の態様では、miR-485活性を阻害することは、対象におけるPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現を増加させる。

【0152】

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター1-アルファ（PGC1- α ）は、PPARGコアクチベーター1アルファまたはリガンド作用モジュレーター6としても知られ、ヒトではPPARGC1A遺伝子によってコードされているタンパク質である。PGC-1 α 遺伝子はヒトの第4番染色体上に位置している（GenBankアクセッション番号NC_000004.12のヌクレオチド23,792,021~24,472,905（+鎖の方向））。PGC-1 α 遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「PPARGC1A」、「LEM6」、「PGC1」、「PGC1A」、「PGC-1v」、「PPARGC1」、「PGC1 α 」、または「PGC-1（ α ）」が挙げられる。

【0153】

ヒトPGC-1 α タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも9種類の既知のアイソフォームがある。PGC-1 α アイソフォーム1（UniProt識別番

10

20

30

40

50

号：Q9UBK2-1）は798個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている（配列番号40）。PGC-1 α アイソフォーム2（「アイソフォームNT-7a」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-2）は、271個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：269～271：DPK→LFL；272～798：欠失（配列番号41）。PGC-1 α アイソフォーム3（「アイソフォームB5」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-3）は、803個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDETSPRLEEDWKVKVLQREAGWQ（配列番号42）。PGC-1 α アイソフォーム4（「アイソフォームB4」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-4）は、786個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF（配列番号43）。PGC-1 α アイソフォーム5（「アイソフォームB4-8a」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-5）は、289個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF、294～301：LTPPTTPP→VKTNLISK、302～798：欠失（配列番号44）。PGC-1 α アイソフォーム6（「アイソフォームB5-NT」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-6）は、276個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDETSPRLEEDWKVKVLQREAGWQ、269～271：DPK→LFL、272～798：欠失（配列番号45）。PGC-1 α アイソフォーム7（「B4-3ext」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-7）は、138個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF、144～150：LKKLLLA→VRTLPTV、151～798：欠失（配列番号46）。PGC-1 α アイソフォーム8（「アイソフォーム8a」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-8）は、301個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：294～301：LTPPTTPP→VKTNLISK、302～798：欠失（配列番号47）。PGC-1 α アイソフォーム9（「アイソフォーム9」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-9）は、671個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～127：欠失（配列番号48）。下記表3に、9つのPGC-1 α アイソフォームの配列を示す。

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3. PGC-1 α タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム 1(UniProt: Q9UBK2- 1)(配列番 号 40)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWC SDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSL PVDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTP PHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSK SSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDY CQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQ GQICSSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFGHPSQAVFDDEADK TGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSC SSFNSPCRDSVSPKSLFSQRPQRMRSR SRFSRHRSCSRSPYSR SRSPGSRSSSRSC YYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSR SRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKR EYRREYEKRESE RAKQRRERQ RQKAIEERRVIYVGKIRPD TTRTEL RDRFEVFGEIEECTVNL RDDGDSYGF I TYRYTCD AFAALENGYTLRRSNETDFEL YFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSK YDSLDFDSLLKEAQRSLRR	10
アイソフォーム 2(UniProt: Q9UBK2- 2)(配列番 号 41)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWC SDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSL PVDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESP NLF	20
アイソフォーム 3(UniProt: Q9UBK2- 3)(配列番 号 42)	MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLG GLKWCS DQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSL PVDEDGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHR IRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTNDPPHTKPTENRNSSRDK CTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGL PPTTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELY AQLSKSSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDY CQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDV SSDWQGQICSSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFGHPSQAVFD DEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLF N VSPSCSSFNSPCRDSVSPKSLFSQRPQRMRSR SRFSRHRSCSRSPYSR SRSPGSR SSRSCYYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSR SRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKR EYRREYE KRESERAKQRRERQ RQKAIEERRVIYVGKIRPD TTRTEL RDRFEVFGEIEECTVNL RDDGD SYGFITYRYTCD AFAALENGYTLRRSNETDFEL YFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPAS TKSKYDSLDFDSLLKEAQRSLRR	30

40

50

【表 3 - 2】

アイソフォーム 4(UniProt: Q9UBK2- 4)(配列番 号 43)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDEGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQDNPFRA SPKLSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGGHEERK TKRPSLRLFGDHDYCSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGQICSSTDSDQC YLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAELENKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRDSDFSNE QFSKLPFMINSGLAMDGLFDDSEDESCLKSYWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPCRDSVS PPKSLFSQRPQRMRSRSPSRHRSCSRSPYSRSPSRSPGSRSSSRSCYYYESSHYRHRT HRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKRREYRREYEKRESERAKQRRERQKKA IEERRVIYVGKIRPDTTRTELDRFEVFGIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCDFAAL ENGTYLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDSLLKEA QRSLRR	10
アイソフォーム 5(UniProt: Q9UBK2- 5)(配列番 号 44)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDEGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLISK	20
アイソフォーム 6(UniProt: Q9UBK2- 6)(配列番 号 45)	MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGG L KWCSQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDEGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHR IRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDK CTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPFL	
アイソフォーム 7(UniProt: Q9UBK2- 7)(配列番 号 46)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDEGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLVRTLPTV	30

【表 3 - 3】

アイソフォーム 8(UniProt: Q9UBK2- 8)(配列番号 47)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDVNDLDTDSFLGGLKWC SDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLIS K
アイソフォーム 9(UniProt: Q9UBK2- 9)(配列番号 48)	MPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQ SQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPTTPPHKANQD NPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGG HEERKTKRPSRLRFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGGICSS TDSQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRD SDFSNEQFSKLP MFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFN SPCRDSVSPPKSLFSQRPQRMRSRSPSRHRSCSRSPYSRSPSRSPGSRSSSRSCYYYESSH YRHRTHRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREYRREYEKRESERAKQRE RQRQKAIEERRVIYVGKIRPDTTRTELDRFEVFGIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCD AFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDS LLKEAQRSLRR

10

20

【0154】

本明細書で使用する場合、「PGC-1 α 」なる用語は、細胞によって天然に発現される PGC-1 α のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 1 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 1 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 3 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 4 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 5 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 6 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 7 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 8 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 9 の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 1、アイソフォーム 2、アイソフォーム 3、アイソフォーム 4、アイソフォーム 5、アイソフォーム 6、アイソフォーム 7、アイソフォーム 8、及びアイソフォーム 9 の発現を増加させることができる。特に断らない限り、本明細書では、アイソフォーム 1 及びアイソフォーム 2 の両方を併せて「PGC-1 α 」と呼ぶ。

30

40

【0155】

50

いくつかの態様において、本開示のmiR-485阻害剤は、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対応する対象におけるPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現）と比較してPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現を少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、または少なくとも約300%増加させる。

【0156】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485の発現及び／または活性を低下させることにより、PGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現を増加させる。miR-485-3p及びmiR-485-5pの2つの成熟型のmiR-485が知られている。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、miR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることができる。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、miR-485-5pの発現及び／または活性を低下させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485-3p及びmiR-485-5pの両方の発現及び／または活性を低下させることができる。

【0157】

本開示から明らかとなるように、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の異常な（例えば、例えば低下した）レベルに関連したあらゆるタウオパチーを本開示によって治療することができる。いくつかの態様では、本開示は、CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連したタウオパチーの治療に有用となりうる。いくつかの態様では、本開示は、PGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連したタウオパチーを治療するために使用することもできる。いくつかの態様では、そのようなタンパク質及び／または遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連したタウオパチーは、以下、すなわち、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、自閉症スペクトラム障害、精神遅滞、てんかん発作、脳卒中、脊髄損傷、またはこれらの任意の組み合わせに関連するタウオパチーではない。

【0158】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤を投与することは、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連するタウオパチーの1つ以上の症状を改善することができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤を投与することは、CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連するタウオパチーの1つ以上の症状を改善することができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤を投与することは、PGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の異常な（例えば、低下した）レベルに関連するタウオパチーの1つ以上の症状を改善することができる。そのような症状の非限定的な例を以下に記載する。本明細書に記載されるように、SIRT1、CD36、及び／またはPGC-1 α の異常な発現に関連したタウオパチーは。したがって、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、タウオパチーに関連した1つ以上の症状を改善することができる。症状の非限定的な例としては、歩行または通常の日常活動を行うことの困難；つまずき及び転倒；四肢の虚弱；不明瞭な発語；嚥下障害；筋痙攣及び攣縮；不相応な号泣、笑い、または欠伸；認知症；認知能力及び行動変化；ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。

【0159】

いくつかの態様では、対象にmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患した）の1つ以上の四肢の物理的強さを増加させることができる。例えば、いくつかの態様では、対象が長時間にわたって物体（例えば、ハングワイヤまたは

ボール)につかまる能力が、参照(例えば、投与前の対象の対応する値)と比較して増加する。いくつかの態様では、対象が物体(例えば、ハングワイヤまたはボール)につかまることができる時間の長さは、参照(例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象)と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%以上、増加する。

10

【0160】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤を対象に投与することは、参照(例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対応する個人における疾患発症)と比較して疾患の発症を遅延させることができる。いくつかの態様では、タウオパチーの疾患発症は、参照(例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象)と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%以上、遅延される。いくつかの態様では、タウオパチーの疾患発症は、参照(例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象)と比較して、少なくとも約10日、少なくとも約20日、少なくとも約30日、少なくとも約40日、少なくとも約50日、少なくとも約60日、少なくとも約70日、少なくとも約80日、少なくとも約90日、少なくとも約100日、少なくとも約150日、少なくとも約200日、少なくとも約250日、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年以上、遅延される。

20

【0161】

いくつかの態様では、対象にmiR-485阻害剤を投与することは、対象(例えば、タウオパチーに罹患している)における1つ以上の認知機能症状を、参照(例えば、投与前の対象における認知機能症状)と比較して改善し得る。

30

【0162】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象(例えば、つまり、手で物を持つのが難しい、不明瞭な発話、嚥下障害、筋痙攣、姿勢悪化、頭をもちあげているのが難しい、筋硬直、またはこれらの任意の組み合わせ)におけるタウオパチーの1つ以上の症状の発症、または発症のリスクを、参照(例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象)と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%低下させる。

40

【0163】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象(例えば、タウオパチー患に罹患している)におけるスカベンジャー細胞(例えば、グリア細胞)の食作用活性を(例えば、CD36タンパク質及び/またはCD36遺伝子の発現を増加させることにより)、参照(例えば、投与前の対象における食作用活性)と比較して増加させる。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象(例えば、タウオパチーに罹患している)における神経細胞の樹状突起スパイン密度を、参

50

照（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 1 0 0 %、少なくとも約 1 5 0 %、少なくとも約 2 0 0 %、少なくとも約 2 5 0 %、または約 3 0 0 % 以上、増加させる。

【 0 1 6 4 】

いくつかの態様では、本明細書に開示される m i R - 4 8 5 阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における神経発生を（例えば、C D 3 6 タンパク質及び／または C D 3 6 遺伝子の発現を増加させることにより）、参照（例えば、投与前の対象における神経発生）と比較して増加させる。本明細書で使用する場合、「神経発生」という用語は、神経細胞が形成されるプロセスを指す。神経発生は、神経幹細胞及び前駆細胞の増殖、これらの細胞の新たな神経細胞タイプへの分化、ならびに新しい細胞の遊走及び生存を包含する。この用語は、主として出生前及び周産期の発生の正常な発生中に生じる神経発生、ならびに疾患、傷害、または治療介入後に生じる細胞再生を含むものとする。成人の神経発生は、「神経」または「神経系」発生とも呼ばれる。いくつかの態様では、本開示の m i R - 4 8 5 阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における神経発生を、参照（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 1 0 0 %、少なくとも約 1 5 0 %、少なくとも約 2 0 0 %、少なくとも約 2 5 0 %、または約 3 0 0 % 以上、増加させる。

