(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0031852
(43) 공개일자 2023년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *A61K 31/7105* (2006.01)
A61K 47/10 (2017.01) *A61K 47/18* (2017.01)
A61K 47/22 (2017.01) *A61K 47/34* (2017.01)
A61K 9/107 (2006.01) *A61P 25/14* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/00 (2013.01)
A61K 31/7105 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7046418
(22) 출원일자(국제) 2021년07월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년12월30일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2021/055890
(87) 국제공개번호 WO 2022/003608
국제공개일자 2022년01월06일
(30) 우선권주장
63/047,090 2020년07월01일 미국(US)

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

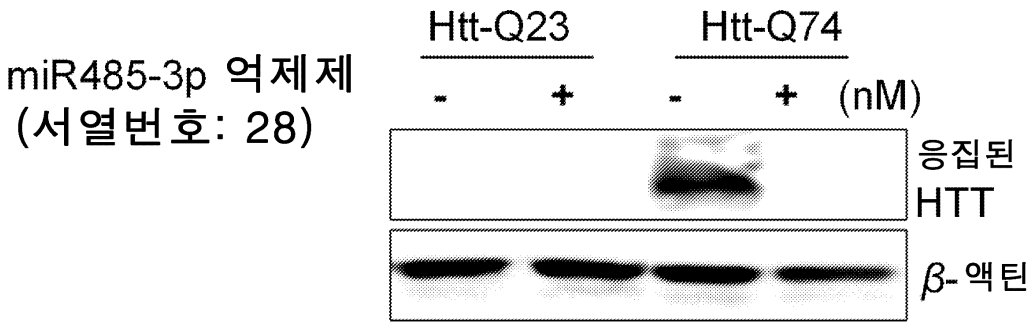
전체 청구항 수 : 총 69 항

(54) 발명의 명칭 **헌팅턴병을 위한 MIRNA-485 억제제**

(57) 요 약

본 개시내용은 헌팅턴병의 증상 또는 병태를 치료하기 위한 miRNA 억제제의 용도를 포함한다. 본 개시내용에 유용한 miRNA 억제제는 miR-485 발현 및/또는 활성을 억제시킬 수 있고, 이는 차례로 헌팅턴병에 관련된 단백질 또는 유전자 발현의 수준을 조절할 수 있다.

대 표 도 - 도2b



(52) CPC특허분류
A61K 47/10 (2013.01)
A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 47/34 (2013.01)
A61K 9/1075 (2013.01)
A61P 25/14 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
(72) 발명자
김대훈
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호
민현수
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호
임유나
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동 2층 216호

명 세 서

청구범위

청구항 1

헌팅턴병 치료를 필요로 하는 대상체에서 헌팅턴병을 치료하는 방법으로서, miR-485를 억제시키는 화합물(miRNA 억제제)을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 대상체가 투여에 앞서 이노성, 우울증, 불수의 운동, 협응 불량, 새로운 정보 학습 또는 결정 장애, 제어되지 않는 움직임, 감정적 문제, 및 사고 능력 (인지)의 상실을 포함하는 헌팅턴병의 하나 이상의 특징을 나타내는, 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 대상체가, 투여 후에, 헌팅턴병의 하나 이상의 특징의 개선을 나타내는, 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 개선이 투여에 앞서 특징과 비교하여 적어도 약 1.5 배, 적어도 약 2 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 5 배, 적어도 약 6 배, 적어도 약 7 배, 적어도 약 8 배, 적어도 약 9 배, 또는 적어도 약 10 배인, 방법.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헌팅턴병이 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 감소된 수준과 연관되는, 방법.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 자가포식을 유도하고/거나 염증을 치료 또는 예방하는, 방법.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헌팅턴병이 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 감소된 수준과 연관되는, 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 PGC-1α 단백질 및/또는 PGC-1α 유전자의 감소된 수준과 연관된 질환 또는 병태를 갖는, 방법.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 신경발생을 유도하는, 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 신경발생 유도하기가 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 증식, 분화, 이동, 및/또는 생존을 포함하는, 방법.

청구항 11

제 9 항 또는 제 10 항에 있어서, 신경발생 유도하기가 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 수를 포함하는, 방법.

청구항 12

제 9 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신경발생 유도하기가 증가된 축삭돌기, 수상돌기, 및/또는 시냅스 발달을 포함하는, 방법.

청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 식세포작용을 유도하는, 방법.

청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 miR485-3p를 억제시키는, 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 miR485-3p가 5'-gucauacacggcucuccucucu-3' (서열번호: 1)를 포함하는, 방법.

청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2)를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고 상기 miRNA 억제제가 길이가 약 7 내지 약 30개 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 17

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 SIRT1 유전자의 전사 및/또는 SIRT1 단백질의 발현을 증가시키는, 방법.

청구항 18

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

청구항 19

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

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2), 5'-GUGUAUGA-3' (서열번호: 3), 5'-CGUGUAUGA-3' (서열번호: 4), 5'-CCGUGUAUGA-3' (서열번호: 5), 5'-GCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 6), 5'-AGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 7), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 8), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 9), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 10), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 11), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 12), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 13), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 14), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 15); 5'-UGUAUGAC-3' (서열번호: 16), 5'-GUGUAUGAC-3' (서열번호: 17), 5'-CGUGUAUGAC-3' (서열번호: 18), 5'-CCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 19), 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 20), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 21), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 22), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 23), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 24), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 25), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 26), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 27), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28), 및 5'-

GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는, 방법.

청구항 21

제 1 항 내지 제 15 항 또는 제 17 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 62), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 63), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 64), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 65), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 66), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 67), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 68), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 69), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 70), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 71), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 72), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 73), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 74), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 75); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 76), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 77), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 78), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 79), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 80), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 81), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 82), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 83), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 84), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 85), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 86), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 87), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88), 및 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 89)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는, 방법.

청구항 22

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제의 서열이 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성인, 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)에 적어도 90% 유사성을 갖는 서열을 갖는, 방법.

청구항 24

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 상기 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)를 포함하는, 방법.

청구항 25

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)를 포함하는, 방법.

청구항 26

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 상기 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28)를 포함하는, 방법.

청구항 27

제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 28

제 27 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드가 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 및/또는 펩티드 핵산 (PNA)인, 방법.

청구항 29

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 백본 변형을 포함하는, 방법.

청구항 30

제 29 항에 있어서, 상기 백본 변형이 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형인, 방법.

청구항 31

제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 전달 제제로 전달되는, 방법.

청구항 32

제 31 항에 있어서, 상기 전달 제제가 미셀, 엑소좀, 지질 나노입자, 세포외 소포, 또는 합성 소포인, 방법.

청구항 33

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 바이러스성 벡터에 의해 전달되는, 방법.

청구항 34

제 33 항에 있어서, 상기 바이러스성 벡터가 AAV, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 또는 렌티바이러스인, 방법.

청구항 35

제 34 항에 있어서, 상기 바이러스성 벡터가 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV인, 방법.

청구항 36

제 1 항 내지 제 35 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 전달 제제와 전달되는, 방법.

청구항 37

제 36 항에 있어서, 상기 전달 제제가 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 또는 접합체를 포함하는, 방법.

청구항 38

제 36 항 또는 제 37 항에 있어서, 상기 전달 제제가

[WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

또는

[WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[식중

WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

CC는 양으로 하전된 담체 모이어티이고;

AM은 보조제 모이어티이고;

L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커임]

을 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하고,

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

청구항 39

제 38 항에 있어서, 상기 miRNA 억제제가 이온성 결합을 통해 상기 양이온성 담체 단위체와 상호작용하는,

방법.

청구항 40

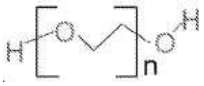
제 38 항 또는 제 39 항에 있어서, 상기 수용성 생체고분자가 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 41

제 38 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 생체고분자가 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함하는, 방법.

청구항 42

제 38 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 생체고분자가



(화학식 I)

을 포함하되, 식중 n은 1-1000인, 방법.

청구항 43

제 42 항에 있어서, 상기 n이 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141인, 방법.

청구항 44

제 42 항에 있어서, 상기 n이 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 또는 약 150 내지 약 160인, 방법.

청구항 45

제 38 항 내지 제 44 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 생체고분자가 선형, 분지형, 또는 수지상인, 방법.

청구항 46

제 38 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 47

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

청구항 48

제 47 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 약 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 49

제 47 항 또는 제 48 항에 있어서, 상기 염기성 아미노산이 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 50

제 38 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 모이어티가 약 40개 라이신 단량체를 포함하는, 방법.

청구항 51

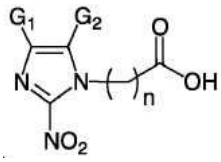
제 38 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있는, 방법.

청구항 52

제 38 항 내지 제 51 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 53

제 52 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가



(화학식 II)

을 포함하되, 식중 G_1 및 G_2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G_1 및 G_2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10인, 방법.

청구항 54

제 52 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 니트로이미다졸을 포함하는, 방법.

청구항 55

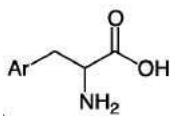
제 52 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 56

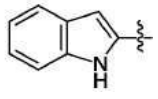
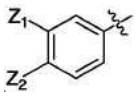
제 38 항 내지 제 52 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 아미노산을 포함하는, 방법.

청구항 57

제 56 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가



(화학식 III)

을 포함하되, 식중 Ar은 Ar=  또는  이고,

식중 Z_1 및 Z_2의 각각은 H 또는 OH인, 방법.

청구항 58

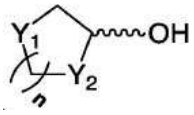
제 38 항 내지 제 51 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 비타민을 포함하는, 방법.

청구항 59

제 58 항에 있어서, 상기 비타민이 환식 고리 또는 환식 헤테로 원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함하는, 방법.

청구항 60

제 58 항 또는 제 59 항에 있어서, 상기 비타민이



(화학식 VI)

을 포함하되, 식중 Y_1 및 Y_2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2인, 방법.

청구항 61

제 58 항 내지 제 60 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 62

제 58 항 내지 제 61 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 B3인, 방법.

청구항 63

제 58 항 내지 제 62 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3 단위체를 포함하는, 방법.

청구항 64

제 63 항에 있어서, 상기 보조제 모이어티가 약 10개 비타민 B3 단위체를 포함하는, 방법.

청구항 65

제 58 항 내지 제 64 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전달 제제가 약 120 내지 약 130 PEG 단위체를 가진 약수용성 생체고분자 모이어티, 약 30 내지 약 40개 라이신을 가진 폴리-라이신을 포함하는 양이온성 담체 모이어티, 및 약 5 내지 약 10개 비타민 B3 단위체를 가진 보조제 모이어티를 포함하는, 방법.

청구항 66

제 58 항 내지 제 65 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전달 제제가 상기 miRNA 억제제와 연관되고, 이에 의해 미셀을 형성하는, 방법.

청구항 67

제 66 항에 있어서, 상기 회합이 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합인, 방법.

청구항 68

제 66 항 또는 제 67 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 단위체의 양전하 및 상기 miRNA 억제제의 음전하의 상기 이온성 비가 약 1: 1이도록 상기 미셀에서 상기 양이온성 담체 단위체 및 상기 miRNA 억제제가 용액에서 혼합되는, 방법.

청구항 69

제 66 항 내지 제 68 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 담체 단위체가 상기 miRNA 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은, 이 전체가 참조로 본원에 편입되는, 2020년 7월 1일 출원된 미국 가출원 번호 63/047,090의 우선권을 주장한다.

[0003] EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록 참조

[0004] 본원과 제출된 ASCII 텍스트 파일 (명칭: 4366_031PC01_Seqlisting_ST25..txt; 크기: 77,432 바이트; 및 창작일: 2021년 6월 29일)에서 전자적으로 제출된 서열의 내용은 이 전체가 참조로 본원에 편입된다.

[0005] 개시내용의 분야

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

배 경 기 술

[0007] 개시내용의 배경

[0008] 헌팅턴병은 유전성, 진행성, 신경퇴행성 장애이다. 본 장애는 헌팅틴 유전자에서 반복하는 CAG 삼중항 시리즈의 확장에 의해 야기되어, 비정상적으로 긴 폴리글루타민 서열을 가진 헌팅틴 단백질을 초래한다. 헌팅턴병은 보통 30대 또는 40대 사람에 나타난다. 드문 경우에서, 헌팅턴병은 유아기나 청소년기에 나타날 수 있다. 증상은 팔, 다리, 머리, 얼굴 및 상체의 비자발적 경련 또는 떨림 (무도병); 기억력, 집중력, 판단력, 및 계획 및 조직 능력에서의 감퇴; 기분 변화, 특히 우울증, 불안, 및 평소답지 않은 분노 및 이노성을 포함한다. 헌팅턴병이 있는 개인은 증상이 시작한 후 약 15 내지 20년 산다.

[0009] 헌팅턴병에 대한 치료법은 없으며 질환과 연관된 뇌 세포의 퇴행을 늦추거나 멈출 방법이 없다. 그러므로 치료는 증상 관리하기에 집중된다. 정신요법, 언어 요법, 물리 요법, 및 작업 요법은 또한 증상을 관리하기 위해 사용될 수 있다. 하지만, 상이한 치료 방법에 대한 개별 반응은 예측할 수 없으며 효과적인 치료 레지멘을 찾는 것은 어렵고 시간이 많이 걸린다. 따라서, 헌팅턴병에 대하여 효과적인 치료가 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0010] 개시내용의 간단한 개요

[0011] 본 개시내용은 miR-485를 억제시키는 화합물 (miRNA 억제제)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 헌팅턴병 치료를 필요로 하는 대상체에서 치료 방법을 제공한다.

[0012] 일부 양태에서, 대상체는 투여에 앞서 이노성, 우울증, 불수의 운동, 협응 불량, 새로운 정보 학습 또는 결정 장애, 제어되지 않는 움직임, 감정적 문제, 및 사고 능력 (인지)의 상실을 포함하는 헌팅턴병의 하나 이상의 특징을 나타낸다. 일부 양태에서, 대상체는, 투여 후, 헌팅턴병의 하나 이상의 특징에서의 개선을 나타낸다. 일부 양태에서, 개선은 투여에 앞서 특징과 비교하여 적어도 약 1.5 배, 적어도 약 2 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 5 배, 적어도 약 6 배, 적어도 약 7 배, 적어도 약 8 배, 적어도 약 9 배, 또는 적어도 약 10 배이다.

[0013] 일부 양태에서, 헌팅턴병은 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 감소된 수준과 연관된다. 일부 양태에서, 헌팅턴병은 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 감소된 수준과 연관된다. 일부 양태에서, 대상체는 PGC-1α 단백질 및/또는 PGC-1α 유전자의 감소된 수준과 연관된 질환 또는 병태를 갖는다.

[0014] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 자가포식을 유도하고/거나 염증을 치료 또는 예방한다.

[0015] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 신경발생을 유도한다. 일부 양태에서, 신경발생 유도하기는 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 증식, 분화, 이동, 및/또는 생존을 포함한다. 일부 양태에서, 신경발생 유도하기는 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 수를 포함한다. 일부 양태에서, 신경발생 유도하기는 증가된 축삭돌기, 수상돌기, 및/또는 시냅스 발달을 포함한다.

[0016] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 식세포작용을 유도한다.

[0017] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 miR485-3p를 억제시킨다. 일부 양태에서, miR485-3p는 5'-gucauacacggcucuccucucu-3' (서열번호: 1)를 포함한다.

[0018] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2)를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고 여기서 miRNA 억제제는 길이가 약 7 내지 약 30개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0019] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 SIRT1 유전자의 전사 및/또는 SIRT1 단백질의 발현을 증가시킨다.

[0020] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0021] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0022] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2), 5'-GUGUAUGA-3' (서열번호: 3), 5'-CGUGUAUGA-3' (서열번호: 4), 5'-CCGUGUAUGA-3' (서열번호: 5), 5'-GCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 6), 5'-AGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 7), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 8), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 9), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 10), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 11), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 12), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 13), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 14), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 15); 5'-UGUAUGAC-3' (서열번호: 16), 5'-GUGUAUGAC-3' (서열번호: 17), 5'-CGUGUAUGAC-3' (서열번호: 18), 5'-CCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 19), 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 20), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 21), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 22), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 23), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 24), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 25), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 26), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 27), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28), 및 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0023] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 62), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 63), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 64), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 65), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 66), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 67), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 68), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 69), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 70), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 71), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 72), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 73), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 74), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 75); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 76), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 77), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 78), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 79), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 80), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 81), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호:

82), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 83), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 84), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 85), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 86), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 87), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88), 및 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 89)로 이루어지는 군으로부터 선택된 서열을 갖는다.

[0024] 일부 양태에서, miRNA 억제제의 서열은 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성이다.

[0025] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)에 적어도 90% 유사성을 갖는 서열을 갖는다.

[0026] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)를 포함한다.

[0027] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)를 포함한다.

[0028] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28)를 포함한다.

[0029] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다.

[0030] 일부 양태에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드는 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 및/또는 펩티드 핵산 (PNA)이다.

[0031] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 백본 변형을 포함한다.

[0032] 일부 양태에서, 백본 변형은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형이다.

[0033] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 전달 제제로 전달된다.

[0034] 일부 양태에서, 전달 제제는 미셀, 엑소좀, 지질 나노입자, 세포외 소포, 또는 합성 소포이다.

[0035] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 바이러스성 벡터에 의해 전달된다.

[0036] 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 또는 렌티바이러스이다.

[0037] 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV이다.

[0038] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 전달 제제와 전달된다.

[0039] 일부 양태에서, 전달 제제는 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 또는 접합체를 포함한다.

[0040] 일부 양태에서, 전달 제제는

[0041] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

[0042] 또는

[0043] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[0044] [식중

[0045] WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

[0046] CC는 양으로 하전된 담체 모이어티이고;

[0047] AM은 보조제 모이어티이고;

[0048] L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커임]

[0049] 를 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하고, 여기서 약 1:1의 이온성 비로 핵산과 혼합된 경우, 양이온성 담

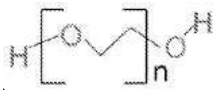
체 단위체는 미셀을 형성한다.

[0050] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 이온성 결합을 통해 양이온성 담체 단위체와 상호작용한다.

[0051] 일부 양태에서, 수용성 생체고분자는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0052] 일부 양태에서, 수용성 생체고분자는 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함한다.

[0053] 일부 양태에서, 수용성 생체고분자는

[0054]  (화학식 I)

[0055] 을 포함하되, 식중 n은 1-1000이다.

[0056] 일부 양태에서, n은 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141이다.

[0057] 일부 양태에서, n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 또는 약 150 내지 약 160이다.

[0058] 일부 양태에서, 수용성 생체고분자는 선형, 분지형, 또는 수지상이다.

[0059] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다.

[0060] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 마침내 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25, 적어도 26, 적어도 27, 적어도 28, 적어도 29, 적어도 30, 적어도 31, 적어도 32, 적어도 33, 적어도 34, 적어도 35, 적어도 36, 적어도 37, 적어도 38, 적어도 39, 적어도 40, 적어도 41, 적어도 42, 적어도 43, 적어도 44, 적어도 45, 적어도 46, 적어도 47, 적어도 48, 적어도 49, 또는 적어도 50개 염기성 아미노산을 포함한다.

[0061] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함한다.

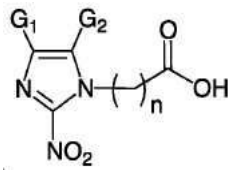
[0062] 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0063] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 약 40개 라이신 단량체를 포함한다.

[0064] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다.

[0065] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0066] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

[0067]  (화학식 II)

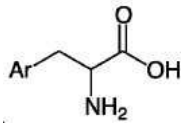
[0068] 을 포함하되, 식중 G_1 및 G_2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G_1 및 G_2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10이다.

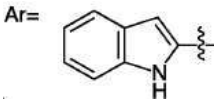
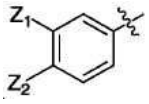
[0069] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 니트로이미다졸을 포함한다.

[0070] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0071] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 아미노산을 포함한다.

[0072] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

[0073]  (화학식 III)

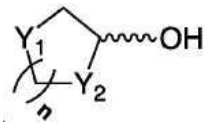
[0074] 을 포함하되, 식중 Ar은  또는  이고,

[0075] 식중 Z_1 및 Z_2의 각각은 H 또는 OH이다.

[0076] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 비타민을 포함한다.

[0077] 일부 양태에서, 비타민은 환식 고리 또는 환식 헤테로 원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함한다.

[0078] 일부 양태에서, 비타민은

[0079]  (화학식 VI)

[0080] 을 포함하되, 식중 Y_1 및 Y_2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2이다.

[0081] 일부 양태에서, 비타민은 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0082] 일부 양태에서, 비타민은 비타민 B3이다.

[0083] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3 단위체를 포함한다.

[0084] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 약 10개 비타민 B3 단위체를 포함한다.

[0085] 일부 양태에서, 전달 제제는 약 120 내지 약 130개 PEG 단위체를 가진 약 수용성 생체고분자 모이어티, 약 30 내지 약 40개 라이신을 가진 폴리-라이신을 포함하는 양이온성 담체 모이어티, 및 약 5 내지 약 10개 비타민 B3 단위체를 가진 보조제 모이어티를 포함한다.

[0086] 일부 양태에서, 전달 제제는 miRNA 억제제와 회합되고, 이에 의해 미셀을 형성한다.

[0087] 일부 양태에서, 회합은 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합이다.

[0088] 일부 양태에서, 미셀에서 양이온성 담체 단위체 및 miRNA 억제제는 양이온성 담체 단위체의 양전하 및 miRNA 억제제의 음전하의 이온성 비가 약 1: 1이도록 용액에서 혼합된다.

[0089] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 miRNA 억제제를 효소적 분해로부터 보호할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0090] 도면의 간단한 설명

도 1은 본 개시내용의 담체 단위체의 예시적 구성을 도시한다. 제시된 예는 양이온성 담체 모이어티를 포함하고, 이는 음이온성 페이로드, *예를 들면,* 핵산 예컨대 유전자, *예를 들면,* miRNA (안티미르)를 표적화하

는 안티센스 올리고뉴클레오티드와 정전기적으로 상호작용할 수 있다. 일부 양태에서, AM은 WP와 CC 사이 위치될 수 있다. CC 및 AM 구성요소는 단순성을 위하여 선형 배열로 묘사된다. 하지만, 본원에 기재된 대로, 일부 양태에서, CC 및 AM은 스캐폴드 방식으로 배열될 수 있다.

도 2a는 miR485-3p 억제제 있거나 없이 처리된 NSC 34 세포에서 응집된 Htt 분석에 대하여 개략도를 도시한다. 도 2b는 miR-485-3p 억제제로 처리된 Q74-Htt-형질감염된 NSC-34 세포에서 불용성, 응집된 헌팅틴 (Htt)의 수준에서의 감소를 도시하는 웨스턴 블랏 분석을 제공한다. NSC-34 세포는 어느 한쪽 GFP-태그된 야생형 (Q23) 또는 돌연변이체 (Q74) Htt로 형질감염되었다.

도 3a는 miR-485 억제제로 처리된 Q74-Htt-형질감염된 HEK293T 세포에서 불용성, 응집된 헌팅틴 (Htt)의 수준에서의 감소를 도시하는 웨스턴 블랏 분석을 제공한다. 도 3b는 도 3a의 웨스턴 블랏에 근거하여 상대 응집된 htt 발현 수준을 정량화하는 그래프를 도시한다.

도 4a는 Q-23-Htt-형질감염된 HEK293T 세포와 비교하여 miR-485 억제제로 처리된 Q74-Htt-형질감염된 HEK293T 세포에서 자가포식 단백질 SIRT1, PGC-1a, p62 및 LC3-II의 수준에서 증가를 도시하는 웨스턴 블랏 분석을 제공한다. 도 4b 내지 4e는 도 4a의 웨스턴 블랏으로부터 결정된 경우 SIRT1, PGC-1a, p62 및 LC3-II, 각각의 상대 수준을 정량화하는 그래프를 도시한다.

도 5는 Q23-Htt-형질감염된 PC12 세포와 비교하여 miR-485 억제제로 처리된 Q74-Htt-형질감염된 PC12 세포에서 불용성, 응집된 헌팅틴 (Htt)의 수준에서의 감소를 도시하는 웨스턴 블랏 분석을 제공한다.

도 6은 Q23-Htt-형질감염된 PC12 세포와 비교하여 miR-485-3p 억제제로 처리된 Q74-Htt-형질감염된 PC12 세포에서 자가포식 단백질 SIRT1, PGC-1a, p62 및 LC3-II의 수준에서의 증가 그리고 카스파제 3의 절단에서의 감소를 도시하는 웨스턴 블랏 분석을 제공한다.

도 7a 내지 7e는 miR-485 억제제 및 대조군 세포 (도 7a)로 처리된 Q23-Htt-형질감염된 PC12 세포에서 GFP-태그된 Htt (도 7b 및 7c) 및 Q74-Htt-형질감염된 PC12 세포에서 GFP-태그된 htt (도 7d 및 7e)의 분포를 시각화하는 이미지를 도시한다.

도 8a 내지 8d는 miR-485 억제제로 처리된 Q74-Htt-형질감염된 (도 8c 및 8d) 및 Q23-Htt-형질감염된 (도 8a 및 8b) 1차 피질 뉴런에서 GFP-태그된-htt의 분포를 시각화하는 이미지를 도시한다. 왼쪽 패널은 대조군 처리를 도시하고 오른쪽 패널은 miR485-3p 억제제 처리를 도시한다.

도 9a 내지 9r은 miR485-3p가 자가포식의 조절에 의해 Htt 응집체의 분해를 향상시킴을 도시한다. 대조군 (상단 행), 100nM (중간 행), 또는 300nM (하단 행) miR485-3p 형질감염으로, Q23 (도 9a 내지 9i) 또는 Q74 (도 9j 내지 9r) 형질감염된 PC12 세포, 각각에서 (축척 막대, 20 μm) Htt 단백질 (왼쪽 패널), LC3B (중간 패널), 및 DAPI (오른쪽 패널)의 면역형광 표지화. 흰색 화살촉은 Htt 및 LC3의 공국소화를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0091] 개시내용의 상세한 설명

[0092] 본 개시내용이 더욱 상세히 기재되기 전에, 본 개시내용이 기재된 특정한 조성 또는 공정 단계로 제한되지 않고, 그 자체가, 물론, 가변할 수 있음이 이해되어야 한다. 본 개시내용을 읽을 때 당업자에게 명백할 바와 같이, 본원에 기재되고 예시된 각각의 개별 양태는 본 개시내용의 범위 또는 정신으로부터 이탈하지 않고 다른 여러 양태 중 임의의 것의 속성으로부터 쉽게 분리되거나 이와 조합될 수 있는 별개 구성요소 및 속성을 갖는다. 임의의 인용된 방법은 인용된 사건의 순서로 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 실시될 수 있다.

[0093] 본원에 제공된 표제는, 본 명세서를 전체로서 참조로 정의될 수 있는, 본 개시내용의 다양한 양태의 제한이 아니다. 또한, 본원에 사용된 전문용어가 단지 특정한 양태를 설명하기 위한 것이고, 본 개시내용의 범위가 첨부된 청구항에 의해서만 제한될 것이므로, 제한되기 위한 것이 아님이 또한 이해되어야 한다.

[0094] *I. 용어*

[0095] 본 개시내용이 보다 쉽게 이해될 수 있도록, 특정 용어가 먼저 정의된다. 본원에서 사용된 대로, 본원에 달리 명시적으로 제공된 경우를 제외하고, 하기 용어들의 각각은 하기 제시된 의미를 가질 수 있다. 추가의 정의는 본원 전체에 설명된다.

[0096] 용어 "한" 또는 "하나" 독립체가 그 독립체의 하나 이상을 지칭함이 유의되어야 하고; 예를 들어, "한 뉴클레오

티드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 용어 "한" (또는 "하나"), "하나 이상", 및 "적어도 하나"는 본원에 교환가능하게 사용될 수 있다. 청구항이 어느 임의적 요소를 제외하도록 작성될 수 있음이 추가로 유의된다. 이와 같이, 본 진술은 청구항 요소의 인용, 또는 부정적인 제한의 사용과 관련하여 "단독으로", "오직" 및 기타 등등 같은 배타적 용어의 사용에 대하여 선행 근거의 역할을 하기 위한 것이다.

