



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202241459 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：110148527

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 23 日

(51)Int. Cl.：

*A61K31/7088(2006.01)**C12N15/113 (2010.01)**A61P17/14 (2006.01)*

(30)優先權：2020/12/23

美國

63/130,121

(71)申請人：南韓商生物歐賽加有限責任公司(南韓) BIORCHESTRA CO., LTD. (KR)

南韓

(72)發明人：柳辰協 RYU, JIN-HYEOB (KR)；沙納茲 比根 SHAHNAZ, BEGUM (BD)；侯賽因 賈米爾 MD HOSSAIN, JAMIL (BD)；閔現綉 MIN, HYUN SU (KR)；林有娜 LIM, YU NA (KR)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：72 項 圖式數：10 共 206 頁

(54)名稱

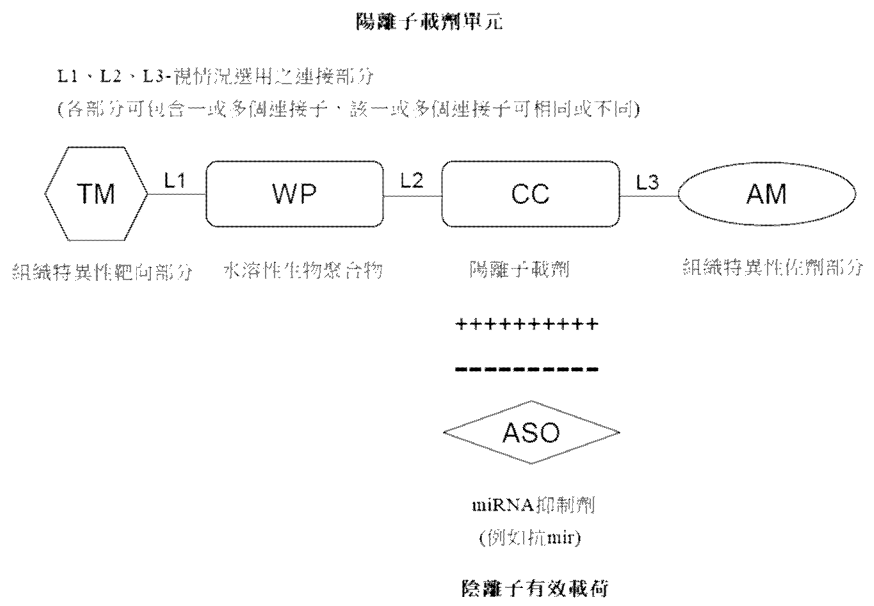
miRNA—485 抑制劑用於誘導毛髮生長之用途

(57)摘要

本揭示案包括 miRNA 抑制劑用於在有需要之個體中誘導毛髮生長、增加毛髮密度、增加毛囊密度、增加毛幹厚度、增加毛髮長度、預防脫髮、減少脫髮或其任何組合之用途。在一些態樣中，個體患有一或多種選自由以下組成之群的病症：大禿頭症(alopecia greata)、雄激素性禿頭症、斑禿、普遍禿頭症、退化性禿頭症(involutional alopecia)、拔毛癖、休止期脫髮、生長期脫髮、斑痕禿頭症、癬痕性脫髮、頭皮稀疏、毛幹異常、傳染性毛髮病症、遺傳性病症以及由化學療法、激素失衡、真菌感染、藥物攝入、化學毛髮處理或衰老引起之脫髮。

The present disclosure includes the use of a miRNA inhibitor for inducing hair growth, increasing the hair density, increasing the follicular density, increasing the hair shaft thickness, increasing hair length, preventing hair loss, reducing hair loss, or any combination thereof in a subject in need thereof. In some aspects, the subject has one or more disorders selected from the group consisting of alopecia greata, androgenic alopecia, alopecia areata, alopecia universalis, involutional alopecia, trichotillomania, telogen effluvium, anagen effluvium, cicatricial alopecia, scarring alopecia, scalp thinning, hair shaft abnormalities, infectious hair disorders, genetic disorders, and hair loss due to chemotherapy, hormonal imbalance, fungal infection, medication intake, chemical hair treatment, or aging.

指定代表圖：



【圖 1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

m i R N A — 4 8 5 抑制劑用於誘導毛髮生長之用途

【英文發明名稱】

USE OF MIRNA-485 INHIBITORS FOR INDUCING HAIR GROWTH

【中文】

本揭示案包括 miRNA 抑制劑用於在有需要之個體中誘導毛髮生長、增加毛髮密度、增加毛囊密度、增加毛幹厚度、增加毛髮長度、預防脫髮、減少脫髮或其任何組合之用途。在一些態樣中，個體患有一或多種選自由以下組成之群的病症：大禿頭症 (alopecia greata)、雄激素性禿頭症、斑禿、普遍禿頭症、退化性禿頭症 (involutional alopecia)、拔毛癖、休止期脫髮、生長期脫髮、斑痕禿頭症、癍痕性脫髮、頭皮稀疏、毛幹異常、傳染性毛髮病症、遺傳性病症以及由化學療法、激素失衡、真菌感染、藥物攝入、化學毛髮處理或衰老引起之脫髮。

【 英文 】

The present disclosure includes the use of a miRNA inhibitor for inducing hair growth, increasing the hair density, increasing the follicular density, increasing the hair shaft thickness, increasing hair length, preventing hair loss, reducing hair loss, or any combination thereof in a subject in need thereof. In some aspects, the subject has one or more disorders selected from the group consisting of alopecia greata, androgenic alopecia, alopecia areata, alopecia universalis, involutional alopecia, trichotillomania, telogen effluvium, anagen effluvium, cicatricial, alopecia, scarring alopecia, scalp thinning, hair shaft abnormalities, infectious hair disorders, genetic disorders, and hair loss due to chemotherapy, hormonal imbalance, fungal infection, medication intake, chemical hair treatment, or aging.