【 0 1 6 5 】

いくつかの態様では、神経発生を増加及び／または誘導することは、神経幹細胞及び／または前駆細胞の増殖、分化、遊走、及び／または生存率の増加をとみなす。したがって、いくつかの態様では、本開示の m i R - 4 8 5 阻害剤を投与することは、対象の神経幹細胞及び／または前駆細胞の増殖を増加させることができる。特定の態様では、神経幹細胞及び／または前駆細胞の増殖は、参照（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 1 0 0 %、少なくとも約 1 5 0 %、少なくとも約 2 0 0 %、少なくとも約 2 5 0 %、または少なくとも約 3 0 0 % 以上、増加する。いくつかの態様では、神経幹細胞及び／または前駆細胞の生存率は、参照（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 1 0 0 %、少なくとも約 1 5 0 %、少なくとも約 2 0 0 %、少なくとも約 2 5 0 %、または少なくとも約 3 0 0 % 以上、増加する。

【 0 1 6 6 】

いくつかの態様では、神経発生を増加及び／または誘導することは、神経幹細胞及び／または前駆細胞の数の増加をとみなす。いくつかの態様では、神経幹細胞及び／または前駆細胞の数は、参照（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 1 0 0 %、少なくとも約 1 5 0 %、少なくとも約 2 0 0 %、少なくとも約 2 5 0 %、または少なくとも約 3 0 0 % 以上、増加する。

【 0 1 6 7 】

いくつかの態様では、神経発生を増加及び／または誘導することは、軸索、樹状突起、

及び／またはシナプス発生の増加をとみなす。特定の態様では、軸索、樹状突起、及び／またはシナプス発生は、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%以上、増加する。

【0168】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における神経炎症を（例えば、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させることにより）、参照（例えば、投与前の対象における神経炎症）と比較して減少させる。特定の態様では、miR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における神経炎症を、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%減少させる。いくつかの態様では、神経炎症の減少は、グリア細胞が産生する炎症性メディエーターの量が減少することを含む。したがって、特定の態様では、miR-485阻害剤を対象（例えば、タウオパチーに罹患している）に投与することは、グリア細胞が産生する炎症性メディエーターの量を、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%減少させる。いくつかの態様では、グリア細胞が産生する炎症性メディエーターは、TNF- α を含む。いくつかの態様では、炎症性メディエーターは、IL-1 β を含む。いくつかの態様では、グリア細胞が産生する炎症性メディエーターは、TNF- α 及びIL-1 β の両方を含む。

【0169】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）におけるオートファジーを（例えば、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させることにより）増加させる。本明細書で使用する場合、「オートファジー」という用語は、細胞ストレス応答ならびに細胞恒常性を維持するために長寿命タンパク質、タンパク質凝集体、及び損傷したオルガネラの分解を担う生存経路のことを指す。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を対象（例えば、タウオパチーに罹患している）に投与することは、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象）と比較してオートファジーを、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、または少なくとも約300%以上、増加させる。

【0170】

当該技術分野では周知であるように、タウオパチー患者は特定の運動及び／または非運

動症状を呈する。例えば、タウオパチーに関連した運動症状の非限定的な例としては、筋力低下（例えば、脚の虚弱、ペンまたはカップを持つことが難しい、頭より高く腕を上げることが難しい、手または指で細かい運動動作を行う際のぎこちなさ、呼吸困難）、筋萎縮、筋攣縮（すなわち、筋肉の短時間の自然な制御不能な痙攣）、痙縮（すなわち、緊張及び強ばりにつながる、筋肉の長時間の制御不能な収縮）、構音障害（すなわち、口及び顔の筋肉を動かさないことによる遅い、不明瞭な発語）、嚥下障害（すなわち、飲み込むことができない）、及びこれらの組み合わせが挙げられる。タウオパチーに関連する非運動症状の例としては、認知機能障害、情動調節障害（PBA）（すなわち、社会的場面で不相応にみえる笑いまたは号泣の不随意かつ制御不能なエピソード）が挙げられる。

【0171】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における1つ以上の運動症状を、参照（例えば、投与前の対象における対応する運動症状）と比較して改善する。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における1つ以上の運動症状を、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%以上、改善する。

【0172】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における1つ以上の運動症状を、参照（例えば、投与前の対象における1つ以上の運動症状）と比較して改善する。特定の態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤を投与することは、対象（例えば、タウオパチーに罹患している）における1つ以上の非運動症状を、参照（例えば、miR-485阻害剤を投与しなかった対象）と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%以上、改善する。

【0173】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、当該技術分野では周知の任意の適当な経路で投与することができる。特定の態様では、miR-485阻害剤は、補足的投与、筋肉内投与、皮下投与、点眼、静脈内投与、腹腔内投与、皮内投与、眼窩内投与、脳内投与、頭蓋内投与、脳室内投与、脊髄内投与、心室内投与、髄腔内投与、大槽内投与、嚢内投与、腫瘍内投与、またはそれらの任意の組み合わせで投与される。

【0174】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、1つ以上のさらなる治療薬と併用することができる。いくつかの態様では、さらなる治療薬とmiR-485阻害剤とは同時に投与される。特定の態様において、さらなる治療薬とmiR-485阻害剤とは順次投与される。

【0175】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は副作用を生じない。特定の態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、対象に投与される際に体重に悪影

10

20

30

40

50

響を及ぼさない。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、対象に投与される際に死亡率の増加をもたらさず、病理学的異常も引き起こさない。

【0176】

III. 本開示で有用なmiR-485阻害剤

本開示では、miR-485活性を阻害することができる化合物を開示する(miR-485阻害剤)。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、少なくとも1つのmiR-485結合部位を含むヌクレオチド分子をコードするヌクレオチド配列を含んでおり、ヌクレオチド分子はタンパク質をコードしていない。本明細書に記載されるように、いくつかの態様では、miR-485結合部位は、標的miRNA核酸配列(すなわち、miR-485)と少なくとも部分的に相補的であるため、miR-485阻害剤はmiR-485の核酸配列とハイブリダイズする。

10

【0177】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR阻害剤のmiR-485結合部位は、miR-485の核酸配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列同一性を有する。特定の態様では、miR-485結合部位は、miR-485の核酸配列と完全に相補的である。

20

【0178】

miR-485のヘアピン前駆体はmiR-485-5p及びmiR-485-3pの両方を生成することができる。本開示との関連で、「miR-485」は、特に断らない限り、miR-485-5p及びmiR-485-3pの両方を包含する。ヒト成熟miR-485-3pは、配列5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3' (配列番号1; miRBaseアクセッション番号MIMAT0002176)を有する。miR-485-3pの5'-UCAUACA-3' (配列番号49)の5'末端配列はシード配列である。ヒト成熟miR-485-5pは、配列5'-AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC-3' (配列番号33; miRBaseアクセッション番号MIMAT0002175)を有する。miR-485-5pの5'-GAGGCUG-3' (配列番号50)の5'末端配列はシード配列である。

30

【0179】

当業者には明らかであるが、ヒト成熟miR-485-3pは、他の種のものと同様の配列類似性を有している。例えば、マウス成熟miR-485-3pは、ヒト成熟miR-485-3pと、5'末端及び3'末端のそれぞれで1個のアミノ酸が異なっている(すなわち、5'末端に余分な「A」があり、3'末端の「C」がない)。マウス成熟miR-485-3pは以下の配列を有する：

【化6】

5'-AGUCAUACACGGCUCUCCUCUC-3'

40

(配列番号34; miRBaseアクセッション番号MIMAT0003129; 下線部はヒト成熟miR-485-3pとの重複部分に相当する)。

マウス成熟miR-485-5pの配列はヒトの配列と同一である：5'-agaggcuggccgugaugaauuc-3' (配列番号33; miRBaseアクセッション番号MIMAT0003128)。ヒト成熟miR-485-3p及びmiR-485-5pと他の例示的な哺乳動物種の対応する配列との配列アラインメントを図2に示す。このような配列の類似性のため、いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、図2に示される1つ以上の種のmiR-485-3p及び／またはmiR-485-5pに結合することができる。特定の態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、ヒト及びマウスのmiR-485-3p及び／またはmiR-485-5pに結合

50

することができる。

【0180】

いくつかの態様では、miR-485結合部位は、miR-485-3pの配列（またはその部分配列）と相補的（例えば、完全に相補的）な一本鎖のポリヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、miR-485-3pの部分配列は、シード配列を含む。したがって、特定の態様では、miR-485結合部位は、配列番号49に記載される核酸配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列相補性を有する。特定の態様では、miR-485結合部位は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを除いてmiR-485-3pと相補的である。さらなる態様では、miR-485結合部位は、配列番号1に記載される核酸配列と完全に相補的である。

10

【0181】

いくつかの態様では、miR-485結合部位は、miR-485-5pの配列（またはその部分配列）と相補的（例えば、完全に相補的）な一本鎖のポリヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、miR-485-5pの部分配列は、シード配列を含む。特定の態様では、miR-485結合部位は、配列番号50に記載される核酸配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列相補性を有する。特定の態様では、miR-485結合部位は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを除いてmiR-485-5pと相補的である。さらなる態様では、miR-485結合部位は、配列番号35に記載される核酸配列と完全に相補的である。

20

【0182】

miRNAのシード領域は、標的mRNAと緊密な二重鎖を形成する。多くのmiRNAは、標的mRNAの3'非翻訳領域(UTR)と不完全に塩基対合し、miRNAの5'近位の「シード」領域が対合特異性の大部分を与える。いずれの理論にも束縛されるものではないが、最初の9個のmiRNAヌクレオチド（シード配列を含む）がより高い特異性を与えるのに対して、この領域の3'側のmiRNAヌクレオチドはより低い配列特異性を与え、それにより、より高度のミスマッチした塩基対合を許容し、2~7位が最も重要であると考えられる。したがって、本開示の特定の態様では、miR-485結合部位は、miR-485のシード配列の全長にわたって完全に相補的（すなわち、100%の相補性）な配列を含む。

30

【0183】

本開示との関連で使用するすることができるmiRNA配列及びmiRNA結合配列としては、これらに限定されるものではないが、本明細書に示される配列表の配列の全部または一部、ならびにmiRNA前駆体配列、またはこれらのmiRNAのうちの1つ以上のものの相補体が挙げられる。その配列が、示されるmiRNAの成熟配列またはその相補的配列と少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるようなm

40

50

iRNA またはその相補的配列を含めるために名前による特定の miRNA または miRNA 結合部位を含む本開示のあらゆる態様も想到される。

【0184】

特定の態様では、本開示の miRNA 結合配列は、改変された配列が miR-485 に依然として特異的に結合できる限り、本明細書で提供される配列表に示される配列の 5' 末端、3' 末端、または 5' 末端及び 3' 末端の両方にさらなるヌクレオチドを含んでもよい。いくつかの態様では、本開示の miRNA 結合配列は、改変された配列が miR-485 に依然として特異的に結合できる限り、提供される配列表に示される配列に対して、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 個、またはそれ以上のヌクレオチドにおいて異なり得る。

10

【0185】

miRNA 結合分子または miRNA に関して本明細書に記載されるあらゆる方法及び組成物は、合成 miRNA 結合分子に関して実施することができる点も具体的に想到される。本開示の RNA 配列に関連した開示は、対応する DNA 配列に等しく適用できる点も理解されよう。