[0097] 게다가, 본원에 사용된 경우 "및/또는"은 다른 것과 함께 또는 다른 것 없이 2개의 특정된 속성 또는 구성요소의 각각의 특정 개시로서 간주되어야 한다. 그래서, 본원에 어구 예컨대 "A 및/또는 B"에서 사용된 경우 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독) 및 "B" (단독)를 포함하기 위한 것이다. 마찬가지로, 어구 예컨대 "A, B, 및/또는 C"에서 사용된 경우 용어 "및/또는"은 하기 양태들의 각각: A, B, 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독)를 포괄하기 위한 것이다.

[0098] 양태가 본원에 언어 "포함하는"으로 기재되는 곳마다, "으로 이루어지는" 및/또는 "으로 본질적으로 이루어지는"의 관점에서 기재된 달리 유사한 양태가 또한 제공됨이 이해된다.

[0099] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 관련되는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press는 본 개시내용에서 사용된 많은 용어의 일반 사전을 숙련자에게 제공한다.

[0100] 단위, 접두사, 및 기호는 그들의 국제단위계 (Systeme International de Unites (SI)) 허용된 형태로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 값의 범위가 인용되는 경우, 그 범위의 인용된 상한 및 하한 사이, 각각의 중간 정수 값, 및 이들의 각 분수가 또한 그러한 값들 사이의 각 하위범위와 함께, 구체적으로 개시되는 것이 이해되어야 한다. 임의의 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 범위에 포함되거나 제외될 수 있고, 어느 하나, 둘 다 포함되지 않거나 둘 다 포함되는 각 범위는 또한 본 개시내용 내에 포괄된다. 그래서, 본원에 인용된 범위는, 인용된 종점을 포함하는, 범위 이내 모든 값에 대하여 약칭으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 10의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 및 10으로 이루어지는 군으로부터 임의의 수, 수들의 조합, 또는 하위-범위를 포함하는 것으로 이해된다.

[0101] 값이 명시적으로 인용되는 경우, 인용된 값과 거의 동일한 정량 또는 양인 값이 또한 본 개시내용의 범위 내에 있음이 이해되어야 한다. 조합이 개시되는 경우, 그 조합의 요소들의 각 하위조합은 또한 구체적으로 개시되고 본 개시내용의 범위 내에 있다. 반대로, 상이한 요소 또는 요소들의 그룹이 개별적으로 개시되는 경우, 이들의 조합은 또한 개시된다. 개시내용의 임의의 요소가 복수의 대안을 갖는 것으로 개시되는 경우, 각 대안이 단독으로 또는 기타 대안과 임의의 조합으로 배제되는 그 개시내용의 예는 또한 이에 의해 개시되고; 개시내용의 하나 초과의 요소는 그러한 배제를 가질 수 있고, 그러한 배제를 갖는 요소들의 모든 조합은 이에 의해 개시된다.

[0102] 뉴클레오티드는 그들의 일반적으로 허용된 단일-문자 코드에 의해 지칭된다. 달리 지시되지 않는 한, 뉴클레오티드 서열은 왼쪽에서 오른쪽으로 5'에서 3' 배향으로 쓰여진다. 뉴클레오티드는 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회에 의해 권장된 그들의 일반적으로 알려진 1-문자 기호로 본원에 지칭된다. 따라서 'a'는 아데닌을 나타내고, 'c'는 시토신을 나타내고, 'g'는 구아닌을 나타내고, 't'는 티민을 나타내고, 'u'는 우라실을 나타낸다.

[0103] 아미노산 서열은 왼쪽에서 오른쪽으로 아미노에서 카르복시 배향으로 쓰여진다. 아미노산은 어느 한쪽 그들의 일반적으로 알려진 3 문자 기호로 또는 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회에 의해 권장된 1-문자 기호로 본원에 지칭된다.

[0104] 용어 "약"은 대략, 대략적으로, 쯤, 또는 의 영역에서를 의미하기 위해 본원에 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우, 제시된 수치 값의 위아래 경계를 확장함으로써 그 범위를 수정한다. 일반적으로, 용어 "약"은, *예를 들면*, 10 퍼센트, 위 또는 아래 (더 높거나 더 낮음)의 변동에 의해 명시된 값 위아래로 수치 값을 수정할 수 있다.

[0105] 본원에 사용된 경우에, 용어 "아데노-연관된 바이러스" (AAV)는, 비제한적으로, AAV 유형 1, AAV 유형 2, AAV 유형 3 (유형 3A 및 3B 포함), AAV 유형 4, AAV 유형 5, AAV 유형 6, AAV 유형 7, AAV 유형 8, AAV 유형 9, AAV 유형 10, AAV 유형 11, AAV 유형 12, AAV 유형 13, AAVrh.74, 뱀 AAV, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말

과 AAV, 양 AAV, 염소 AAV, 새우 AAV, AAV 혈청형 그리고 Gao 등 (*J. Virol. 78*:6381 (2004)) 및 Moris 등 (*Virol. 33*:375 (2004))에 의해 개시된 분기군, 그리고 지금 알려지거나 나중에 발견된 임의의 기타 AAV를 포함한다. *예를 들면,* FIELDS 등 VIROLOGY, volume 2, chapter 69 (4th ed., Lippincott-Raven Publishers), *참조*. 일부 양태에서, "AAV"는 알려진 AAV의 유도체를 포함한다. 일부 양태에서, "AAV"는 변형된 또는 인공 AAV를 포함한다.

[0106] 용어 "투여", "투여하기", 및 이의 문법적 별형은 조성물, 예컨대 본 개시내용의 miRNA 억제제를, 대상체에게 약학적으로 허용가능한 루트를 통해 도입하는 것을 지칭한다. 조성물, 예컨대 본 개시내용의 miRNA 억제제를 포함하는 미셀의 대상체에의 도입은 종양내, 구강내, 폐내, 비강내, 비경구 (정맥내, 동맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하), 직장, 림프내, 척추강내, 안구주위 또는 국부를 포함하는 임의의 적합한 루트에 의한 것이다. 투여는 자가-투여 그리고 타인에 의한 투여를 포함한다. 투여의 적합한 루트는 조성물 또는 제제가 이의 의도된 기능을 수행하도록 한다. 예를 들어, 적합한 루트가 정맥내이면, 조성물은 조성물 또는 제제를 대상체의 정맥에 도입함으로써 투여된다.

[0107] 본원에 사용된 경우에, 용어 "대략"은, 관심의 하나 이상의 값에 적용된 경우, 명시된 참조 값과 유사한 값을 지칭한다. 특정 양태에서, 용어 "대략"은 달리 명시되지 않거나 달리 문맥에서 명백하지 않은 한 명시된 참조 값의 어느 한쪽 방향으로 (초과 또는 미만) 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 그 이하 내에 해당하는 값의 범위를 지칭한다 (그러한 수가 가능한 값의 100%를 초과할 경우 제외).

[0108] 본원에 사용된 경우에, 용어 "보존된"은 비교되는 둘 이상의 서열의 동일 위치에서 교대되지 않은 채 발생하는 것들인 폴리뉴클레오티드 서열 또는 폴리펩티드 서열의 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기, 각각을 지칭한다. 비교적 보존되는 뉴클레오티드 또는 아미노산은 서열에서 다른 곳에 나타나는 뉴클레오티드 또는 아미노산보다 더욱 관련된 서열 중에서 보존되는 것들이다.

[0109] 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 100% 동일하면 "완전히 보존된" 또는 "동일한"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 적어도 70% 동일, 적어도 80% 동일, 적어도 90% 동일, 또는 적어도 95% 동일하면 "고도로 보존된"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 약 70% 동일, 약 80% 동일, 약 90% 동일, 약 95%, 약 98%, 또는 약 99% 동일하면 "고도로 보존된"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 적어도 30% 동일, 적어도 40% 동일, 적어도 50% 동일, 적어도 60% 동일, 적어도 70% 동일, 적어도 80% 동일, 적어도 90% 동일, 또는 적어도 95% 동일하면 "보존된"이라고 한다. 일부 양태에서, 둘 이상의 서열은 이들이 서로에 약 30% 동일, 약 40% 동일, 약 50% 동일, 약 60% 동일, 약 70% 동일, 약 80% 동일, 약 90% 동일, 약 95% 동일, 약 98% 동일, 또는 약 99% 동일하면 "보존된"이라고 한다. 서열의 보존은 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 전체 길이에 적용할 수 있거나 이의 부문, 영역 또는 속성에 적용할 수 있다.

[0110] 용어 "에서 유래된"은, 본원에 사용된 경우에, 특정된 분자 또는 유기체, 또는 특정된 분자 또는 유기체로부터 정보 (*예를 들면,* 아미노산 또는 핵산 서열)에서 단리되거나 상기를 사용하여 만들어지는 구성요소를 지칭한다. 예를 들어, 제2 핵산 서열에서 유래되는 핵산 서열은 제2 핵산 서열의 뉴클레오티드 서열과 동일하거나 실질적으로 유사한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 경우에, 유래된 종은, 예를 들어, 자연 발생 돌연변이유발, 인공 지시된 돌연변이유발 또는 인공 무작위 돌연변이유발에 의해 수득될 수 있다. 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 유래하는데 사용된 돌연변이유발은 의도적으로 지시되거나 의도적으로 무작위이거나, 각각의 혼합물일 수 있다. 최초에서 유래된 상이한 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 창출하기 위한 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 돌연변이유발은 (*예를 들면,* 폴리머라제 불충실에 의해 야기된) 무작위 이벤트일 수 있고 유래된 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 식별은, *예를 들면,* 본원에 논의된 대로, 적절한 스크리닝 방법으로 이루어질 수 있다. 일부 양태에서, 제2 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열에서 유래되는 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열은 제2 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열, 각각에 대한 적어도 약 50%, 적어도 약 51%, 적어도 약 52%, 적어도 약 53%, 적어도 약 54%, 적어도 약 55%, 적어도 약 56%, 적어도 약 57%, 적어도 약 58%, 적어도 약 59%, 적어도 약 60%, 적어도 약 61%, 적어도 약 62%, 적어도 약 63%, 적어도 약 64%, 적어도 약 65%, 적어도 약 66%, 적어도 약 67%, 적어도 약 68%, 적어도 약 69%, 적어도 약 70%, 적어도 약 71%, 적어도 약 72%, 적어도 약 73%, 적어도 약 74%, 적어도 약 75%, 적어도 약 76%, 적어도 약 77%, 적어도 약 78%, 적어도 약 79%, 적어도 약 80%, 적어도 약 81%, 적어도 약 82%, 적어도 약 83%, 적어도 약 84%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%의 서열 동일성을 갖고, 여기서 제1 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열은 제2 뉴클레오티드 또는 아

미노산 서열의 생물학적 활성을 보유한다.

[0111] 본원에 사용된 경우에, "코딩 영역" 또는 "코딩 서열"은 아미노산으로 번역가능한 코돈으로 이루어지는 폴리뉴클레오티드의 한 부문이다. "정지 코돈" (TAG, TGA, 또는 TAA)이 아미노산으로 전형적으로 번역되지 않아도, 코딩 영역의 부분인 것으로 간주될 수 있지만, 임의의 측접하는 서열, 예를 들어 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사적 종결자, 인트론, 및 기타 등등은 코딩 영역의 부분이 아니다. 코딩 영역의 경계는, 생성된 폴리펩티드의 아미노 말단을 인코딩하는, 5' 말단에서 시작 코돈, 및 생성된 폴리펩티드의 카르복시 말단을 인코딩하는, 3' 말단에서 번역 정지 코돈에 의해 전형적으로 결정된다.

[0112] 용어 "상보적" 및 "상보성"은 왓슨-크릭 염기-짝짓기 규칙에 의해 서로 관련되는 둘 이상의 올리고머 (*즉*, 핵염기 서열을 각각 포함함), 또는 올리고머와 표적 유전자 사이를 지칭한다. 예를 들어, 핵염기 서열 "T-G-A (5'→ 3')"는 핵염기 서열 "A-C-T (3'→ 5')"에 상보적이다. 상보성은 "부분적"일 수 있고, 여기에서 주어진 핵염기 서열의 모든 핵염기보다 적은 수가 염기 짝짓기 규칙에 따라 다른 핵염기 서열에 매칭된다. 예를 들어, 일부 양태에서, 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이 상보성은 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 또는 약 95%일 수 있다. 따라서, 특정 양태에서, 용어 "상보적"은 표적 핵산 서열 (*예를 들면*, miR-485 핵산 서열)에 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 매치 또는 상보성을 지칭한다. 또는, 예시를 계속하기 위해 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이 "완전한" 또는 "완벽한" (100%) 상보성이 있을 수 있다. 일부 양태에서, 핵염기 서열 사이 상보성의 정도는 서열 사이 하이브리드화의 효율 및 강도에서 상당한 영향을 갖는다.

[0113] 용어 "다운스트림"은 참조 뉴클레오티드 서열에 대해 3' 위치되는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 특정 양태에서, 다운스트림 뉴클레오티드 서열은 전사의 시작점을 따르는 서열에 관련한다. 예를 들어, 유전자의 번역 개시 코돈은 전사의 시작 부위의 다운스트림 위치된다.

[0114] 용어 "부형제" 및 "담체"는 교환가능하게 사용되고 화합물, 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제의 투여를 추가로 촉진시키기 위해 약학적 조성물에 첨가된 불활성 서브스턴스를 지칭한다.

[0115] 용어 "발현"은, 본원에 사용된 경우에, 폴리뉴클레오티드가 유전자 산물, *예를 들면*, RNA 또는 폴리펩티드를 생산하는 공정을 지칭한다. 폴리뉴클레오티드의 마이크로 RNA 결합 부위, 작은 헤어핀 RNA (shRNA), 작은 간섭 RNA (siRNA), 또는 임의의 기타 RNA 산물로의 전사를 제한 없이 포함한다. 폴리뉴클레오티드의 메신저 RNA (mRNA)로의 전사, 및 mRNA의 폴리펩티드로의 번역을, 제한 없이, 포함한다. 발현은 "유전자 산물"을 생산한다. 본원에 사용된 경우에, 유전자 산물은, *예를 들면*, 핵산, 예컨대 유전자의 전사에 의해 생산된 RNA일 수 있다. 본원에 사용된 경우에, 유전자 산물은 어느 한쪽 핵산, 유전자의 전사에 의해 생산된 RNA 또는 miRNA, 또는 전사체로부터 번역되는 폴리펩티드일 수 있다. 본원에 기재된 유전자 산물은 추가로 전사후 변형, *예를 들면*, 폴리아데닐화 또는 스플라이싱을 가진 핵산, 또는 번역후 변형, *예를 들면*, 인산화, 메틸화, 글리코실화, 지질의 첨가, 다른 단백질 아단위체와의 회합, 또는 단백질분해 절단을 가진 폴리펩티드를 포함한다.

[0116] 본원에 사용된 경우에, 용어 "상동성"은 중합체성 분자 사이, *예를 들면* 핵산 분자 사이 전반적 관련성을 지칭한다. 일반적으로, 용어 "상동성"은 2개 분자 사이 진화적 관계를 암시한다. 그래서, 상동인 2개 분자는 공통 진화적 조상을 가질 것이다. 본 개시내용의 맥락에서, 용어 상동성은 양쪽 동일성 및 유사성을 포괄한다.

[0117] 일부 양태에서, 중합체성 분자는 분자에서 단량체의 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99%가 동일하거나 (정확하게 동일 단량체) 유사 (보존적 치환)하면 서로에 "상동"인 것으로 간주된다. 용어 "상동"은 반드시 적어도 2개 서열 (*예를 들면*, 폴리뉴클레오티드 서열) 사이 비교를 지칭한다.

[0118] 본 개시내용의 맥락에서, 치환은 (이들이 아미노산 치환으로서 지칭되는 경우조차) 핵산 수준에서 실행된다, *즉*, 아미노산 잔기를 대안적 아미노산 잔기로 치환하기는 제1 아미노산을 인코딩하는 코돈을 제2 아미노산을 인코딩하는 코돈으로 치환시킴으로써 실행된다.

[0119] 본원에 사용된 경우에, 용어 "동일성"은 중합체성 분자 사이, *예를 들면*, 폴리뉴클레오티드 분자 사이 전반적 단량체 보존을 지칭한다. 임의의 추가의 수식어, *예를 들면*, 폴리뉴클레오티드 A 없이 용어 "동일한"은 폴리뉴클레오티드 B와 동일하고, 폴리뉴클레오티드 서열이 100% 동일함 (100% 서열 동일성)을 암시한다. *예를 들면*, "70% 동일한"으로서 2개 서열 기재하기는 이들을, *예를 들면*, "70% 서열 동일성"을 갖는 것으로서 기재하기와

같다.

[0120] 2개 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 퍼센트 동일성의 계산은, 예를 들어, 최적 비교 목적으로 2개 서열을 정렬시킴으로써 수행될 수 있다 (*예를 들면*, 갭은 최적 정렬을 위하여 제1 및 제2 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 한쪽 또는 양쪽에 도입될 수 있고 비-동일한 서열은 비교 목적으로 무시될 수 있다). 특정 양태에서, 비교 목적으로 정렬된 서열의 길이는 참조 서열의 길이의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100%이다. 상응하는 아미노산 위치에 아미노산, 또는 폴리뉴클레오티드의 경우에 염기는 그 다음 비교된다.

[0121] 제1 서열에서 한 위치가 제2 서열에서 상응하는 위치와 동일한 아미노산 또는 뉴클레오티드에 의해 점유되는 경우, 분자는 그 위치에 동일하다. 2개 서열 사이 퍼센트 동일성은, 2개 서열의 최적 정렬을 위하여 도입될 필요가 있는, 갭의 수, 및 각 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유된 동일한 위치의 수의 함수이다. 서열의 비교 그리고 2개 서열 사이 퍼센트 동일성의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 성취될 수 있다.

[0122] 상이한 서열 (*예를 들면,* 폴리뉴클레오티드 서열)을 정렬하는데 사용될 수 있는 적합한 소프트웨어 프로그램은 다양한 소스로부터 이용가능하다. 퍼센트 서열 동일성을 결정하기 위한 하나의 적합한 프로그램은 미국 정부의 국립 생명공학 정보 센터 BLAST 웹 사이트 (blast.ncbi.nlm.nih.gov)에서 이용가능한 BLAST 프로그램 제품군의 부분인, bl2seq이다. Bl2seq는 어느 한쪽 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하는 2개 서열 사이 비교를 수행한다. BLASTN은 핵산 서열을 비교하는데 사용되고, 한편 BLASTP는 아미노산 서열을 비교하는데 사용된다. 다른 적합한 프로그램은, *예를 들면*, EMBOSS 생물정보학 프로그램 제품군의 부분인 Needle, Stretcher, Water, 또는 Matcher이고 www.ebi.ac.uk/Tools/psa에서 유럽 생물정보학 연구소 (European Bioinformatics Institute (EBI))로부터 또한 이용가능하다.

[0123] 서열 정렬은 당업계에서 알려진 방법 예컨대 MAFFT, Clustal (ClustalW, Clustal X 또는 Clustal Omega), MUSCLE, 등을 사용하여 실행될 수 있다.

[0124] 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 참조 서열과 정렬하는 단일 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 표적 서열 내에서 상이한 영역은 그들의 자체 퍼센트 서열 동일성을 각각 가질 수 있다. 퍼센트 서열 동일성 값이 가장 가까운 10분의 1로 반올림됨을 유의된다. 예를 들어, 80.11, 80.12, 80.13 및 80.14는 80.1로 반내림되고 80.15, 80.16, 80.17, 80.18 및 80.19는 80.2로 반올림된다. 또한 길이 값이 항상 정수인 것이 유의된다.

[0125] 특정 양태에서, 제2 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)에 대한 제1 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)의 백분율 동일성 (%ID) 또는 은 %ID = 100 x (Y/Z)로서 계산되고, 식중 Y는 (시각 검사 또는 특정한 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬된 경우에) 제1 및 제2 서열의 정렬에서 동일한 매치로서 채점된 아미노산 잔기 (또는 핵염기)의 수이고 Z는 제2 서열에서 잔기의 총수이다. 제1 서열의 길이가 제2 서열보다 더 길면, 제2 서열에 대한 제1 서열의 퍼센트 동일성은 제1 서열에 대한 제2 서열의 퍼센트 동일성보다 더 높을 것이다.

[0126] 당업자는 퍼센트 서열 동일성의 계산을 위한 서열 정렬의 생성이 일차 서열 데이터에 의해 독점적으로 구동된 이진 서열-서열 비교에 제한되지 않는다는 것을 이해할 것이다. 서열 정렬이 서열 데이터를 이종 소스 예컨대 구조적 데이터 (*예를 들면*, 결정학적 단백질 구조), 기능적 데이터 (*예를 들면*, 돌연변이의 위치), 또는 계통발생적 데이터로부터의 데이터와 통합함으로써 생성될 수 있음이 또한 이해될 것이다. 다중 서열 정렬을 생성하기 위해 이종 데이터를 통합하는 적합한 프로그램은 www.tcoffee.org에서 이용가능한, 그리고, *예를 들면*, EBI로부터 대안적으로 이용가능한 T-Coffee이다. 퍼센트 서열 동일성을 계산하는데 사용된 최종 정렬이 어느 한쪽 자동으로 또는 수동으로 큐레이션될 수 있음이 또한 이해될 것이다.

[0127] 본원에 사용된 경우에, 용어 "단리된", "정제된", "추출된", 및 이의 문법적 별형은 교환가능하게 사용되고 하나 이상의 정제 공정을 겪은 본 개시내용의 원하는 조성물, 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제의 제조물의 상태를 지칭한다. 일부 양태에서, 본원에 사용된 경우에 단리하기 또는 정제하기는 오염물을 함유하는 샘플로부터 본 개시내용의 조성물의 (*예를 들면*, 분획), 예를 들면, 본 개시내용의 miRNA 억제제를 부분적으로 제거하는, 제거하기의 공정이다.

[0128] 일부 양태에서, 단리된 조성물은 검출가능한 바람직하지 않은 활성을 갖지 않거나, 대안적으로, 바람직하지 않은 활성의 수준 또는 양은 허용가능한 수준 또는 양 이하이다. 다른 양태에서, 단리된 조성물은 허용가능한 양 및/또는 농도 및/또는 활성 이상에서, 본 개시내용의 원하는 조성물의 양 및/또는 농도를 갖는다. 다른 양태에서, 단리된 조성물은 조성물이 수득되는 시작 물질과 비교된 경우에 농축된다. 이 농축은 시작 물질과 비교된 경우에 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도

약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.9%, 적어도 약 99.99%, 적어도 약 99.999%, 적어도 약 99.9999%, 또는 99.9999% 초과만큼일 수 있다.

[0129] 일부 양태에서, 단리된 제조물은 잔류 생물학적 산물이 실질적으로 없다. 일부 양태에서, 단리된 제조물은 임의의 오염 생물학적 물질이 100% 없거나, 적어도 약 99% 없거나, 적어도 약 98% 없거나, 적어도 약 97% 없거나, 적어도 약 96% 없거나, 적어도 약 95% 없거나, 적어도 약 94% 없거나, 적어도 약 93% 없거나, 적어도 약 92% 없거나, 적어도 약 91% 없거나, 적어도 약 90% 없다. 잔류 생물학적 산물은 비생물적 물질 (화학물질 포함) 또는 원치않는 핵산, 단백질, 지질, 또는 대사산물을 포함할 수 있다.

[0130] 용어 "결합된"은 본원에 사용된 경우에 제2 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오티드 서열, 각각에 공유적으로 또는 비-공유적으로 연결된 제1 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 제1 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 제2 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열에 직접적으로 연결 또는 병치될 수 있거나 대안적으로 중간 서열은 제1 서열을 제2 서열에 공유적으로 연결시킬 수 있다. 용어 "결합된"은 5'-말단 또는 3'-말단에서 제2 폴리뉴클레오티드 서열에 제1 폴리뉴클레오티드 서열의 융합을 의미하고, 뿐만 아니라 제2 폴리뉴클레오티드 서열 (또는 제1 폴리뉴클레오티드 서열, 각각)에서 임의의 2개 뉴클레오티드에 전체 제1 폴리뉴클레오티드 서열 (또는 제2 폴리뉴클레오티드 서열)의 삽입을 포함한다. 제1 폴리뉴클레오티드 서열은 포스포디에스테르 결합 또는 링커에 의해 제2 폴리뉴클레오티드 서열에 결합될 수 있다. 링커는, *예를 들면*, 폴리뉴클레오티드일 수 있다.

[0131] "miRNA 억제제"는, 본원에 사용된 경우에, miRNA 발현, 기능, 및/또는 활성을 감소, 변경, 및/또는 조절할 수 있는 화합물을 지칭한다. miRNA 억제제는, miRNA 억제제가 표적 miRNA 서열에 하이브리드화하도록, 표적 miRNA 핵산 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 폴리뉴클레오티드 서열일 수 있다. 가령, 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는, miR-485 억제제가 miR-485 서열에 하이브리드화하도록, 표적 miR-485 핵산 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 추가 양태에서, miR-485 서열에 대한 miR-485의 하이브리드화는 miR-485의 발현, 기능, 및/또는 활성을 감소, 변경, 및/또는 조절한다 (*예를 들면,* 하이브리드화는 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현에서 증가를 초래한다).

[0132] 용어 "miRNA", "miR", 및 "마이크로RNA"는 교환가능하게 사용되고 RNA-기반 유전자 조절에 관여되는 진핵생물에서 발견된 마이크로RNA 분자를 지칭한다. 본 용어는 전구체로부터 가공된 단일-가닥 RNA 분자를 지칭하는데 사용될 것이다. 일부 양태에서, 용어 "안티센스 올리고머"는 본 개시내용의 마이크로RNA 분자를 기재하는데 또한 사용될 수 있다. 본 개시내용에 관련된 miRNA의 명칭 및 그들의 서열은 본원에 제공된다. 마이크로RNA는 표적 mRNA의 탈안정화 또는 번역적 억제로 이어지는 불완전 염기 짝짓기를 통해서 표적 mRNA에 결합하고 인식하며 이에 의해 표적 유전자 발현을 하향조절한다. 반대로, miRNA 결합 부위를 포함하는 분자 (일반적으로 miRNA의 씨드 영역에 상보적인 서열을 포함하는 분자)를 통해 miRNA 표적화하기는 표적 유전자의 상향조절을 초래하는 miRNA-유도 번역적 억제를 감소 또는 억제시킬 수 있다.

[0133] 용어 "미스매치" 또는 "미스매치들"은 염기 짝짓기 규칙에 따라 표적 핵산 서열 (*예를 들면,* miR-485)에 매칭되지 않는 올리고머 핵염기 서열 (*예를 들면,* miR-485 억제제)에서 (인접 또는 분리되든) 하나 이상의 핵염기를 지칭한다. 완벽한 상보성이 종종 요구되지만, 일부 양태에서, 하나 이상 (*예를 들면,* 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 미스매치들)은 표적 핵산 서열과 관련하여 발생할 수 있다. 올리고머 내에서 임의의 위치에 이형은 포함된다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 안티센스 올리고머 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 말단 근처 핵염기 서열에서의 이형, 내부에서의 이형을 포함하고, 존재하는 경우 전형적으로 5' 및/또는 3' 말단의 약 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 아단위체 이내이다. 일부 양태에서, 1, 2, 또는 3개 핵염기는 제거될 수 있고 여전히 표적내 결합하기를 제공할 수 있다.

[0134] 본원에 사용된 경우에, 용어 "조절하다", "변형하다", 및 이의 문법적 별형은, 일반적으로 특정 농도, 수준, 발현, 기능 또는 행동에 적용된 경우, 특정 농도, 수준, 발현, 기능 또는 행동을 증가시킴 또는 감소시킴, *예를 들면*, 직접적으로 또는 간접적으로 촉진시킴/자극시킴/상향조절시킴 또는 방해함/억제시킴/하향조절시킴으로써 변경시키는 능력, 예컨대, *예를 들면*, 길항제 또는 작용제로서 작용하는 능력을 지칭한다. 일부 경우에, 조절자는 대조군에 비해, 또는 일반적으로 예상되는 활성의 평균 수준에 비해 또는 대조군 활성 수준에 비해 특정 농도, 수준, 활성 또는 기능을 증가 및/또는 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miRNA 억제제, *예를 들면*, miR-485 억제제는 miR-485 발현, 기능, 및/또는 활성을 조절 (예를 들면, 감소, 변경, 또는 폐지)할 수 있고, 이에 의해, SIRT1 단백질 또는 유전자 발현 및/또는 활성을 조절할 수 있다.