【指定代表圖】圖 1
【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

m i R N A — 4 8 5 抑制劑用於誘導毛髮生長之用途

【英文發明名稱】

USE OF MIRNA-485 INHIBITORS FOR INDUCING HAIR GROWTH

【技術領域】

【0001】本揭示案提供miR-485抑制劑(例如，編碼包含至少一個miR-485結合位點之核苷酸分子之多核苷酸)用於誘導毛髮生長之用途。

【先前技術】

【0002】隨著現代社會人口老齡化加劇且壓力大，愈來愈多之人面臨掉髮及脫髮之威脅。儘管在醫學上為良性的，但其可能對受影響之患者及其家人造成巨大情緒及社會心理壓力。脫髮原因包括自然衰老過程之一部分、毛髮生長週期受損、遺傳傾向、藥物引起之不良副作用及/或醫學治療、環境原因，諸如過敏、感染、壓力、缺乏適當之飲食及睡眠、及/或其他全身性病症。

【0003】據估計，美國40%男性至35歲時會有一些明顯脫髮。隨著男性年齡之增長，此情況將變得更糟。據估計，至60歲時，美國65%成年男性會出現明顯脫髮。女性亦有脫髮之苦。與男性不同，女性脫髮通常包括整個頭部

及髮際線明顯稀疏。美國皮膚病學會(American Academy of Dermatology)報導，40%女性至40歲時有明顯脫髮。參見例如美國專利第9,173,921號。

【0004】因此，非常需要新穎且更有效之誘導毛髮生長之方法。

【發明內容】

【0005】本文提供一種在有需要之個體中誘導毛髮生長之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【0006】本文亦提供一種在有需要之個體中增加毛髮密度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【0007】本文亦提供一種在有需要之個體中增加毛囊密度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【0008】本文亦提供一種在有需要之個體中增加毛幹厚度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【0009】本文亦提供一種在有需要之個體中增加毛髮長度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【0010】本文亦提供一種在有脫髮風險之個體中預防脫髮之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物

(「miRNA抑制劑」)。

【0011】本文亦提供一種在有需要之個體中減少脫髮之方法，其包括向該個體投與抑制miR-485之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【0012】在一些態樣中，個體患有一或多種選自由以下組成之群的病症：大禿頭症、雄激素性禿頭症、斑禿、普遍禿頭症、退化性禿頭症、拔毛癖、休止期脫髮、生長期脫髮、斑痕禿頭症、癍痕性脫髮、頭皮稀疏、毛幹異常、傳染性毛髮病症、遺傳性病症以及由化學療法、激素失衡、真菌感染、藥物攝入、化學毛髮處理或衰老引起之脫髮。在一些態樣中，個體為人類。

【0013】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑誘導自噬及/或治療或預防發炎。

【0014】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑抑制miR485-3p。在一些態樣中，miR485-3p包含5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3' (SEQ ID NO: 1)。在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑包括包含5'-UGUAUGA-3'之核苷酸序列 (SEQ ID NO: 2)且其中該miRNA抑制劑包含約6至約30個核苷酸之長度。

【0015】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑在核苷酸序列之5'處包含至少1個核苷酸、至少2個核苷酸、至少3個核苷酸、至少4個核苷酸、至少5個核苷酸、至少6個核苷酸、至少7個核苷酸、至少8個核苷酸、至少9個核苷酸、至少10個核苷酸、至少11個核苷酸、至少12個核苷酸。

酸、至少13個核苷酸、至少14個核苷酸、至少15個核苷酸、至少16個核苷酸、至少17個核苷酸、至少18個核苷酸、至少19個核苷酸或至少20個核苷酸。在一些態樣中，miRNA抑制劑在核苷酸序列之3'處包含至少1個核苷酸、至少2個核苷酸、至少3個核苷酸、至少4個核苷酸、至少5個核苷酸、至少6個核苷酸、至少7個核苷酸、至少8個核苷酸、至少9個核苷酸、至少10個核苷酸、至少11個核苷酸、至少12個核苷酸、至少13個核苷酸、至少14個核苷酸、至少15個核苷酸、至少16個核苷酸、至少17個核苷酸、至少18個核苷酸、至少19個核苷酸或至少20個核苷酸。

【0016】 在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑具有選自由以下組成之群的序列：5'-UGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 2)、5'-GUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 3)、5'-CGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 4)、5'-CCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 5)、5'-GCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 8)、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 9)、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 10)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 11)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 13)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 14)、5'-

GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 15) ; 5'-UGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 16) 、 5'-GUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 17) 、 5'-CGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 18) 、 5'-CCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 19) 、 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 20) 、 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 21) 、 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 22) 、 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 23) 、 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 24) 、 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 25) 、 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 26) 、 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 27) 、 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 28)或 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 29) 。

【0017】 在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑具有選自由以下組成之群的序列：5'-TGTATGA-3' (SEQ ID NO: 30) 、 5'-GTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 51) 、 5'-CGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 52) 、 5'-CCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 53) 、 5'-GCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 54) 、 5'-AGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 55) 、 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 35) 、 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 56) 、 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 57) 、 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 58) 、 5'-

AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 59) 、 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 60) 、 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 61) 、 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 62) ; 5'-TGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 63) 、 5'-GTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 64) 、 5'-CGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 65) 、 5'-CCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 66) 、 5'-GCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 67) 、 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 68) 、 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 69) 、 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 70) 、 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 71) 、 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 72) 、 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 73) 、 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 74) 、 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 75) 及 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 76) 。

【0018】 在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑之序列與5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77) 至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%或至少約95%序列一致。在某些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑具有與5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3'

(SEQ ID NO: 77)具有至少90%相似性之序列。在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑包含具有一個取代或兩個取代之核苷酸序列5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)。在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑包含核苷酸序列5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)。在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑包含核苷酸序列5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)。

【0019】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑包含至少一種經修飾之核苷酸。在某些態樣中，至少一種經修飾之核苷酸為鎖核酸(LNA)、非鎖核酸(UNA)、阿拉伯糖核酸(ABA)、橋連核酸(BNA)及/或肽核酸(PNA)。

【0020】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑包含骨架修飾。在某些態樣中，骨架修飾為磷醯二胺N-嗎啉基寡聚物(PMO)及/或硫代磷酸酯(PS)修飾。

【0021】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑在遞送劑中遞送。在某些態樣中，遞送劑為微胞、胞外體、脂質奈米粒子、細胞外囊泡或合成囊泡。

【0022】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑由病毒載體遞送。在某些態樣中，病毒載體為AAV、腺病毒、逆轉錄病毒或慢病毒。在一些態樣中，病毒載體為具有AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、

AAV9、AAV10或其任何組合之血清型的AAV。

【0023】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑用遞送劑遞送。在某些態樣中，遞送劑包含微胞、胞外體、類脂質、脂質體、脂質複合物、脂質奈米粒子、細胞外囊泡、合成囊泡、聚合化合物、肽、蛋白質、細胞、奈米粒子模擬物、奈米管、結合物、病毒載體或其組合。