【0186】

いくつかの態様では、本開示の miR-485 阻害剤は、ヌクレオチド配列の 5' 末端に少なくとも 1 個のヌクレオチド、少なくとも 2 個のヌクレオチド、少なくとも 3 個のヌクレオチド、少なくとも 4 個のヌクレオチド、少なくとも 5 個のヌクレオチド、少なくとも 6 個のヌクレオチド、少なくとも 7 個のヌクレオチド、少なくとも 8 個のヌクレオチド、少なくとも 9 個のヌクレオチド、少なくとも 10 個のヌクレオチド、少なくとも 11 個のヌクレオチド、少なくとも 12 個のヌクレオチド、少なくとも 13 個のヌクレオチド、少なくとも 14 個のヌクレオチド、少なくとも 15 個のヌクレオチド、少なくとも 16 個のヌクレオチド、少なくとも 17 個のヌクレオチド、少なくとも 18 個のヌクレオチド、少なくとも 19 個のヌクレオチド、または少なくとも 20 個のヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、miR-485 阻害剤は、ヌクレオチド配列の 3' 末端に少なくとも 1 個のヌクレオチド、少なくとも 2 個のヌクレオチド、少なくとも 3 個のヌクレオチド、少なくとも 4 個のヌクレオチド、少なくとも 5 個のヌクレオチド、少なくとも 6 個のヌクレオチド、少なくとも 7 個のヌクレオチド、少なくとも 8 個のヌクレオチド、少なくとも 9 個のヌクレオチド、少なくとも 10 個のヌクレオチド、少なくとも 11 個のヌクレオチド、少なくとも 12 個のヌクレオチド、少なくとも 13 個のヌクレオチド、少なくとも 14 個のヌクレオチド、少なくとも 15 個のヌクレオチド、少なくとも 16 個のヌクレオチド、少なくとも 17 個のヌクレオチド、少なくとも 18 個のヌクレオチド、少なくとも 19 個のヌクレオチド、または少なくとも 20 個のヌクレオチドを含む。

20

30

【0187】

いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、約 6～約 30 ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、7 ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、8 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485 阻害剤は、9 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、本開示の miR-485 阻害剤は、10 ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、miR-485 阻害剤は、11 ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、miR-485 阻害剤は、12 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、13 ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、14 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、15 ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、miR-485 阻害剤は、16 ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、本開示の miR-485 阻害剤は、17 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485 阻害剤は、18 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485 阻害剤は、19 ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、miR-485 阻害剤は、20 ヌ

40

50

クレオチドの長さである。さらなる態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、21ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、22ヌクレオチドの長さである。

【0188】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、配列番号2～30から選択される配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるヌクレオチド配列を含む。特定の態様では、miR-485阻害剤は、配列番号2～30からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含み、ヌクレオチド配列は1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを場合により含んでもよい。

10

【0189】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-UGUAUGA-3'（配列番号2）、5'-GUGUAUGA-3'（配列番号3）、5'-CGUGUAUGA-3'（配列番号4）、5'-CCGUGUAUGA-3'（配列番号5）、5'-GCCGUGUAUGA-3'（配列番号6）、5'-AGCCGUGUAUGA-3'（配列番号7）、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号8）、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号9）、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号10）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号11）、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号12）、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号13）、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号14）、または5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号15）を含む。

20

【0190】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-UGUAUGAC-3'（配列番号16）、5'-GUGUAUGAC-3'（配列番号17）、5'-CGUGUAUGAC-3'（配列番号18）、5'-CCGUGUAUGAC-3'（配列番号19）、5'-GCCGUGUAUGAC-3'（配列番号20）、5'-AGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号21）、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号22）、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号23）、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号24）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号25）、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号26）、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号27）、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号29）、またはAGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC（配列番号30）を有する。

30

【0191】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-TGTAATGA-3'（配列番号62）、5'-GTGTAATGA-3'（配列番号63）、5'-CGTGTATGA-3'（配列番号64）、5'-CCGTGTATGA-3'（配列番号65）、5'-GCCGTGTATGA-3'（配列番号66）、5'-AGCCGTGTATGA-3'（配列番号67）、5'-GAGCCGTGTATGA-3'（配列番号68）、5'-AGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号69）、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号70）、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号71）、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号72）、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号73）、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号74）、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号75）、5'-TGTAATGAC-3'（配列番号76）、5'-GTGTAAT

40

50

G A C - 3' (配列番号 77)、5' - C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 78)、5' - C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 79)、5' - G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 80)、5' - A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 81)、5' - G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 82)、5' - A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 83)、5' - G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 84)、5' - G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 85)、5' - A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 86)、5' - G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 87)、5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 88)、5' - G A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 89)、及び A G A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C (配列番号 90) からなる群から選択される配列を有する。

10

【0192】

いくつかの態様では、本明細書に開示される m i R N A 阻害剤 (すなわち、m i R - 485 阻害剤) は、5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 28) または 5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 88) と少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、または少なくとも約 95% 同一であるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 28) または 5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 88) と少なくとも 90% の類似性を有するヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、m i R N A 阻害剤は、1 個の置換または 2 個の置換を有するヌクレオチド配列 5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 28) または 5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 88) を含む。特定の態様では、m i R N A 阻害剤は、ヌクレオチド配列 5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 28) または 5' - A G A G G A G A G C C G T G T A T G A C - 3' (配列番号 88) を含む。特定の態様では、m i R N A 阻害剤は、ヌクレオチド配列 5' - A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 28) を含む。

20

【0193】

いくつかの態様では、本開示の m i R - 485 阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号 2 ~ 30 のいずれか 1 つと、N 末端に少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、または少なくとも 5 個のさらなる核酸、C 末端に少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、または少なくとも 5 個のさらなる核酸、またはその両方と、を含む。いくつかの態様では、本開示の m i R - 485 阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号 2 ~ 30 のいずれか 1 つと、N 末端に 1 個のさらなる核酸及び／または C 末端に 1 個のさらなる核酸と、を含む。いくつかの態様では、本開示の m i R - 485 阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号 2 ~ 30 のいずれか 1 つと、N 末端に 1 個または 2 個のさらなる核酸及び／または C 末端に 1 個または 2 個のさらなる核酸と、を含む。いくつかの態様では、本開示の m i R - 485 阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号 2 ~ 30 のいずれか 1 つと、N 末端に 1 ~ 3 個のさらなる核酸及び／または C 末端に 1 ~ 3 個のさらなる核酸と、を含む。いくつかの態様では、m i R - 485 阻害剤は、5' - G A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C - 3' (配列番号 29) を含む。

30

40

【0194】

いくつかの態様では、本開示の m i R - 485 阻害剤は、1 個の m i R - 485 結合部位を含む。さらなる態様では、本明細書に開示される m i R - 485 阻害剤は、少なくとも 2 個の m i R - 485 結合部位を含む。特定の態様では、m i R - 485 阻害剤は、3 個の m i R - 485 結合部位を含む。いくつかの態様では、m i R - 485 阻害剤は、4 個の m i R - 485 結合部位を含む。いくつかの態様では、m i R - 485 阻害剤は、5 個の m i R - 485 結合部位を含む。特定の態様では、m i R - 485 阻害剤は、6 個以

50

上のmiR-485結合部位を含む。いくつかの態様では、すべてのmiR-485結合部位は同じである。いくつかの態様では、すべてのmiR-485結合部位は異なる。いくつかの態様では、少なくとも1つのmiR-485結合部位が異なる。いくつかの態様では、すべてのmiR-485結合部位は、miR-485-3p結合部位である。他の態様では、すべてのmiR-485結合部位は、miR-485-5p結合部位である。さらなる態様では、miR-485阻害剤は、少なくとも1つのmiR-485-3p結合部位と、少なくとも1つのmiR-485-5p結合部位とを含む。

【0195】

III. a. 化学修飾されたポリヌクレオチド

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、少なくとも1つの化学修飾されたヌクレオシド及び／またはヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを含む。本開示のポリヌクレオチドが化学修飾されている場合、ポリヌクレオチドは、「修飾ポリヌクレオチド」と呼ぶことができる。

【0196】

「ヌクレオシド」は、糖分子（例えば、ペントースまたはリボース）またはその誘導体を、有機塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）またはその誘導体（本明細書において「核酸塩基」とも称される）とともに含有する化合物を指す。「ヌクレオチド」は、リン酸基を含むヌクレオシドを指す。修飾されたヌクレオチドは、1つ以上の修飾された非天然ヌクレオシドを含むように、任意の有用な方法により、例えば、化学的に、酵素的に、または組換えにより合成され得る。

【0197】

ポリヌクレオチドは、連結されたヌクレオシドの領域または複数の領域を含み得る。かかる領域は、可変的な骨格結合を有し得る。連結は、標準的なホスホジエステル結合であり得、その場合、ポリヌクレオチドはヌクレオチドの領域を含む。

【0198】

本明細書において開示される修飾されたポリヌクレオチドは、様々な異なる修飾を含み得る。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドは、1種、2種、またはそれ以上（任意選択的に異なる）のヌクレオシドまたはヌクレオチド修飾を含有する。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドは、1つ以上の所望の特性、例えば、未修飾ポリヌクレオチドと比較して改善された熱または化学安定性、低減された免疫原性、低減された分解、標的マイクロRNAに対する結合の増加、他のマイクロRNAまたは他の分子に対する低減された非特異的結合を示し得る。

【0199】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、化学修飾されている。本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチドに関して、「化学修飾」または必要に応じて「化学修飾された」という用語は、アデノシン（A）、グアノシン（G）、ウリジン（U）、チミジン（T）、またはシチジン（C）リボヌクレオシドまたはデオキシリボヌクレオシドに対する、限定されるものではないが、それらの核酸塩基、糖、骨格、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられるそれらの位置、パターン、パーセント、または集団のうちの1つ以上における修飾を指す。

【0200】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかの均一な化学修飾、または同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかにおける同じ出発修飾の漸減滴定（downward titration）によって生成される修飾の群、またはランダムな組み込みを伴うことを除いて同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかの測定されたパーセントの化学修飾を有し得る。さらなる態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、ポリヌクレオチド全体にわたって同じヌクレオシド種類のうちの2つ、3つ、または4つの均一な化学修飾を有し得る（例えば、すべてのウリジン及びすべてのシトシンなどが、同じように修飾される）。

【0201】

修飾されたヌクレオチドの塩基対形成は、標準的なアデニン-チミン、アデニン-ウラシル、またはグアニン-シトシン塩基対だけでなく、ヌクレオチド及び／または非標準的もしくは修飾塩基を含む修飾ヌクレオチドの間で形成される塩基対も包含し、ここで、水素結合ドナー及び水素結合アクセプターの配置が、非標準的塩基と標準的塩基との間、または2つの相補的な非標準的塩基構造間の水素結合を可能にする。かかる非標準的塩基対形成の1つの例は、修飾された核酸塩基イノシンとアデニン、シトシン、またはウラシルとの間の塩基対形成である。塩基／糖またはリンカーの任意の組み合わせが、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれ得る。

【0202】

当業者は、特に注記される場合を除き、本出願に記載されるポリヌクレオチド配列は、代表的なDNA配列において「T」を列挙するが、配列がRNAを表す場合、「T」は「U」と置換されることを理解するであろう。例えば、本開示のTDは、RNAとして、DNAとして、またはRNA及びDNAユニットの両方を含むハイブリッド分子として投与され得る。

【0203】

いくつかの態様では、ポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、8つ、10、11、12、13、14、15、16、17、18、18、20以上）の修飾された核酸塩基の組み合わせを含む。

【0204】

いくつかの態様では、ポリヌクレオチドにおける核酸塩基、糖、骨格結合、またはそれらの任意の組み合わせは、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%修飾される。

【0205】

(i) 塩基修飾

特定の態様では、化学修飾は、本開示（例えば、miR-485阻害剤）のポリヌクレオチド内の核酸塩基に存在する。いくつかの態様では、少なくとも1つの化学修飾ヌクレオチドは、修飾されたウリジン（例えば、シュドウリジン(ψ)、2-チオウリジン(s2U)、1-メチルシュドウリジン(m1ψ)、1-エチルシュドウリジン(e1ψ)、または5-メトキシウリジン(mo5U))、修飾されたシトシン（例えば、5-メチルシチジン(m5C))、修飾されたアデノシン（例えば、1-メチルアデノシン(m1A)、N6-メチルアデノシン(m6A)、または2-メチルアデニン(m2A))、修飾されたグアノシン（例えば、7-メチルグアノシン(m7G)または1-メチルグアノシン(m1G))、またはそれらの組み合わせである。

【0206】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、特定の修飾について均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、配列全体にわたって修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドは、同じ種類の塩基修飾、例えば、5-メチルシチジン(m5C)により均一に修飾され得、これは、ポリヌクレオチド配列におけるすべてのシトシン残基が、5-メチルシチジン(m5C)と置き換えられることを意味する。同様に、ポリヌクレオチドは、配列に存在する任意の種類のヌクレオチド残基について、修飾されたヌクレオチド、例えば、上記に記載されるもののいずれかとの置換により均一に修飾され得る。