[0135] "핵산", "핵산 분자", "뉴클레오티드 서열", "폴리뉴클레오티드", 및 이의 문법적 별형은 교환가능하게 사용되고 리보뉴클레오시드 (아데노신, 구아노신, 우리딘 또는 시티딘; "RNA 분자") 또는 데옥시리보뉴클레오시드 (데옥시아데노신, 데옥시구아노신, 데옥시티미딘, 또는 데옥시시티딘; "DNA 분자")의 포스페이트 에스테르 중합체성 형태, 또는 이들의 임의의 포스포에스테르 유사체, 예컨대 포스포로티오에이트 및 티오에스테르를, 어느 한 쪽 단일 가닥 형태, 또는 이중-가닥 나선으로 지칭한다. 단일 가닥 핵산 서열은 단일-가닥 DNA (ssDNA) 또는 단일-가닥 RNA (ssRNA)를 지칭하다. 이중 가닥 DNA-DNA, DNA-RNA 및 RNA-RNA 나선은 가능하다. 용어 핵산 분자, 및 특히 DNA 또는 RNA 분자는 분자의 일차 및 이차 구조만을 지칭하고, 임의의 특정한 삼차 형태로 제한하지 않는다. 그래서, 이 용어는, *특히*, 선형 또는 원형 DNA 분자 (*예를 들면,* 제한 단편), 플라스미드, 초나선 DNA 및 염색체에서 발견된 이중-가닥 DNA를 포함한다. 특정한 이중-가닥 DNA 분자의 구조 논의에서, 서열은 DNA의 비-전사된 가닥 (*즉*, mRNA에 상동인 서열을 갖는 가닥)을 따라 5'에서 3' 방향으로 서열만을 제공하는 정상 관례에 따라 본원에 기재될 수 있다. "재조합 DNA 분자"는 분자성 생물학적 조작을 겪은 DNA 분자이다. DNA는, 비제한적으로, cDNA, 게놈성 DNA, 플라스미드 DNA, 합성 DNA, 및 절반-합성 DNA를 포함한다. 본 개시내용의 "핵산 조성물"은 하나 이상의 핵산을 본원에 기재된 경우에 포함한다.

[0136] 용어 "약학적으로 허용가능한 담체", "약학적으로 허용가능한 부형제", 및 이의 문법적 이형은 인간을 포함하는 동물에 사용을 위하여 미국 연방 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전에서 열거된 제제 중 임의의 것, 뿐만 아니라 대상체에 조성물의 투여를 금지하고 투여된 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 폐기하지 않는 정도로 바람직하지 않은 생리학적 효과의 생산을 야기시키지 않는 임의의 담체 또는 희석제를 포괄한다. 약학적 조성물을 제조하는데 유용하고 일반적으로 안전하고, 비-독성이고, 바람직한 부형제 및 담체가 포함된다.

[0137] 본원에 사용된 경우에, 용어 "약학적 조성물"은, 하나 이상의 다른 화학적 구성요소, 예컨대 약학적으로 허용가능한 담체 및 부형제와 혼합되거나 섞인, 또는 상기에 현탁된, 본원에 기재된 화합물 중 하나 이상, 예컨대, *예를 들면*, 본 개시내용의 miRNA 억제제를 지칭한다. 약학적 조성물의 하나의 목적은 대상체에게 본 개시내용의 miRNA 억제제를 포함하는 제조물의 투여를 용이하게 하는 것이다.

[0138] 용어 "폴리뉴클레오티드"는, 본원에 사용된 경우에, 리보뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드, 이들의 유사체, 또는 이들의 혼합물을 포함하는, 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭한다.

[0139] 일부 양태에서, 본 용어는 분자의 일차 구조를 지칭한다. 그래서, 본 용어는 삼중-, 이중- 및 단일-가닥 데옥시리보핵산 ("DNA"), 뿐만 아니라 삼중-, 이중- 및 단일-가닥 리보핵산 ("RNA")을 포함한다. 폴리뉴클레오티드의 예를 들어 알킬화에 의해, 및/또는 캡핑에 의해 변형된, 그리고 미변형된 형태를 또한 포함한다.

[0140] 일부 양태에서, 용어 "폴리뉴클레오티드"는 폴리데옥시리보뉴클레오티드 (2-데옥시-D-리보스 함유), 스플라이싱되든 스플라이싱되지 않든, tRNA, rRNA, shRNA, siRNA, miRNA 및 mRNA를 포함하는, 폴리리보뉴클레오티드 (D-리보스 함유), 퓨린 또는 피리미딘 염기의 N- 또는 C-글리코시드인 임의의 다른 유형의 폴리뉴클레오티드, 및 노르무클레오티딕 백본을 함유하는 기타 중합체, 예를 들어, 폴리아미드 (*예를 들면,* 펩티드 핵산 "PNA") 및 폴리모르폴리노 중합체, 그리고 중합체가 염기 짝짓기 및 염기 스태킹을 허용하는, 예컨대 DNA 및 RNA에서 발견되는 구성으로 핵염기를 함유함을 제공하는 기타 합성 서열-특이적 핵산 중합체를 포함한다.

[0141] 본 개시내용의 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드는, *예를 들면*, 올리고뉴클레오티드, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 RNA이다. 일부 양태에서, RNA는 합성 RNA이다. 일부 양태에서, 합성 RNA는 적어도 하나의 비천연 핵염기를 포함한다. 일부 양태에서, 특정 부류의 모든 핵염기는 비천연 핵염기로 대체되었다 (*예를 들면*, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드에서 모든 우리딘은 비천연 핵염기, *예를 들면*, 5-메톡시우리딘으로 대체될 수 있다).

[0142] 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은, *예를 들면*, SIRT1 유전자에 의해 인코딩되는 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본원에 교환가능하게 사용된다. 중합체는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 본 용어는 또한 자연적으로 또는 개입; 예를 들어, 디술피드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대 표지화 구성요소와의 접합에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포괄한다. 예를 들어, 아미노산의 하나 이상의 유사체 (예를 들어, 비천연 아미노산 예컨대 호모시스테인, 오르니틴, p-아세틸페닐알라닌, D-아미노산, 및 크레아틴 포함)를 함유하는 폴리펩티드, 뿐만 아니라 당업계에 알려진 다른 변형이 본 정의 내에 또한 포함된다. 용어 "폴리펩티드"는, 본원에 사용된 경우에, 임의의 크기, 구조, 또는 기능의 단백질, 폴리펩티드, 및 펩티드를 지칭한다.

[0143] 폴리펩티드는 유전자 산물, 자연 발생 폴리펩티드, 합성 폴리펩티드, 동족체, 동원체, 이원체, 단편 및 기타 등

가물, 변이체, 및 전술한 것들의 유사체를 포함한다.

[0144] 폴리펩티드는 단일 폴리펩티드일 수 있거나 다분자성 복합체 예컨대 이량체, 삼량체 또는 사량체일 수 있다. 이들은 단일 쇄 또는 다중쇄 폴리펩티드를 또한 포함할 수 있다. 가장 흔한 디술피드 연결은 다중쇄 폴리펩티드에서 발견되다. 용어 폴리펩티드는 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공 화학적 유사체인 아미노산 중합체에 또한 적용할 수 있다. 일부 양태에서, "펩티드"는 약 50개 아미노산 길이 이하, *예를 들면,* 약 5, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 또는 약 50개 아미노산 길이일 수 있다.

[0145] 용어 "예방하다", "예방하기", 및 이의 이형은 본원에 사용된 경우에, 질환, 장애 및/또는 병태의 발병을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 특정한 질환, 장애, 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 속성, 또는 임상 징후의 발병을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 특정한 질환, 장애, 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 속성, 또는 징후의 발병을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 특정한 질환, 장애, 및/또는 병태로부터의 진행을 부분적으로 또는 완전히 지연시킴; 및/또는 질환, 장애, 및/또는 병태와 관련된 병리 발달의 위험을 감소시킴을 지칭한다. 일부 양태에서, 결과 예방하기는 예방성 치료를 통해서 달성된다.

[0146] 본원에 사용된 경우에, 용어 "프로모터" 및 "프로모터 서열"은 교환가능하고 코딩 서열 또는 기능적 RNA의 발현을 제어할 수 있는 DNA 서열을 지칭한다. 일반적으로, 코딩 서열은 프로모터 서열에 대해 3' 위치된다. 프로모터는 천연 유전자로부터 그들의 전체가 유래될 수 있거나, 자연에서 발견된 상이한 프로모터에서 유래된 상이한 요소로 구성될 수 있거나, 심지어 합성 DNA 세그먼트를 포함할 수 있다. 상이한 프로모터가 상이한 조직 또는 세포 유형에서, 또는 상이한 발달의 스테이지에서, 또는 상이한 환경적 또는 생리학적 조건에 반응하여 유전자의 발현을 지시할 수 있음이 당업자에 의해 이해된다. 대부분의 시간에 대부분의 세포 유형에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "구성적 프로모터"로서 지칭된다. 특정 세포 유형에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "세포-특이적 프로모터" 또는 "조직-특이적 프로모터"로서 지칭된다. 발달 또는 세포 분화의 특정 스테이지에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "발달적으로-특이적 프로모터" 또는 "세포 분화-특이적 프로모터"로서 지칭된다. 프로모터를 유도하는 제제, 생물학적 분자, 화학물질, 리간드, 광, 또는 기타 등등으로 세포를 노출 또는 처리한 후 유도되고 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 일반적으로 "유도성 프로모터" 또는 "조절가능한 프로모터"로서 지칭된다. 대부분의 경우에 조절 서열의 정확한 경계가 완전히 정의되지 않았으므로, 상이한 길이의 DNA 단편이 동일한 프로모터 활성을 가질 수 있음이 추가로 인식된다.

[0147] 프로모터 서열은 전사 개시 부위에 의해 이의 3' 말단에서 전형적으로 결합되고 업스트림 (5' 방향) 연장하여 배경 위 검출가능한 수준에서 전사를 개시하는데 필요한 염기 또는 요소의 최소 수를 포함한다. 프로모터 서열 내에서 (예를 들어, 뉴클레아제 S1과의 맵핑에 의해 편리하게 정의된) 전사 개시 부위, 뿐만 아니라 RNA 폴리머라제의 결합을 담당하는 단백질 결합 도메인 (공통 서열)이 발견될 것이다. 일부 양태에서, 본 개시내용과 사용될 수 있는 프로모터는 조직 특이적 프로모터를 포함한다.

[0148] 본원에 사용된 경우에, "예방성"은 질환 또는 병태의 발병을 예방하기 위해, 또는 질환 또는 병태와 연관된 증상을 예방 또는 지연시키기 위해 사용된 치료적 또는 작용 과정을 지칭한다.

[0149] 본원에 사용된 경우에, "예방"은 건강을 유지하고 질환 또는 병태의 발병을 예방하기 위해, 질환 또는 병태와 연관된 증상을 예방 또는 지연시키기 위해 취해진 조치를 지칭한다.

[0150] 본원에 사용된 경우에, 용어 "유전자 조절 영역" 또는 "조절 영역"은 코딩 영역의 업스트림 (5' 비-코딩 서열), 이내에, 다운스트림 (3' 비-코딩 서열) 위치된 뉴클레오티드 서열을 지칭하고, 이는 연관된 코딩 영역의 전사, RNA 처리, 안정성, 또는 번역에 영향을 미친다. 조절 영역은 프로모터, 번역 리더 서열, 인트론, 폴리아데닐화 인식 서열, RNA 처리 부위, 효과기 결합 부위, 또는 스템-루프 구조를 포함할 수 있다. 코딩 영역이 진핵 세포에서 발현을 위하여 의도되면, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결 서열은 보통 코딩 서열에 대해 3' 위치될 것이다.

[0151] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 (*예를 들면,* 하나 이상의 miR-485 결합 부위를 포함하는 RNA를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드)는 하나 이상의 코딩 영역과 작동가능하게 연관된 프로모터 및/또는 기타 발현 (*예를 들면,* 전사) 대조군 요소를 포함할 수 있다. 작동가능한 회합에서 유전자 산물을 위한 코딩 영역은 유전자 산물의 발현을 조절 영역(들)의 영향 또는 제어 하에 배치하는 방식으로 하나 이상의 조절 영역과 연관된다. 예를 들어, 코딩 영역 및 프로모터는 프로모터 기능의 유도가 코딩 영역에 의해 인코딩된 유전자 산물을 인코딩

하는 mRNA의 전사를 초래하면, 그리고 프로모터와 코딩 영역 사이 연결의 성격이 유전자 산물의 발현을 지시하는 프로모터의 능력을 방해하지 않거나 전사될 DNA 템플레이트의 능력을 방해하지 않으면 "작동가능하게 연관된"다. 프로모터 외에, 다른 발현 제어 요소, 예를 들어 인핸서, 오퍼레이터, 리프레서, 및 전사 종결 신호는 유전자 산물 발현을 지시하기 위해 코딩 영역과 작동가능하게 또한 연관될 수 있다.

[0152] 본원에 사용된 경우에, 용어 "유사성"은 중합체성 분자 사이, *예를 들면* 폴리뉴클레오티드 분자 (*예를 들면* miRNA 분자) 사이 전반적 관련성을 지칭한다. 서로에 대한 중합체성 분자의 퍼센트 유사성의 계산은, 퍼센트 유사성의 계산이 당업계에서 이해되는 대로 보존적 치환을 고려하는 것을 제외하고, 퍼센트 동일성의 계산과 동일한 방식으로 수행될 수 있다. 유사성의 백분율이 사용된 비교 척도, *즉*, *예를 들면*, 그들의 진화적 근접성, 전하, 부피, 유연성, 극성, 소수성, 방향성, 등전점, 항원성, 또는 이들의 조합에 따라 핵산이 비교되는 여부에 의존적임이 이해된다.

[0153] 용어 "대상체", "환자", "개체", 및 "숙주", 및 이들의 이형은 본원에 교환가능하게 사용되고 제한 없이, 인간, 가정 동물 (*예를 들면,* 개, 고양이 및 기타 등등), 농장 동물 (*예를 들면,* 소, 양, 돼지, 말 및 기타 등등), 및 진단, 치료, 또는 요법이 요구되는 실험실 동물 (*예를 들면,* 원숭이, 랫트, 마우스, 토끼, 기니 피그 및 기타 등등)을 포함하는 임의의 포유류 대상체, 특히 인간을 지칭한다. 본원에 기재된 방법은 양쪽 인간 요법 및 수의학적 응용에 적용가능하다.

[0154] 본원에 사용된 경우에, 어구 "치료를 필요로 하는 대상체"는, *예를 들면*, SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현 수준을 증가시키기 위해 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*예를 들면,* miR-485 억제제)의 투여로부터 이익을 얻을 대상체, 예컨대 포유류 대상체를 포함한다.

[0155] 본원에 사용된 경우에, 용어 "치료적으로 유효량"은 치료를 필요로 하는 대상체에서 원하는 치료적 효과, 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 생산하는데 충분한 본 개시내용의 miRNA 억제제를 포함하는 시약 또는 약학적 화합물의 양이다. 치료적으로 유효량은 예방이 요법으로 간주될 수 있기 때문에 "예방성으로 유효량"일 수 있다.

[0156] 용어 "치료하다", "치료", 또는 "치료하기"는, 본원에 사용된 경우에, *예를 들면*, 질환 또는 병태의 중증도에서의 감소; 질환 과정의 지속기간에서의 감소; 질환 또는 병태와 연관된 하나 이상의 증상의 호전 또는 제거; 질환 또는 병태를 반드시 치유하지 않고, 질환 또는 병태를 가진 대상체에게 유익한 효과의 제공을 지칭한다. 본 용어는 또한 이들의 질환 또는 병태 또는 이들의 증상의 예방 또는 방지를 포함한다.

[0157] 용어 "업스트림"은 참조 뉴클레오티드 서열에 대해 5' 위치되는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0158] "벡터"는 숙주 세포에 핵산의 클로닝 및/또는 전달을 위한 임의의 비히클을 지칭한다. 벡터는 또 다른 핵산 세그먼트가 부착된 세그먼트의 복제를 일으키기 위해 부착될 수 있는 레플리콘일 수 있다. "레플리콘"은 *생체내* 자율 복제 단위체로서 기능하는, *즉*, 이의 자체 제어 하에서 복제할 수 있는 임의의 유전적 요소 (*예를 들면*, 플라스미드, 파지, 코스미드, 염색체, 바이러스)를 지칭한다. 용어 "벡터"는 *시험관내*, *생체외* 또는 *생체내* 세포에 핵산을 도입하기 위하여 양쪽 바이러스성 및 비바이러스성 비히클을 포함한다. 예를 들어, 플라스미드, 변형된 진핵 바이러스, 또는 변형된 박테리아성 바이러스를 포함하는 다수의 벡터는 알려지고 당업계에서 사용된다. 적합한 벡터에 폴리뉴클레오티드의 삽입은 상보적 응집 말단을 갖는 선정된 벡터에 적절한 폴리뉴클레오티드 단편을 결찰시킴으로써 성취될 수 있다.

[0159] 벡터는 벡터를 편입한 세포의 선택 또는 식별을 제공하는 선택가능한 마커 또는 리포터를 인코딩하도록 조작될 수 있다. 선택가능한 마커 또는 리포터의 발현은 벡터에서 함유된 기타 코딩 영역을 편입 및 발현시키는 숙주 세포의 식별 및/또는 선택을 허용한다. 당업계에서 알려지고 사용된 선택가능한 마커 유전자의 예는 암피실린, 스트렙토마이신, 겐타마이신, 카나마이신, 하이그로마이신, 바이알라포스 제초제, 술폰아미드, 및 기타 등등에 내성을 제공하는 유전자; 및 표현형 마커로서 사용되는 유전자, *즉*, 안토시아닌 조절 유전자, 이소펜타닐 트랜스퍼라제 유전자, 및 기타 등등을 포함한다. 당업계에서 알려지고 사용된 리포터의 예는 루시퍼라제 (Luc), 녹색 형광성 단백질 (GFP), 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제 (CAT), β-갈락토시다제 (LacZ), β-글루쿠로니다제 (Gus), 및 기타 등등을 포함한다. 선택가능한 마커는 리포터인 것으로 또한 간주될 수 있다.

[0160] ***II. 사용 방법***

[0161] *헌팅턴병 치료하기*

[0162] 일부 양태에서, 본 개시내용은 miR-485 (miRNA 억제제)를 억제시키는 화합물을 대상체에게 투여함으로써 헌팅턴병 치료를 필요로 하는 대상체에서 치료 방법을 제공한다. 일부 양태에서, 대상체는 투여 전에 이노성, 우울증,

불수의 운동, 협응 불량, 새로운 정보 학습 또는 결정 장애, 제어되지 않는 움직임, 감정적 문제, 및 사고 능력(인지)의 상실 중 하나 이상의 특징을 나타낸다. 일부 양태에서, 대상체는, 투여 후, 헌팅턴병의 하나 이상의 특징에서의 개선을 나타낸다. 일부 양태에서, 개선은 투여에 앞서 특징과 비교하여 적어도 약 1.5 배, 적어도 약 2 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 5 배, 적어도 약 6 배, 적어도 약 7 배, 적어도 약 8 배, 적어도 약 9 배, 또는 적어도 약 10 배이다.

[0163] *SIRT1 조절*

[0164] 일부 양태에서, 헌팅턴병은 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 감소된 수준과 연관된다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 대상체에서 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0165] NAD-의존적 데아세틸라제 시르투인-1로서 또한 알려진, 시르투인 1 (SIRT1)은 인간에서 *SIRT1* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. *SIRT1* 유전자는 인간에서 염색체 10에 위치된다 (GenBank 수탁 번호 NC_000010.11의 뉴클레오티드 67,884,656 내지 67,918,390, 더하기 가닥 배향). *SIRT1* 유전자, 및 이의 인코딩된 단백질의 동의어는 알려지고 "조절 단백질 SIR2 동족체 1", "침묵 교배-유형 정보 조절 2 동족체 1", "SIR2", "SIR2-유사 단백질 1", "SIR2L1", "SIR2알파", "시르투인 유형 1", "hSIRT1", 또는 "hSIR2"를 포함한다.

[0166] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는, 인간 SIRT1 단백질의 적어도 2개 알려진 아이소폼이 있다. SIRT1 아이소폼 1 (UniProt 식별자: Q96EB6-1)은 747개 아미노산으로 이루어지고 정규 서열 (서열번호: 31)로서 선정되었다. SIRT1 아이소폼 2 ("델타-엑손8로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q96EB6-2)는 561개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 454-639: 누락 (서열번호: 32). 하기 표 1은 2개 SIRT1 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 1. SIRT1 단백질 아이소폼

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

[0167]

[0168] 본원에 사용된 경우에, 용어 "SIRT1"은 세포에 의해 자연적으로 발현되는 SIRT1의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 SIRT1 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 SIRT1 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 SIRT1 아이소폼 1 및 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 양쪽 아이소폼 1 및 아이소폼 2는 본원에 "SIRT1"로서 집합적으로 지칭된다.

[0169] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체에서 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 또는 적어도 약 300% 만큼 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0170] 어느 하나의 이론에 얽매이지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485, 예를 들면, miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킨다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다.

[0171] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체에서 miR-485-3p 발현)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100% 만큼 miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킨다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체에서 miR-485-5p 발현)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100% 만큼 miR-485-5p의 발현 및/또는 활성을 감소시킨다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체에서 miR-485-3p 및 miR-485-5p 발현)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100% 만큼 양쪽 miR-485-3p 및 miR-485-5p의 발현 및/또는 활성을 감소시킨다. 일부 양태에서, miR-485-3p 및/또는 miR-485-5p의 발현은 miR-485 억제제의 투여 후 완전히 억제된다.

[0172] 본원에 기재된 경우에, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 대상체에게 투여된 경우 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 비정상 (*예를 들면,* 감소된) 수준과 연관된 헌팅턴병 치료를 필요로 하는 대상체에서 치료 방법을 제공한다.

[0173] *CD36 조절*

[0174] 일부 양태에서, 헌팅턴병은 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 감소된 수준과 연관된다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자 발현을 필요로 하는 대상체에서 이 발현을 증가시킨다.

[0175] 클러스터 결정인자 36 (CD36)은 혈소판 당단백질 4로서 또한 알려지고, 인간에서 *CD36* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. *CD36* 유전자는 염색체 7 (GenBank 수탁 번호 NC_000007.14의 뉴클레오티드 80,602,656 내지 80,679,277, 더하기 가닥 배향)에 위치된다. *CD36* 유전자, 및 이의 인코딩된 단백질의 동의어는 알려지고 "혈소판 당단백질 IV", "지방산 트랜스로카제", "스캐빈저 수용체 클래스 B 구성원 3", "당단백질 88", "당단백질 IIIb", "당단백질 IV", "트롬보스폰딘 수용체", "GPIIIB", "PAS IV", "GP3B", "GPIV", "FAT", "GP4", "BDPLT10", "SCARB3", "CHDS7", "PASIV", 또는 "PAS-4"를 포함한다.

[0176] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는, 인간 CD36 단백질의 적어도 4개 알려진 아이소폼이 있다. CD36 아이소폼 1 (UniProt 식별자: P16671-1)은 472개 아미노산으로 이루어지고 정규 서열 (서열번호: 36)로서 선정되었다. CD36 아이소폼 2 ("ex8-del"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: P16671-2)는 288개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 274-288: SIYAVFESDVNLKGI → ETCVHFTSSFSVCKS; 및 289-472: 누락 (서열번호: 37). CD36 아이소폼 3 ("ex6-7-del"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: P16671-3)은 433개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 234-272: 누락 (서열번호: 38). CD36 아이소폼 4 ("ex4-del"로서 또한 알려짐 (UniProt 식별자: P16671-4)는 412개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 144-203: 누락 (서열번호: 39). 하기 표 2는 4개 CD36 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 2. CD36 단백질 아이소폼

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

[0177]

[0178] 본원에 사용된 경우에, 용어 "CD36"은 세포에 의해 자연적으로 발현되는 CD36의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 CD36 아이소폼 4의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 CD36 아이소폼 1 및 아이소폼 2, 및/또는 아이소폼 3 및 아이소폼 4, 및/또는 아이소폼 1 및 아이소폼 4, 및/또는 아이소폼 2 및 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 모든 CD36 아이소폼의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 아이소폼 1, 아이소폼 2, 아이소폼 3, 및 아이소폼 4는 본원에 "CD36"으로서 집합적으로 지칭된다.

[0179] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체에서 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 발현)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 또는 적어도 약 300% 만큼 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0180] 어느 하나의 이론에 얽매이지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 발현을 증가시킨다. miR-485의 2개 알려진 성숙한 형태: miR-485-3p 및 miR-485-5p가 있다. 본원에 개시된 경우에, 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 miR-485-5p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 miR-485-3p 및 miR-485-5p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다.

[0181] *PGC1 조절*

[0182] 일부 양태에서, 헌팅턴병은 PGC-1α 단백질 및/또는 PGC-1α 유전자의 감소된 수준과 연관된다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 PGC-1α 단백질 및/또는 PGC-1α 유전자 발현을 필요로 하는 대상체에서 이 발현을 증가시킨다.

[0183] PPARG 보조활성자 1 알파 또는 리간드 효과 조절자-6으로서 또한 알려진, 퍼옥시좀 증식자-활성화된 수용체 감마 보조활성자 1-알파 (PGC1-α)는 인간에서 *PPARGC1A* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. *PGC1-α* 유전자는 인간에서 염색체 4 (GenBank 수탁 번호 NC_000004.12의 뉴클레오티드 23,792,021 내지 24,472,905, 더하기 가

닥 배향)에 위치된다. *PGC1-α* 유전자, 및 이의 인코딩된 단백질의 동의어는 알려지고 "PPARGC1A", "LEM6", "PGC1", "PGC1A", "PGC-1v", "PPARGC1, "PGC1알파", 또는 "PGC-1(알파)"을 포함한다.

[0184] 대안적 스플라이싱에서 비롯하는, 인간 PGC1-α 단백질의 적어도 9개 알려진 아이소폼이 있다. PGC1-α 아이소폼 1 (UniProt 식별자: Q9UBK2-1)은 798개 아미노산으로 이루어지고 정규 서열 (서열번호: 40)로서 선정되었다. PGC1-α 아이소폼 2 ("아이소폼 NT-7a"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-2)는 271개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 269-271: DPK → LFL; 272-798: 누락 (서열번호: 41). PGC1-α 아이소폼 3 ("아이소폼 B5"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-3)은 803개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQ (서열번호: 42). PGC1-α 아이소폼 4 ("아이소폼 B4"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-4)는 786개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF (서열번호: 43). PGC1-α 아이소폼 5 ("아이소폼 B4-8a"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-5)는 289개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF; 294-301: LTPPTTPP → VKTNLISK; 302-798: 누락 (서열번호: 44). PGC1-α 아이소폼 6 ("아이소폼 B5-NT"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-6)은 276개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQ; 269-271: DPK → LFL; 272-798: 누락 (서열번호: 45). PGC1-α 아이소폼 7 ("B4-3ext"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-7)은 138개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-18: MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF; 144-150: LKKLLLA → VRTLPTV; 151-798: 누락 (서열번호: 46). PGC1-α 아이소폼 8 ("아이소폼 8a"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-8)은 301개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 294-301: LTPPTTPP → VKTNLISK; 302-798: 누락 (서열번호: 47). PGC1-α 아이소폼 9 ("아이소폼 9" 또는 "L-PGG-1알파"로서 또한 알려짐) (UniProt 식별자: Q9UBK2-9)는 671개 아미노산으로 이루어지고 다음과 같이 정규 서열과 상이하다: 1-127: 누락 (서열번호: 48). 하기 표 3은 9개 PGC1-α 아이소폼에 대하여 서열을 제공한다.