【0024】在一些態樣中，遞送劑包含陽離子載劑單元，該陽離子載劑單元包含

$$[WP]-L1-[CC]-L2-[AM] \quad (\text{式 I})$$

或

$$[WP]-L1-[AM]-L2-[CC] \quad (\text{式 II})$$

其中

WP為水溶性生物聚合物部分；

CC為帶正電荷之載劑部分；

AM為佐劑部分；且

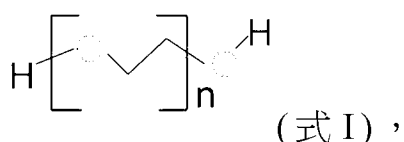
L1及L2獨立地為視情況選用之連接子，且

其中當與核酸以約1:1之離子比混合時，陽離子載劑單元形成微胞。

【0025】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑經由離子鍵與陽離子載劑單元相互作用。在一些態樣中，水溶性聚合物包含聚(烷二醇)、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯醇)、聚(乙烯吡咯啉酮)、聚(羥基烷基甲基丙烯醯胺)、聚(甲基丙烯酸羥基烷酯)、聚(醣)、聚(α -羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚甘油、聚磷氮烯、聚噁唑啉(「POZ」)聚(N-丙烯

鹽基嗎啉)或其任何組合。在其他態樣中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(「PEG」)、聚甘油或聚(丙二醇)(「PPG」)。

【0026】在一些態樣中，水溶性聚合物包含：



在一些態樣中， n 為1-1000。在某些態樣中， n 為至少約110、至少約111、至少約112、至少約113、至少約114、至少約115、至少約116、至少約117、至少約118、至少約119、至少約120、至少約121、至少約122、至少約123、至少約124、至少約125、至少約126、至少約127、至少約128、至少約129、至少約130、至少約131、至少約132、至少約133、至少約134、至少約135、至少約136、至少約137、至少約138、至少約139、至少約140或至少約141。在其他態樣中， n 為約80至約90、約90至約100、約100至約110、約110至約120、約120至約130、約140至約150、約150至約160。

【0027】在一些態樣中，水溶性聚合物為線性、分支或樹枝狀。

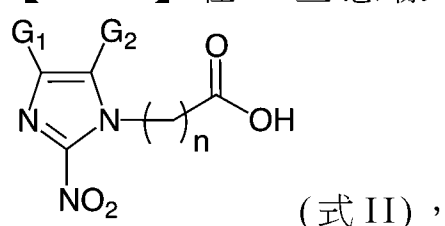
【0028】在一些態樣中，陽離子載劑部分包含一或多個鹼性胺基酸。在某些態樣中，陽離子載劑部分包含至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少

18個、至少19個、至少20個、至少21個、至少22個、至少23個、至少24個、至少25個、至少26個、至少27個、至少28個、至少29個、至少30個、至少31個、至少32個、至少33個、至少34個、至少35個、至少36個、至少37個、至少38個、至少39個、至少40個、至少41個、至少42個、至少43個、至少44個、至少45個、至少46個、至少47個、至少48個、至少49個或至少50個鹼性胺基酸。在某些態樣中，陽離子載劑部分包含約30個至約50個鹼性胺基酸。

【0029】在一些態樣中，鹼性胺基酸包含精胺酸、離胺酸、組胺酸或其任何組合。在一些態樣中，陽離子載劑部分包含約40個離胺酸單體。

【0030】在一些態樣中，佐劑部分能夠調節免疫反應、發炎反應及/或組織微環境。在某些態樣中，佐劑部分包含咪唑衍生物、胺基酸、維生素或其任何組合。

【0031】在一些態樣中，佐劑部分包含：



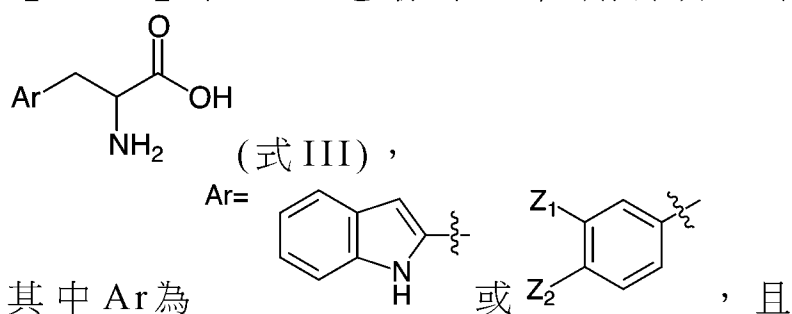
其中G1及G2各自為H、芳環或1-10烷基，或G1及G2一起形成芳環，且其中n為1-10。

【0032】在一些態樣中，佐劑部分包含硝基咪唑。在某些態樣中，佐劑部分包含甲硝唑(metronidazole)、替硝唑(tinidazole)、尼莫唑(nimorazole)、二甲硝唑(dimetridazole)、普托馬尼(pretomanid)、奧硝唑

(ornidazole)、美格唑(megazol)、阿扎硝唑(azanidazole)、
 苺硝唑(benznidazole)或其任何組合。

【0033】在一些態樣中，佐劑部分包含胺基酸。

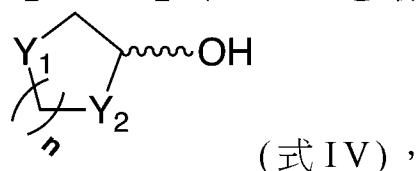
【0034】在一些態樣中，佐劑部分包含



其中 Z1 及 Z2 各自為 H 或 OH。

【0035】在一些態樣中，佐劑部分包含維生素。在某些態樣中，維生素包含環或雜原子環及羧基或羥基。

【0036】在一些態樣中，維生素包含：



其中 Y1 及 Y2 各自為 C、N、O 或 S，且其中 n 為 1 或 2。

【0037】在一些態樣中，維生素係選自由以下組成之群：維生素 A、維生素 B1、維生素 B2、維生素 B3、維生素 B6、維生素 B7、維生素 B9、維生素 B12、維生素 C、維生素 D2、維生素 D3、維生素 E、維生素 M、維生素 H 及其任何組合。舉例而言，維生素可為維生素 B3。