【0207】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上）の修飾された核酸塩基の組み合わせを含む。いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）における1種類の核酸塩基の少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%が、修飾された核酸塩基である。

10

【0208】

(ii) 骨格修飾

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（すなわちmiR-485阻害剤）は、ヌクレオシド間に任意の有用な結合を含むことができる。本開示の組成物において有用な、骨格修飾を含むそのような結合としては、これらに限定されるものではないが、以下のものが挙げられる：3'-アルキレンホスホネート、3'-アミノホスホロアミダート、アルケン含有骨格、アミノアルキルホスホロアミダート、アミノアルキルホスホトリエステル、ボラノホスフェート、 $-CH_2-O-N(CH_3)-CH_2-$ 、 $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-CH_2-$ 、 $-CH_2-NH-CH_2-$ 、キラルホスホネート、キラルホスホロチオネート、ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレン（メチルイミノ）、メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格、モルホリノ結合、 $-N(CH_3)-CH_2-CH_2-$ 、ヘテロ原子ヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオシド、ホスフィナート、ホスホロアミダート、ホスホロジチオエート、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、ホスホロチオネート、ホスホトリエステル、PNA、シロキサン骨格、スルファメート骨格、スルフィド、スルホキシド、及びスルホン骨格、スルホネート及びスルホンアミド骨格、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびにチオノホスホロアミダート。

20

30

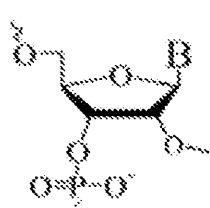
40

50

【化 7】



ホスホロチオエート



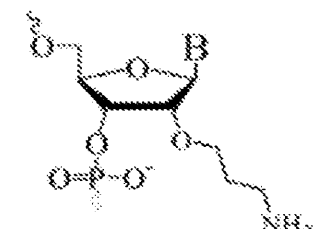
2'-O-メチル



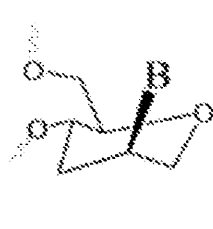
2'-MOE



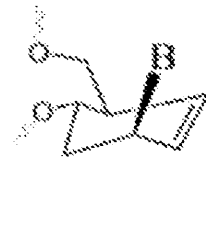
2'-フルオロ



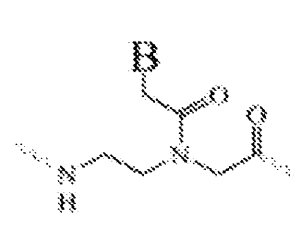
2'-AP



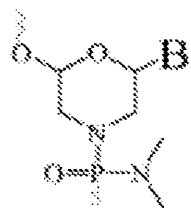
HNA



CoNA



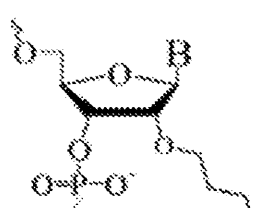
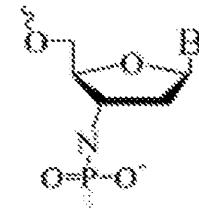
PNA



モルフォリノ



2'-F-ANA

2' - (3-ヒドロキシ)
プロピル3'-ホスホロ
アミデート

ボラノフォスフェート

10

20

30

【0209】

いくつかの態様では、上記に開示される骨格結合の存在は、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）の安定性及び分解に対する耐性を増加させる。

【0210】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）における少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%の骨格結合が修飾される（例えば、それらのすべてがホスホロチオエートである）。

【0211】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（すなわち、miR-485阻害剤）に含めることができる骨格修飾は、ホスホロジアミダイトモルホリノオリゴマー（PMO

40

50

）及び／またはホスホロチオエート（PS）修飾を含む。

【0212】

（iii）糖修飾

本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）に組み込まれ得る修飾されたヌクレオシド及びヌクレオチドは、核酸の糖に対して修飾され得る。いくつかの態様では、糖修飾は、miR-485核酸配列に対するmiR-485阻害剤の結合の親和性を増加させる。LNAまたは2'-置換糖などの親和性改善ヌクレオチド類似体をmiR-485阻害剤に組み込むことによって、miR-485阻害剤の長さ及び／またはサイズを小さくすることができる。

【0213】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（すなわち、miR-485阻害剤）における少なくとも約5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のヌクレオチドが糖修飾（例えば、LNA）を含有する。

【0214】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチドにおける1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、または22ヌクレオチドユニットが糖修飾される（例えば、LNA）。

【0215】

一般に、RNAは、酸素を有する五員環である糖基リボースを含む。非限定的な例示的修飾ヌクレオチドとしては、リボースにおける酸素の（例えば、S、Se、またはアルキレン、例えば、メチレンまたはエチレンとの）置換；二重結合の付加（例えば、リボースのシクロペンテニルまたはシクロヘキセニルとの置換）；リボースの環縮小（例えば、シクロブタンまたはオキセタンの四員環の形成）；リボースの環拡大（例えば、追加の炭素またはヘテロ原子を有し、6または七員環の形成、例えば、アンヒドロヘキシトール、アルトリトール、マンニトール、シクロヘキサニル、シクロヘキセニル、及びホスホロアミダート骨格も有するモルホリノ）；多環式形態（例えば、トリシクロ）；及び「アンロックド」形態、例えば、グリコール核酸（GNA）（例えば、R-GNAまたはS-GNA、ここで、リボースは、ホスホジエステル結合に結合されたグリコールユニットと置き換えられる）、トレオース核酸（TNA、ここで、リボースは、 α -L-トレオフラノシル-（3'→2'）と置き換えられる）、及びペプチド核酸（PNA、ここで、2-アミノエチル-グリシン結合が、リボース及びホスホジエステル骨格と置き換わる）が挙げられる。糖基は、リボースにおける対応する炭素と反対の立体化学配置を有する1つ以上の炭素も含有し得る。したがって、ポリヌクレオチド分子は、糖として、例えば、アラビノースを含有するヌクレオチドを含み得る。

【0216】

リボースの2'-ヒドロキシ基（OH）は、いくつかの異なる置換基で修飾または置換され得る。2'-位での例示的な置換としては、限定されるものではないが、H、ハロ、任意選択的に置換されたC₁~6アルキル；任意選択的に置換されたC₁~6アルコキシ；任意選択的に置換されたC₆~10アリールオキシ；任意選択的に置換されたC₃~8シクロアルキル；任意選択的に置換されたC₃~8シクロアルコキシ；任意選択的に置換されたC₆~10アリールオキシ；任意選択的に置換されたC₆~10アリール-C₁~6アルコキシ、任意選択的に置換されたC₁~12（ヘテロシクリル）オキシ；糖（例えば、リボース、ペントース、または本明細書に記載されるいずれか）；ポリエチレングリコール（PEG）、-O（CH₂CH₂O）_nCH₂CH₂OR（ここで、Rは、Hまたは任意選択的に置換されたアルキルであり、nは、0~20（例えば、0~4、0~8、0~

10

20

30

40

50

10、0～16、1～4、1～8、1～10、1～16、1～20、2～4、2～8、2～10、2～16、2～20、4～8、4～10、4～16、及び4～20)の整数である) ; 「ロックド」核酸(LNA)(2'-ヒドロキシが、C₁～C₆アルキレンまたはC₁～C₆ヘテロアルキレン架橋により、同じリボース糖の4'-炭素に連結されており、ここで、例示的な架橋としては、メチレン、プロピレン、エーテル、アミノ架橋、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アミノ、及びアミノ酸が挙げられる)が挙げられる。

【0217】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド(すなわち、miR-485阻害剤)に存在するヌクレオチド類似体は、例えば、2'-O-アルキル-RNAユニット、2'-OMe-RNAユニット、2'-O-アルキル-SNA、2'-アミノ-DNAユニット、2'-フルオロ-DNAユニット、LNAユニット、アラビノ核酸(ANA)ユニット、2'-フルオロ-ANAユニット、HNAユニット、INA(インターカレーティング核酸)ユニット、2'-MOEユニット、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、LNAは、例えば、オキシLNA(例えば、β-D-オキシ-LNAまたはα-L-オキシ-LNA)、アミノLNA(例えば、β-D-アミノ-LNAまたはα-L-アミノ-LNA)、チオLNA(例えば、β-D-チオ-LNAまたはα-L-チオ-LNA)、ENA(例えば、β-D-ENAまたはα-L-ENA)、またはそれらの任意の組み合わせである。さらなる態様では、本開示のポリヌクレオチド(すなわちmiR-485阻害剤)に含めることができるヌクレオチド類似体は、ロックド核酸(LNA)、アンロックド核酸(UNA)、アラビノ核酸(ABA)、架橋核酸(BNA)、及び/またはペプチド核酸(PNA)を含む。

【0218】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド(すなわち、miR-485阻害剤)は、修飾されたRNAヌクレオチド類似体(例えば、LNA)及びDNAユニットの両方を含み得る。いくつかの態様では、miRNA阻害剤はギャップマーである。例えば、米国特許第8,404,649号、同第8,580,756号、同第8,163,708号、同第9,034,837号(これらのすべてが参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照のこと。いくつかの態様では、miRNA阻害剤はマイクロマーである。米国特許公開第US20180201928号(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)を参照のこと。

【0219】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド(少なくとも、miR-485阻害剤)は、エンドヌクレアーゼ及びエキソヌクレアーゼによる速やかな分解を防止するための修飾を含むことができる。修飾としては、これらに限定されるものではないが、例えば、(a)末端修飾、例えば、5'末端修飾(リン酸化、脱リン酸化、共役化、反転結合など)、3'末端修飾(共役化、DNAヌクレオチド、反転結合など)、(b)塩基修飾、例えば、修飾塩基、安定化塩基、不安定化塩基、または広範なパートナーのレパートリーと塩基対合する塩基、または共役化塩基による置換、(c)糖修飾(例えば、2'位または4'位における)または糖の置換、ならびに(d)ホスホジエステル結合の修飾または置換を含む、ヌクレオシド間結合の修飾が挙げられる。

【0220】

IV. ベクター及び送達システム

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、例えば、SIRT1タンパク質及び/またはSIRT1遺伝子の異常な(例えば、低下した)レベルに関連したタウオパチーに罹患した対象に、当該技術分野では周知のあらゆる関連する送達システムを用いて投与することができる。特定の態様では、送達システムはベクターである。したがって、いくつかの態様では、本開示は、本開示のmiR-485阻害剤を含むベクターを提供する。

【0221】

いくつかの態様では、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの態様では、ウ

イルスベクターは、アデノウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルスベクターである。いくつかの態様では、ウイルスベクターは、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、またはこれらの任意の組み合わせの血清型を有するAAVである。いくつかの態様では、アデノウイルスベクターは、第3世代アデノウイルスベクターである。ADEASY（商標）は、アデノウイルスベクターコンストラクトを作製するうえで圧倒的に最も一般的な方法である。このシステムは、シャトル（または導入）ベクター及びアデノウイルスベクターの2つのタイプのプラスミドで構成される。目的の導入遺伝子をシャトルベクターにクローニングし、検証し、制限酵素PmeIで直鎖化する。次いで、このコンストラクトを、PADEASY（商標）を含むBJ5183E.coli細胞であるADEASIER-1細胞に形質転換する。PADEASY（商標）は、ウイルス産生に必要なアデノウイルス遺伝子を含んだ約33Kbのアデノウイルスプラスミドである。シャトルベクターとアデノウイルスプラスミドとは、アデノウイルスプラスミド内への導入遺伝子の相同組み換えを促進する一致した左右のホモロジーアームを有している。標準的なBJ5183に、スーパーコイルを形成したPADEASY（商標）とシャトルベクターを同時形質転換することもできるが、この方法は非組換えアデノウイルスプラスミドの高いバックグラウンドを生じる。次いで、組換えアデノウイルスプラスミドをサイズ及び適当な制限消化パターンについて検証し、導入遺伝子がアデノウイルスプラスミドに挿入され、他のパターンの組み換えが生じていないことを確認する。検証が済んだなら、組換えプラスミドをPacIで直鎖化してITRで挟まれた直鎖状dsDNAコンストラクトを作製する。293または911細胞に直鎖化したコンストラクトをトランスフェクトすると、ウイルスをおよそ7～10日後に回収することができる。この方法以外にも、本明細書に開示される方法を実施するために、本願が出願された時点で当該技術分野において周知のアデノウイルスベクターコンストラクトを作製するための方法を用いることができる。