표 3. PGC1-α 단백질 아이소폼

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

[0185]

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

[0186]

[0187] 본원에 사용된 경우에, 용어 "PGC1-α"는 세포에 의해 자연적으로 발현되는 PGC1-α의 임의의 변이체 또는 아이소폼을 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 1의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 2의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 3의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 4의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 5의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 6의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 7의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 8의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 9의 발현을 증가시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 PGC1-α 아이소폼 1, 아이소폼 2, 아이소폼 3, 아이소폼 4, 아이소폼 5, 아이소폼 6, 아이소폼 7, 아이소폼 8, 및 아이소폼 9의 발현을 증가시킬 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 양쪽 아이소폼 1 및 아이소폼 2는 본원에 "PGC1-α"로서 집합적으로 지칭된다.

[0188] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 참조 (*예를 들면*, miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 상응하는 대상체에서 PGC1-α 단백질 및/또는 PGC1-α 유전자의 발현)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 또는 적어도 약 300% 만큼 PGC1-α 단백질

및/또는 PGC1-α 유전자의 발현을 증가시킨다.

[0189] 어느 하나의 이론에 얽매이지 않고, 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 miR-485의 발현 및/또는 활성을 감소시킴으로써 PGC1-α 단백질 및/또는 PGC1-α 유전자의 발현을 증가시킨다. miR-485의 2개 알려진 성숙한 형태: miR-485-3p 및 miR-485-5p가 있다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 miR-485-3p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 miR-485-5p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 miR-485-3p 및 miR-485-5p의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다.

[0190] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 비정상 (*예를 들면,* 감소된) 수준과 연관된 헌팅턴병의 하나 이상의 증상을 개선할 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 비정상 (*예를 들면,* 감소된) 수준과 연관된 헌팅턴병의 하나 이상의 증상을 개선할 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 PGC1-α 단백질 및/또는 PGC1-α 유전자의 비정상 (*예를 들면,* 감소된) 수준과 연관된 헌팅턴병의 하나 이상의 증상을 개선할 수 있다. 그러한 증상의 비-제한 예는 하기 기재된다.

[0191] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 대상체에서 헌팅턴병의 하나 이상의 증상의 발생 또는 발생의 위험을 감소시킨다.

[0192] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 기억 상실)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 기억 상실을 감소시킨다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 기억 상실 또는 기억 상실의 발생의 위험을 감소시킨다.

[0193] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 기억 유지)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 기억 유지를 개선시킨다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 기억 유지를 개선 및/또는 증가시킨다.

[0194] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 공간 작업 기억)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 공간 작업 기억을 개선시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "공간 작업 기억"은 짧은 시기 동안 작업 기억에서 공간 정보 활동을 유지하는 능력을 지칭한다. 일부 양태에서, 공간 작업 기억은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 개선 및/또는 증가된다.

[0195] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 식세포작용적 활성)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 (*예를 들면,* CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 발현을 증가시킴으로써) 스캐빈저 세포 (*예를 들면,* 아교 세포)의 식세포작용적 활성을 증가시킨다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도를 증가시킨다.

[0196] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크 부하)와 비교하여 (*예를 들면,* CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 발현을 증가시킴으로써) 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크 부하를 감소시킨다. 본원에 사용된 경우에, "아밀로이드 베타 플라크"는 몇몇 아밀로이드 베타 펩티드의 큰 응집체 및 작은 회합을 포함하는 아밀로이드 베타의 이상한 침착의 모든 형태를 지칭하고 아밀로이드 베타 펩티드의 임의의 변이형을 함유할 수 있다. 아밀로이드 베타 (Aβ) 플라크는 뉴런성 변화, *예를 들면,* 시냅스 조성, 시냅스 형상, 시냅스 밀도에서의 이상, 시냅스성 전도도의 손실, 수상돌기 직경에서의 변화, 수상돌기 길이에서의 변화, 척추 밀도에서의 변화, 척추 영역에서의 변화, 척추 길이에서의 변화, 또는 척추 머리 직경에서의 변화를 야기시키는 것으로 알려진다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 아밀로이드 베타 플라크 부하를 감소시킨다.

[0197] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 신경발생)와 비교하여 (*예를 들면,* CD36 단백질 및/또는 CD36 유전자의 발현을 증가시킴으로써) 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 신경발생을 증가시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "신경발생"은 뉴런이 창출되는 공정을 지칭한다. 신경발생은 신경 줄기 및 전구 세포의 증식, 이들 세포의 새로운 신경 세포 유형으로의 분화, 뿐만 아니라 새로운 세포의 이동 및 생존을 포괄한다. 본 용어는 정상 발달 동안, 주로 출생전 및 주산기 발달 동안 발생하는 때 신경발생, 뿐만 아니라 질환, 손상 또는 치료적 개입 이후 발생하는 신경 세포 재생을 포함하기 위한 것이다. 성인 신경발생은 또한 "신경" 또는 "신경" 재생으로 명명된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 신경발생을 증가시킨다.

[0198] 일부 양태에서, 신경발생 증가하기 및/또는 유도하기는 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 증식, 분화, 이동, 및/또는 생존과 연관된다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 대상체에서 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증식을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증식은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 증가된다. 일부 양태에서, 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 생존은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 증가된다.

[0199] 일부 양태에서, 신경발생 증가하기 및/또는 유도하기는 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 수와 연관된다. 특정 양태에서, 신경 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 수는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 증가된다.

[0200] 일부 양태에서, 신경발생 증가하기 및/또는 유도하기는 증가된 축삭돌기, 수상돌기, 및/또는 시냅스 발달과 연관된다. 특정 양태에서, 축삭돌기, 수상돌기, 및/또는 시냅스 발달은 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 증가된다.

[0201] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도를 증가시킨다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약

30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추 밀도를 증가시킨다.

[0202] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실을 감소시킨다. 특정 양태에서, miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 뉴런의 수지상 척추의 손실을 감소시킨다.

[0203] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 신경염증)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 (*예를 들면,* SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킴으로써) 신경염증을 감소시킨다. 특정 양태에서, miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 신경염증을 감소시킨다. 일부 양태에서, 감소된 신경염증은 염증성 매개체의 감소된 양을 생산하는 아교 세포를 포함한다. 따라서, 특정 양태에서, 헌팅턴병을 앓는 대상체에게 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 아교 세포에 의해 생산된 염증성 매개체의 양을 감소시킨다. 일부 양태에서, 아교 세포에 의해 생산된 염증성 매개체는 TNF-α를 포함한다. 일부 양태에서, 염증성 매개체는 IL-1β를 포함한다. 일부 양태에서, 아교 세포에 의해 생산된 염증성 매개체는 양쪽 TNF-α 및 IL-1β를 포함한다.

[0204] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 (*예를 들면,* SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 발현을 증가시킴으로써) 자가포식을 증가시킨다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "자가포식"은 세포 항상성을 유지하기 위해 수명이 긴 단백질, 단백질 응집체, 뿐만 아니라 손상된 세포소기관의 분해를 담당하는 세포성 스트레스 반응 및 생존 경로를 지칭한다. 당연히, 자가포식의 이상은 많은 신경퇴행성 질환 예컨대 헌팅턴병을 포함하는 다수의 질환과 연관되었다. 일부 양태에서, 헌팅턴병을 앓는 대상체에게 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 자가포식을 증가시킨다.

[0205] 당업계에서 알려지는 바와 같이, 헌팅턴병을 앓는 대상체는 특정 운동 및/또는 비-운동 증상을 나타낸다. 가령, 헌팅턴병과 연관된 운동 증상의 비-제한 예는 휴식시 떨림, 자발적 움직임의 감소 (서동증), 불수의 운동 (무도병), 경직, 자세 불안정, 보행 동결, 필기 장애 (소서증), 감소된 안면 표정, 움직임의 시작 지연 (운동불능증), 운동 비지속성, 어눌한 말투, 삼키기 어려움, 및 제어되지 않는 빠른 움직임을 포함한다. 헌팅턴병과 연관된 비-운동 증상의 비-제한 예는 자율신경계 기능장애, 신경정신과적 문제 (기분, 인지, 행동, 또는 사고 변화), 감각 변화 (특히 변화된 후각), 및 수면 장애를 포함한다.

[0206] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 상응하는 운동 증상)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 하나 이상의 운동 증상을 개선한다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대

상체에서 하나 이상의 운동 증상을 개선한다.

[0207] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 상응하는 비-운동 증상)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 하나 이상의 비-운동 증상을 개선한다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 하나 이상의 비-운동 증상을 개선한다.

[0208] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 시냅스성 기능)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 시냅스성 기능을 개선한다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "시냅스성 기능"은 전기적 또는 화학적 신호를 또 다른 세포 (*예를 들면,* 뉴런)에 돌려주기 위한 세포 (*예를 들면,* 뉴런)의 시냅스의 능력을 지칭한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 이상만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 시냅스성 기능을 개선한다.

[0209] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* 투여하기에 앞서 대상체에서 시냅스성 기능의 상실)와 비교하여 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 시냅스성 기능의 상실을 예방, 지연, 및/또는 호전시킬 수 있다. 일부 양태에서, miR-485 억제제 투여하기는 참조 (*예를 들면,* miR-485 억제제의 투여를 받지 않았던 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 만큼 헌팅턴병을 앓는 대상체에서 시냅스성 기능의 상실을 예방, 지연, 및/또는 호전시킨다.

[0210] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 당업계에서 알려진 임의의 적합한 루트에 의해 투여될 수 있다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 괄호로, 근육내로, 피하로, 안과, 정맥내로, 복강내로, 피내로, 안와내로, 뇌내로, 두개내로, 뇌실내로, 척수내로, 뇌실내, 척수강내로, 인트라시스테말리, 낭내로, 종양내로, 또는 이들의 조합으로 투여된다.

[0211] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 하나 이상의 추가의 치료적 제제와 조합으로 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 추가의 치료적 제제 및 miR-485 억제제는 동시에 투여된다. 특정 양태에서, 추가의 치료적 제제 및 miR-485 억제제는 순차적으로 투여된다.

[0212] 일부 양태에서, 추가의 치료적 제제는 운동 또는 비-운동 증상을 감소시킨다. 일부 양태에서, 추가의 치료적 제제는 움직임을 제어하는 약물 (*예를 들면* 테트라베나진), 항정신병 약물 (*예를 들면* 할로페리돌, 리스페리돈, 올란자핀 및 퀘티아핀), 항우울제 (*예를 들면* 시탈로프람, 플루옥세틴, 및 세르트랄린), 기분-안정화 약물 (*예를 들면* 디발프로엑스, 카르바마제핀, 및 라모트리진), 만타딘, 레베티라세탐, 클로나제팜, 또는 이들의 조합이다.

[0213] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 다른 치료 (*예를 들면* 테트라베나진, 할로페리돌, 시탈로프람, 디발프로엑스, 클로나제팜, 등)에 반응하지 못한 대상체에서 헌팅턴병을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0214] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제의 투여는 임의의 역효과를 초래하지 않는다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 대상체에게 투여된 때 체중에 불리하게 영향을 주지 않는다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 대상체에게 투여된 때 증가된 사망률을 초래하지 않거나 병리학적 이상을 야기시키지 않는다.

[0215] ***III. miRNA-485 억제제***

[0216] miR-485 활성을 억제시킬 수 있는 화합물 (miR-485 억제제)이 본원에 개시된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 적어도 하나의 miR-485 결합 부위를 포함하는 뉴클레오티드 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 뉴클레오티드 분자는 단백질을 인코딩하지 않는다. 본원에 기재된 경우에, 일부 양태

에서, miR-485 결합 부위는 표적 miRNA 핵산 서열 (즉, miR-485)에 적어도 부분적으로 상보적이어서, miR-485 억제제는 miR-485 핵산 서열에 하이브리드화한다.

[0217] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR 억제제의 miR-485 결합 부위는 miR-485의 핵산 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 상보성을 갖는다. 특정 양태에서, miR-485 결합 부위는 miR-485의 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0218] miR-485 헤어핀 전구체는 양쪽 miR-485-5p 및 miR-485-3p를 생성할 수 있다. 본 개시내용의 맥락에서 "miR-485"는 달리 특정되지 않는 한 양쪽 miR-485-5p 및 miR-485-3p를 포괄한다. 인간 성숙한 miR-485-3p는 서열 5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3' (서열번호: 1; miRBase 수탁 번호 MIMAT0002176)를 갖는다. miR-485-3p 5'-UCAUACA-3' (서열번호: 49)의 5' 말단 하위서열은 씨드 서열이다. 인간 성숙한 miR-485-5p는 서열 5'-AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC-3' (서열번호: 33; miRBase 수탁 번호 MIMAT0002175)를 갖는다. miR-485-5p 5'-GAGGCUG-3' (서열번호: 50)의 5' 말단 하위서열은 씨드 서열이다.

[0219] 당업자에게 명백할 바와 같이, 인간 성숙한 miR-485-3p는 다른 종의 것에 상당한 서열 유사성을 갖는다. 가령, 마우스 성숙한 miR-485-3p는 5'- 및 3'- 말단의 각각에서 단일 아미노산에 의해 인간 성숙한 miR-485-3p와 상이하다 (즉, 5'-말단에서 잉여 "A" 및 3'-말단에서 누락 "C"를 갖는다). 마우스 성숙한 miR-485-3p는 하기 서열: 5'-AGUCAUACACGGCUCUCCUCUC-3' (서열번호: 34; miRBase 수탁 번호 MIMAT0003129; 밑줄친 부문은 인간 성숙한 miR-485-3p와 중복에 해당함)을 갖는다. 마우스 성숙한 miR-485-5p에 대한 서열은 인간의 것과 동일하다: 5'-agaggcuggccgugaugaauuc-3' (서열번호: 33; miRBase 수탁 번호 MIMAT0003128). 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 양쪽 인간 및 마우스로부터 miR-485-3p 및/또는 miR-485-5p에 결합할 수 있다.

[0220] 일부 양태에서, miR-485 결합 부위는 miR-485-3p의 서열 (또는 이의 하위서열)에 상보적 (*예를 들면*, 완전히 상보적)인 단일-가닥 폴리뉴클레오티드 서열이다. 일부 양태에서, miR-485-3p 하위서열은 씨드 서열을 포함한다. 따라서, 특정 양태에서, miR-485 결합 부위는 서열번호: 49에서 제시된 핵산 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 상보성을 갖는다. 특정 양태에서, miR-485 결합 부위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 제외하고 miR-485-3p에 상보적이다. 추가 양태에서, miR-485 결합 부위는 서열번호: 1에서 제시된 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0221] 일부 양태에서, miR-485 결합 부위는 miR-485-5p의 서열 (또는 이의 하위서열)에 상보적 (*예를 들면*, 완전히 상보적)인 단일-가닥 폴리뉴클레오티드 서열이다. 일부 양태에서, miR-485-5p 하위서열은 씨드 서열을 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 결합 부위는 서열번호: 50에서 제시된 핵산 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 상보성을 갖는다. 특정 양태에서, miR-485 결합 부위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 제외하고 miR-485-5p에 상보적이다. 추가 양태에서, miR-485 결합 부위는 서열번호: 35에서 제시된 핵산 서열에 완전히 상보적이다.

[0222] miRNA의 씨드 영역은 표적 mRNA와 단단한 이중체를 형성한다. 대부분의 miRNA는 표적 mRNA의 3' 미번역된 영역(UTR)과 불완전하게 염기-짝짓기하고, miRNA의 5' 근위 "씨드" 영역은 대부분의 짝짓기 특이성을 제공한다. 임의의 이론에 얽매이지 않고, (씨드 서열을 포괄하는) 처음 9개 miRNA 뉴클레오티드가 더 큰 특이성을 제공하는 반면 이 영역의 miRNA 리보뉴클레오티드 3'가 더 낮은 서열 특이성을 허용하고 그래서 더 높은 정도의 미스매칭된 염기 짝짓기를 용인한다고 믿어지고, 위치 2-7이 가장 중요하다. 따라서, 본 개시내용의 특이적 양태에서, miR-485 결합 부위는 miR-485의 씨드 서열의 전체 길이에 걸쳐 완전히 상보적 (즉, 100% 상보적)인 하위서열을 포함한다.

[0223] 본 개시내용의 맥락에서 사용될 수 있는 miRNA 서열 및 miRNA 결합 서열은, 비제한적으로, 본원에 제공된 서열 목록에서 서열들의 전부 또는 한 부문, 뿐만 아니라 miRNA 전구체 서열, 또는 이들 miRNA의 하나 이상의 보체를 포함한다. 이름으로 특정 miRNA 또는 miRNA 결합 부위를 포함하는 본 개시내용의 임의의 양태는 서열이 특정된 miRNA 서열 또는 이의 상보적 서열의 성숙한 서열에 적어도 약 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 71%, 적어도 약 72%, 적어도 약 73%, 적어도 약 74%, 적어도 약 75%, 적어도 약 76%, 적어도 약 77%, 적어도 약 78%, 적어도 약 79%, 적어도 약 80%, 적어도 약 81%, 적어도

약 82%, 적어도 약 83%, 적어도 약 84%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 miRNA 또는 이의 상보적 서열을 포함하도록 또한 고려된다.

[0224] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 결합 서열은, 변형된 서열이 miR-485에 여전히 특이적으로 결합할 수 있는 한, 본원에 제공된 서열 목록에서 그들 서열의 5', 3', 또는 양쪽 5' 및 3' 말단에서 추가의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 결합 서열은, 변형된 서열이 miR-485에 여전히 특이적으로 결합할 수 있는 한, 제공된 서열 목록에서 그들 서열에 관하여 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상 뉴클레오티드에서 상이할 수 있다.

[0225] miRNA 결합 분자 또는 miRNA에 관하여 본원에 논의된 임의의 방법 및 조성물이 합성 miRNA 결합 분자에 관하여 구현될 수 있음이 또한 구체적으로 고려된다. 본 개시내용에서 RNA 서열에 관련된 본 개시내용이 상응하는 DNA 서열에 동일하게 적용가능함이 또한 이해된다.

[0226] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA-485 억제제는 뉴클레오티드 서열의 5'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, miRNA-485 억제제는 뉴클레오티드 서열의 3'에서 적어도 1 뉴클레오티드, 적어도 2 뉴클레오티드, 적어도 3 뉴클레오티드, 적어도 4 뉴클레오티드, 적어도 5 뉴클레오티드, 적어도 6 뉴클레오티드, 적어도 7 뉴클레오티드, 적어도 8 뉴클레오티드, 적어도 9 뉴클레오티드, 적어도 10 뉴클레오티드, 적어도 11 뉴클레오티드, 적어도 12 뉴클레오티드, 적어도 13 뉴클레오티드, 적어도 14 뉴클레오티드, 적어도 15 뉴클레오티드, 적어도 16 뉴클레오티드, 적어도 17 뉴클레오티드, 적어도 18 뉴클레오티드, 적어도 19 뉴클레오티드, 또는 적어도 20개 뉴클레오티드를 포함한다.

[0227] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 약 6 내지 약 30개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 7개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 8개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 9개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 길이가 10개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 11개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 12개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 13개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 14개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 길이가 15개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 16개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 길이가 17개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 18개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 19개 뉴클레오티드이다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 20개 뉴클레오티드이다. 추가 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 길이가 21개 뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 길이가 22개 뉴클레오티드이다.

[0228] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 서열번호: 2 내지 30으로부터 선택된 서열에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 서열번호: 2 내지 30으로 이루어지는 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 뉴클레오티드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 미스매치들을 임의로 포함할 수 있다.

[0229] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-UGUAUGA-3' (서열번호: 2), 5'-GUGUAUGA-3' (서열번호: 3), 5'-CGUGUAUGA-3' (서열번호: 4), 5'-CCGUGUAUGA-3' (서열번호: 5), 5'-GCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 6), 5'-AGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 7), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 8), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 9), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 10), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 11), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 12), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 13), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 14), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (서열번호: 15)를 포함한다.

[0230] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-UGUAUGAC-3' (서열번호: 16), 5'-GUGUAUGAC-3' (서열번호: 17), 5'-CGUGUAUGAC-3' (서열번호: 18), 5'-CCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 19), 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 20), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 21), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 22), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 23), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 24), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 25), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 26), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 27), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)를 갖는다.

[0231] 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-TGTATGA-3' (서열번호: 62), 5'-GTGTATGA-3' (서열번호: 63), 5'-CGTGTATGA-3' (서열번호: 64), 5'-CCGTGTATGA-3' (서열번호: 65), 5'-GCCGTGTATGA-3' (서열번호: 66), 5'-AGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 67), 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 68), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 69), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 70), 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 71), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 72), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 73), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 74), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (서열번호: 75); 5'-TGTATGAC-3' (서열번호: 76), 5'-GTGTATGAC-3' (서열번호: 77), 5'-CGTGTATGAC-3' (서열번호: 78), 5'-CCGTGTATGAC-3' (서열번호: 79), 5'-GCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 80), 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 81), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 82), 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 83), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 84), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 85), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 86), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 87), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 89)를 포함한다.

[0232] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miRNA 억제제 (즉, miR-485 억제제)는 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)에 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)에 적어도 90% 유사성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 양태에서, miRNA 억제제는 1개 치환 또는 2개 치환을 가진 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)를 포함한다. 특정 양태에서, miRNA 억제제는 뉴클레오티드 서열 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28) 또는 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (서열번호: 88)를 포함한다.

[0233] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 35, 또는 62 내지 89 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 추가의 핵산, C 말단에서 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 또는 적어도 5개 추가의 핵산, 또는 양쪽을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 35 또는 62 내지 89 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 1개 추가의 핵산 및/또는 C 말단에서 1개 추가의 핵산을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 35 또는 62 내지 89 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 1 또는 2개 추가의 핵산 및/또는 C 말단에서 1 또는 2개 추가의 핵산을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 본원에 개시된 서열, 예를 들면, 서열번호: 2 내지 35 또는 62 내지 89 중 어느 하나, 그리고 N 말단에서 1 내지 3개 추가의 핵산 및/또는 C 말단에서 1 내지 3개 추가의 핵산을 포함한다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 29)를 포함한다.

[0234] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는 1개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 추가 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 적어도 2개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 억제제는 3개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 4개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 5개 miR-485 결합 부위를 포함한다. 특정 양태에서, miR-485 이니비터는 6개 이상의 miR-485 결합 부위를 포함한다. 일부 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 동일하다. 일부 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 상이하다. 일부 양태에서, miR-485 결합 부위 중 적어도 하나는 상이하다. 일부 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 miR-485-3p 결합 부위이다. 다른 양태에서, 모든 miR-485 결합 부위는 miR-485-5p 결합 부위이다. 추가 양태에서, miR-485 억제제는 적어도 하나의 miR-485-3p 결합 부위 및 적어도 하나의 miR-485-5p 결합 부위를 포함한다.

[0235] *III.a. 화학적으로 변형된 폴리뉴클레오티드*

[0236] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오시드 및/또는 뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드가 화학적으로 변형되는 경우 폴리뉴클레오티드는 "변형된 폴리뉴클레오티드"로서 지칭될 수 있다.

[0237] "뉴클레오시드"는 유기 염기 (*예를 들면,* 퓨린 또는 피리미딘) 또는 이의 유도체 (본원에 "핵염기"로서 또한 지칭됨)와 조합으로 당 분자 (*예를 들면,* 펜토스 또는 리보스) 또는 이의 유도체를 함유하는 화합물을 지칭한다. "뉴클레오티드"는 포스페이트 기를 포함하는 뉴클레오시드를 지칭한다. 변형된 뉴클레오티드는 하나 이상의 변형된 또는 비-천연 뉴클레오시드를 포함하기 위해 임의의 유용한 방법으로, 예컨대, 예를 들어, 화학적으로, 효소적으로, 또는 재조합으로 합성될 수 있다.

[0238] 폴리뉴클레오티드는 결합된 뉴클레오시드의 한 영역 또는 영역들을 포함할 수 있다. 그러한 영역은 가변 백본 연결을 가질 수 있다. 연결은 표준 포스포디에스테르 연결일 수 있고, 이 경우에 폴리뉴클레오티드는 뉴클레오티드의 영역을 포함할 것이다.

[0239] 본원에 개시된 변형된 폴리뉴클레오티드는 다양한 별개 변형을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 변형된 폴리뉴클레오티드는 1, 2개, 또는 그 이상의 (임의로 상이한) 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드 변형을 함유한다. 일부 양태에서, 변형된 폴리뉴클레오티드는, 미변형된 폴리뉴클레오티드에 비교된 경우, 하나 이상의 바람직한 특성, *예를 들면,* 개선된 열적 또는 화학적 안정성, 감소된 면역원성, 감소된 분해, 표적 마이크로RNA에 대한 증가된 결합, 다른 마이크로RNA 또는 다른 분자에 대한 감소된 비-특이적 결합을 나타낼 수 있다.

[0240] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 화학적으로 변형된다. 본원에 사용된 경우에, 폴리뉴클레오티드에 관하여, 용어 "화학적 변형" 또는, 적절한 경우, "화학적으로 변형된"은, 비제한적으로, 이의 핵염기, 당, 백본, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 그들의 위치, 패턴, 퍼센트 또는 집단 중 하나 이상에서 아데노신 (A), 구아노신 (G), 우리딘 (U), 티미딘 (T) 또는 시티딘 (C) 리보- 또는 데옥시리보뉴클레오시드에 관한 변형을 지칭한다.

[0241] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 동일한 뉴클레오시드 유형의 전부 또는 임의의 것의 균일한 화학적 변형 또는 동일한 뉴클레오시드 유형의 전부 또는 임의의 것에서 동일한 시작 변형의 하향 적정에 의해 생산된 변형의 집단, 또는 무작위 편입만을 가진 동일한 뉴클레오시드 유형의 모든 임의의 것의 화학적 변형의 측정된 퍼센트를 가질 수 있다 추가 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 전체 폴리뉴클레오티드 내내 동일한 뉴클레오시드 유형의 2, 3, 또는 4개의 균일한 화학적 변형을 가질 수 있다 (예컨대 모든 우리딘 및/또는 모든 시티딘, 등은 동일한 식으로 변형된다).

[0242] 변형된 뉴클레오티드 염기 짝짓기는 표준 아데닌-티민, 아데닌-우라실, 또는 구아닌-시토신 염기 쌍, 뿐만 아니라 비-표준 또는 변형된 염기를 포함하는 뉴클레오티드 및/또는 변형된 뉴클레오티드 사이 형성된 염기 쌍을 포괄하고, 여기서 수소 결합 주개 및 수소 결합 받개의 배열은 비-표준 염기와 표준 염기 사이 또는 2개 상보적 비-표준 염기 구조 사이 수소 결합을 허용한다. 그러한 비-표준 염기 짝짓기의 하나의 예는 변형된 핵염기 이노신과 아데닌, 시토신 또는 우라실 사이 염기 짝짓기이다. 염기/당 또는 링커의 임의의 조합은 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에 편입될 수 있다.

[0243] 숙련된 기술자는, 달리 언급되는 경우를 제외하고, 본원에서 제시된 폴리뉴클레오티드 서열이 대표적 DNA 서열에서 "T"를 인용할 것이지만 서열이 RNA를 나타내는 경우, "T"가 "U"에 대하여 치환될 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 본 개시내용의 TD는 RNA로서, DNA로서, 또는 양쪽 RNA 및 DNA 단위체를 포함하는 하이브리드 분자로서 투여될 수 있다.

[0244] 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 적어도 2개 (*예를 들면,* 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 18, 20개 또는 그 이상) 변형된 핵염기의 조합을 포함한다.

[0245] 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드에서 핵염기, 당, 백본 연결, 또는 이들의 임의의 조합은 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100% 만큼 변형된다.