【0038】在一些態樣中，佐劑部分包含至少約兩個、至少約三個、至少約四個、至少約五個、至少約六個、至少約七個、至少約八個、至少約九個、至少約十個、至少約 11 個、至少約 12 個、至少約 13 個、至少約 14 個、至少約

15個、至少約16個、至少約17個、至少約18個、至少約19個或至少約20個維生素B3。在某些態樣中，佐劑部分包含約10個維生素B3。

【0039】在一些態樣中，遞送劑包含約具有約120個至約130個PEG單元之水溶性生物聚合物部分、包含具有約30個至約40個離胺酸之聚離胺酸的陽離子載劑部分及具有約5個至約10個維生素B3之佐劑部分。

【0040】在一些態樣中，遞送劑與miRNA抑制劑締合，從而形成微胞。例如，締合可為共價鍵、非共價鍵或離子鍵。

【0041】在一些態樣中，使微胞中之陽離子載劑單元及miRNA抑制劑在溶液中混合，使得陽離子載劑單元之正電荷與miRNA抑制劑之負電荷之離子比為約1:1。在一些態樣中，陽離子載劑單元能夠保護miRNA抑制劑免於酶促降解。

【0042】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑係非經腸、肌肉內、皮下、經眼、靜脈內、腹膜內、皮內、眶內、腦內、顱內、腦室內、脊椎內、心室內、鞘內、腦池內、囊內、腫瘤內或經其任何組合投與。

【0043】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑藉由塗抹、噴霧、蒸汽或注射投與至需要促進毛髮生長之皮膚區域。

【0044】在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑經表面投與至需要促進毛髮生長之皮膚區域。

【0045】 在一些態樣中，本文所述之miRNA抑制劑以選自由軟膏、洗髮精、護髮素、洗劑、滋補劑、凝膠及慕思劑(mousse)組成之群的形式調配。在一些態樣中，投與步驟藉由將個體浸泡或沐浴在本文所述之miRNA抑制劑中進行，該miRNA抑制劑以選自由軟膏、洗髮精、護髮素、洗劑、滋補劑、凝膠及慕思劑組成之群的形式調配。

【圖式簡單說明】

【0046】

[圖1]示出本揭示案之載劑單元之示例性構造。所呈現之實例包括陽離子載劑部分，其可與miRNA抑制劑(抗mir)發生靜電相互作用。在一些態樣中，組織特異性佐劑部分(AM)可位於水溶性生物聚合物(WP)與陽離子載劑(CC)之間。為簡單起見，CC及AM組分以線性排列方式描繪。然而，CC及AM可呈腳手架方式排列。

[圖2A-2F]評估在投與0.1 mg/kg (mpk)、0.3 mg/kg (mpk)或0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)後5天(圖2A)、7天(圖2B)、9天(圖2C)、12天(圖2D)、14天(圖2E)及16天(圖2F)，miR-485抑制劑(485 ASO-001)對脫毛C57BL/6J小鼠之毛髮生長作用。

[圖2G]示出脫毛C57BL/6J小鼠中在投與0.1 mg/kg (mpk)、0.3 mg/kg (mpk)或0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)後5

天、7天、9天、12天及14天之毛髮再生量化。y軸示出毛髮再生量化量表(0-6)，其中等級0= 皮膚粉紅色，無色素沉著；等級1= <30%皮膚區域顯示變黑，但無可見毛髮；等級2= 30%-70%皮膚區域顯示變黑，無可見毛髮；等級3= >70%皮膚區域顯示變黑，或30%毛髮可見；等級4= >70%皮膚區域顯示變黑，且30%-70%毛髮可見；等級5= >70%皮膚區域顯示變黑，且>70%毛髮可見；及等級6= >90%皮膚區域顯示變黑，>90%及毛髮可見。資料表示為平均值(n=6)±平均值之標準誤差(SEM)。經miR485-3p抑制劑(485 ASO-001)處理之組與經PBS處理之對照組相比，*p < 0.05及**p < 0.01。

[圖3A-3B]示出脫毛C57BL/6J小鼠中在投與0.1 mg/kg (mpk)、0.3 mg/kg (mpk)或0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)後12天(圖3A)及16天(圖3B) miR-485抑制劑(485 ASO-001)對毛幹密度之影響。

[圖3C]示出脫毛C57BL/6J小鼠中在投與0.1 mg/kg (mpk)、0.3 mg/kg (mpk)或0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)後12天(白條)及16天(陰影條)之毛髮密度量化。y軸示出藉由分析圖像(×200放大率；實際面積，3.6 mm²)對毛髮密度之評估。資料表示為平均值(n=6)±平均值之標準誤差(SEM)。經485 ASO-001處理之組與經PBS處理之對照組相比，*p < 0.05及**p < 0.01。

[圖 4A-4B]示出脫毛 C57BL/6J 小鼠中在投與 0.1 mg/kg (mpk)、0.3 mg/kg (mpk)或 0.6 mg/kg (mpk) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) (陰性對照物)後 16 天(圖 4A)及 21 天(圖 4B) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)對毛髮長度之影響。

[圖 4C]示出脫毛 C57BL/6J 小鼠中在投與 0.1 mg/kg (mpk)、0.3 mg/kg (mpk)或 0.6 mg/kg (mpk) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) (陰性對照物)後 16 天(白條)及 21 天(陰影條)之毛髮長度量化。y 軸以 mm 為單位示出毛髮長度。資料表示為平均值 ($n=6$) $\pm$ 平均值之標準誤差 (SEM)。經 485 ASO-001 處理之組與經 PBS 處理之對照組相比， $*p < 0.05$ 及 $**p < 0.01$ 。

[圖 4D-4I]評估在投與 0.3 mg/kg (mpk)或 0.6 mg/kg (mpk) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) (陰性對照物)及陽性對照物 (2% 米諾地爾 (Minoxidil))之兩次肌肉內注射後 5 天(圖 4D)、7 天(圖 4E)、10 天(圖 4F)、12 天(圖 4G)、14 天(圖 4H)及 16 天(圖 4I) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)對 C57BL/6J 小鼠之毛髮再生作用。

[圖 4J]示出脫毛 C57BL/6J 中在兩次肌肉內注射 0.3 mg/kg (mpk)或 0.6 mg/kg (mpk) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) (陰性對照物)及陽性對照物 米諾地爾 之後 7 天、10 天、12 天、14 天、16 天之毛髮再生量化。y 軸示出毛髮再生量化量表 (0-6)，其中等級 0 = 皮