10

20

30

40

50

【0222】

いくつかの態様では、ウイルスベクターは、レトロウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクター（例えば第3または第4世代のレンチウイルスベクター）である。レンチウイルスベクターは、1つの細胞株に3つの別々のプラスミド発現システムをトランスフェクトする一過性トランスフェクションシステムで通常は作製される。これらには、導入ベクタープラスミド（HIVプロウイルスの部分）、パッケージングプラスミドまたはコンストラクト、及び異なるウイルスの異種エンベロープ遺伝子（env）を含むプラスミドが含まれる。ベクターの3つのプラスミドコンポーネントをパッケージング細胞に入れた後、これをHIVシェル内に挿入する。ベクターのウイルス部分は挿入配列を含んでいるため、ウイルスは細胞系内で複製することはできない。現在の第3世代レンチウイルスベクターは、9つのHIV-1タンパク質のうちの3つのみ（Gag、Pol、Rev）をコードしており、これらは組換えによる複製能を有するウイルスの生成を防止するために別々のプラスミドから発現させられる。第4世代レンチウイルスベクターでは、レトロウイルスゲノムはさらに減らされている（例えば、TAKARA（登録商標）LENTI-X（商標）第4世代パッケージングシステムを参照）。

【0223】

当該技術分野では周知の任意のAAVベクターを本明細書に開示される方法で 사용할ことができる。AAVベクターは既知のベクターを含んでよく、それらのバリエーション、フラグメント、または融合体を含んでよい。いくつかの態様では、AAVベクターは、AAVタイプ1（AAV1）、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAAV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ウシAAV、エビAAV、ヘビAAV、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【0224】

いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B

B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAVV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAVV、ヘビAVV、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択されたAAVベクターから誘導される。

【0225】

いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAVV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAVV、ヘビAVV、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される少なくとも2つのAAVベクターから誘導されるキメラベクターである。

10

【0226】

特定の態様では、AAVベクターは、当該技術分野では周知の少なくとも2つの異なるAAVベクターの領域を含む。

【0227】

いくつかの態様では、AAVベクターは、第1のAAV（例えば、AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAVV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAVV、ヘビAVV、またはこれらの任意の組み合わせ）に由来する末端逆位配列と、第2のAAV（例えば、AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAVV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAVV、ヘビAVV、またはこれらの任意の組み合わせ）に由来する第2の末端逆位配列と、を含む。

20

【0228】

いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAVV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAVV、ヘビAVV、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択されたAAVベクターの部分を含む。いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV2を含む。

30

【0229】

いくつかの態様では、AAVベクターは、スプライスアクセプター部位を含む。いくつかの態様では、AAVベクターは、プロモーターを含む。当該技術分野では周知の任意のプロモーターを本開示のAAVベクターで 사용할 ことができる。いくつかの実施態様では、プロモーターはRNA Pol IIIプロモーターである。いくつかの態様では、RNA Pol IIIプロモーターは、U6プロモーター、H1プロモーター、7SKプロモーター、5Sプロモーター、アデノウイルス2 (Ad2) VA Iプロモーター、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、プロモーターは、サイトメガロウイルス前初期遺伝子 (CMV) プロモーター、EF1aプロモーター、Sv40プロモーター、PGK1プロモーター、Ubcプロモーター、ヒトβアクチンプロモーター、CAGプロモーター、TREプロモーター、UASプロモーター、Ac5プロモーター、ポリヘドリンプロモーター、CaMKIIaプロモーター、GAL1プロモーター、GAL10プロモーター、TEFプロモーター、GDSプロモーター、ADH1プロモーター、CaMV35Sプロモーター、またはUbiプロモーターである。特定の態様では、プロモーターは、U6プロモーターを含む。

40

【0230】

50

いくつかの態様では、AAVベクターは、構成的に活性なプロモーター（構成的プロモーター）を含む。いくつかの態様では、構成的プロモーターは、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HPRT）、アデノシンデアミナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、βアクチンプロモーター、サイトメガロウイルス（CMV）、サルウイルス（例えば、SV40）、パピローマウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、ラウス肉腫ウイルス、レトロウイルス末端反復配列（LTR）、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）、及び単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼプロモーターからなる群から選択される。

【0231】

いくつかの態様では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。いくつかの態様では、誘導性プロモーターは、組織特異的プロモーターである。特定の態様では、組織特異的プロモーターは、神経細胞、グリア細胞、または神経細胞及びグリア細胞の両方において、AAVベクターのコーディング領域の転写を誘導する。

【0232】

いくつかの態様では、AAVベクターは、1つ以上のエンハンサーを含む。いくつかの態様では、1つ以上のエンハンサーはAAV内に単独で、または本明細書に開示されるプロモーターとともに存在する。いくつかの態様では、AAVベクターは、3'UTRのポリ(A)テール配列を含む。いくつかの態様では、3'UTRのポリ(A)テール配列は、bGHポリ(A)、アクチンポリ(A)、ヘモグロビンポリ(A)、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、3'UTRのポリ(A)テール配列はbGHポリ(A)を含む。

【0233】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、送達剤とともに投与される。使用することができる送達剤の非限定的な例としては、リポイド、リポソーム、リポプレックス、脂質ナノ粒子、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、ミセル、またはコンジュゲートが挙げられる。

【0234】

したがって、いくつかの態様では、本開示は、本開示のmiRNA阻害剤（すなわちmiR-485阻害剤）と、送達剤と、を含む組成物も提供する。いくつかの態様では、送達剤は、下式：

[WP] - L1 - [CC] - L2 - [AM] (式I)

または

[WP] - L1 - [AM] - L2 - [CC] (式II)

(式中、

WPは、水溶性バイオポリマー部分であり、

CCは、正に帯電したキャリア部分であり、

AMは、アジュバント部分であり、

L1及びL2は、独立して、任意選択のリンカーである）を有するカチオン性キャリアユニットを含み、

カチオン性キャリアユニットは、約1:1のイオン比で核酸と混合される場合にミセルを形成する。

【0235】

いくつかの態様では、本開示のmiRNA阻害剤（すなわち、miR-485阻害剤）を含む組成物は、イオン結合を介してカチオン性キャリアユニットと相互作用する。

【0236】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ(α-ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「POZ」)、ポリ(N-ア

10

20

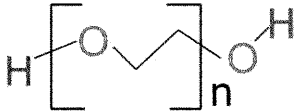
30

40

50

クリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール(「PEG」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール)(「PPG」)を含む。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、下式:

【化8】



(式III),

10

(式中、nは、1~1000である)を有する。

【0237】

いくつかの態様では、nは、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、または少なくとも約141である。いくつかの態様では、nは、約80~約90、約90~約100、約100~約110、約110~約120、約120~約130、約140~約150、または約150~約160である。

20

【0238】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7、少なくとも8つ、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも26、少なくとも27、少なくとも28、少なくとも29、少なくとも30、少なくとも31、少なくとも32、少なくとも33、少なくとも34、少なくとも35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、少なくとも40、少なくとも41、少なくとも42、少なくとも43、少なくとも44、少なくとも45、少なくとも46、少なくとも47、少なくとも48、少なくとも49、または少なくとも50の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約30~約50の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リシン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約40個のリシンモノマーを含む。

30

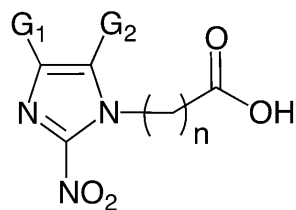
40

【0239】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、免疫反応、炎症反応、及び/または組織微小環境を調節することができる。いくつかの態様では、アジュバント部分は、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式:

50

【化 9】



, (式IV),

10

(式中、G₁及びG₂のそれぞれは、H、芳香環、もしくは1～10アルキルであるか、またはG₁とG₂はともに芳香環を形成し、nは1～10である)を有する。

【0240】

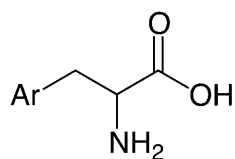
いくつかの態様では、アジュバント部分は、ニトロイミダゾールを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、アミノ酸を含む。

20

【0241】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式：

【化10】

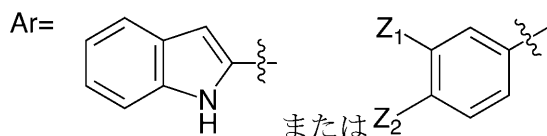


(式V),

30

(式中、Arは、

【化11】



または

40

であり、

Z₁及びZ₂のそれぞれは、HまたはOHである)を有する。

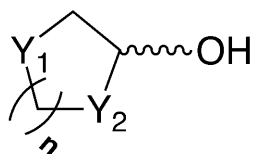
【0242】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ビタミンを含む。いくつかの態様では、ビ

50

タミンは、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む。いくつかの態様では、ビタミンは、下式：

【化 1 2】



(式VI) ,

10

(式中、Y1及びY2のそれぞれは、C、N、O、またはSであり、nは1または2である)を有する。

【0243】

いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンA、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB6、ビタミンB7、ビタミンB9、ビタミンB12、ビタミンC、ビタミンD2、ビタミンD3、ビタミンE、ビタミンM、ビタミンH、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンB3である。

20

【0244】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約2個、少なくとも約3個、少なくとも約4個、少なくとも約5個、少なくとも約6個、少なくとも約7個、少なくとも約8個、少なくとも約9個、少なくとも約10個、少なくとも約11個、少なくとも約12個、少なくとも約13個、少なくとも約14個、少なくとも約15個、少なくとも約16個、少なくとも約17個、少なくとも約18個、少なくとも約19個、または少なくとも約20個のビタミンB3を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約10個のビタミンB3を含む。

30

【0245】

いくつかの態様では、組成物は、約120個～約130個のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、約30個～約40個のリシンを有するポリリシンを含むカチオン性キャリア部分と、約5個～約10個のビタミンB3を有するアジュバント部分と、を含む。

【0246】

いくつかの態様では、組成物は、(i) 約100個～約200個のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、(ii) アミン基を有する約30個～約40個のリシン(例えば、約32個のリシン)と、(iii) それぞれがチオール基を有する約15個～20個のリシン(例えば、それぞれがチオール基を有する約16個のリシン)と、(iv) ビタミンB3に融合された約30個～40個のリシン(例えば、それぞれがビタミンB3に融合された約32個のリシン)と、を含む。いくつかの態様では、組成物は、水溶性ポリマーに結合された標的化部分、例えばLAT1標的化リガンド、例えばフェニルアラニンをさらに含む。いくつかの態様では、組成物中のチオール基は、ジスルフィド結合を形成する。

40

【0247】

いくつかの態様では、組成物は、(1) (i) 約100個～約200個のPEGユニットと、(ii) アミン基を有する約30個～約40個のリシン(例えば、約32個のリシン)と、(iii) それぞれがチオール基を有する約15個～20個のリシン(例えば、それぞれがチオール基を有する約16個のリシン)と、(iv) ビタミンB3に融合され

50

た約30個～40個のリシン（例えば、それぞれがビタミンB3に融合された約32個のリシン）と、を有するミセルと、（2）miR485阻害剤（例えば、配列番号30）と、を含み、miR485阻害剤はミセル内に封入される。いくつかの態様では、組成物は、PEGユニットに結合された標的化部分、例えばLAT1標的化リガンド、例えばフェニルアラニンをさらに含む。いくつかの態様では、ミセル中のチオール基は、ジスルフィド結合を形成する。

【0248】

本開示は、本開示のmiRNA阻害剤（すなわちmiR-485阻害剤、例えば配列番号30）を含むミセルであって、miRNA阻害剤と送達剤とが互いに結合した、ミセルも提供する。