[0246] *(i) 염기 변형*

[0247] 특정 양태에서, 화학적 변형은 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)에서 핵염기에 있

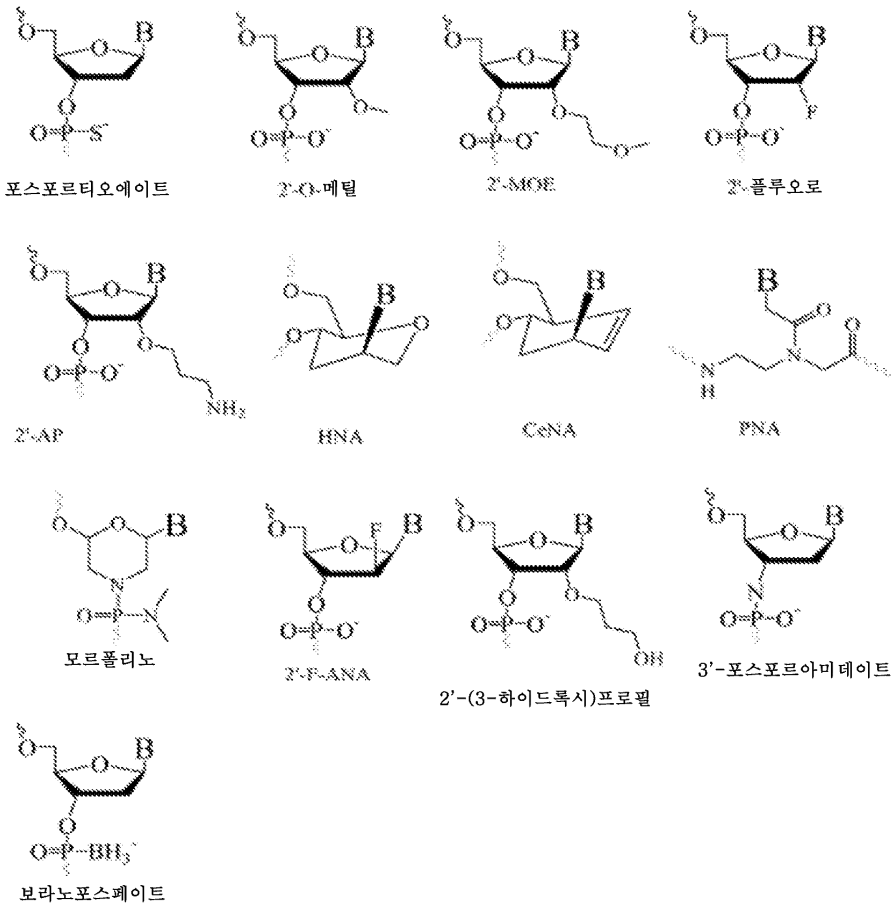
다. 일부 양태에서, 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오시드는 변형된 우리딘 (*예를 들면,* 슈도우리딘 (ψ), 2-티오우리딘 (s2U), 1-메틸-슈도우리딘 (m1ψ), 1-에틸-슈도우리딘 (e1ψ), 또는 5-메톡시-우리딘 (mo5U)), 변형된 시토신 (*예를 들면,* 5-메틸-시티딘 (m5C)) 변형된 아데노신 (예를 들면, 1-메틸-아데노신 (m1A), N6-메틸-아데노신 (m6A), 또는 2-메틸-아데닌 (m2A)), 변형된 구아노신 (*예를 들면,* 7-메틸-구아노신 (m7G) 또는 1-메틸-구아노신 (m1G)), 또는 이들의 조합이다.

[0248] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 특정한 변형에 대하여 균일하게 변형된다 (*예를 들면,* 완전히 변형된다, 전체 서열 내내 변형된다). 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는, 폴리뉴클레오티드 서열에서 모든 시토신 잔기가 5-메틸-시티딘 (m5C)으로 대체되는 것을 의미하는, 동일한 유형의 염기 변형, *예를 들면,* 5-메틸-시티딘 (m5C)으로 균일하게 변형될 수 있다. 비슷하게, 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오시드 예컨대 상기 제시된 것들의 임의의 것으로 대체에 의해 서열에서 존재하는 임의의 유형의 뉴클레오시드 잔기에 대하여 균일하게 변형될 수 있다.

[0249] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)는 적어도 2개 (*예를 들면,* 2, 3, 4개 또는 그 이상)의 변형된 핵염기의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*예를 들면,* miR-485 억제제)에서 핵염기의 한 유형의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%는 변형된 핵염기이다.

[0250] *(ii) 백본 변형*

[0251] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 억제제)는 뉴클레오시드 사이 임의의 유용한 연결을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 조성물에서 유용한, 백본 변형을 포함하는, 그러한 연결은, 비제한적으로 하기를 포함한다: 3'-알킬렌 포스포네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트, 알켄 함유 백본, 아미노알킬포스포르아미데이트, 아미노알킬포스포트리에스테르, 보라노포스페이트, $-CH_2-O-N(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-NH-CH_2-$, 키랄 포스포네이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌 (메틸이미노), 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌이미노 및 메틸렌히드라지노 백본, 모르폴리노 연결, $-N(CH_3)-CH_2-CH_2-$, 헤테로원자 인터뉴클레오시드 연결을 가진 올리고뉴클레오시드, 포스피네이트, 포스포르아미데이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로티오에이트 인터뉴클레오시드 연결, 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, PNA, 실록산 백본, 술파메이트 백본, 술피드 술폭시드 및 술폰 백본, 술포네이트 및 술폰아미드 백본, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 티오노포스포르아미데이트.



[0252]

[0253] 일부 양태에서, 상기 개시된 백본 연결의 존재는 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)의 분해에 대한 안정성 및 내성을 증가시킨다.

[0254] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에서 백본 연결의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%는 변형된다 (*예를 들면*, 이들의 전부는 포스포로티오에이트이다).

[0255] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에서 포함될 수 있는 백본 변형은 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 (PMO) 및/또는 포스포로티오에이트 (PS) 변형을 포함한다.

[0256] *(iii) 당 변형*

[0257] 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에 편입될 수 있는 변형된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 핵산의 당에서 변형될 수 있다. 일부 양태에서, 당 변형은 miR-485 핵산 서열에 miR-485 억제제의 결합의 친화성을 증가시킨다. miR-485 억제제에서 친화성-향상 뉴클레오티드 유사체, 예컨대 LNA 또는 2'-치환된 당 편입하기는 miR-485 억제제의 길이 및/또는 크기가 감소되게 할 수 있다.

[0258] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉*, miR-485 억제제)에서 뉴클레오티드의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%는 당 변형 (*예를 들면*, LNA)을 함유한다.

[0259] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22개 뉴클레오티드 단위체는 당 변형된다 (*예를 들면*, LNA).

[0260] 일반적으로, RNA는 당 그룹 리보스를 포함하고, 이는 산소를 갖는 5-원 고리이다. 예시적, 비-제한 변형된 뉴클

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

[0261] 리보스의 2' 하이드록실기 (OH)는 다수의 상이한 치환체로 변형 또는 대체될 수 있다. 2'-위치에서 예시적 치환은, 비제한적으로, H, 할로, 임의로 치환된 C_{1-6} 알킬; 임의로 치환된 C_{1-6} 알콕시; 임의로 치환된 C_{6-10} 아릴옥시; 임의로 치환된 C_{3-8} 사이클로알킬; 임의로 치환된 C_{3-8} 사이클로알콕시; 임의로 치환된 C_{6-10} 아릴옥시; 임의로 치환된 C_{6-10} 아릴-C_{1-6} 알콕시, 임의로 치환된 C_{1-12} (헤테로사이클릴)옥시; 당 (*예를 들면,* 리보스, 펜토스, 또는 본원에 기재된 임의의 것); 폴리에틸렌글리콜 (PEG), $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$, 식중 R은 H 또는 임의로 치환된 알킬이고, n은 0 내지 20 (*예를 들면,* 0 내지 4, 0 내지 8, 0 내지 10, 0 내지 16, 1 내지 4, 1 내지 8, 1 내지 10, 1 내지 16, 1 내지 20, 2 내지 4, 2 내지 8, 2 내지 10, 2 내지 16, 2 내지 20, 4 내지 8, 4 내지 10, 4 내지 16, 및 4 내지 20)의 정수임; 예시적 브릿지가 메틸렌, 프로필렌, 에테르, 아미노 브릿지, 아미노알킬, 아미노알콕시, 아미노, 및 아미노산을 포함하는, 2'-하이드록실이 C_{1-6} 알킬렌 또는 C_{1-6} 헤테로알킬렌 브릿지에 의해 동일한 리보스 당의 4'-탄소에 연결된 "잠금" 핵산 (LNA)을 포함한다.

[0262] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* mir-485 억제제)에서 존재하는 뉴클레오티드 유사체는, *예를 들면,* 2'-O-알킬-RNA 단위체, 2'-OMe-RNA 단위체, 2'-O-알킬-SNA, 2'-아미노-DNA 단위체, 2'-플루오로-DNA 단위체, LNA 단위체, 아라비노 핵산 (ANA) 단위체, 2'-플루오로-ANA 단위체, HNA 단위체, INA (인터칼레이팅 핵산) 단위체, 2'MOE 단위체, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, LNA는, *예를 들면,* 옥시-LNA (예컨대 베타-D-옥시-LNA, 또는 알파-L-옥시-LNA), 아미노-LNA (예컨대 베타-D-아미노-LNA 또는 알파-L-아미노-LNA), 티오-LNA (예컨대 베타-D-티오O-LNA 또는 알파-L-티오-LNA), ENA (그와 같은 베타-D-ENA 또는 알파-L-ENA), 또는 이들의 임의의 조합이다. 추가 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 억제제)에서 포함될 수 있는 뉴클레오티드 유사체는 잠금 핵산 (LNA), 비잠금 핵산 (UNA), 아라비노 핵산 (ABA), 브릿징된 핵산 (BNA), 및/또는 펩티드 핵산 (PNA)을 포함한다.

[0263] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 억제제)는 양쪽 변형된 RNA 뉴클레오티드 유사체 (*예를 들면,* LNA) 및 DNA 단위체를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 갭머이다. *예를 들면,* 미국 특허 번호 8,404,649; 8,580,756; 8,163,708; 및 9,034,837, 참조; 이들의 모두는 그들 전체가 참조로 본원에 편입됨. 일부 양태에서, miR-485 억제제는 마이크로미르이다. 미국 특허 출원 공개 번호 US20180201928 참조, 이 전체가 참조로 본원에 편입됨.

[0264] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (*즉,* miR-485 억제제)는 엔도- 및 엑소-뉴클레아제에 의한 신속한 분해를 예방하기 위해 변형을 포함할 수 있다. 변형은, 비제한적으로, 예를 들어, (a) 말단 변형, 예를 들면, 5' 말단 변형 (인산화, 탈인산화, 접합, 역위 연결, 등), 3' 말단 변형 (접합, DNA 뉴클레오티드, 역위 연결, 등), (b) 염기 변형, 예를 들면, 변형된 염기, 안정화 염기, 불안정화 염기, 또는 파트너의 확장된 레퍼토리와 염기 짝짓기하는 염기, 또는 접합된 염기로의 대체, (c) (예를 들면, 2' 위치 또는 4' 위치에서) 당 변형 또는 당의 대체, 뿐만 아니라 (d) 포스포디에스테르 연결의 변형 또는 대체를 포함하는, 인터뉴클레오시드 연결 변형을 포함한다.

[0265] ***IV. 벡터 및 전달 시스템***

[0266] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miR-485 억제제는, *예를 들면,* 당업계에서 알려진 임의의 관련한 전달 시스템을 사용하여, SIRT1 단백질 및/또는 SIRT1 유전자의 비정상 (*예를 들면,* 감소된) 수준과 연관된 질환 또는 병태를 앓는 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 양태에서, 전달 시스템은 벡터이다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 miR-485 억제제를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0267] 일부 양태에서, 벡터는 바이러스성 벡터이다. 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 아데노바이러스성 벡터 또는 아데노연관된 바이러스성 벡터이다. 특정 양태에서, 바이러스성 벡터는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 또는 이들의 임의의 조합의 혈청형을 갖는 AAV이다. 일부 양태에서, 아데노바이러스성 벡터는 3세대 아데노바이러스성 벡터이다. ADEASY™은 아데노바이러스성 벡터 작제물의 단연 가장 대중적 창출 방법이다. 시스템은 2개 유형의 플라스미드: 셔틀 (또는 전달) 벡터 및 아데노바이러스성 벡터로 이루어진다. 관심의 이식유전자는 셔틀 벡터에 클로닝되고, 검증되고, 제한 효소 PmeI로 선형화된다. 이 작제물은 그 다음, PADEASY™을 함유하는 BJ5183 E. 콜리 세포인, ADEASIER-1 세포로 형질전환된다. PADEASY™은 바이러스 생산에 필요한 아데노바이러스성 유전자를 함유하는 ~33Kb 아데노바이러스성 플라스미드이다. 셔틀 벡터 및 아데노바이러스성 플라스미드는 아데노바이러스성 플라스미드로의 이식유전자의 상동 재조합을 촉진하는 매칭 좌우 상동성 아암을 갖는다. 초나선 PADEASY™ 및 셔틀 벡터로 표준 BJ5183을 또한 공-형질전환시킬 수 있지만, 이 방법은 비-재조합 아데노바이러스성 플라스미드의 더 높은 배경을 초래한다. 재조합 아데노바이러스성 플라스미드는 그 다음 크기 및 적절한 제한 소화 패턴에 대하여 검증되어 이식유전자가 아데노바이러스성 플라스미드에 삽입됨, 그리고 재조합의 다른 패턴이 발생하지 않음을 결정한다. 일단 검증되면, 재조합 플라스미드는 PacI로 선형화되어 ITR에 의해 측접된 선형 dsDNA 작제물을 창출한다. 293개 또는 911개 세포는 선형화된 작제물로 형질감염되고, 바이러스는 약 7-10 일 후에 수확될 수 있다. 이 방법 이외에도, 본 출원이 제출된 당시에 당업계에서 알려진 아데노바이러스성 벡터 작제물을 창출하는 다른 방법은 본원에 개시된 방법을 실시하는데 사용될 수 있다.

[0268] 일부 양태에서, 바이러스성 벡터는 레트로바이러스성 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스성 벡터 (예를 들면, 3세대 또는 4세대 렌티바이러스성 벡터)이다. 렌티바이러스성 벡터는 세포주가 3개 별도 플라스미드 발현 시스템으로 형질감염되는 일시적 형질감염 시스템에서 보통 창출된다. 이들은 전달 벡터 플라스미드 (HIV 프로바이러스의 부문들), 패키징 플라스미드 또는 작제물, 및 상이한 바이러스의 이종 엔벨로프 유전자 (*env*)를 가진 플라스미드를 포함한다. 벡터의 3개 플라스미드 구성요소는 패키징 세포에 놓여지고 이는 그 다음 HIV 껍질에 삽입된다. 벡터의 바이러스 부문은 바이러스가 세포 시스템 내부에서 복제할 수 없도록 삽입 서열을 함유한다. 현행 3세대 렌티바이러스성 벡터는 9개 HIV-1 단백질 중 단 3개 (Gag, Pol, Rev)를 인코딩하고, 이는 별도 플라스미드로부터 발현되어 복제-유능 바이러스의 재조합-매개된 생성을 회피한다. 4세대 렌티바이러스성 벡터에서, 레트로바이러스성 게놈은 추가로 감소되었다 (TAKARA® LENTI-X™ 4세대 패키징 시스템).

[0269] 당업계에서 알려진 임의의 AAV 벡터는 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. AAV 벡터는 알려진 벡터를 포함할 수 있거나 변이형, 단편, 또는 이의 융합체를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV 유형 1 (AAV1), AAV2, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 솟과 AAV, 새우 AAV, 뱀 AAV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0270] 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AAV, 뱀 AAV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 AAV 벡터에서 유래된다.

[0271] 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AAV, 뱀 AAV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 2개 AAV 벡터에서 유래된 키메라 벡터이다.

[0272] 특정 양태에서, AAV 벡터는 당업계에서 알려진 적어도 2개 상이한 AAV 벡터의 영역을 포함한다.

[0273] 일부 양태에서, AAV 벡터는 제1 AAV (*예를 들면,* AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AAV, 뱀 AAV, 또는 이들의 임의의 유도체)로부터 역위 말단 반복부 및 제2 AAV (*예를 들면,* AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AAV, 뱀 AAV, 또는 이들의 임의의 유도체)로부터 제2 역위 말단 반복부를 포함한다.

[0274] 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAVrh.74, 조류 AAV, 솟과 AAV, 갯과 AAV, 말과 AAV, 염소 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV, 양 AAV, 새우 AAV, 뱀 AAV, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 AAV 벡터의 한 부문을 포함

한다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 AAV2를 포함한다.

[0275] 일부 양태에서, AAV 벡터는 스플라이스 수용자 부위를 포함한다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 프로모터를 포함한다. 당업계에서 알려진 임의의 프로모터는 본 개시내용의 AAV 벡터에서 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 프로모터는 RNA Pol III 프로모터이다. 일부 양태에서, RNA Pol III 프로모터는 U6 프로모터, H1 프로모터, 7SK 프로모터, 5S 프로모터, 아데노바이러스 2 (Ad2) VAI 프로모터, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 프로모터는 거대세포바이러스 최초 유전자 (CMV) 프로모터, EF1a 프로모터, SV40 프로모터, PGK1 프로모터, Ubc 프로모터, 인간 베타 액틴 프로모터, CAG 프로모터, TRE 프로모터, UAS 프로모터, Ac5 프로모터, 폴리헤드린 프로모터, CaMKIIa 프로모터, GAL1 프로모터, GAL10 프로모터, TEF 프로모터, GDS 프로모터, ADH1 프로모터, CaMV35S 프로모터, 또는 Ubi 프로모터이다. 특이적 양태에서, 프로모터는 U6 프로모터를 포함한다.

[0276] 일부 양태에서, AAV 벡터는 구성적으로 활성 프로모터 (구성적 프로모터)를 포함한다. 일부 양태에서, 구성적 프로모터는 하이포크산틴 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HPRT), 아데노신 데아미나제, 피루베이트 키나제, 베타-액틴 프로모터, 거대세포바이러스 (CMV), 유인원 바이러스 (*예를 들면*, SV40), 유두종 바이러스, 아데노바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 라우스 육종 바이러스, 레트로바이러스 긴 말단 반복부 (LTR), 뮤린 줄기세포 바이러스 (MSCV) 및 단순 포진 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0277] 일부 양태에서, 프로모터는 유도성 프로모터이다. 일부 양태에서, 유도성 프로모터는 조직 특이적 프로모터이다. 특정 양태에서, 조직 특이적 프로모터는 뉴런, 아교 세포, 또는 양쪽 뉴런 및 아교 세포에서 AAV 벡터의 코딩 영역의 전사를 구동시킨다.

[0278] 일부 양태에서, AAV 벡터는 하나 이상의 인핸서를 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 인핸서는 본원에 개시된 프로모터와 함께 또는 AAV 단독으로 존재한다. 일부 양태에서, AAV 벡터는 3'UTR 폴리(A) 꼬리 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 3'UTR 폴리(A) 꼬리 서열은 bGH 폴리(A), 액틴 폴리(A), 헤모글로빈 폴리(A), 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 3'UTR 폴리(A) 꼬리 서열은 bGH 폴리(A)를 포함한다.

[0279] 일부 양태에서, 본원에 개시된 miR-485 억제제는 전달 제제와 투여된다. 사용될 수 있는 전달 제제의 비-제한 예는 리피도이드, 리포솜, 리포플렉스, 지질 나노입자, 중합체성 화합물, 펩티드, 단백질, 세포, 나노입자 모방체, 나노튜브, 미셀, 또는 접합체를 포함한다.

[0280] 그래서, 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485 억제제) 및 전달 제제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 양태에서, 전달 제제는

[0281] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (화학식 I)

[0282] 또는

[0283] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (화학식 II)

[0284] [식중

[0285] WP는 수용성 생체고분자 모이어티이고;

[0286] CC는 양으로 하전된 담체 모이어티이고;

[0287] AM은 보조제 모이어티이고;

[0288] L1 및 L2는 독립적으로 임의적 링커임]

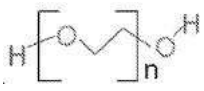
[0289] 를 포함하는 양이온성 담체 단위체를 포함하고,

[0290] 여기서 약 1:1의 이온성 비로 핵산과 혼합된 경우, 양이온성 담체 단위체는 미셀을 형성한다.

[0291] 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485 억제제)를 포함하는 조성물은 이온성 결합을 통해 양이온성 담체 단위체와 상호작용한다.

[0292] 일부 양태에서, 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체는 적어도 하나의 수용성 생체고분자를 포함한다. 용어 "수용성 생체고분자"는 본원에 사용된 경우에 생체적합성, 생물학적 불활성, 비-면역원성, 비-독성, 및 친수성 중합체, 예를 들어 PEG를 지칭한다.

[0293] 일부 양태에서, 수용성 생체고분자는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(당류), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린 ("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 수용성 생체고분자는 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG"), 폴리글리세롤, 또는 폴리(프로필렌 글리콜) ("PPG")을 포함한다. 일부 양태에서, 수용성 중합체는

[0294]  (화학식 III)

[0295] 을 포함하되, 식중 n은 1-1000이다.

[0296] 일부 양태에서, n은 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141이다. 일부 양태에서, n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 약 150 내지 약 160이다.

[0297] 일부 양태에서, 수용성 중합체는 선형, 분지형, 또는 수지상이다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다.

[0298] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25, 적어도 26, 적어도 27, 적어도 28, 적어도 29, 적어도 30, 적어도 31, 적어도 32, 적어도 33, 적어도 34, 적어도 35, 적어도 36, 적어도 37, 적어도 38, 적어도 39, 적어도 40, 적어도 41, 적어도 42, 적어도 43, 적어도 44, 적어도 45, 적어도 46, 적어도 47, 적어도 48, 적어도 49, 적어도 50, 적어도 51, 적어도 52, 적어도 53, 적어도 54, 적어도 55, 적어도 56, 적어도 57, 적어도 58, 적어도 59, 적어도 60, 적어도 61, 적어도 62, 적어도 63, 적어도 64, 적어도 65, 적어도 66, 적어도 67, 적어도 68, 적어도 69, 적어도 70, 적어도 71, 적어도 72, 적어도 73, 적어도 74, 적어도 75, 적어도 76, 적어도 77, 적어도 78, 적어도 79, 적어도 80개 염기성 아미노산, 예를 들면, 라이신, 아르기닌, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0299] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 40개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 45개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 50개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 55개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 60개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 65개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 70개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 75개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 적어도 약 80개 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다.

[0300] 일부 양태에서, 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 또는 이들의 조합의 수는 음이온성 페이로드의 길이를 기반으로 조정될 수 있다. 본원에 사용된 경우 용어 "페이로드"는 생물학적 활성 분자, *예를 들면*, 그 자체로 또는 어댑터를 통해 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체와 상호작용할 수 있고, 본 개시내용의 미셀의 코어 내에서 포함될 수 있는 치료적 제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)를 지칭한다. 예를 들어, 더 긴 서열을 가진 음이온성 페이로드는 더 높은 수의 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신과 짝짓기될 수 있다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체에서 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신의 수는 중합체에서의 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들면, 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, 안티미르에서의 포스페이트의 몰비 (N/P 비율)가 약 1.0, 약 1.1, 약 1.2, 약 1.3, 약 1.4, 약 1.5, 약 1.6, 약 1.7, 약 1.8, 약 1.9, 약 2.0, 약 2.1, 약 2.2, 약 2.3, 약 2.4, 약 2.5, 약 2.6, 약 2.7, 약 2.8, 약 2.9, 또는 약 3이도록 계산될 수 있다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체에서 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신의 수는 중합체에서의 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들면, 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, 안티미르에서의 포스페이트의 몰비

(N/P 비율)가 약 1.3 내지 약 1.7, *예를 들면*, 약 1.5이도록 계산된다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체에서 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신의 수는 중합체에서의 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들면, 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, 안티미르에서의 포스페이트의 몰비 (N/P 비율)가 약 1.4이도록 계산된다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체에서 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신의 수는 중합체에서의 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들면, 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, 안티미르에서의 포스페이트의 몰비 (N/P 비율)가 약 1.6이도록 계산된다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체에서 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신의 수는 중합체에서의 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들면, 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, 안티미르에서의 포스페이트의 몰비 (N/P 비율)가 약 1.3이도록 계산된다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체에서 염기성 아미노산, *예를 들면*, 라이신의 수는 중합체에서의 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들면, 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, 안티미르에서의 포스페이트의 몰비 (N/P 비율)가 약 1.7이도록 계산된다.

[0301] 당업자는 양이온성 담체 모이어티의 역할이 정전기 상호작용을 통해 페이로드 상에서 음전하 (*예를 들면*, miRNA 억제제의 포스페이트 백본에서의 음의 변화)를 중화시키는 것이므로, 일부 양태에서 (*예를 들면*, 페이로드가 핵산 예컨대 안티미르인 경우), 양이온성 담체의 길이, 양이온성 담체 상에서 양으로 하전된 그룹의 수, 및 양이온성 담체 상에서 존재하는 전하의 분포 및 배향이 페이로드 분자 상에서 길이 및 전하 분포에 의존할 것임을 이해할 것이다.

[0302] 일부 양태에서, 양이온성 담체는 약 5 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 내지 약 70, 약 70 내지 약 75, 또는 약 75 내지 약 80개 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 특정 양태에서, 양으로 하전된 담체는 30 내지 약 50개 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 특정 양태에서, 양으로 하전된 담체는 70 내지 약 80개 염기성 아미노산을 포함한다.

[0303] 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 D-아미노산이다. 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 L-아미노산이다. 일부 양태에서, 양으로 하전된 담체는 D-아미노산 및 L-아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 적어도 하나의 비천연 아미노산 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 양태에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, L-4-아미노메틸-페닐알라닌, L-4-구아니딘-페닐알라닌, L-4-아미노메틸-N-이소프로필-페닐알라닌, L-3-피리딜-알라닌, L-트란스-4-아미노메틸사이클로헥실-알라닌, L-4-피페리디닐-알라닌, L-4-아미노사이클로헥실-알라닌, 4-구아니디노부티르산, L-2-아미노-3-구아니디노프로피온산, DL-5-하이드록시라이신, 피롤라이신, 5-하이드록시-L-라이신, 메틸라이신, 하이푸신, 또는 이들의 임의의 조합이다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 40개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 50개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 60개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 70개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 80개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 30개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 40개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 38개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 32개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 35개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 64개 라이신을 포함한다. 특정한 양태에서, 양으로 하전된 담체는 약 63개 라이신을 포함한다.

[0304] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 단일 페이로드 분자에 결합한다. 다른 양태에서, 양이온성 담체 모이어티는 동일 또는 상이할 수 있는 다중 페이로드 분자에 결합할 수 있다.

[0305] 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 약 2.9:1, 약 2.8:1, 약 2.7:1, 약 2.6:1, 약 2.5:1, 약 2.4:1, 약 2.3:1, 약 2.2:1, 약 2:1, 약 2:1, 약 1.9:1, 약 1.8:1, 약 1.7:1, 약 1.6:1, 약 1.5:1, 약 1.4:1, 약 1.3:1, 약 1.2:1, 약 1.1:1, 약 1:1, 약 1:1.1, 약 1:1.2, 약 1:1.3, 약 1:1.4, 약 1:1.5, 약 1:1.6, 약 1:1.7, 약 1:1.8, 약 1:1.9, 약 1:2, 약 1:2.1, 약 1:2.2, 약 1:2.3, 약 1:2.4, 약 1:2.5, 약 1:2.6, 약 1:2.7, 약 1:2.8, 약 1:2.9, 약 1:3, 약 1:4, 또는 약 1:5의 이온성 비에 있다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 1:1의 전하비에 있다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 3:2의 전하비에 있다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 2:3의 전하비에 있다.

[0306] 일부 양태에서, 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체는 적어도 하나의 가교 모이어티 (CM)를 추가로 포함할 수

있다. 용어 "가교 모이어티"는 가교를 형성할 수 있는 복수의 제제를 포함하는 중합체 블록의 모이어티 또는 부분을 지칭한다. 일부 양태에서, 가교를 형성할 수 있는 제제의 수는 가교 제제의 측쇄를 가진 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, CM은 생체고분자, *예를 들면*, 가교 제제에 연결된 펩티드 (*예를 들면*, 폴리라이신)를 포함한다.

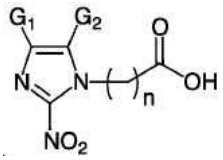
[0307] 일부 양태에서, 가교 모이어티는 하나 이상의 아미노산 (*예를 들면*, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 또는 이들의 조합)을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 적어도 약 20, 적어도 약 21, 적어도 약 22, 적어도 약 23, 적어도 약 24, 적어도 약 25, 적어도 약 26, 적어도 약 27, 적어도 약 28, 적어도 약 29, 적어도 약 30 아미노산, 또는 적어도 약 35개 아미노산, 예를 들면, 라이신, 아르기닌, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0308] 일부 양태에서, 가교 모이어티의 라이신은 중성 전하를 소유한다 (예를 들면, 3급 아민을 함유한다). 일부 양태에서, 가교 모이어티의 라이신은 라이신이 중성 전하를 소유하도록 티올 (예를 들어, 라이신-티올) 및 3급 아민을 함유한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는 3급 아민을 통해서 가교를 형성한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는 티올을 통해서 가교를 형성한다. 본원에 사용된 경우에, 가교 모이어티의 맥락에서 "라이신"은, 가교 모이어티의 라이신이 담체 단위체의 전체 전하에 기여하지 않도록, 중성 전하를 가진 (예를 들면, 3차 아민을 함유하는) 라이신을 지칭한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티의 라이신은 아미드 결합을 통해서 가교 제제에 연결된다.