膚粉紅色，無色素沉著；等級 1 = <30% 皮膚區域顯示變黑，但無可見毛髮；等級 2 = 30%-70% 皮膚區域顯示變黑，無可見毛髮；等級 3 = >70% 皮膚區域顯示變黑，或 30% 毛髮可見；等級 4 = >70% 皮膚區域顯示變黑，且 30%-70% 毛髮可見；等級 5 = >70% 皮膚區域顯示變黑，且 >70% 毛髮可見；及等級 6 = >90% 皮膚區域顯示變黑，>90% 及毛髮可見。資料係基於每組 5 隻小鼠，且報導為平均值 $\pm$ SEM。

[圖 5A-5B] 示出在脫毛後 (PD) 第 10 天 (圖 5A) 及投與 0.3 mg/kg (mpk) (中間條) 或 0.6 mg/kg (mpk) (右側條) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001 或「ASO」) 或磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) (陰性對照物) (左側條) 之兩次肌肉內注射後 16 天 (圖 5B) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001) 對 485-3p (FW7_模擬物) 表現水準的影響。

[圖 6A-6B] 示出脫毛後 (pd) 第 10 天毛囊週期期間小鼠背部皮膚之 H&E 染色結果。圖 6A 示出用磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) (陰性對照物) 及陽性對照物 (米諾地爾) 處理之小鼠背部皮膚在處理 10 天後的縱向及橫向截面。圖 6B 示出經兩次肌肉內注射 0.3 mg/kg (mpk) 及 0.6 mg/kg (mpk) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001) 處理之小鼠背部皮膚在處理 10 天後的縱向及橫向截面。

[圖 6C-6H] 示出在脫毛 C57BL/6J 小鼠中 10 pd，miR-485 抑制劑 (485 ASO-001) 對真皮厚度 (μm) (圖 6C) 及皮下組織厚度 (μm) (圖 6D)、毛囊長度 (μm) (圖 6E) 及毛球直徑 (μm) (圖 6F)、真皮 (圖 6G) 及皮下組織 (圖 6H) 中之毛囊密度的影

響。不同處理組與圖6A及6B中所述相同。

[圖7A-7B]示出16 pd小鼠背部皮膚之H&E染色結果。圖7A示出用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)及陽性對照物(米諾地爾)處理之小鼠背部皮膚在處理16天後的縱向及橫向截面。圖7B示出經兩次肌肉內注射0.3 mg/kg (mpk)及0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)處理之小鼠背部皮膚在處理16天後的縱向及橫向截面。

[圖7C-7H]示出16 Pd在脫毛C57BL/6J小鼠中在兩次肌肉內注射0.3 mg/kg (mpk)或0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)及(米諾地爾陽性對照物)後16 Pd, miR-485抑制劑(485 ASO-001)對皮下組織厚度(μm) (圖7C)及真皮厚度(μm) (圖7D)、毛囊長度(μm) (圖7E)及毛球直徑(μm) (圖7F)、真皮(圖7G)及皮下組織(圖7H)中之毛囊密度的影響。n = 每個時間點3-10隻小鼠。

[圖8A]示出CD36及血管內皮生長因子(VEGF-A)表現之西方墨點分析。

[圖8B-8C]示出在用0.6 mg/kg (mpk) miR-485抑制劑(485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)之兩次肌肉內注射處理後10 pd, CD36蛋白(圖8B)或VEGF-A蛋白(圖8C)之表現量化。蛋白質之相對表現使用 β -肌動蛋白正規化。值為平均值 $\pm$ 平均值之標準誤差。*p < 0.05; **p < 0.01; *** p < 0.001。

[圖9A]示出Wnt3a及 β -鏈蛋白表現之西方墨點分析。

[圖 9B-9C]示出在用 0.6 mg/kg (mpk) miR-485 抑制劑 (485 ASO-001)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) (陰性對照物)之兩次肌肉內注射處理後 10 pd, Wnt3 蛋白(圖 9B)或 β -鏈蛋白(圖 9C)之表現量化。蛋白質之相對表現使用 β -肌動蛋白正規化。值為平均值 $\pm$ 平均值之標準誤差。 $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $*** p < 0.001$ 。

[圖 10A-10B]示出 CD36 之免疫螢光染色。在經 miR-485 抑制劑(485 ASO-001)處理之毛囊(圖 10B)中之毛囊血管周圍區域觀測到經 PBS 處理之對照物(圖 10A)及富含 CD36 之真皮鞘(DS)表現, 比例尺 = 50 μ m。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0047】本申請案主張美國臨時專利申請案第 63/130,121 號之申請日之利益, 該臨時專利申請案於 2020 年 12 月 23 日申請, 其內容以引用之方式整體併入本文中。

經由 EFS-WEB 以電子方式提交之序列表之引用

【0048】隨本申請案申請的以電子方式提交之 ASCII 文本文件中之序列表之內容(名稱 Sequence-Listing-4366-037PC02_SL_ST25; 大小: 76,935 位元組; 及創建日期: 2021 年 12 月 21 日)以引用之方式整體併入本文中。

【0049】本揭示案係針對 miR-485 抑制劑用於在有需要之個體中誘導毛髮生長、增加毛髮密度、增加毛囊密

度、增加毛幹厚度、增加毛髮長度、防止脫髮、減少脫髮或其任何組合之用途，其包含編碼包含至少一個 **miR-485** 結合位點之核苷酸分子之核苷酸序列，其中該核苷酸分子不編碼蛋白質。

【0050】 在更詳細地描述本揭示案之前，應當理解，本揭示案不限於所描述之特定組合物或製程步驟，因此當然可變化。所屬領域之技術人員在閱讀本揭示案內容後將明白，本文描述及說明之個別態樣各具有分立之組分及特徵，該等特征容易與其他若干態樣中之任一態樣之特徵分開或組合，而不脫離本揭示案之範疇或精神。任何敘述之方法均可按照所敘述之事件之順序或以邏輯上可能之任何其他順序來執行。

【0051】 本文提供之標題並非對本揭示案之各個態樣之限制，其可藉由整體參考說明書來定義。亦應理解，本文所用之術語僅用於達成描述特定態樣之目的，而不意欲限制，因為本揭示案之範疇將由所附申請專利範圍限制。