【0249】

いくつかの態様では、結合は、共有結合、非共有結合、またはイオン結合である。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷は、溶液中で本明細書に開示されるmiR-485阻害剤と混合される際にミセルを形成するのに十分であり、溶液中のカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷とmiR-485阻害剤（または阻害剤を含むベクター）の負電荷の全体的イオン比は、約1:1である。

【0250】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、酵素分解から本開示のmiRNA阻害剤（すなわち、miR-485阻害剤）を保護することができる（本明細書に参照によりその全体を援用する、2020年12月30日に公開されたPCT公開第WO2020/261227号を参照）。

【0251】

V. 医薬組成物

いくつかの態様では、本開示は、対象に投与するのに適した本明細書に開示されるmiR-485阻害剤（例えば、miR-485阻害剤を含むポリヌクレオチドまたはベクター）を含む医薬組成物も提供する。医薬組成物は、一般的に、本明細書に記載されるmiR-485阻害剤（例えば、ポリヌクレオチドまたはベクター）と、薬学的に許容される賦形剤またはキャリアとを、対象への投与に適した形態で含む。薬学的に許容される賦形剤またはキャリアは、投与される特定の組成物、及び組成物を投与するために使用される特定の方法により部分的に決定される。

【0252】

したがって、本開示のmiR-485阻害剤を含む医薬組成物の多種多様な適当な製剤が存在する（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990)を参照）。医薬組成物は一般に、無菌状態で、米国食品医薬品局の適正製造基準（GMP）規制のすべてに完全に準拠したものとして製剤化される。

【0253】

VI. キット

本開示は、本開示のmiRNA阻害剤（例えば、本明細書に開示されるポリヌクレオチド、ベクター、または医薬組成物）と、必要に応じて使用説明書、例えば本明細書に開示される方法に従った使用説明書と、を含むキットまたは製品も提供する。いくつかの態様では、キットまたは製品は、miR-485阻害剤（例えば、本開示のベクター、例えばAAVベクター、ポリヌクレオチド、または医薬組成物）を1つ以上の容器に含む。いくつかの態様では、キットまたは製品は、miR-485阻害剤（例えば、本開示のベクター、例えばAAVベクター、ポリヌクレオチド、または医薬組成物）と、パンフレットと、を含む。本明細書に開示されるmiR-485阻害剤（例えば、本開示のベクター、ポリヌクレオチド、及び医薬組成物、またはこれらの組み合わせ）は、当該技術分野では周知の確立されたキット形式の1つに容易に組み込むことができる点は当業者には容易に認識されよう。

10

20

30

40

50

【0254】

以下の実施例は、例示のために示すものであって、限定のために示すものではない。

【実施例】

【0255】

実施例1：miR-485阻害剤の調製

(a) アルキン修飾チロシンの合成：本開示のミセルをBBBのLAT1輸送体に誘導するためのカチオン性キャリアユニットの組織特異的標的化部分(TM、図9を参照)の合成のための中間体として、アルキン修飾されたチロシンを調製した。

【0256】

アセトニトリル(4.0ml)中、N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-チロシンメチルエステル(Boc-Tyr-OMe)(0.5g, 1.69mmol)及びK₂CO₃(1.5当量, 2.54mmol)の混合物を、臭化プロパルギル(1.2当量, 2.03mmol)に滴下した。反応混合物を60℃で一晩加熱した。反応後、反応混合物を、水：酢酸エチル(EA)を使用して抽出した。次いで、有機層を、ブライン溶液を使用して洗浄した。粗製物を、フラッシュカラム(ヘキサン中、10%EA)により精製した。次に、得られた生成物を、1,4-ジオキサン(1.0ml)及び6.0MのHCl(1.0ml)中に溶解した。反応混合物を100℃で一晩加熱した。次に、ジオキサンを除去し、EAにより抽出した。水性NaOH(0.5M)溶液をpH値が7になるまで混合物に加えた。反応物質をエバポレーターで濃縮し、12,000rpmで0℃で遠心分離した。沈殿物を脱イオン水で洗浄して凍結乾燥した。

【0257】

(b) ポリ(エチレングリコール)-b-ポリ(L-リシン)(PEG-PLL)の合成：この合成ステップにより、本開示のカチオン性キャリアユニットの水溶性バイオポリマー(WP)及びカチオン性キャリア(CC)を調製した(図9を参照)。

【0258】

ポリ(エチレングリコール)-b-ポリ(L-リシン)を、モノメトキシPEG(MeO-PEG)を高分子開始剤として用いてLys(TFA)-NCAの開環重合により合成した。要約すると、MeO-PEG(600mg, 0.12mmol)及びLys(TFA)-NCA(2574mg, 9.6mmol)を、1Mのチオ尿素を含有するDMF及びDMF(またはNMP)中に別々に溶解した。Lys(TFA)-NCA溶液を、マイクロシリンジによりMeO-PEG溶液に滴下し、反応混合物を37℃で4日間攪拌した。反応ボトルをアルゴン及び真空によりパージした。すべての反応をアルゴン雰囲気下で行った。反応後、混合物を過剰量のジエチルエーテル中で沈殿させた。沈殿物をメタノールに再溶解し、冷ジエチルエーテル中で再び沈殿させた。次いで、沈殿物を濾過し、減圧下で乾燥後に白色粉末を得た。PEG-PLL(TFA)のTFA基の脱保護を行うため、次のステップを行った。

【0259】

MeO-PEG-PLL(TFA)(500mg)をメタノール(60mL)に溶解し、1NのNaOH(6mL)をポリマー溶液に攪拌下で滴下した。混合物を攪拌しながら37℃で1日維持した。反応混合物を10mMのHEPESに対して4回及び蒸留水に対して透析した。凍結乾燥後にPEG-PLLの白色粉末を得た。

【0260】

(b) アジド-ポリ(エチレングリコール)-b-ポリ(L-リシン)(N₃-PEG-PLL)の合成：この合成ステップにより、本開示のカチオン性キャリアユニットの水溶性バイオポリマー(WP)及びカチオン性キャリア(CC)を調製した(図9を参照)。

【0261】

アジド-ポリ(エチレングリコール)-b-ポリ(L-リシン)を、アジド-PEG(N₃-PEG)を用いてLys(TFA)-NCAの開環重合により合成した。要約すると、N₃-PEG(300mg, 0.06mmol)及びLys(TFA)-NCA(1

287 mg, 4.8 mmol) を、1 M のチオ尿素を含んだ DMF 及び DMF (または NMP) に別々に溶解した。Lys (TFA) - NCA 溶液を、マイクロシリンジにより N₃-PEG 溶液に滴下し、反応混合物を 37 °C で 4 日間撹拌した。反応ボトルをアルゴン及び真空によりパージした。すべての反応をアルゴン雰囲気下で行った。反応後、混合物を過剰量のジエチルエーテル中で沈殿させた。沈殿物をメタノールに再溶解し、冷ジエチルエーテル中で再び沈殿させた。次いで、沈殿物を濾過し、減圧下で乾燥後に白色粉末を得た。PEG-PLL (TFA) の TFA 基の脱保護を行うため、次のステップを行った。

【0262】

N₃-PEG-PLL (500 mg) をメタノール (60 mL) に溶解し、1 N の NaOH (6 mL) を撹拌しながらポリマー溶液に滴下した。混合物を撹拌しながら 37 °C で 1 日維持した。反応混合物を 10 mM の HEPES に対して 4 回及び蒸留水に対して透析した。凍結乾燥後に N₃-PEG-PLL の白色粉末を得た。

10

【0263】

(c) (メトキシまたは) アジド-ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L-リシン / ニコチンアミド / メルカプトプロパンアミド) (N₃-PEG-PLL (Nic / SH)) の合成: このステップでは、組織特異的アジュバント部分 (AM、図 9 を参照) を本開示のカチオン性キャリアユニットの WP-CC コンポーネントに結合させた。カチオン性キャリアユニットに使用した組織特異的アジュバント部分 (AM) は、ニコチンアミド (ビタミン B3) とした。このステップにより、図 9 に示されるカチオン性キャリアユニットの WP-CC-AM コンポーネントが得られる。

20

【0264】

アジド-ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L-リシン / ニコチンアミド / メルカプトプロパンアミド) (N₃-PEG-PLL (Nic / SH)) を、EDC / NHS の存在下で N₃-PEG-PLL 及びニコチン酸の化学修飾により合成した。N₃-PEG-PLL (372 mg, 25.8 µmol) 及びニコチン酸 (556.7 mg, PEG-PLL の NH₂ に対して 1.02 当量) を、脱イオン水及びメタノール (1:1) の混合物に別々に溶解した。EDC · HCl (556.7 mg, N₃-PEG-PLL の NH₂ に対して 1.5 当量) をニコチン酸溶液に加え、NHS (334.2 mg, PEG-PLL の NH₂ に対して 1.5 当量) を混合物に段階的に加えた。

30

【0265】

反応混合物を N₃-PEG-PLL 溶液に加えた。反応混合物を撹拌しながら 37 °C で 16 時間維持した。16 時間後、3, 3'-ジチオジプロピオン酸 (36.8 mg, 0.1 当量) をメタノールに溶解し、EDC · HCl (40.3 mg, 0.15 当量)、及び NHS (24.2 mg, 0.15 当量) を脱イオン水にそれぞれ溶解した。次いで、NHS 及び EDC · HCl を、3, 3'-ジチオジプロピオン酸溶液に順次加えた。粗製の N₃-PEG-PLL (Nic) 溶液を加えた後、混合液を 37 °C で 4 時間撹拌した。

【0266】

精製を行うため、混合物をメタノールに対して 2 時間透析し、DL-ジチオトレイトール (DTT, 40.6 mg, 0.15 当量) を加えた後、30 分間活性化した。

40

【0267】

DTT を除去するため、混合物を、メタノール、脱イオン水中 50 % のメタノール、脱イオン水に対して順次透析した。

【0268】

d) フェニルアラニン-ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L-リシン / ニコチンアミド / メルカプトプロパンアミド) (Phe-PEG-PLL (Nic / SH)) の合成: このステップでは、組織特異的標的化部分 (TM) を上記のステップで合成した WP-CC-AM コンポーネントに結合させた。TM コンポーネント (フェニルアラニン) は、ステップ (a) で調製した中間体とステップ (c) の生成物との反応によって調製した。

50

【0269】

血管内の脳の内皮組織を標的化するため、LAT1を標的とするアミノ酸としてフェニルアラニンを、銅触媒の存在下での N_3 -PEG-PLL(Nic/SH)とアルキン修飾されたチロシンとの間のクリック反応により導入した。要約すると、 N_3 -PEG-PLL(Nic/SH) (130mg, 6.5 μ mol) 及びアルキン修飾されたフェニルアラニン (5.7mg, 4.0当量) を脱イオン水 (または50mMのリン酸ナトリウム緩衝液) に溶解した。次いで、 $CuSO_4 \cdot H_2O$ (0.4mg, 25mol%) 及びTris (3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル) アミン (THPTA, 3.4mg, 1.2当量) を脱イオン水に溶解し、 N_3 -PEG-PLL(Nic/SH) 溶液を加えた。次いで、アスコルビン酸ナトリウム (3.2mg, 2.5当量) を混合液に加えた。反応混合物を、室温で16時間攪拌しながら維持した。反応後、混合物を透析膜 (MWCO=7,000) に移し、脱イオン水に対して1日間透析した。最終生成物を凍結乾燥後に得た。

10

【0270】

(E) ポリイオン複合体 (PIC) ミセル製剤—上記に記載したようにして本開示のカチオン性キャリアユニットを調製した後、ミセルを作製した。本実施例に記載されるミセルは、アンチセンスオリゴヌクレオチドペイロードと組み合わされたカチオン性キャリアユニットからなるものである。