[0309] 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 10개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 11개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 12개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 13개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 14개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 15개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 16개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 17개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 18개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 19개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 20개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제에 연결되는, 적어도 약 23개 아미노산, *예를 들면*, 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 가교 모이어티는, 이들의 각각이 가교 제제 (예를 들면, 라이신-티올)에 연결되는, 적어도 약 35개 아미노산, 예를 들면, 라이신을 포함한다.

[0310] 일부 양태에서, 가교 제제는 티올이다. 일부 양태에서, 가교 제제는 티올 유도체이다.

[0311] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 면역 반응, 염증성 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는



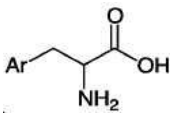
[0312] (화학식 IV)

[0313] 을 포함하되, 식중 G_1 및 G_2의 각각은 H, 방향족 고리, 또는 1-10 알킬이거나, G_1 및 G_2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 식중 n은 1-10이다.

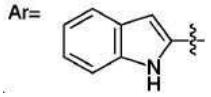
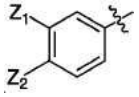
[0314] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 니트로이미다졸을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 또는 이

들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 아미노산을 포함한다.

[0315] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는

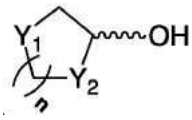


[0316] (화학식 V)

[0317] 을 포함하되, 식중 Ar은  또는  이고,

[0318] 식중 Z_1 및 Z_2의 각각은 H 또는 OH이다.

[0319] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 비타민을 포함한다. 일부 양태에서, 비타민은 환식 고리 또는 환식 헤테로원자 고리 및 카르복실기 또는 하이드록실기를 포함한다. 일부 양태에서, 비타민은



[0320] (화학식 VI)

[0321] 을 포함하되, 식중 Y_1 및 Y_2의 각각은 C, N, O, 또는 S이고, 식중 n은 1 또는 2이다.

[0322] 일부 양태에서, 비타민은 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 비타민은 비타민 B3이다.

[0323] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 적어도 약 20, 적어도 약 21, 적어도 약 22, 적어도 약 23, 적어도 약 24, 적어도 약 25, 적어도 약 26, 적어도 약 27, 적어도 약 28, 적어도 약 29, 적어도 약 30, 적어도 약 31, 적어도 약 32, 적어도 약 33, 적어도 약 34, 적어도 약 35, 적어도 약 36, 적어도 약 37, 적어도 약 38, 적어도 약 39, 또는 적어도 약 40개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 30개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 31개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 32개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 33개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 34개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 35개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 36개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 37개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 38개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 39개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 40개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다.

[0324] 일부 양태에서 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 20 내지 약 25개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 25 내지 약 30개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 30 내지 약 35개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 35 내지 약 40개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 40 내지 약 45개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 또는 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 45 내지 약 50개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다. 일부 양태에서 보조제 모이어티는, 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 20 내지 약 30개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 30 내지 약 40개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 40 내지 약 50개 아미노산 (예를

들면, 라이신), 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 25 내지 약 35개 아미노산 (예를 들면, 라이신), 또는 이들의 각각이 비타민 B3에 연결되는, 약 35 내지 약 45개 아미노산 (예를 들면, 라이신)을 포함한다.

[0325] 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 또는 적어도 약 20개 비타민 B3 단위체를 포함한다. 일부 양태에서, 보조제 모이어티는 약 10개 비타민 B3 단위체를 포함한다.

[0326] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는, 임의로 링커를 통해서 수용성 중합체에 연결되는, 표적화 모이어티를 포함한다. 본원에 사용된 경우에, 용어 "표적화 모이어티"는 특정 생물학적 서브스턴스 또는 부위에 결합하는 생체인식 분자를 지칭한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는 특정 표적 분자 (*예를 들면*, 수용체를 표적화하는 리간드 또는 표면 단백질을 표적화하는 항체), 조직 (특정 기관 또는 조직, *예를 들면*, 간, 뇌, 또는 내피에 미셀을 우선적으로 운반할 분자)에 특이적이거나, 생리학적 장벽 (*예를 들면*, 뇌 혈액 장벽 또는 원형질막을 가로질러 수송을 용이하게 할 수 있는 펩티드 또는 다른 분자)을 통해서 수송을 용이하게 할 수 있다.

[0327] 본 개시내용에 따른 페이로드 (*예를 들면*, 뉴클레오티드 분자, *예를 들면*, miR485-3p 억제제)를 표적화하기 위하여, 표적화 모이어티는 양이온성 담체 단위체에, 그리고 따라서 미셀의 외부 표면에 커플링될 수 있고, 반면에 미셀은 이의 코어 내에서 포집된 페이로드를 갖는다.

[0328] 일부 양태에서, 표적화 모이어티는 본 개시내용의 미셀을 조직에 표적화할 수 있는 표적화 모이어티이다. 일부 양태에서, 조직은 간, 뇌, 신장, 폐, 난소, 췌장, 갑상선, 유방, 위, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 양태에서, 조직은 암 조직, *예를 들면*, 간암, 뇌암, 신장암, 폐암, 난소암, 췌장암, 갑상선암, 유방암, 위암, 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0329] 일부 양태에서, 조직은 중추 신경계에서의 조직, *예를 들면*, 신경 조직이다. 일부 양태에서, 중추 신경계를 표적화하는 표적화 모이어티는 대형-중성 아미노산 수송체 1 (LAT1)에 의해 수송될 수 있다. LAT1 (SLC7A5)은 양쪽 대형 중성 아미노산 및 다수의 약학적 약물의 흡수를 위한 수송체이다. LAT1은 약물 예컨대 L-도파 또는 가바펜틴을 수송할 수 있다. LAT1은 뇌 미세혈관 내피 세포에서 높은 수준으로 지속적으로 발현된다. 주로 BBB에서 자리하고 있는 용질 담체이기 때문에, 본 개시내용의 미셀을 LAT1에 표적화하기는 BBB를 통해서 전달을 허용한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 미셀을 LAT1 수송체에 표적화하는 표적화 모이어티는 아미노산, *예를 들면*, 분지쇄 또는 방향족 아미노산이다. 일부 양태에서, 아미노산은 발린, 류신, 및/또는 이소류신이다. 일부 양태에서, 아미노산은 트립토판 및/또는 티로신이다. 일부 양태에서, 아미노산은 트립토판이다. 다른 양태에서, 아미노산은 티로신이다.

[0330] 일부 양태에서, 표적화 모이어티는 트립토판, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 티록신, 멜팔란, L-DOPA, 가바펜틴, 3,5-I-디요오도티로신, 3-요오도-I-티로신, 펜클로닌, 아시비신, 류신, BCH, 메티오닌, 히스티딘, 발린, 또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 LAT1 리간드이다.일부 양태에서, 표적화 모이어티는, LAT1에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 티로신을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, LAT1에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 라이신을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, LAT1에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 글루타민을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, GABA 수용체, LAT1, CNS 역전사효소 억제제, 및/또는 도파민 (DA) 수용체에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 페닐알라닌을 포함한다. 도파민 수용체는 척추동물 중추신경계 (CNS)에서 두드러지는 G 단백질-커플링된 수용체의 한 부류이다. 도파민 수용체는 G-단백질 커플링을 통해서 상이한 이펙터, 뿐만 아니라 상이한 단백질 (도파민 수용체-상호작용 단백질) 상호작용을 통해서 신호전달을 활성화시킨다. 신경전달물질 도파민은 도파민 수용체의 주요 내인성 리간드이다.

[0331] 도파민 수용체는 동기부여, 즐거움, 인지, 기억, 학습, 및 미세한 운동 조절, 뿐만 아니라 신경내분비 신호전달의 조정을 포함하는 많은 신경학적 과정에 연루된다. 비정상적 도파민 수용체 신호전달 및 도파민성 신경 기능은 여러 신경정신 장애와 연루된다. 그래서, 도파민 수용체는 일반적인 신경계 약물 표적이고; 항정신병약은 종종 도파민 수용체 길항제인 반면 정신자극제는 전형적으로 도파민 수용체의 간접 작용제이다.

[0332] 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, CNS 역전사효소 억제제에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 발린을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, GABA 수용체 및/또는 CNS 역전사효소 억제제에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 트립토판을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, GABA 수용체 및/또는 CNS 역전사효소 억제제에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 류신을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티

는, GABA 수용체 및/또는 CNS 역전사효소 억제제에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 메티오닌을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, GABA 수용체에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 히스티딘을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, CNS 역전사효소 억제제에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 이소류신을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, GSH 수송체에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 글루타티온을 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, GSH 수송체에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 글루타티온-Met를 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, 산화질소 신타제 (NOS)에 결합할 수 있고 BBB를 가로지를 수 있는 우레아/티오우레아를 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는, REDOX 기전에 의해 BBB를 가로지를 수 있는 NAD+/NADH를 포함한다. 일부 양태에서, 표적화 모이어티는 퓨린을 포함하고 BBB를 가로지를 수 있다. CNS 표적화를 위하여 표적화 모이어티의 추가의 예는, 이 전체가 참고로 본원에 편입되는, Sutera 등. (2016): CNS 약물의 표적화를 개선하기 위한 모이어티로서 작은 내인성 분자, Expert Opinion on Drug Delivery, DOI: 10.1080/17425247.2016.1208651에 나타난다.

[0333] 일부 양태에서, 조성물은 약 120 내지 약 130개 PEG 단위체를 가진 수용성 생체고분자 모이어티, 약 30 내지 약 40개 라이신을 가진 폴리-라이신을 포함하는 양이온성 담체 모이어티, 및 약 5 내지 약 10개 비타민 B3 단위체를 가진 보조제 모이어티를 포함한다.

[0334] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485 억제제)를 포함하는 미셀을 제공하고 여기서 miRNA 억제제 및 전달 제제는 서로 회합된다.

[0335] 일부 양태에서, 회합은 공유 결합, 비-공유 결합, 또는 이온성 결합이다. 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체의 양이온성 담체 모이어티의 양전하는 용액에서 본원에 개시된 miR-485 억제제와 혼합된 경우 미셀을 형성하는데 충분하고, 여기서 용액에서 양이온성 담체 단위체의 양이온성 담체 모이어티의 양전하 및 miR-485 억제제 (또는 억제제를 포함하는 벡터)의 음전하의 전반적 이온성 비는 약 1: 1이다.

[0336] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 효소적 분해로부터 본 개시내용의 miRNA 억제제 (*즉*, miR-485 억제제)를 보호할 수 있다. 이 전체가 참조로 본원에 편입되는, WO2020261227A1 참조.

[0337] 일부 양태에서, 양이온성 담체 단위체는 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)와 회합된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)와 회합된 양이온성 담체 단위체는 80개 라이신 잔기를 포함하고, 여기서 64개 라이신 잔기는 미변형되고 (*예를 들면*, 양으로 하전된 아민, 예를 들면, -NH3+를 함유하고) 여기서 16개 라이신 잔기는 가교를 위하여 변형된다 (*예를 들면*, 티올, 알킬 티올, 또는 라이신-티올에 연결된다). 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)와 회합된 양이온성 담체 단위체는 80개 라이신 잔기를 포함하고, 여기서 40개 라이신 잔기는 미변형되고 (*예를 들면*, 양으로 하전된 아민을 함유하고) 여기서 35개 라이신 잔기는 가교를 위하여 변형되고 (*예를 들면*, 티올, 알킬 티올, 또는 라이신-티올에 연결되고) 여기서 5개 라이신 잔기는 보조제 모이어티 (*예를 들면*, 비타민)를 함유하도록 변형된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)와 회합된 양이온성 담체 단위체는 80개 라이신 잔기를 포함하고, 여기서 38개 라이신 잔기는 미변형되고 (*예를 들면*, 양으로 하전된 4급 아민을 함유하고) 여기서 23개 라이신 잔기는 가교를 위하여 변형되고 (*예를 들면*, 티올, 알킬 티올, 또는 라이신-티올에 연결되고) 여기서 19개 라이신 잔기는 보조제 모이어티 (*예를 들면*, 비타민)를 함유하도록 변형된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)와 회합된 양이온성 담체 단위체는 80개 라이신 잔기를 포함하고, 여기서 32개 라이신 잔기는 미변형되고 (*예를 들면*, 양으로 하전된 아민, 예를 들면, -NH3+를 함유하고) 여기서 16개 라이신 잔기는 가교를 위하여 변형되고 (*예를 들면*, 티올, 알킬 티올, 또는 라이신-티올에 연결되고) 여기서 32개 라이신 잔기는 보조제 모이어티 (*예를 들면*, 비타민)를 함유하도록 변형된다.). 일부 양태에서, 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, miR485-3p 억제제)와 회합된 양이온성 담체 단위체는 80개 라이신 잔기를 포함하고, 여기서 63개 라이신 잔기는 미변형되고 (*예를 들면*, 양으로 하전된 4급 아민을 함유하고) 여기서 17개 라이신 잔기는 보조제 모이어티 (*예를 들면*, 비타민)를 함유하도록 변형된다.

[0338] ***VI. 약학적 조성물***

[0339] 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 대상체에게 투여에 적합한 본원에 개시된 miR-485 억제제 (*예를 들면*, miR-485 억제제를 포함하는 벡터 또는 폴리뉴클레오티드)를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 약학적 조성물은 일반적으로 대상체에게 투여에 적합한 형태로 본원에 기재된 miR-485 억제제 (*예를 들면*, 폴리뉴클레오티드 또는 벡터) 및 약학적으로-허용가능한 부형제 또는 담체를 포함한다. 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체는 투여되는 중인 특정한 조성물에 의해, 뿐만 아니라 조성물을 투여하는데 사용된 특정한 방법에 의해 부분적으로

결정된다.

[0340] 따라서, 본 개시내용의 miR-485 억제제를 포함하는 약학적 조성물의 매우 다양한 적합한 제형이 있다. (*예를 들면,* Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990), 참조). 약학적 조성물은 일반적으로 멸균 제형화되고 미국 식품의약국의 모든 우수 의약품 제조관리 기준 (GMP) 규정을 완전히 준수한다.

[0341] ***VII. 키트***

[0342] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 miRNA 억제제 (예를 들면, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 약학적 조성물) 및 임의로 사용 지침, 예를 들면, 본원에 개시된 방법에 따른 사용 지침을 포함하는 키트 또는 제조 제품을 제공한다. 일부 양태에서, 키트 또는 제조 제품은 하나 이상의 용기에서 miR-485 억제제 (*예를 들면,* 벡터, *예를 들면,* 본 개시내용의 AAV 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 약학적 조성물)를 포함한다. 일부 양태에서, 키트 또는 제조 제품은 miR-485 억제제 (*예를 들면,* 벡터, *예를 들면,* 본 개시내용의 AAV 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 약학적 조성물) 및 브로셔를 포함한다. 당업자는 본원에 개시된 miR-485 억제제 (*예를 들면,* 본 개시내용의 벡터, 폴리뉴클레오티드, 및 약학적 조성물, 또는 이들의 조합)가 당업계에서 잘 알려지는 확립된 키트 형식 중 하나로 용이하게 편입될 수 있음을 용이하게 인식할 것이다.

[0343] 하기 실시예는 제한의 방식이 아닌 예시의 방식으로 제공된다.

[0344] 실시예

[0345] **실시예 1: miR-485 억제제의 제조**

[0346] **(a) 알킨 변형된 티로신의 합성:** 알킨 변형된 티로신은 BBB에서 LAT1 수송체로 본 개시내용의 미셀을 유도하기 위해 양이온성 담체 단위체의 조직 특이적 표적화 모이어티 (TM, 도 1 참조)의 합성을 위한 중간체로서 생성되었다.

[0347] 아세토니트릴 (4.0 ml)내 N-(tert-부톡시카르보닐)-L-티로신 메틸 에스테르 (Boc-Tyr-OMe) (0.5g, 1.69 mmol) 및 K_2CO_3 (1.5 당량, 2.54 mmol)의 혼합물은 프로파르길 브로마이드 (1.2 당량, 2.03 mmol)에 한 방울씩 첨가되었다. 반응 혼합물은 60 ℃에서 밤새 가열되었다. 반응 후, 반응 혼합물은 물:에틸 아세테이트 (EA)를 사용하여 추출되었다. 그 다음, 유기 층은 염수 용액을 사용하여 세정되었다. 조 물질은 플래시 컬럼 (헥산 10%내 EA)에 의해 정제되었다. 다음에, 생성된 생성물은 1,4-디옥산 (1.0 ml) 및 6.0 M HCl (1.0 ml)에 용해되었다. 반응 혼합물은 100 ℃에서 밤새 가열되었다. 다음에, 디옥산은 제거되었고 EA에 의해 추출되었다. 수성 NaOH (0.5 M) 용액은 pH 값이 7이 되는 때까지 혼합물에 첨가되었다. 반응물은 증발기에 의해 농축되었고 0℃에 12,000 rpm으로 원심분리되었다. 침전물은 탈이온수로 세정되었고 동결건조되었다.

[0348] **(b) 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신) (PEG-PLL)의 합성:** 이 합성 단계는 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체의 수용성 생체고분자 (WP) 및 양이온성 담체 (CC)를 생성하였다 (도 1 참조).

[0349] 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신)은 거대개시제로서 모노메톡시 PEG (MeO-PEG)와 Lys(TFA)-NCA의 개환 중합에 의해 합성되었다. 간략하게, MeO-PEG (600 mg, 0.12 mmol) 및 Lys(TFA)-NCA (2574 mg, 9.6 mmol)는 1M 티오우레아 및 DMF(또는 NMP)를 함유하는 DMF에 별도로 용해되었다. Lys(TFA)-NCA 용액은 마이크로 주사기에 의해 MeO-PEG 용액에 적하되었고 반응 혼합물은 37 ℃에서 4 일 동안 교반되었다. 반응 병은 아르곤 및 진공으로 퍼징되었다. 모든 반응은 아르곤 대기에서 수행되었다. 반응 후, 혼합물은 과량의 디에틸 에테르에 침전되었다. 침전물은 메탄올에 재-용해되었고 차가운 디에틸 에테르에 재차 침전되었다. 그 다음 여과되었고 백색 분말은 진공에서 건조 후 수득되었다. PEG-PLL(TFA)내 TFA 기의 탈보호를 위하여, 다음 단계는 이어졌다.

[0350] MeO-PEG-PLL(TFA) (500 mg)은 메탄올 (60 mL)에 용해되었고 1N NaOH (6 mL)는 교반하면서 중합체 용액에 적하되었다. 혼합물은 37℃에서 교반하면서 1 일 동안 유지되었다. 반응 혼합물은 10 mM HEPES에 대해 4회 동안 그리고 증류수에 대해 투석되었다. PEG-PLL의 백색 분말은 동결건조 후 수득되었다.

[0351] **(b) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신) (N_3-PEG-PLL)의 합성:** 이 합성 단계는 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체의 수용성 생체고분자 (WP) 및 양이온성 담체 (CC)를 생성하였다 (도 1 참조).

[0352] 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-라이신)은 아지도- PEG (N_3-PEG)와 Lys(TFA)-NCA의 개환 중합에 의해 합성되었다. 간략하게, N_3-PEG (300 mg, 0.06 mmol) 및 Lys(TFA)-NCA (1287 mg, 4.8 mmol)는 1M 티오우레아 및

DMF(또는 NMP)를 함유하는 DMF에 별도로 용해되었다. Lys(TFA)-NCA 용액은 마이크로 주사기에 의해 N_3-PEG 용액에 적하되었고 반응 혼합물은 37 ℃에서 4 일 동안 교반되었다. 반응 병은 아르곤 및 진공으로 퍼징되었다. 모든 반응은 아르곤 대기에서 수행되었다. 반응 후, 혼합물은 과량의 디에틸 에테르에 침전되었다. 침전물은 메탄올에 재-용해되었고 차가운 디에틸 에테르에 재차 침전되었다. 그 다음 여과되었고 백색 분말은 진공에서 건조 후 수득되었다. PEG-PLL(TFA)내 TFA 기의 탈보호를 위하여, 다음 단계가 이어졌다.

[0353] N_3-PEG-PLL (500 mg)은 메탄올 (60 mL)에 용해되었고 1N NaOH (6 mL)는 교반하면서 중합체 용액에 적하되었다. 혼합물은 37℃에서 교반하면서 1 일 동안 유지되었다. 반응 혼합물은 10 mM HEPES에 대해 4회 동안 그리고 증류수에 대해 투석되었다. N_3-PEG-PLL의 백색 분말은 동결건조 후 수득되었다.

[0354] **(c) (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-라이신/니코틴아미드/메르캅토프로판아미드) (N_3-PEG-PLL(Nic/SH))의 합성:** 이 단계에서, 조직-특이적 보조제 모이어티 (AM, 도 1 참조)는 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체의 WP-CC 구성요소에 부착되었다. 양이온성 담체 단위체에서 사용된 조직-특이적 보조제 모이어티 (AM)는 니코틴아미드 (비타민 B3)이었다. 이 단계는 도 1에 묘사된 양이온성 담체 단위체의 WP-CC-AM 구성요소를 산출할 것이다.

[0355] 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-라이신/니코틴아미드/메르캅토프로판아미드) (N_3-PEG-PLL(Nic/SH))는 EDC/NHS의 존재 하에서 N_3-PEG-PLL 및 니코틴산의 화학적 변형에 의해 합성되었다. N_3-PEG-PLL (372 mg, 25.8 μmol) 및 니코틴산 (556.7 mg, PEG-PLL의 NH2에 대해 1.02 당량)은 탈이온수 및 메탄올 (1:1)의 혼합물에 별도로 용해되었다. EDC·HCl (556.7 mg, N_3-PEG-PLL의 NH_2에 대해 1.5 당량)은 니코틴산 용액에 첨가되었고 NHS (334.2 mg, PEG-PLL의 NH2에 대해 1.5 당량)는 혼합물에 적가되었다.

[0356] 반응 혼합물은 N_3-PEG-PLL 용액에 첨가되었다. 반응 혼합물은 교반하면서 16 시간 동안 37 ℃에서 유지되었다. 16 시간 후, 3,3'-디티오디프로폰산 (36.8 mg, 0.1 당량)은 메탄올에 용해되었고, EDC·HCl (40.3 mg, 0.15 당량), 및 NHS (24.2 mg, 0.15 당량)는 탈이온수에 각각 용해되었다. 그 다음, NHS 및 EDC·HCl은 3,3'-디티오디프로폰산 용액에 순차적으로 첨가되었다. 혼합물 용액은 조 N_3-PEG-PLL(Nic) 용액을 첨가한 후 37 ℃에서 4 시간 동안 교반되었다.

[0357] 정제를 위하여, 혼합물은 2 시간 동안 메탄올에 대해 투석되었고, DL-디티오트레이톨 (DTT, 40.6 mg, 0.15 당량) 첨가되었고, 그 다음 30 분 동안 활성화되었다.

[0358] DTT를 제거하기 위하여, 혼합물은 메탄올, 탈이온수내 50 % 메탄올, 탈이온수 순차적으로 투석되었다.

[0359] **d) 페닐 알라닌-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-라이신/니코틴아미드/메르캅토프로판아미드) (Phe-PEG-PLL(Nic/SH))의 합성:** 이 단계에서, 조직-특이적 표적화 모이어티 (TM)는 이전의 단계에서 합성된 WP-CC-AM 구성요소에 부착되었다. TM 구성요소 (페닐알라닌)은 단계 (c)의 생성물과 단계 (a)에서 생성된 중간체의 반응에 의해 생성되었다.

[0360] 혈관내 뇌 내피 조직을 표적하기 위해, LAT1 표적화 아미노산으로서, 페닐 알라닌은 구리 촉매의 존재 하에서 N_3-PEG-PLL(Nic/SH)와 알킨 변형된 티로신 사이 클릭 반응에 의해 도입되었다 간략하게, N_3-PEG-PLL(Nic/SH) (130 mg, 6.5 μmol) 및 알킨 변형된 페닐 알라닌 (5.7 mg, 4.0 당량)은 탈이온수 (또는 50 mM 인산나트륨 완충액)에 용해되었다. 그 다음, CuSO4·H2O (0.4 mg, 25 mol%) 및 트리스(3-하이드록시프로필트리아졸릴메틸)아민 (THPTA, 3.4 mg, 1.2 당량)은 탈이온수가 용해되었고 N_3-PEG-PLL(Nic/SH) 용액이 첨가되었다. 그 다음, 아스코르브산나트륨 (3.2 mg, 2.5 당량)은 혼합물 용액에 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 16 시간 동안 교반하면서 유지되었다. 반응 후, 혼합물은 투석 막 (MWCO = 7,000)으로 전달되었고 탈이온수에 대해 1 일 동안 투석되었다. 최종 생성물은 동결건조 후 수득되었다.

[0361] (e) **다중이온 복합체 (PIC) 미셀 제조** - 본 개시내용의 양이온성 담체 단위체가 상기 기재된 대로 생성되었다면, 미셀은 생산되었다. 본 실시예에서 기재된 미셀은 안티센스 올리고뉴클레오티드 페이로드와 조합된 양이온성 담체 단위체를 포함하였다.

[0362] 나노 크기조정된 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG-PLL(Nic) 및 miRNA를 혼합시킴으로써 제조되었다. PEG-PLL(Nic)은 0.5 mg/mL 농도로 HEPES 완충액 (10 mM)에 용해되었다. 그 다음 RNAse 없는 물내 miRNA 용액 (22.5 μM)은 miRNA 억제제 (서열번호: 2-30) (*예를 들면*, 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'; 서열번호: 28) 대 중합체의

2:1 (v/v) 비로 중합체 용액과 혼합되었다.

[0363] 중합체 대 항-miRNA의 혼합 비는 미셀 형성 조건, 즉, 중합체 (본 개시내용의 담체)내 아민 대 항-miRNA (페이로드)내 포스페이트 사이 비를 최적화함으로써 결정되었다. 중합체 (담체) 및 항-miRNA (페이로드)의 혼합물은 3000 rpm으로 다중-와동에 의해 90 초 동안 격렬하게 혼합되었고, 실온에서 30 분 동안 유지되어 미셀을 안정화시켰다.

[0364] 미셀 (10 μM의 항-miRNA 농도)는 사용에 앞서 4 ℃에서 보관되었다. MeO- 또는 Phe- 미셀은 동일한 방법을 사용하여 제조되었고, 상이한 양의 Phe-함유 미셀 (25% ~75%)은 미셀 제조 동안 양쪽 중합체를 혼합시킴으로써 또한 제조되었다.

[0365] **실시예 2: NSC-34 세포에서 Htt 분해에 관한 miR-485 억제제의 효과**

[0366] 세포 배양

[0367] 마우스 운동 뉴런-유사 하이브리드 세포주 (NSC-34) 세포는 세달레인 랩스(Cedarlane Labs)로부터 구매되었다. NSC-34 세포는 배양 배지 (10% (vol/vol) 태아 소 혈청 (Gibco), 100 단위/ml 페니실린, 50 μg/ml 스트렙토마이신으로 보충된 DMEM)에서 유지되었고 가습된 5% CO_2 인큐베이터에서 37℃로 유지되었다.

[0368] 웨스턴 블랏 (불용성 분획)

[0369] NSC-34 세포로부터 불용성 분획을 수득하기 위해, 세포 펠렛은 30 분 동안 빙상에서 프로테아제/포스파타제 억제제 칵테일을 함유하는 불용성 추출 완충액 [50mM Tris-HCl (pH 7.5) + 2% SDS]에서 용해되었다. 용해물은 4℃에 15 분 동안 13,000 rpm으로 원심분리되었다. 단백질은 비신코닌산 (BCA) 검정 키트 (Bio-Rad Laboratories, Cat#5000116)를 사용하여 정량화되었고 동일한 최종 농도로 조정되었다. 변성 후, 용해물은 웨스턴 블랏팅을 위하여 처리되어 불용성 Htt를 측정하였다. 샘플은 SDS-폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분리되었고, PVDF 막으로 이동되었고 마우스 항-Htt 1차 항체 (Merck, Cat# MAB5374, 1:1000)로 인큐베이션되었다. 결과는 향상된 화학발광 시스템을 사용하여 가시화되었다.