I. 術語

【0052】 為更容易地理解本揭示案，首先定義某些術語。如本申請案中所用，除非另有明確規定，否則以下術語各自應具有以下所闡述之含義。在整個申請案中闡述另外定義。

【0053】 需要注意，術語「一個(a/an)」實體係指一或多個該實體；例如，「核苷酸序列」理解為表示一或多

個核苷酸序列。因此，術語「一個」(或「一個」)、「一或多個」及「至少一個」在本文中可互換使用。亦應注意，可起草申請專利範圍以排除任何視情況選用之要素。因此，該陳述旨在用作在敘述申請專利範圍要素方面使用諸如「只」、「僅」之專有術語及其類似術語或使用否定限制的前置基礎。

【0054】此外，「及/或」當在本文中使用时，應視為特定揭示兩種指定特徵或組分中之每一者與另一者一起或不與另一者一起之情況。因此，術語「及/或」當在本文中諸如「A及/或B」之片語中使用時，意欲包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)及「B」(單獨)。同樣地，術語「及/或」當在諸如「A、B及/或C」之片語中使用時意欲涵蓋以下態樣中之每一者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A(單獨)；B(單獨)；及C(單獨)。

【0055】應理解，在本文中以語言「包含」描述態樣之任何情況下，亦提供依照「由.....組成」及/或「基本上由.....組成」描述之其他方面類似之態樣。

【0056】除非另有定義，否則本文使用之所有技術及科學術語均具有與本揭示案相關領域之普通技術人員通常理解相同之含義。例如，the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版，2002, CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版，1999, Academic Press；以及the Oxford

Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, 為技術人員提供本揭示案中使用之許多術語之通用詞典。

【0057】單位、字首及符號以其國際單位系統 (Système International de Unites, SI) 接受之形式表示。數值範圍包括界定該範圍之數值。在敘述值範圍之情況下，應當理解，亦具體揭示介於該範圍之所述上限及下限之間的各中間整數值及其各分數，以及此類值之間的各子範圍。任何範圍之上限及下限均可獨立地包括在該範圍內或排除在該範圍之外，且包括一個、無一個或兩個極限之各範圍亦涵蓋在本揭示案內容中。因此，本文所述之範圍應理解為該範圍內之所有值之簡寫，包括所述端點。例如，1至10之範圍應理解為包括來自由1、2、3、4、5、6、7、8、9及10組成之群之任何數字、數字組合或子範圍。

【0058】在明確敘述值之情況下，應理解與敘述值屬大致相同數量或量之值亦在本揭示案之範疇內。在揭示組合之情況下，亦具體揭示該組合之要素之各子組合且在本揭示案之範疇內。相反，在單獨揭示不同要素或要素群之情況下，亦揭示其組合。在揭示之任何要素揭示為具有複數個替代物之情況下，亦在此揭示其中單獨排除各替代物或排除與其他替代物之任何組合的該揭示之實例；揭示之超過一個要素可具有此類排除，且在此揭示具有此類排除之要素之所有組合。

【0059】術語「毛髮」在本文中用於意謂頭皮、頭

部、面部及/或體毛，包括但不限於頭皮、睫毛、眉毛、鬚、鬍鬚、耳、鼻、胸、陰毛、輔助及其類似部位。

【0060】術語「毛髮生長」在本文中用於意調更早地誘導新毛髮週期之生長，延長毛髮週期之活躍生長期(毛髮生長初期)，增加毛髮生長速率，及/或增加毛幹寬度，包括但不限於誘導毛髮生長且使其更容易被眼睛看到。

【0061】術語「脫髮」及「毛髮稀疏」在本文中用於意調正常毛髮密度之降低，及/或毛髮週期之正常生長期(毛髮生長初期)縮短，及/或毛幹寬度減少，及毛髮數量減少，此可能由年齡增長、遺傳傾向及/或其他原因引起，且男性或女性、年輕或年長之人皆可能承受此痛。術語「脫髮」、「禿頭症」、「禿頂」及「型式脫髮」在本文中可互換使用。

【0062】術語「誘導毛髮生長」、「促進毛髮生長」、「刺激毛髮生長」、「幫助毛髮生長」或「增加毛髮生長」在本文中用於意調受影響皮膚(或頭皮)表面至少部分毛髮之數量及/或長度及/或厚度增加的至少一種結果。

【0063】核苷酸藉由其普遍接受之單字母代碼來提及。除非另有指示，否則核苷酸序列按5'至3'取向自左至右書寫。核苷酸在本文中藉由IUPAC-IUB生物化學命名委員會(IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission)推薦之通常已知之單字母符號來提及。因此，『a』表示腺嘌呤，『c』表示胞嘧啶，『g』表示鳥嘌呤，『t』表

示胸腺嘧啶，『u』表示尿嘧啶。

【0064】胺基酸序列以胺基至羧基之取向自左至右書寫。胺基酸在本文中藉由其通常已知之三字母符號或藉由IUPAC-IUB生物化學命名委員會推薦之單字母符號來提及。

【0065】術語「約」在本文中用於意謂大約、粗略、圍繞或大致。當術語「約」與數值範圍結合使用時，其藉由擴展所闡述數值之上邊界及之下邊界來修改該範圍。一般而言，術語「約」修飾一個數值，使之高於及低於所述值達10%之變化，上下(更高或更低)變化。

【0066】如本文所用，術語「腺相關病毒」(AAV)包括但不限於AAV 1型、AAV 2型、AAV 3型(包括3A及3B型)、AAV 4型、AAV 5型、AAV 6型、AAV 7型、AAV 8型、AAV 9型、AAV 10型、AAV 11型、AAV 12型、AAV 13型、AAVrh.74、蛇AAV、禽AAV、牛AAV、犬AAV、馬AAV、綿羊AAV、山羊AAV、蝦AAV、Gao等人(*J. Virol.* 78:6381 (2004))及Moris等人(*Virol.* 33:375 (2004))揭示之彼等AAV血清型及進化枝，以及現在已知或後來發現之任何其他AAV。參見例如FIELDS等人 *VIROLOGY*，第2卷，第69章(第4版，Lippincott-Raven Publishers)。在一些態樣中，「AAV」包括已知AAV之衍生物。在一些態樣中，「AAV」包括經修飾之AAV或人造AAV。