【0271】

MeO-PEG-PLL(Nic) またはPhe-PEG-PLL(Nic) とmiRNAを混合することによりナノサイズのPICミセルを調製した。PEG-PLL(Nic) を、0.5mg/mLの濃度でHEPES緩衝液 (10mM) に溶解した。次いで、RNAse非含有水中のmiRNA溶液 (22.5 μ M) を、miRNA阻害剤 (配列番号2~30) (例えば、AGAGAGGAGAGGCCGUGUAUGAC; 配列番号30) とポリマーとの比が2:1 (v/v) となるようにポリマー溶液と混合した。

20

【0272】

ポリマーと抗miRNAとの混合比は、ミセル形成条件、すなわち、ポリマー (本開示のキャリア) 中のアミンと抗miRNA (ペイロード) 中のリン酸との比を最適化することにより決定した。ポリマー (キャリア) と抗miRNA (ペイロード) との混合物を、マルチボルテックスにより3000rpmで90秒間はげしく混合し、室温で30分間維持して、ミセルを安定化した。

30

【0273】

使用に先立ち、ミセル (10 μ Mの抗miRNA濃度) を4°Cで保存した。MeO-ミセルまたはPhe-ミセルを同じ方法を用いて調製し、ミセル調製時に両方のポリマーを混合することにより異なる量のPhe (25%~75%) を含有するミセルも調製した。

【0274】

実施例2：切断型タウの発現

切断型タウタンパク質は、重い神経毒性を引き起こし得ることが知られている (Ozcelik S., et al., Molecular Psychiatry, 21, -1798 (2016))。本明細書に開示されるmiR-485阻害剤の効果を試験するため、10月齢の5XFADマウスを使用した。要約すると、マウスに、miR-485阻害剤 (AGAGAGGAGAGGCCGUGUAUGAC (配列番号30)) またはコントロールオリゴヌクレオチド (CTTCCCTGAAGGTTCTCTCTT (配列番号61)) を、脳室内 (ICV) 注射により2回 (週1回) 投与した。次いで、動物をmiR-485阻害剤の最終投与後、8日目に殺し、切断型タウタンパク質の発現レベルをマウスで測定した。図1は、miR-485阻害剤が切断型タウタンパク質の発現を有意に (例えば、約10倍) 減少させ得ることを示している。切断型タウタンパク質の発現の減少が脳の異なる領域、すなわち、海馬 (図7A及び図7Bを参照)、前頭皮質 (図7C及び図7Dを参照)、及び大脳皮質 (図7E及び図7Fを参照) で認められた。少なくともインビトロでは、切断型タウの効果は用量依存的であるようであった (図8を参照)。こ

40

50

これらのデータは、miR-485阻害剤がタウオパチー、及び切断型タウタンパク質によって引き起こされる神経毒性を治療し得ることを示唆するものである。

【0275】

実施例2：miR-485阻害剤の安全性プロファイルの分析

miR-485阻害剤のインビボ投与が何らかの有害作用をもたらさるかどうかを評価するため、単一用量毒性試験を行った。要約すると、miR-485阻害剤を、以下の用量、すなわち、(i) 0 mg/kg (G1)、(ii) 3.75 mg/kg (G2)、(iii) 7.5 mg/kg (G3)、及び(iv) 15 mg/kg (G4)のうちの1つで雄及び雌のラットに投与した。次いで、体重、死亡率、臨床的徴候、及び病理学的異常を移動後の異なる時点の動物で観察した。

10

【0276】

図3A及び図3Bに示されるように、miR-485阻害剤の投与（試験したすべての用量で）は雄及び雌のラットの両方で体重になんらの異常な影響も及ぼさないようであった。同様に、死亡率及び病理学的異常は処理動物のいずれでも観察されなかった（図4A、4B、6A、及び6Bを参照）。可能性のある臨床的に関連した副作用（例えば、NOA、鬱血（尾）、及び浮腫（顔、前肢、または後肢））に関して、そのような影響はすべての処理動物で投与1日後までに消失した（図5A及び図5Bを参照）。

【0277】

上記の結果は、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、タウオパチーの治療において治療効果を有するのみでなく、インビボで投与した場合にも安全であることを示している。

20

【0278】

実施例3：静脈内投与後のmiR-485阻害剤の治療効果の分析

一次タウオパチーに対する本明細書に開示されるmiRNA阻害剤の治療効果をさらに評価するため、3xTGマウス（一次タウオパチーを有する）にPBSまたはmiR-485阻害剤を静脈内投与する（例えば、尾静脈注射）。miR-485阻害剤を、異なる用量及び／または投与間隔で動物に投与する。3xTGマウスに対するmiR-485阻害剤の治療効果は、運動機能（例えば、Y字型迷路及び受動的回避試験）及び脳組織の異なる領域における切断型タウタンパク質の発現を観察することにより評価する。

【0279】

特許請求の範囲を解釈するうえで、「発明の概要」及び「要約」のセクションではなく、「発明の詳細な説明」のセクションを用いることが意図されている点は認識されるべきである。発明の概要及び要約セクションは、本発明者（複数可）により意図される1つ以上であるが、すべてではない本開示の例示的態様を示し得、したがって、本開示及び添付の特許請求の範囲を如何様にも限定することを意図しない。

30

【0280】

本開示は、特定の機能及びそれらの関係の実施を示す機能的構成単位を用いて上記された。これらの機能的要素の境界は、説明の便宜上、本明細書では任意に定義されている。特定の機能及びそれらの関係性が適切に実施されている限り、代替的な境界を定義することもできる。

40

【0281】

具体的な態様の上記の具体的な説明は本開示の一般的な性質を余すところなく示しているため、他者は、当業者の技能の範囲内の知識を適用することで、不要な実験を行うことなく、本開示の一般的な概念から逸脱せずに、かかる具体的な態様を容易に改変し、及び／またはさまざまな用途に適合させることができる。したがって、そのような適合及び改変は、本明細書に示される教示及び助言に基づき、開示される態様の均等物の意味及び範囲内に包含されるものとする。本明細書における語句または用語は、説明を目的としたものであって、限定を目的とするものではなく、本明細書における語句または用語は本明細書の教示及び助言を考慮することで当業者によって理解されるはずである。

【0282】

50

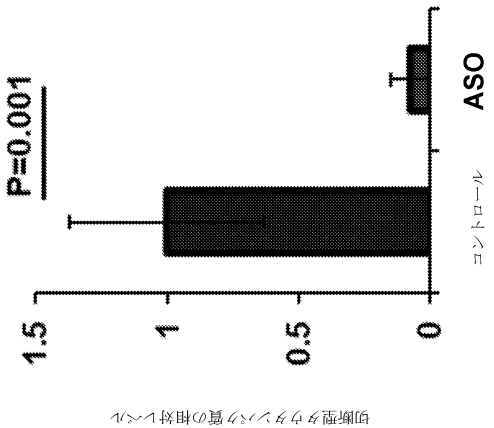
本開示の幅及び範囲は、上記に記載した例示的な態様のいずれによっても限定されるべきでなく、下記の請求項及びそれらの均等物のみにしたがって定義されるべきものである。

【 0 2 8 3 】

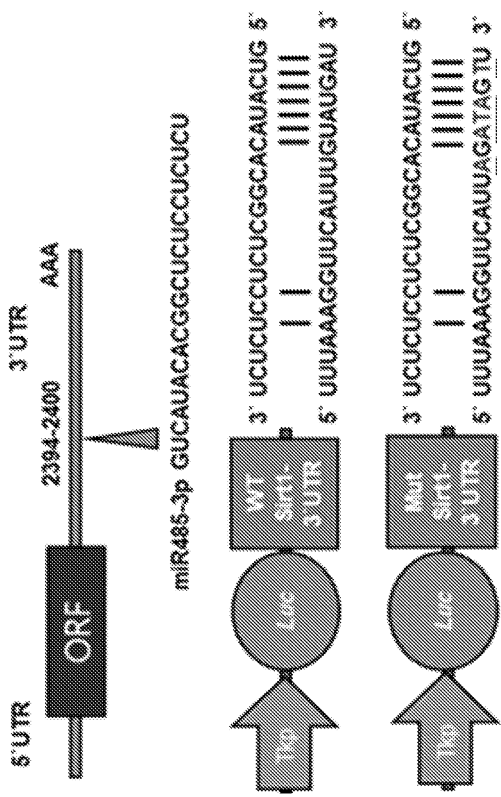
本出願全体を通じて引用され得る全ての引用参考文献（参考文献、特許、特許出願、及びウェブサイトを含む）の内容の全体を、あらゆる目的で、参照によって本明細書に明示的に援用し、また、それらに引用される文献も同様に援用する。

【 図 面 】

【 図 1 】



【 図 2 】



10

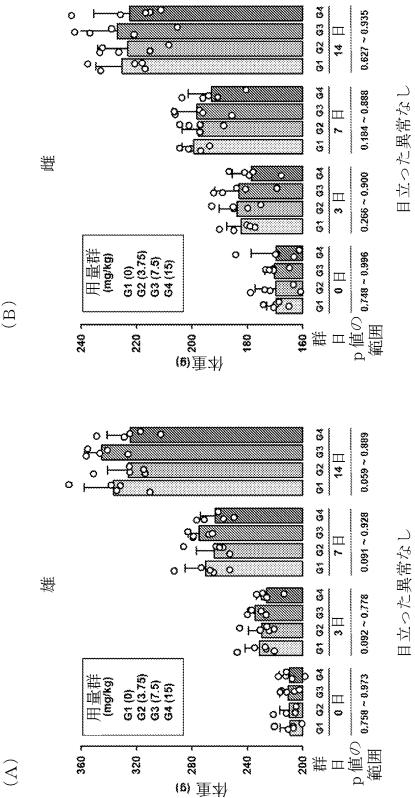
20

30

40

50

【図 3】



【図 4】

(A)

性別	群 / 用量 (mg/kg)	動物数	投与後日数														死亡率																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
雄	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

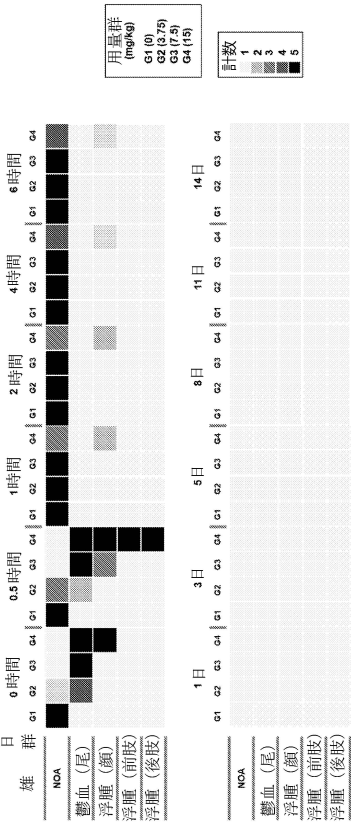
10

(B)

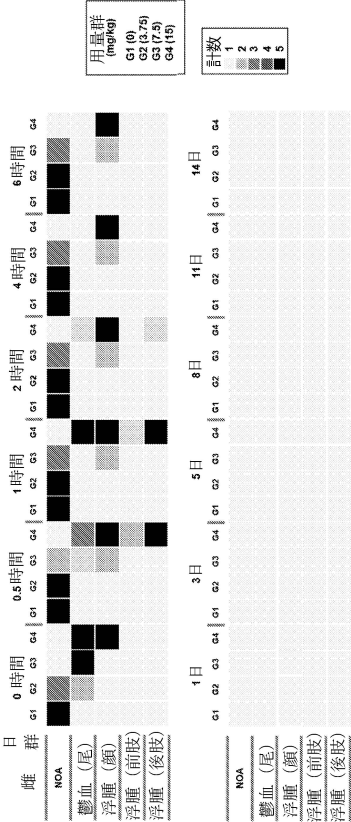
性別	群 / 用量 (mg/kg)	動物数	投与後日数														死亡率	
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
雌	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G2 3.75	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G3 7.5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G4 15	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