[0370] 결과

[0371] 헌팅틴 (Htt) 분해에 관한 miR-485 억제제의 효과를 결정하기 위해, NSC-34 세포 (마우스 운동 뉴런 유사 세포)는 GFP-태그된 야생형 (Q23) (pEGFP-Q23) 또는 돌연변이체 (Q74) (pEGFP-Q74) Htt로 형질감염되었다. GFP-태그된 야생형 (Q23) (pEGFP-Q23) 또는 돌연변이체 (Q74) (pEGFP-Q74) Htt로 형질감염 후, miR485-3p 억제제는 형질감염된 NSC34에서 공-처리되었다. 불용성 분획은 이전에 기재된 대로 (48 시간 후) 수득되었고 Q74-GFP-태그된 NSC-34 세포 및 Q24-GFP-태그된 NSC-34 세포에서 불용성, 응집된 Htt의 수준은 분석되었다. 불용성, 응집된 Htt는 돌연변이된 Htt를 발현시키는 miR485-3p 억제제 (5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28)) 처리된-NSC-34 세포를 함유하는 미셀에서 상당히 감소하였다 (도 2a 및 2b).

[0372] **실시예 3: HEK293T, PC12, 및 1차 피질 뉴런에서 Htt 분해에 관한 miR-485 억제제의 효과**

[0373] miR485-3p ASO 처리가 Htt 응집을 약화시킬 수 있는지를 결정하기 위해, HEK293T 및 PC12 세포는 6-웰 플레이트에서 밤새 플레이팅되었고 JETOPTIMUS® 형질감염 시약 (polyplus)를 사용하여 2 μg Q23-EGFP, Q74-EGFP로 형질감염되었고 50, 100, 및 300 nM의 최종 농도에 48 시간 동안 miR485-3p ASO (즉, 서열번호: 28)로 처리되었다. 도 3a 및 3b에서 도시된 대로, 웨스턴 블랏 분석은 Htt-Q74 과발현이 Htt 응집을 증가시켰음을 밝혀냈다. 세포는 형광 현미경검사에 의해 분석되었고 용해물은 웨스턴 블랏 분석을 위하여 수확되었다.

[0374] 형질감염후 48 시간에 Htt 응집 (반점)은 향상된 녹색 형광 유전자 (EGFP) 발현에 기초하여 형광 현미경검사 하에서 평가되었다.

[0375] 상기 기재된 처리 후, 세포는 수확되었고 30 분 동안 빙상에서 프로테아제/포스파타제 억제제 칵테일 (Cell signaling Technology, Cat#5872)을 함유하는 빙냉 RIPA 완충액 (iNtRON Biotechnology)으로 용해되었다. 용해물은 13,000 rpm으로 15 분 동안 4℃에 원심분리되었고, 상청액은 수집되었다. 샘플은 SDS-폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분리되었고, PVDF 막으로 이동되었고 하기 1차 항체로 인큐베이션되었다: 마우스 항-HTT 클론 EM48(1:1000, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 마우스 항-SIRT1 (1:1000; Abcam, Cambridge, MA, USA), 마우스 항-PGC-1a (1:1000; Abcam, Cambridge, MA, USA), 마우스 항-p62 (1:1000; Abcam, Cambridge, MA, USA), 토끼 항-절단된 카스파제-3 (1:1000; Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA), 마우스 항-GFP (1:1000; anta Cruz Biotechnology), 토끼 항-LC3B (1:1000; Novus Biologicals, Centennial, CO, USA), 및 마우스 항-

β-액틴 (Santa Cruz Biotechnology). 후속적으로, 막은 2차 항체로 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었고, 밴드는 웨스턴-블랏 검출 시약 (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)을 사용하여 검출되었다. 정량적 분석을 위하여, 각 밴드의 밀도는 컴퓨터 이미징 장치 및 동반 소프트웨어 (Fuji Film, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정되었고, 수준은 각 샘플에 대하여 하우스키핑 단백질 밴드로 정규화된 밀도로서 정량적으로 발현되었다.

[0376] 웨스턴 블랏 분석은 HTT-Q74 과발현이 HTT 응집을 증가시켰음을 밝혀냈다. 하지만, miR485-3p ASO 처리는 HTT 응집을 감소시켜, miR485-3p ASO 처리가 HTT-Q74-과발현 HEK293T 세포에서 Htt 응집을 억압할 수 있음을 나타냈다 (도 3a 및 3b).

[0377] 자가포식이 세포내 미스폴딩된 단백질, 예컨대 Htt 응집체를 제거할 수 있기 때문에, 자가포식 관련된 단백질은 웨스턴 블랏 분석에 의해 분석되었다. 도 4a 내지 4e는 miR485-3p ASO 처리가 자가포식 자극제, 예컨대 SIRT1, PGC-1a, p62 및 LC3-II를 현저히 상향조절하였음을 도시하여, miR485-3p ASO가 자가포식적 기전을 통해서 Htt 응집을 감소시켰음을 입증한다. 감소된 Htt 응집은 SIRT1, PGC-1a, p62 및 LC3의 증가된 발현을 통해서 자가포식을 자극함으로써 miR485-3p ASO로 처리된 PC12 세포에서 또한 관찰되었다. (도 5 및 6). 이밖에도, miR485-3p ASO 처리는 아폽토시스의 마커인, 카스파제-3의 절단을 감소시켜 (도 6), Htt 유도된 뉴런성 아폽토시스가 miR485-3p ASO에 의해 차단되었음을 입증하였다.

[0378] Htt 응집체의 감소에 관한 miR485-3p ASO 처리의 효과를 추가로 검증하기 위해, PC12 그리고 GFP-태그된 야생형 (Q23) 또는 돌연변이체 (Q74) Htt를 발현시키는 1차 피질 뉴런은 miR485-3p ASO로 처리되었다. 대조군 조건 하에서, Q23-Htt를 발현하는 세포는 어느 한쪽 PC12 세포 (도 7a 내지 7e) 또는 1차 피질 뉴런 (도 8a 내지 8d)에서 검출가능한 응집체가 없는 확산 GFP 분포를 보여주었다. 대조적으로, Q74-Htt를 발현하는 양쪽 세포 유형은 Htt 응집체를 표시하였고 miR-485-3p ASO 처리는 대조군 PC12 세포 (도 7a 내지 7e) 및 1차 피질 뉴런 (도 8a 내지 8d)과 비교하여 Htt 응집을 감소시켰다.

[0379] 1차 피질 뉴런은 배아 17일째 마우스로부터 배양되었다. 요약하면, 피질은 해부되었고 빙냉 HBSS (Welgene, LB003-02) 용액에서 인큐베이션되었고 37℃에 15분 동안 아큐맥스(accumax) (sigma, Cat#A7089)에서 해리되었다. 배양물은 HBSS에서 2회 린스처리되었다. 마우스 뉴런은 2% B27 (Gibco, Cat#17504), 1% 피루브산나트륨, 및 1% P/S를 함유하는 신경기저 배지 (Gibco, Cat#21103049)에 재현탁되었다. 세포는 70㎛ 셀 스트레이너 (SPL, 93070)를 통해서 여과되었고, 배양 플레이트 상에서 플레이팅되었고 가습된 5% CO_2 인큐베이터에서 37℃로 유지되었다. 배지는 시험관내 매 3일 그리고 그 다음 10일 후에 교체되었고, 세포는 실험에 사용되었다.

[0380] 모든 데이터는 평균±s.d로서 표현된다. 사후 비교 (Student-Newman-Keuls 검사)는 Prism 8을 사용하여 수행되었다.

[0381] **실시예 4: miR485-3p ASO는 자가포식의 조절에 의해 Htt 응집체의 분해를 향상시킨다**

[0382] miR485-3p ASO 처리가 Htt 응집체의 분해를 촉진시킬 수 있음을 추가로 검증하기 위해, PC12 세포는 miR485-3p (5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (서열번호: 28)와 조합하여 Htt Q23 또는 Htt Q74로 형질감염되었다. Q23 (도 9a 내지 9i) 형질감염된 세포와 비교하여, Htt 단백질의 증가된 응집은 Q74 형질감염된 PC12 세포 (PJ-9R)에서 검출가능하였고, miR485-3p ASO 형질감염 후 급격하게 감소되었다 (도 9a 내지 9r). 자가포식적 액포의 더 많은 다량은 또한 관찰되어 (예를 들면, Q74-대조군과 비교하여 Q74-miR485-3p ASO에서 LC3B와 공국소화된 Htt 단백질을 가진 LC3B), miR-485-3p ASO가 Q74-miR485-3p ASO 형질감염된 세포에서 Htt 응집의 수준을 상당히 감소시킬 수 있음을 나타낸다.

[0383] PC12 세포 (8×10^4)는 12-웰 플레이트에서 밤새 플레이팅되었다. 아메리칸 타입 배양 수집(American Type Culture Collection) (Bethesda, MD, USA)으로부터 수득된 PC12 세포는 10% 태아 소 혈청, 100 단위/mL 페니실린, 100 μg/mL 스트렙토마이신이 있는 둘베코 변형 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle Medium) (DMEM; Welgene)에서 유지되었고; 5% CO2의 가습된 분위기에서 37℃로 지속되었다. 세포는 24-웰 플레이트에서 배양되었고 TransIT-X2TM (Mirus)와 2 μg의 pEGFP HTT (Q23)/mHTT (Q74) 플라스미드로 24 시간의 배양 후 형질감염되었다. 형질감염 및 배지 교체 후, 세포는 miR485-3p ASO로 형질감염되었다. 48 시간의 형질감염 후, 커버슬립 상에서 성장된 세포는 4% 파라포름알데하이드 용액으로 고정되었고, 차단되었고, 그 다음 1차 및 상응하는 형광-접합된 2차 항체로 인큐베이션되었다. HTT 단백질의 응집 및 자가포식은 향상된 녹색 형광 유전자 (EGFP) 발현 및 LC3B 반점에 기초하여 형광 현미경검사 하에서 평가되었다.

[0384] ***

[0385] 개요 및 요약 섹션이 아니라, 상세한 설명 섹션이 청구항을 해석하는데 사용되기 위한 것임이 이해되어야 한다. 개요 및 요약 섹션은 본 발명자(들)에 의해 고려된 대로 본 개시내용의 모든 예시적 양태가 아닌 하나 이상을 설명할 수 있고, 그래서, 본 개시내용 및 첨부된 청구항을 어떤 식으로든 제한하기 위한 것은 아니다.

[0386] 본 개시내용은 특정된 기능 및 이들의 관계의 구현을 예시하는 기능적 구축 블록의 도움으로 상기 기재되었다. 이들 기능적 구축 블록의 경계는 설명의 편의를 위해 본원에 임의적으로 정의되었다. 대안적 경계는 특정된 기능 및 이들의 관계가 적절하게 수행되는 한 정의될 수 있다.

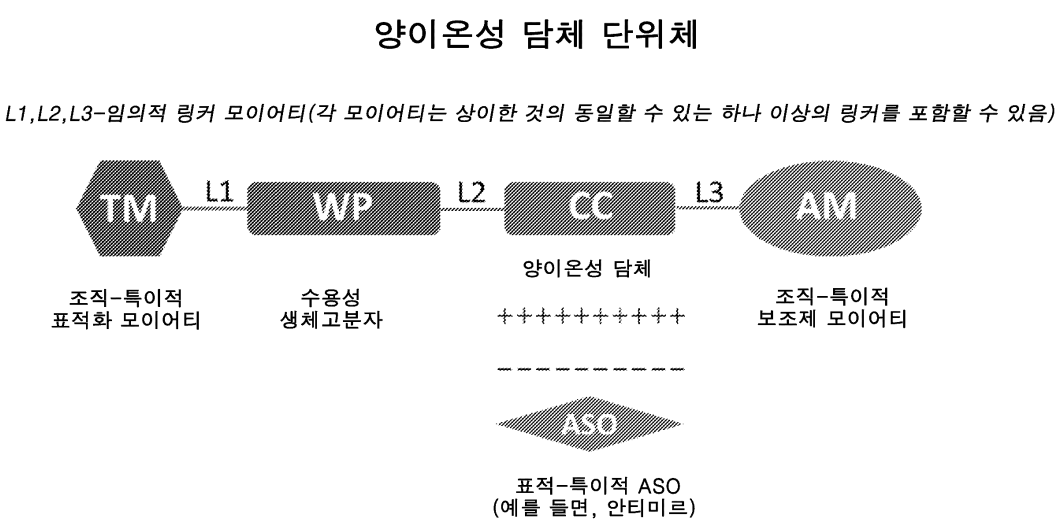
[0387] 특이적 양태의 전술한 설명은 다른 이들이, 과도한 실험작업 없이, 본 개시내용의 일반 개념을 벗어나지 않으면서, 당업계의 기술 내에서 지식을 적용함으로써, 다양한 적용에 대하여 그러한 특이적 양태를 용이하게 수정 및/또는 적응할 수 있는 본 개시내용의 일반 성격을 매우 완전히 드러낼 것이다. 그러므로, 그러한 적응 및 수정은, 본원에 제시된 교시 및 지침에 기반하여, 개시된 양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 있기 위한 것이다. 본원에 술어 또는 전문용어가 제한이 아닌 설명의 목적을 위한 것이어서, 본 명세서의 전문용어 또는 술어가 교시 및 지침에 비추어 숙련된 기술자에 의해 해석되어야 한다는 것이 이해되어야 한다.

[0388] 본 개시내용의 폭 및 범위는 상기-기재된 예시적 양태 중 임의의 것에 의해 제한되지 않아야 하지만, 하기 청구항 및 그들의 등가물에 따라서만 정의되어야 한다.

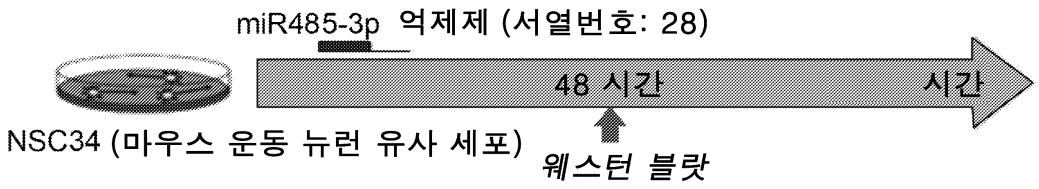
[0389] 본 출원 내내 인용될 수 있는 모든 인용된 참고문헌 (문헌 참조문헌, 특허, 특허 출원, 및 웹사이트 포함)의 내용은, 그안에 인용된 참조문헌이 그러하듯, 임의의 목적을 위하여 그들 전체가 참조로 이로써 명시적으로 편입된다.

도면

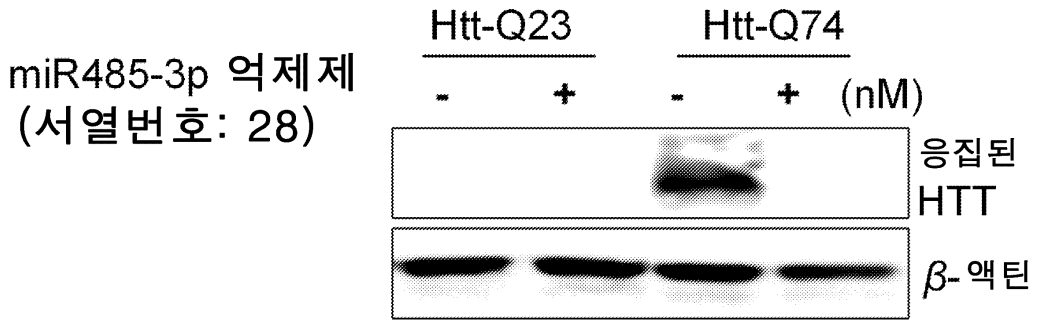
도면1



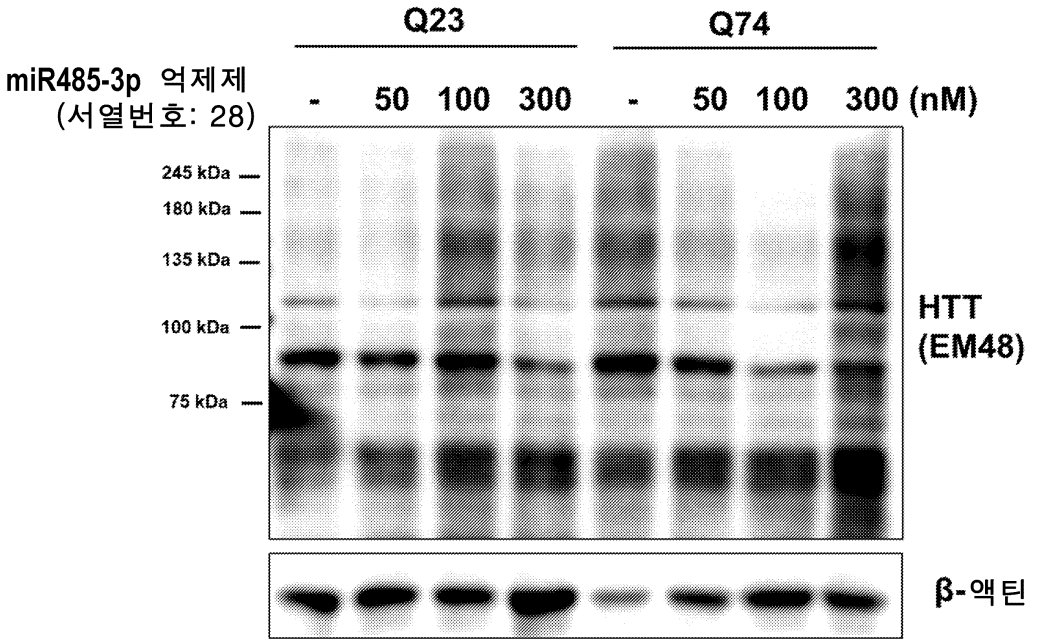
도면2a



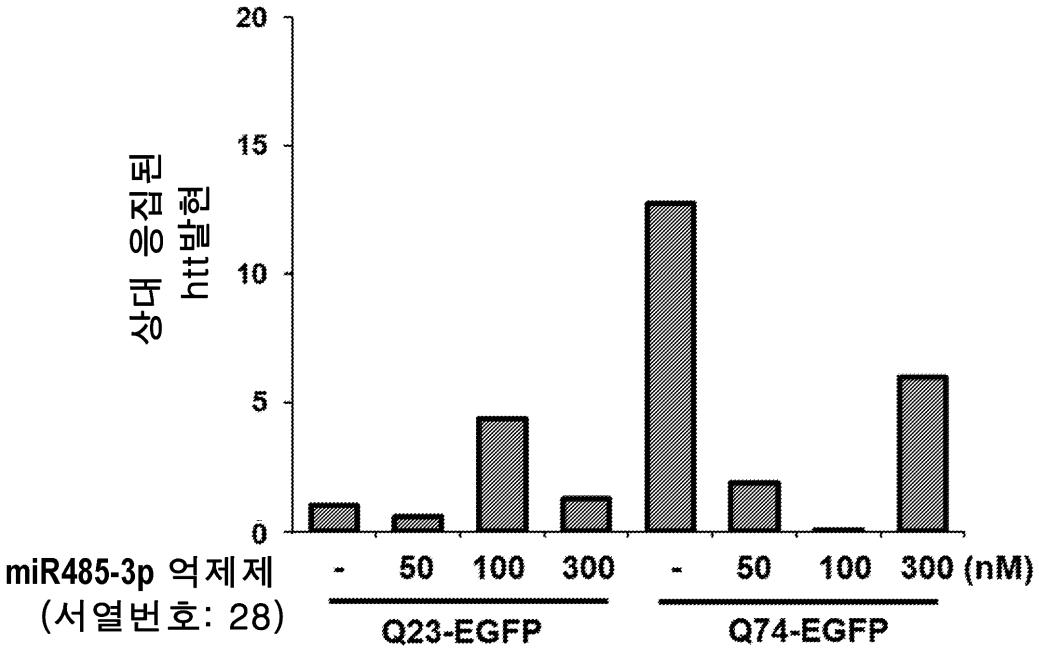
도면2b


miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
Htt-Q23
Htt-Q74
-
+
-
+
(nM)
응집된
HTT
β-액틴

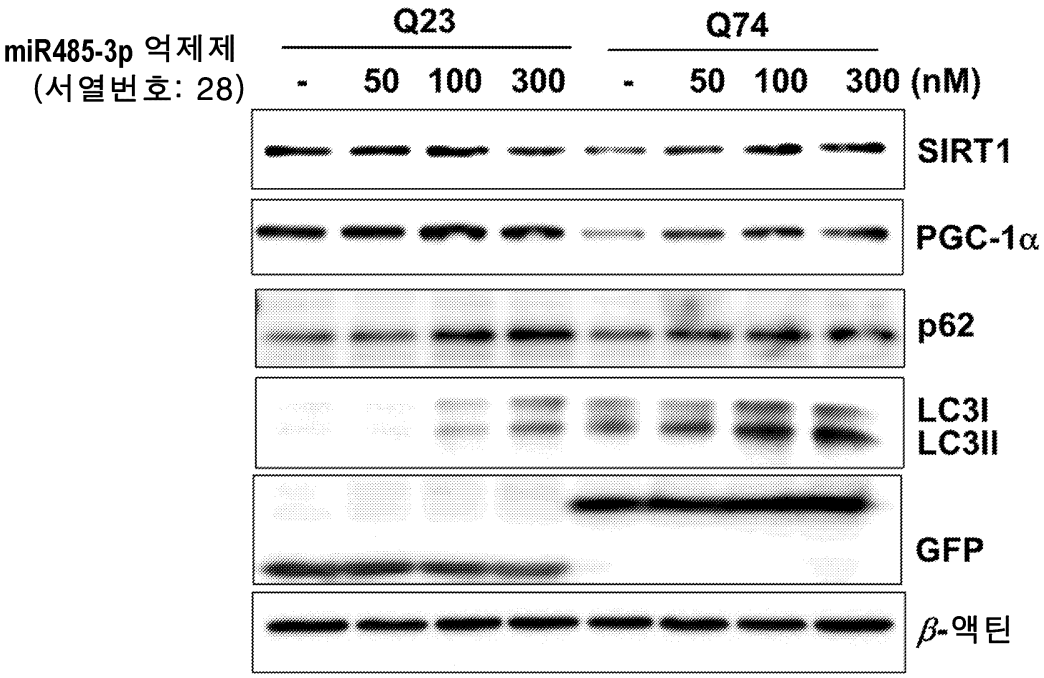
도면3a


Q23
Q74
miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
-
50
100
300
-
50
100
300
(nM)
245 kDa
180 kDa
135 kDa
100 kDa
75 kDa
HTT
(EM48)
β-액틴

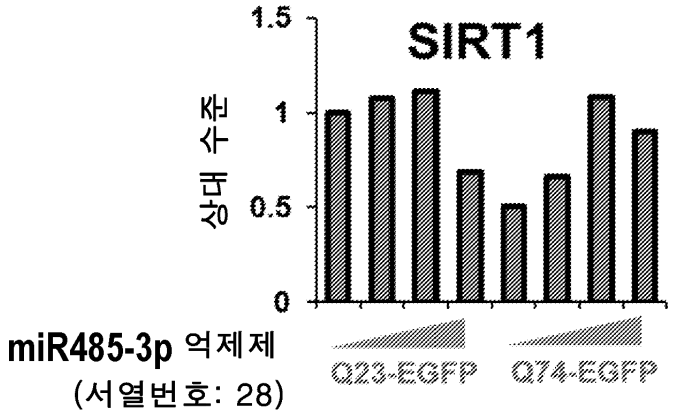
도면3b


20
15
10
5
0
상대 응집된 htt발현
miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
- 50 100 300 - 50 100 300 (nM)
Q23-EGFP
Q74-EGFP

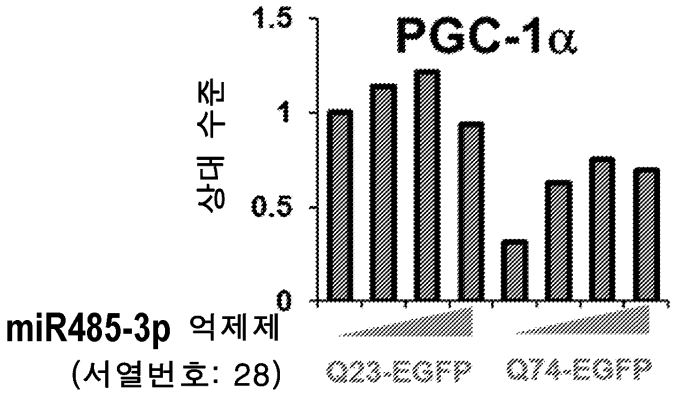
도면4a


miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
Q23
Q74
- 50 100 300 - 50 100 300 (nM)
SIRT1
PGC-1α
p62
LC3I
LC3II
GFP
β-액틴

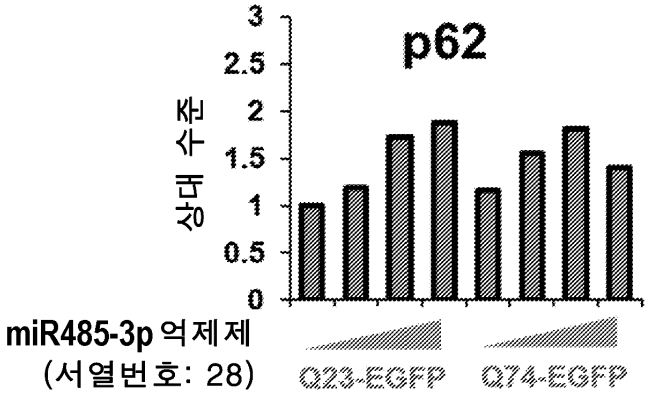
도면4b



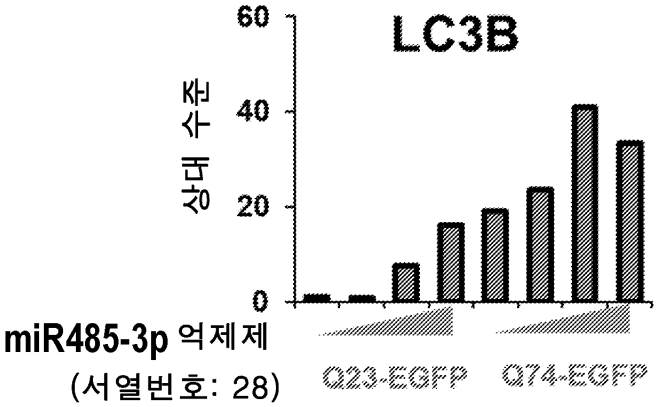
도면4c



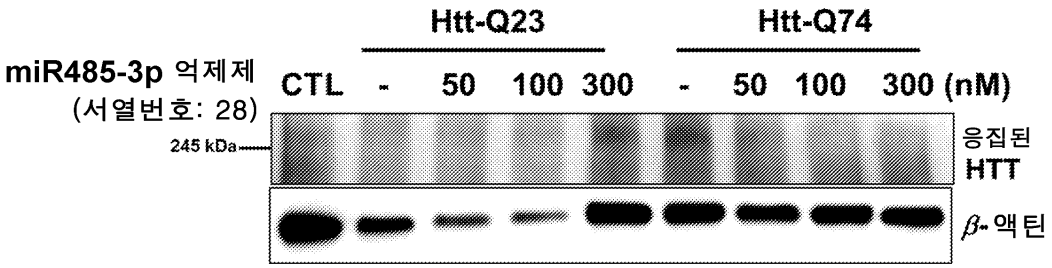
도면4d



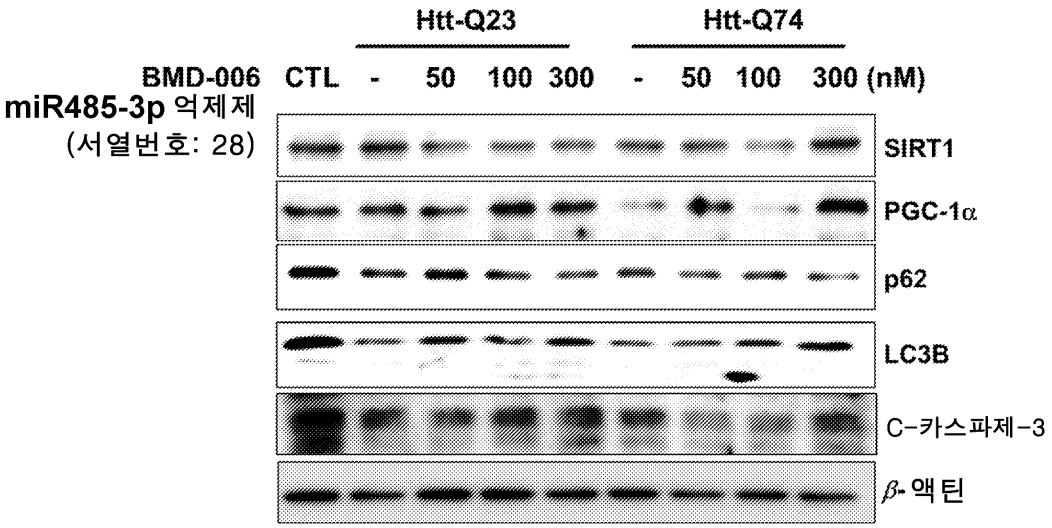
도면4e


LC3B
상대 수준
60
40
20
0
miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
Q23-EGFP
Q74-EGFP