【0067】術語「投藥」、「投與」及其語法變體係指經由醫藥學上可接受之途徑將諸如本揭示案之miRNA抑制

劑之組合物引入個體中。藉由任何合適之途徑將諸如包含本揭示案之miRNA抑制劑之微胞的組合物引入個體中，包括腫瘤內、經口、經肺、鼻內、非經腸(靜脈內、動脈內、肌肉內、腹膜內或皮下)、直腸、淋巴管內、鞘內、眼周或經表面。投藥包括自投藥及他人投藥。合適投藥途徑允許組合物或藥劑執行其預期功能。例如，若合適途徑為靜脈內，則藉由將組合物或藥劑引入個體靜脈中來投與組合物。

【0068】如本文所用，術語「大約」在用於一或多個感興趣之值時係指與所陳述之參考值相似之值。在某些態樣中，除非另有說明或自上下文中以其他方式顯而易見(除非該數字將超過可能值之100%)，否則術語「大約」係指在任一方向上(大於或小於)落在所陳述之參考值之10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少內的值之範圍。

【0069】如本文所用，術語「保守」分別係指多核苷酸序列或多肽序列之核苷酸或胺基酸殘基，其為在進行比較之兩個或更多個序列之相同位置上未改變之核苷酸或胺基酸殘基。相對保守之核苷酸或胺基酸係在比序列中其他地方出現之核苷酸或胺基酸更相關之序列中保守之核苷酸或胺基酸。

【0070】在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此100%一致，則稱其為「完全保守」或「一致」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此至少70%一致、至少

80%一致、至少90%一致或至少95%一致，則稱其為「高度保守」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此約70%一致、約80%一致、約90%一致、約95%、約98%或約99%一致，則稱其為「高度保守」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此至少30%一致、至少40%一致、至少50%一致、至少60%一致、至少70%一致、至少80%一致，至少90%一致或至少95%一致，則稱其為「保守」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此約30%一致、約40%一致、約50%一致、約60%一致、約70%一致、約80%一致、約90%一致、約95%一致、約98%一致或約99%一致，則稱其為「保守」。序列之保守性可適用於多核苷酸或多肽之全長或可適用於其部分、區域或特徵。

【0071】如本文所用，術語「源自」係指自指定分子或生物體分離或使用該指定分子或生物體製成之組分，或來自該指定分子或生物體之資訊(例如胺基酸或核酸序列)。舉例而言，源自第二核酸序列之核酸序列可包括與第二核酸序列之核苷酸序列一致或實質上相似之核苷酸序列。在核苷酸或多肽之情況下，衍生之物種可藉由例如天然發生之誘變、人工定向誘變或人工隨機誘變獲得。用於衍生核苷酸或多肽之誘變可為有意定向或有意隨機的，或兩者混合。為產生源自第一個核苷酸或多肽之不同核苷酸或多肽而進行的核苷酸或多肽之誘變可為隨機事件(例如，由聚合酶不保真引起)且衍生之核苷酸或多肽之鑑定可藉由適當篩選方法進行，例如，如本文所討論。在一些

態樣中，源自第二核苷酸或胺基酸序列之核苷酸或胺基酸序列分別與第二核苷酸或胺基酸序列具有至少約50%、至少約51%、至少約52%、至少約53%、至少約54%、至少約55%、至少約56%、至少約57%、至少約58%、至少約59%、至少約60%、至少約61%、至少約62%、至少約63%、至少約64%、至少約65%、至少約66%、至少約67%、至少約68%、至少約69%、至少約70%、至少約71%、至少約72%、至少約73%、至少約74%、至少約75%、至少約76%、至少約77%、至少約78%、至少約79%、至少約80%、至少約81%、至少約82%、至少約83%、至少約84%、至少約85%、至少約86%、至少約87%、至少約88%、至少約89%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性，其中第一核苷酸或胺基酸序列保留第二核苷酸或胺基酸序列之生物活性。

【0072】如本文所用，「編碼區」或「編碼序列」為多核苷酸之一部分，其由可轉譯成胺基酸之密碼子組成。儘管「終止密碼子」(TAG、TGA或TAA)通常不轉譯成胺基酸，但其可視為編碼區之一部分，但任何側接序列，例如啟動子、核糖體結合位點、轉錄終止子、內含子及其類似物並非編碼區之一部分。編碼區之邊界通常由編碼所得多肽之胺基末端的5'末端之起始密碼子及編碼所得多肽之羧基末端的3'末端之轉譯終止密碼子決定。

【0073】術語「互補」及「互補性」係指兩種或更多種寡聚物(亦即，各包含核鹼基序列)或在寡聚物與標靶基因之間藉由瓦生-克立克鹼基配對規則(Watson-Crick base-pairing rule)彼此相關。例如，核鹼基序列「T-G-A (5'→3')」與核鹼基序列「A-C-T (3'→5')」互補。互補性可為「部分的」，其中根據鹼基配對規則，給定核鹼基序列之少於所有核鹼基與另一核鹼基序列匹配。例如，在一些態樣中，給定核鹼基序列與其他核鹼基序列之間的互補性可為約70%、約75%、約80%、約85%、約90%或約95%。因此，在某些態樣中，術語「互補」係指與標靶核酸序列(例如，miR-485核酸序列)至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%匹配或互補。或者，繼續舉例，給定核鹼基序列與其他核鹼基序列之間可存在「完全」或「完美」(100%)之互補性。在一些態樣中，核鹼基序列之間的互補程度對序列之間雜交之效率及強度具有顯著影響。

【0074】術語「下游」係指位於參考核苷酸序列3'端之核苷酸序列。在某些態樣中，下游核苷酸序列與轉錄起始點之後的序列有關。例如，基因之轉譯起始密碼子位於轉錄起始位點之下游。

【0075】術語「賦形劑」及「載劑」可互換使用，係指添加至醫藥組合物中以進一步促進化合物(例如，本揭示案之miRNA抑制劑)之投與的惰性物質。

【0076】如本文所用，術語「表現」係指多核苷酸產生基因產物，例如RNA或多肽之過程。其包括但不限於將多核苷酸轉錄成微小RNA結合位點、小髮夾RNA (shRNA)、小干擾RNA (siRNA)或任何其他RNA產物。其包括但不限於將多核苷酸轉錄成信使RNA (mRNA)，以及將mRNA轉譯成多肽。表現產生「基因產物」。如本文所用，基因產物可為例如核酸，諸如藉由基因轉錄產生之RNA。如本文所用，基因產物可為由基因轉錄產生之核酸、RNA或miRNA，或為由轉錄物轉譯之多肽。本文所述之基因產物進一步包括具有轉錄後修飾(例如聚腺苷酸化或剪接)之核酸，或具有轉譯後修飾(例如磷酸化、甲基化、糖基化、添加脂質、與其他蛋白質次單元締合或蛋白水解裂解)之多肽。