20

【図 5 A】



【図 5 B】

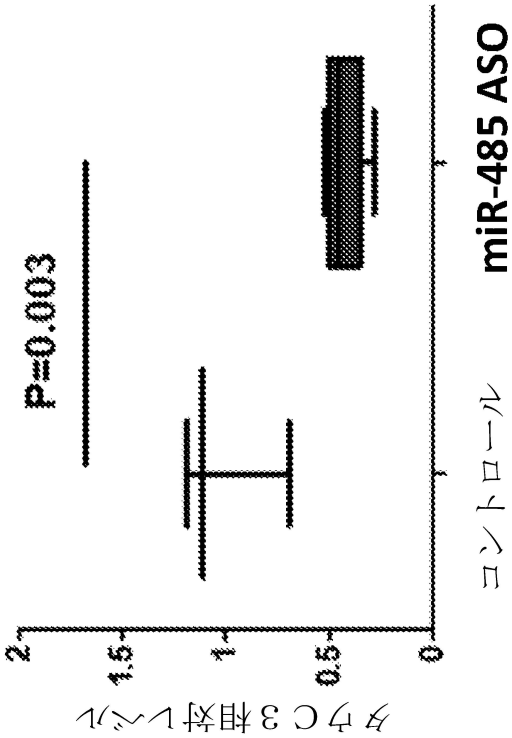


30

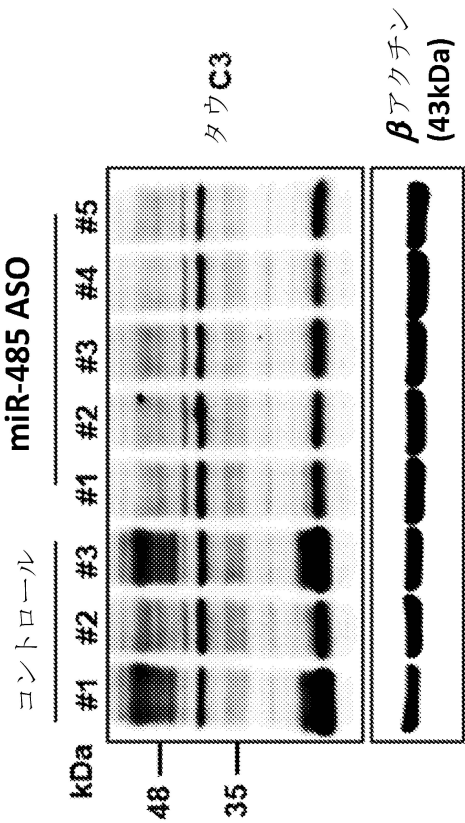
40

50

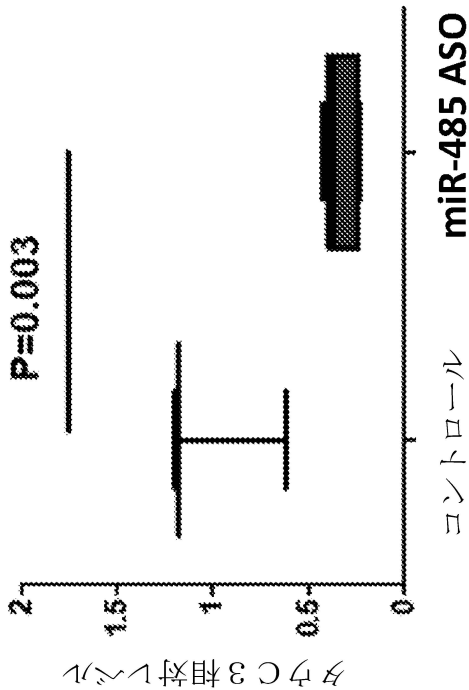
【図 7 D】



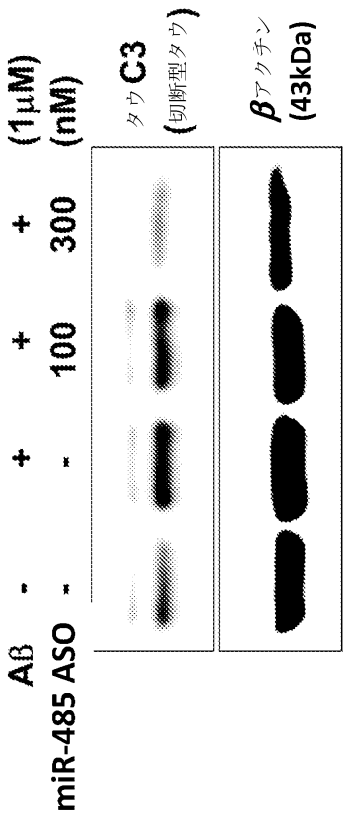
【図 7 E】



【図 7 F】



【図 8】



10

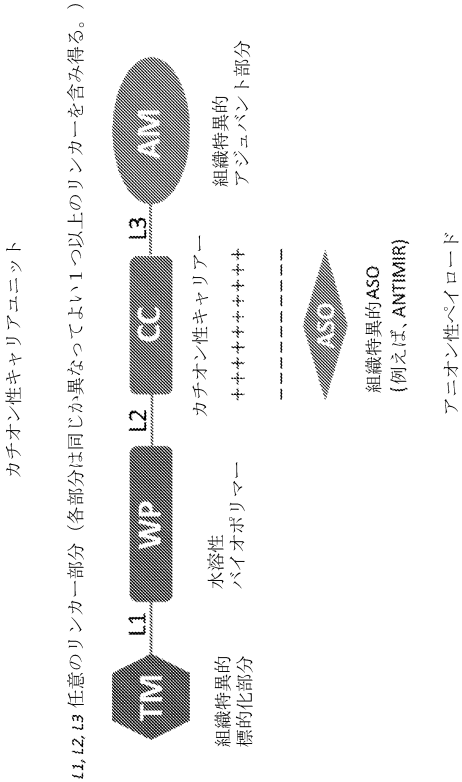
20

30

40

50

【図 9】



10

20

【配列表】

2023513190000001.app

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/050976

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 48/00(2006.01); A61K 31/7088(2006.01); A61K 9/107(2006.01); A61K 31/4164(2006.01); A61K 31/455(2006.01); A61K 47/10(2006.01); A61K 47/18(2006.01); A61P 25/28(2006.01); A61P 25/16(2006.01); C12N 15/113(2010.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 48/00(2006.01); A01K 67/027(2006.01); A61K 9/00(2006.01); A61P 25/28(2006.01); C12N 15/113(2010.01); C12N 15/85(2006.01); C12Q 1/68(2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: miR-485, miRNA inhibitor, neurodegenerative disease, tauopathy, tau protein, SIRT1, CD36, PGC-1α		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018-139819 A1 (BIORCHESTRA LTD. et al.) 02 August 2018 (2018-08-02) abstract; and claims 1-8	1
Y		3
A		2
Y	YALCIN, GIZEM, 'Sirtuins and Neurodegeneration', Journal of Neurology & Neuromedicine, 2018, Vol. 3, No. 1, pages 13-20 page 15	3
A	US 2017-0002348 A1 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 05 January 2017 (2017-01-05) abstract; and claims 1-47	1-3
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 May 2021		Date of mailing of the international search report 12 May 2021
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Jung, Da Won Telephone No. +82-42-481-5373

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/050976

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

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

1. ☒ Claims Nos.: **14-80**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 14-80 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy (PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv)).
2. ☒ Claims Nos.: **10,18,26,29,31,33,35,37,38,40,42,46,47,50,51,56-58,60,62,67,70,75-77,79,80**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 10, 18, 26, 29, 31, 33, 35, 37, 38, 40, 42, 46, 47, 50, 51, 56-58, 60, 62, 67, 70, 75-77, 79 and 80 refer to one of claims which are not drafted in accordance with PCT Rule 6.4(a).
3. ☒ Claims Nos.: **4-9,11-13,17,19-25,27,28,30,32,34,36,39,41,43-45,48,49,52-55,59,61,63-66,68,69,71-74,78**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/050976

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MIN, SANG-WON et al., 'SIRT1 deacetylates tau and reduces pathogenic tau spread in a mouse model of tauopathy', The Journal of Neuroscience, 11 April 2018 (Publication date), Vol. 38, No. 15, pages 3680-3688 abstract; and pages 3680-3688	1-3
A	WEINBERG, REBECCA B. et al., 'Evidence for a neuroprotective microRNA pathway in amnesic mild cognitive impairment', Frontiers in Neuroscience, 5 November 2015 (Publication date), Vol. 9, Article No. 430, internal pages 1-12 abstract; and internal pages 1-12	1-3
PX	WO 2020-254990 A1 (BIORCHESTRA CO., LTD.) 24 December 2020 (2020-12-24) abstract; and claims 1-79	1-3
PX	US 2020-0392489 A1 (BIORCHESTRA CO., LTD.) 17 December 2020 (2020-12-17) abstract; and claims 1, 3-8, 10, 14-24	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/IB2021/050976

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
WO	2018-139819	A1	02 August 2018	KR	10-2019-0051510	A	15 May 2019
				KR	10-2020-0043322	A	27 April 2020
				KR	10-2074407	B1	06 February 2020
				KR	10-2105016	B1	28 April 2020
				WO	2018-139759	A1	02 August 2018
US	2017-0002348	A1	05 January 2017	AU	2014-287063	A1	28 January 2016
				AU	2014-287063	A1	15 January 2015
				CA	2917569	A1	15 January 2015
				CN	105431153	A	23 March 2016
				EP	3019175	A2	18 May 2016
				EP	3019175	A4	08 March 2017
				EP	3019175	B1	04 December 2019
				JP	2016-523980	A	12 August 2016
				US	9951330	B2	24 April 2018
				WO	2015-006705	A2	15 January 2015
				WO	2015-006705	A3	29 October 2015
WO	2020-254990	A1	24 December 2020	None			
US	2020-0392489	A1	17 December 2020	US	10844380	B1	24 November 2020

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	9/14 (2006.01)	A 6 1 K	9/14	
A 6 1 K	9/51 (2006.01)	A 6 1 K	9/51	
A 6 1 K	9/127(2006.01)	A 6 1 K	9/127	
A 6 1 K	47/44 (2017.01)	A 6 1 K	47/44	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	35/761(2015.01)	A 6 1 K	35/761	
A 6 1 K	47/50 (2017.01)	A 6 1 K	47/50	
A 6 1 K	47/60 (2017.01)	A 6 1 K	47/60	
A 6 1 K	47/58 (2017.01)	A 6 1 K	47/58	
A 6 1 K	47/59 (2017.01)	A 6 1 K	47/59	
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	47/62	
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
C 1 2 N	15/113(2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A
C 1 2 N	15/88 (2006.01)	C 1 2 N	15/88	Z
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z
C 1 2 N	15/861(2006.01)	C 1 2 N	15/861	Z
C 1 2 N	15/864(2006.01)	C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N	15/867(2006.01)	C 1 2 N	15/867	Z
C 1 2 N	5/0797(2010.01)	C 1 2 N	5/0797	

(32)優先日 令和2年7月1日(2020.7.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 リュ, ジン-ヒョブ

大韓民国 3 4 9 6 4 テジョン, ジュン-グ, ケリョン-口, 9 2 2

(72)発明者 コ, ハン ソク

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソング, クアハク-口, 1 2 5, クリップ, ベンチャー-ードン, 2 エフ-2 1 6

(72)発明者 キム, デ フン

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソング, クアハク-口, 1 2 5, クリップ, ベンチャー-ードン, 2 エフ-2 1 6

(72)発明者 ミン, ヒュン ス

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソング, クアハク-口, 1 2 5, クリップ, ベンチャー-ードン, 2 エフ-2 1 6

F ターム (参考) 4B065 AA91X AA91Y AA93X AA93Y AB01 AC12 AC14 AC20 BA02 BA05
CA24 CA444C076 AA17 AA19 AA31 AA65 AA95 CC01 CC41 DD33 EE16 EE17
EE23 EE26 EE41 EE51 EE59 FF63

4C084 AA13 AA17 NA05 NA14 ZA01 ZA15 ZC54

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA05 MA22 MA24 MA38 MA41 NA05
NA14 ZA01 ZA15 ZC54

F ターム (参考)

4

4C087 AA01 AA02 BC83 MA02 NA05 NA14 ZA01 ZA15