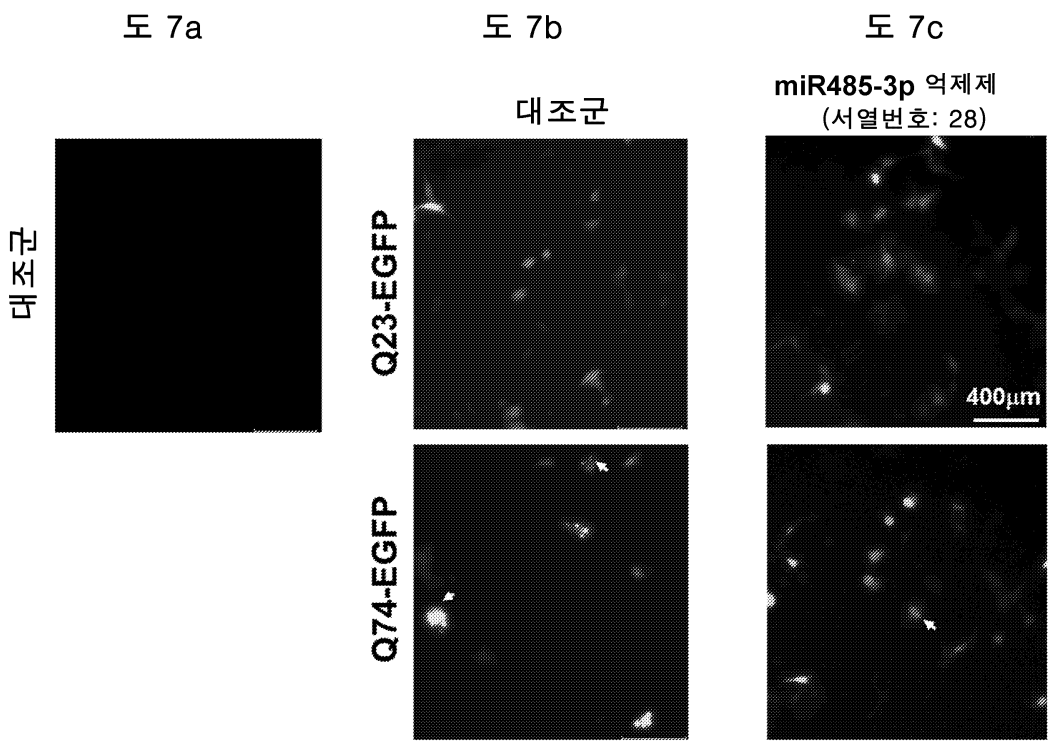
도면5


Htt-Q23
Htt-Q74
miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
CTL - 50 100 300 - 50 100 300 (nM)
245 kDa
응집된 HTT
β-액틴

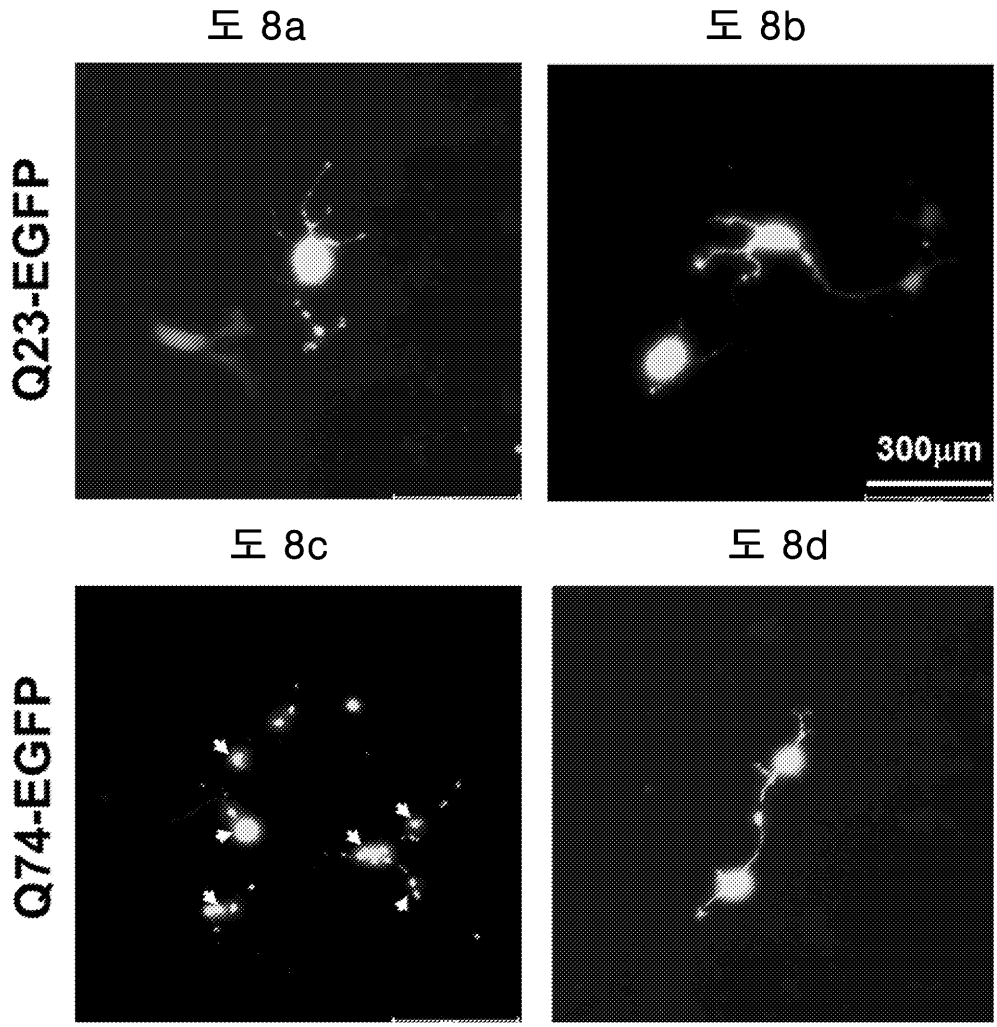
도면6


Htt-Q23
Htt-Q74
BMD-006
miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
CTL - 50 100 300 - 50 100 300 (nM)
SIRT1
PGC-1α
p62
LC3B
C-카스파제-3
β-액틴

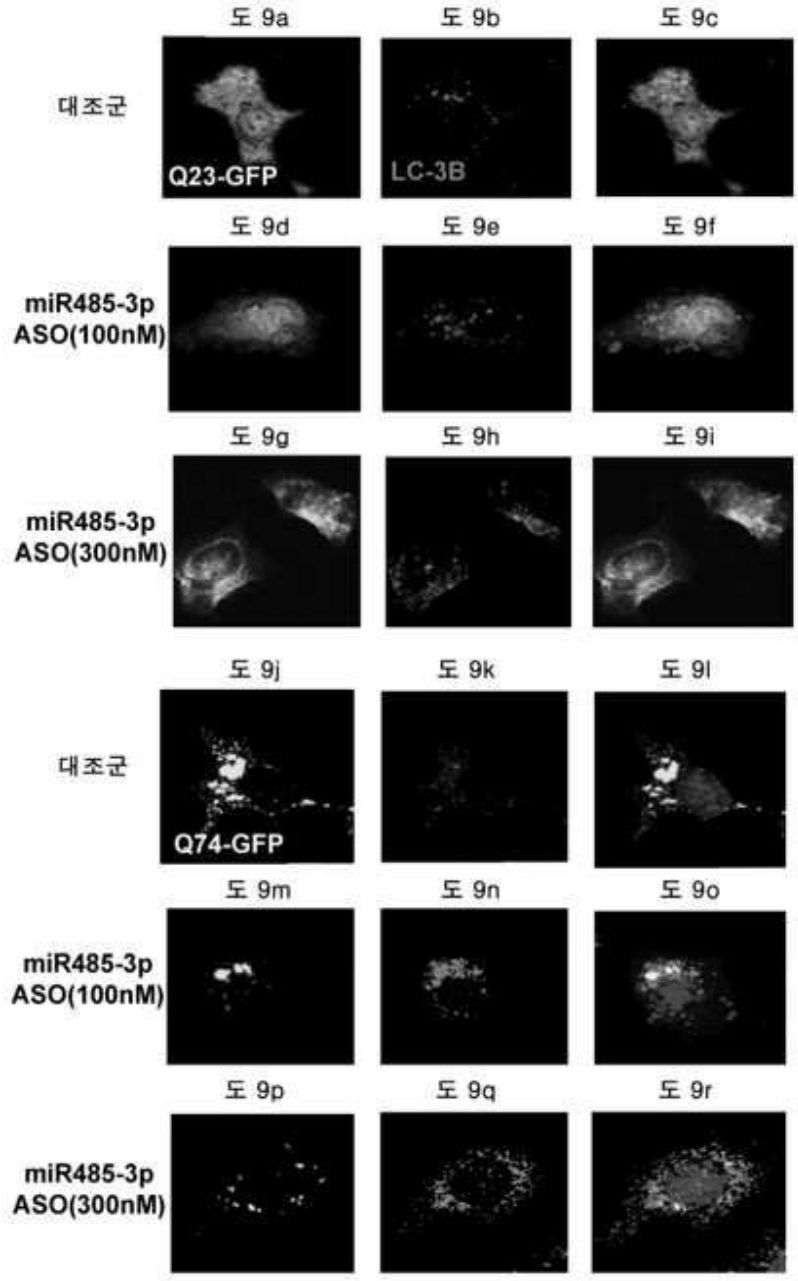
도면7


도 7a
도 7b
도 7c
대조군
miR485-3p 억제제
(서열번호: 28)
대조군
Q23-EGFP
Q74-EGFP
400μm
도 7d
도 7e

도면8



도면9



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BIORCHESTRA CO., LTD.

<120> MIRNA-485 INHIBITOR FOR HUNTINGTON'S DISEASE

<130> 4366.031PC01

<150> US 63/047,090

<151> 2020-07-01

<160> 89

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 1

gucauacacg gcucuccucu cu 22

<210> 2

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 2

uguauga 7

<210> 3

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 3

guguauga 8

<210> 4

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 4

cguguauga 9

<210> 5

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 5

ccguguauga 10

<210> 6

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 6

gccguguaug a 11

<210> 7

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 7

agccguguau ga 12

<210> 8

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 8

gagccgugua uga 13

<210> 9

<211> 14

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 9

agagccgugu auga 14

<210> 10

<211> 15

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 10

gagagccgug uauga 15

<210> 11

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 11

ggagagccgu guauga 16

<210> 12

<211> 17

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 12

aggagagccg uguauga 17

<210> 13

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 13

gaggagagcc guguauga 18

<210> 14

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 14

agaggagagc cguguauga 19

<210> 15

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 15

gagaggagag ccguguauga 20

<210> 16

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 16

uguaugac 8

<210> 17

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 17

guguaugac 9

<210> 18

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 18

cguguaugac 10

<210> 19

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 19

ccguguauga c 11

<210> 20

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 20

gccguguaug ac 12

<210> 21

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 21

agccguguau gac 13

<210> 22

<211> 14

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 22

gagccgugua ugac 14

<210> 23

<211> 15

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 23

agagccgugu augac 15

<210> 24

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 24

gagagccgug uaugac 16

<210> 25

<211> 17

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 25

ggagagccgu guaugac 17

<210> 26

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 26

aggagagccg uguaugac 18

<210> 27

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 27

gaggagagcc guguaugac 19

<210> 28

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 28

agaggagagc cguguaugac 20

<210> 29

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 29

gagaggagag ccguguauga c 21

<210> 30

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 30

agagaggaga gccguguaug ac 22

<210> 31

<211> 747

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 31

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Gly Glu Gly Asp Asn Gly Pro Gly Leu Gln Gly Pro Ser Arg
100 105 110

Glu Pro Pro Leu Ala Asp Asn Leu Tyr Asp Glu Asp Asp Asp Asp Glu
115 120 125

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

130 135 140

Asn Leu Leu Phe Gly Asp Glu Ile Ile Thr Asn Gly Phe His Ser Cys
145 150 155 160

Glu Ser Asp Glu Glu Asp Arg Ala Ser His Ala Ser Ser Ser Asp Trp
165 170 175

Thr Pro Arg Pro Arg Ile Gly Pro Tyr Thr Phe Val Gln Gln His Leu
180 185 190

Met Ile Gly Thr Asp Pro Arg Thr Ile Leu Lys Asp Leu Leu Pro Glu
195 200 205

Thr Ile Pro Pro Pro Glu Leu Asp Asp Met Thr Leu Trp Gln Ile Val
210 215 220

Ile Asn Ile Leu Ser Glu Pro Pro Lys Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ile
225 230 235 240

Asn Thr Ile Glu Asp Ala Val Lys Leu Leu Gln Glu Cys Lys Lys Ile
245 250 255

Ile Val Leu Thr Gly Ala Gly Val Ser Val Ser Cys Gly Ile Pro Asp
260 265 270

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

Asp Leu Pro Asp Pro Gln Ala Met Phe Asp Ile Glu Tyr Phe Arg Lys
290 295 300

Asp Pro Arg Pro Phe Phe Lys Phe Ala Lys Glu Ile Tyr Pro Gly Gln
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ser Leu Cys His Lys Phe Ile Ala Leu Ser Asp Lys Glu
325 330 335

Gly Lys Leu Leu Arg Asn Tyr Thr Gln Asn Ile Asp Thr Leu Glu Gln
340 345 350

Val Ala Gly Ile Gln Arg Ile Ile Gln Cys His Gly Ser Phe Ala Thr
355 360 365

Ala Ser Cys Leu Ile Cys Lys Tyr Lys Val Asp Cys Glu Ala Val Arg
370 375 380

Gly Asp Ile Phe Asn Gln Val Val Pro Arg Cys Pro Arg Cys Pro Ala
385 390 395 400
Asp Glu Pro Leu Ala Ile Met Lys Pro Glu Ile Val Phe Phe Gly Glu
405 410 415

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

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

Ser Pro Pro Asp Ser Ser Val Ile Val Thr Leu Leu Asp Gln Ala Ala
545 550 555 560
Lys Ser Asn Asp Asp Leu Asp Val Ser Glu Ser Lys Gly Cys Met Glu
565 570 575
Glu Lys Pro Gln Glu Val Gln Thr Ser Arg Asn Val Glu Ser Ile Ala
580 585 590
Glu Gln Met Glu Asn Pro Asp Leu Lys Asn Val Gly Ser Ser Thr Gly
595 600 605

Glu Lys Asn Glu Arg Thr Ser Val Ala Gly Thr Val Arg Lys Cys Trp
610 615 620
Pro Asn Arg Val Ala Lys Glu Gln Ile Ser Arg Arg Leu Asp Gly Asn

625 630 635 640

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

645 650 655

Val Tyr Ser Asp Ser Glu Asp Asp Val Leu Ser Ser Ser Ser Cys Gly

660 665 670

Ser Asn Ser Asp Ser Gly Thr Cys Gln Ser Pro Ser Leu Glu Glu Pro

675 680 685

Met Glu Asp Glu Ser Glu Ile Glu Glu Phe Tyr Asn Gly Leu Glu Asp

690 695 700

Glu Pro Asp Val Pro Glu Arg Ala Gly Gly Ala Gly Phe Gly Thr Asp

705 710 715 720

Gly Asp Asp Gln Glu Ala Ile Asn Glu Ala Ile Ser Val Lys Gln Glu

725 730 735

Val Thr Asp Met Asn Tyr Pro Ser Asn Lys Ser

740 745

<210> 32

<211> 561

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 32

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

1 5 10 15

Ala Ala Gly Ala Asp Arg Glu Ala Ala Ser Ser Pro Ala Gly Glu Pro

20 25 30

Leu Arg Lys Arg Pro Arg Arg Asp Gly Pro Gly Leu Glu Arg Ser Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Asp Pro Arg Pro Phe Phe Lys Phe Ala Lys Glu Ile Tyr Pro Gly Gln

305 310 315 320

Phe Gln Pro Ser Leu Cys His Lys Phe Ile Ala Leu Ser Asp Lys Glu

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ala Leu Ile Pro Ser Asn Gln Tyr Leu Phe Leu Pro Pro Asn Arg Tyr

450 455 460

Ile Phe His Gly Ala Glu Val Tyr Ser Asp Ser Glu Asp Asp Val Leu

465 470 475 480

Ser Ser Ser Ser Cys Gly Ser Asn Ser Asp Ser Gly Thr Cys Gln Ser

485 490 495

Pro Ser Leu Glu Glu Pro Met Glu Asp Glu Ser Glu Ile Glu Glu Phe

500 505 510

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

515 520 525

Ala Gly Phe Gly Thr Asp Gly Asp Asp Gln Glu Ala Ile Asn Glu Ala

530 535 540

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

545 550 555 560

Ser

<210> 33

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 33

agaggcuggc cgugaugaau uc 22

<210> 34

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 34

agucauacac ggcucuccuc uc 22

<210> 35

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> miR-485-5p

<400> 35

agaggcuggc cgugaugaau uc 22

<210> 36

<211> 472

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

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

420 425 430
Gln Val Thr Gly Lys Ile Asn Leu Leu Gly Leu Ile Glu Met Ile Leu
435 440 445
Leu Ser Val Gly Val Val Met Phe Val Ala Phe Met Ile Ser Tyr Cys
450 455 460
Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile Lys
465 470

<210> 37
<211> 288
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> miRNA inhibitor
<400> 37
Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly

1 5 10 15
Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

<210> 38

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 38

Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly
1 5 10 15
Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu
20 25 30

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

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

Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg
165 170 175
Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr
180 185 190
Pro Val Thr Thr Thr Val Gly Leu Phe Tyr Pro Tyr Asn Asn Thr Ala

195 200 205

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

210 215 220

Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Phe Cys Thr Glu Lys Ile Ile Ser Lys Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val

275 280 285

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

290 295 300

Pro His Phe Leu Tyr Ala Ser Pro Asp Val Ser Glu Pro Ile Asp Gly

305 310 315 320

Leu Asn Pro Asn Glu Glu Glu His Arg Thr Tyr Leu Asp Ile Glu Pro

325 330 335

Ile Thr Gly Phe Thr Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Gln Val Asn Leu

340 345 350

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

355 360 365

Asn Tyr Ile Val Pro Ile Leu Trp Leu Asn Glu Thr Gly Thr Ile Gly

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Leu Gly Leu Ile Glu Met Ile Leu Leu Ser Val Gly Val Val Met

405 410 415

Phe Val Ala Phe Met Ile Ser Tyr Cys Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile

420 425 430

Lys

<210> 39

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Asp Ile Cys Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe Glu Ser Asp Val Asn
210 215 220

Leu Lys Gly Ile Pro Val Tyr Arg Phe Val Leu Pro Ser Lys Ala Phe
225 230 235 240
Ala Ser Pro Val Glu Asn Pro Asp Asn Tyr Cys Phe Cys Thr Glu Lys
245 250 255
Ile Ile Ser Lys Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val Leu Asp Ile Ser Lys
260 265 270
Cys Lys Glu Gly Arg Pro Val Tyr Ile Ser Leu Pro His Phe Leu Tyr
275 280 285

Ala Ser Pro Asp Val Ser Glu Pro Ile Asp Gly Leu Asn Pro Asn Glu
290 295 300
Glu Glu His Arg Thr Tyr Leu Asp Ile Glu Pro Ile Thr Gly Phe Thr
305 310 315 320
Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Gln Val Asn Leu Leu Val Lys Pro Ser
325 330 335
Glu Lys Ile Gln Val Leu Lys Asn Leu Lys Arg Asn Tyr Ile Val Pro
340 345 350

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

<210> 40

<211

> 798

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 40

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

50 55 60
Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile
65 70 75 80
Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu
85 90 95
Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu
100 105 110
Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met

115 120 125
Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu
130 135 140
Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu
145 150 155 160
Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile
165 170 175
Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys

180 185 190
Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser
195 200 205
Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys
210 215 220
Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys
225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe Asp

500 505 510

Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly Thr

515 520 525

Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe Asn

530 535 540

Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser Gln

545 550 555 560

Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His Arg

565 570 575

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

580 585 590

Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His Tyr

595 600 605

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

610 615 620

Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu Tyr

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp Thr

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly Tyr

725 730 735

Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu Tyr Phe Cys Gly
740 745 750

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

755 760 765

Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr Asp Ser Leu Asp
770 775 780

Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg
785 790 795

<210> 41

<211> 271

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 41

Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp
1 5 10 15

Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp
20 25 30

Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr
35 40 45

Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile
50 55 60

Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile
65 70 75 80

Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu
85 90 95

Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu
100 105 110

Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met
115 120 125

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

130 135 140

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

Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys
210 215 220
Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys
225 230 235 240
Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr
245 250 255
Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Leu Phe Leu
260 265 270

<210> 42
<211> 803
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> miRNA inhibitor
<400> 42
Met Asp Glu Thr Ser Pro Arg Leu Glu Glu Asp Trp Lys Lys Val Leu
1 5 10 15
Gln Arg Glu Ala Gly Trp Gln Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln
20 25 30
Pro Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val
35 40 45
Asn Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser

50 55 60

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

115 120 125
Ser Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu
130 135 140
Glu Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln
145 150 155 160
Leu Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn
165 170 175
His Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn

180 185 190
Ser Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln
195 200 205
Arg Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp
210 215 220
Pro Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys
225 230 235 240
Cys Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu

245 250 255
Gln Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro
260 265 270
Asn Asp Pro Lys Gly Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr
275 280 285
Leu Ser Val Glu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Leu Thr Pro Pro Thr Thr
290 295 300
Pro Pro His Lys Ala Asn Gln Asp Asn Pro Phe Arg Ala Ser Pro Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

Arg Tyr Ser Glu Ser Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys

340 345 350

Gly Pro Glu Gln Ser Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val

355 360 365

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

370 375 380

Leu Phe Gly Asp His Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu

385 390 395 400

Ile Leu Ile Asn Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu

405 410 415

Asn Lys Asp Val Ser Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr

420 425 430

Asp Ser Asp Gln Cys Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Glu Gln Phe Ser Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met

500 505 510

Asp Gly Leu Phe Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr

515 520 525

Pro Trp Asp Gly Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser

530 535 540

Cys Ser Ser Phe Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys

545 550 555 560

Ser Leu Phe Ser Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser

565 570 575

Phe Ser Arg His Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

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

785 790 795 800

Leu Arg Arg

<210> 43

<211> 786

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 43

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro

1 5 10 15

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn

20 25 30

Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp

35 40 45

Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile

50 55 60

Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Lys Ser Ser Cys Lys Thr Val Val Pro Pro Pro Ser Lys Lys Pro Arg

305 310 315 320

Tyr Ser Glu Ser Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys Gly

325 330 335

Pro Glu Gln Ser Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val Leu

340 345 350

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

355 360 365

Phe Gly Asp His Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu Ile

370 375 380

Leu Ile Asn Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

Gln Phe Ser Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp

485 490 495

Gly Leu Phe Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro

500 505 510

Trp Asp Gly Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys

515 520 525

Ser Ser Phe Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser

530 535 540

Leu Phe Ser Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe

545 550 555 560

Ser Arg His Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

Arg Arg

785

<210> 44

<211> 289

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 44

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro

1 5 10 15

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn

20 25 30

Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp

35 40 45

Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile

50 55 60

Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Ser Val Glu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Val Lys Thr Asn Leu Ile Ser

275 280 285

Lys

<210> 45

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 45

Met Asp Glu Thr Ser Pro Arg Leu Glu Glu Asp Trp Lys Lys Val Leu
1 5 10 15

Gln Arg Glu Ala Gly Trp Gln Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln
20 25 30

Pro Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val
35 40 45

Asn Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser
50 55 60

Asp Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn
65 70 75 80

Ile Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val
85 90 95

Leu Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro
100 105 110

Ser Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala
115 120 125

Ser Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu
130 135 140

Glu Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln
145 150 155 160

Leu Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn
165 170 175

His Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn
180 185 190

Ser Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln
195 200 205

Arg Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp
210 215 220

Pro Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys
225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Asn Leu Phe Leu

275

<210> 46

<211> 138

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 46

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro

1 5 10 15

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn

20 25 30

Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp

35 40 45

Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile

50 55 60

Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ser Leu Val Arg Thr Leu Pro Thr Val

130 135

<210> 47

<211> 301

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 47

Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp
1 5 10 15

Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp
20 25 30

Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr
35 40 45

Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile
50 55 60

Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile
65 70 75 80

Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu
85 90 95

Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu
100 105 110

Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met
115 120 125

Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu
130 135 140

Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu
145 150 155 160

Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile
165 170 175

Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys
180 185 190

Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ser Gly Thr Ala Gly Val Lys Thr Asn Leu Ile Ser Lys

290 295 300

<210> 48

<211> 671

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe

370 375 380

Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly

385 390 395 400

Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe

405 410 415

Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser

420 425 430

Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His

435 440 445

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

450 455 460

Gly Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His

465 470 475 480

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

485 490 495

Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

<210> 49

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 49

ucauaca 7

<210> 50

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 50

gaggcug 7

<210> 51

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 51

cgaggtcgac ttcctaga 18

<210> 52

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 52

catacacggc tctcctctct aaa 23

<210> 53

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 53

tcctgtggca tccatgaaac 20

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 54

caatgcctgg gtacatggtg 20

<210> 55

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 55

ccaagtggag gagcagct 18

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 56

gacaaggtac aacccatcgg 20

<210> 57

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 57

ttcgacacat gggataacga gg 22

<210> 58

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 58

tttttgctgt gagtcccgga g 21

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 59

cagcctagca gcacgtaaat 20

<210> 60

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 60

gaatcgagca ccagttacg 19

<210> 61

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> oligonucleotide

<400> 61

ccttccctga aggttcctcc tt 22

<210> 62

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 62

tgtatga 7

<210> 63

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 63

gtgtatga 8

<210> 64

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 64

cgtgtatga 9

<210> 65

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 65

ccgtgtatga 10

<210> 66

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 66

gccgtgtatg a 11

<210> 67

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 67

agccgtgtat ga 12

<210> 68

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 68

gagccgtgta tga 13

<210> 69

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 69

agagccgtgt atga 14

<210> 70

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 70

gagagccgtg tatga 15

<210> 71

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 71

ggagagccgt gtatga 16

<210> 72

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 72

aggagagccg tgtatga 17

<210> 73

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 73

gaggagagcc gtgtatga 18

<210> 74

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 74

agaggagagc cgtgtatga 19

<210> 75

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 75

gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 76

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 76

tgtatgac 8

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 77

gtgtatgac 9

<210> 78

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 78

cgtgtatgac 10

<210> 79

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 79

ccgtgtatga c 11

<210> 80

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 80

gccgtgtatg ac 12

<210> 81

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 81

agccgtgtat gac 13

<210> 82

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 82

gagccgtgta tgac 14

<210> 83

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 83

agagccgtgt atgac 15

<210> 84

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 84

gagagccgtg tatgac 16

<210> 85

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 85

ggagagccgt gtatgac 17

<210> 86

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 86

aggagagccg tgtatgac 18

<210> 87

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 87

gaggagagcc gtgtatgac 19

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 88

agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 89

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> miRNA inhibitor

<400> 89

gagaggagag ccgtgtatga c 21