【0077】如本文所用，術語「同源性」係指聚合物分子之間，例如核酸分子之間的總體相關性。通常，術語「同源性」意味兩個分子之間的進化關係。因此，同源之兩個分子將具有共同之進化祖先。在本揭示案之上下文中，術語同源性包括一致性及相似性。

【0078】在一些態樣中，若聚合物分子中至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%或至少約99%之單體一致(單體完全相同)或相似(保守取代)，則認為該等分子彼此

「同源」。術語「同源」必然係指至少兩個序列(例如，多核苷酸序列)之間的比較。

【0079】 在本揭示案之上下文中，在核酸層面進行取代(即使其稱為胺基酸取代)，亦即，用替代胺基酸殘基取代胺基酸殘基藉由用編碼第二胺基酸之密碼子取代編碼第一胺基酸之密碼子進行。

【0080】 如本文所用，術語「一致性」係指聚合物分子之間，例如多核苷酸分子之間的整體單體保守性。無任何附加限定詞之術語「一致」，例如多核苷酸A與多核苷酸B一致，意味多核苷酸序列100%一致(100%序列一致性)。將兩個序列描述為例如「70%一致」等同於將其描述為具有例如「70%序列一致性」。

【0081】 兩個多肽或多核苷酸序列之一致性百分比之計算例如可藉由將該兩個序列比對以進行最佳比較來進行(例如，可在第一及第二多肽或多核苷酸序列中之一個或兩個中引入間隙以進行最佳比對，且可忽略不一致之序列，以達成比較之目的)。在某些態樣中，為達成比較之目的而比對之序列長度為參考序列長度之至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%。接著比較相應胺基酸位置上之胺基酸或多核苷酸情況下之鹼基。

【0082】 當第一序列中之一個位置經與第二序列中之相應位置相同之胺基酸或核苷酸佔據時，則該位置之分子係一致。兩個序列之間的一致性百分比係考慮到間隙之數

目及各間隙之長度，序列共享之一致位置之數目的函數，需要引入間隙以實現兩個序列之最佳比對。可使用數學演算法來比較序列及確定兩個序列之間的一致性百分比。

【0083】可用於比對不同序列(例如多核苷酸序列)之合適軟體程式可自各種來源獲得。一種確定序列一致性百分比之合適程式為 **bl2seq**，其為 **BLAST** 程式套件之一部分，可自美國政府之國家生物技術資訊中心 (**National Center for Biotechnology Information**) **BLAST** 網站 (blast.ncbi.nlm.nih.gov) 獲得。**Bl2seq** 使用 **BLASTN** 或 **BLASTP** 演算法在兩個序列之間進行比較。**BLASTN** 用於比較核酸序列，而 **BLASTP** 用於比較胺基酸序列。其他合適程式為例如 **Needle**、**Stretcher**、**Water** 或 **Matcher**，其為 **EMBOSS** 生物資訊學程式套件之一部分，且亦可自歐洲生物資訊學研究所 (**European Bioinformatics Institute**，**EBI**) www.ebi.ac.uk/Tools/psa 獲得。

【0084】可使用所屬領域已知之方法進行序列比對，諸如 **MAFFT**、**Clustal** (**ClustalW**、**Clustal X** 或 **Clustal Omega**)、**MUSCLE** 等。

【0085】與多核苷酸或多肽參考序列比對之單個多核苷酸或多肽標靶序列內的不同區域可各自具有自身之序列一致性百分比。注意，序列一致性百分比值四捨五入至最接近之十分之一。例如，80.11、80.12、80.13 及 80.14 向下捨入為 80.1，而 80.15、80.16、80.17、80.18 及 80.19 向上捨入為 80.2。亦注意，長度值將始終為整數。

【0086】在某些態樣中，第一胺基酸序列(或核酸序列)與第二胺基酸序列(或核酸序列)之一致性百分比(%ID)或計算如下： $\%ID = 100 \times (Y/Z)$ ，其中Y為在第一序列與第二序列比對(藉由目視檢查或特定序列比對程式進行比對)中計為一致匹配之胺基酸殘基(或核鹼基)之數目，Z為第二序列中之殘基總數目。若第一序列之長度長於第二序列，則第一序列與第二序列之一致性百分比將高於第二序列與第一序列之一致性百分比。

【0087】所屬領域之技術人員將理解，用於計算序列一致性百分比之序列比對的產生不限於僅由原始序列資料驅動之二元序列-序列比較。亦應當理解，序列比對可藉由將序列資料與來自異質來源之資料，諸如結構資料(例如，晶體學蛋白質結構)、功能資料(例如，突變之位置)或系統發育資料整合來產生。適於整合異質資料以產生多序列比對之程式為T-Coffee，可在www.tcoffee.org上獲得，或者可自例如EBI獲得。亦應理解，用於計算序列一致性百分比之最終比對可自動或手動策劃。

【0088】如本文所用，術語「分離」、「純化」、「提取」及其語法變體可互換使用且係指本揭示案之期望組合物，例如本揭示案之miRNA抑制劑之製備狀態，其已經過一或多個純化製程。在一些態樣中，如本文所用之分離或純化係自含有污染物之樣品中移除、部分移除(例如，一部分)本揭示案之組合物，例如本揭示案之miRNA抑制劑之過程。

【0089】 在一些態樣中，分離之組合物無可偵測之不希望之活性，或者，不希望之活性之水準或量處於或低於可接受之水準或量。在其他態樣中，分離之組合物具有量及/或濃度等於或高於可接受之量及/或濃度及/或活性的本揭示案之所需組合物。在其他態樣中，分離之組合物與獲得組合物之起始物質相比富集。此富集可為與起始物質相比至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.9%、至少約99.99%、至少約99.999%、至少約99.9999%或超過99.9999%。

【0090】 在一些態樣中，分離之製劑實質上不含殘留之生物產物。在一些態樣中，分離之製劑100%不含、至少約99%不含、至少約98%不含、至少約97%不含、至少約96%不含、至少約95%不含、至少約94%不含、至少約93%不含、至少約92%不含、至少約91%不含或至少約90%不含任何污染性生物物質。殘留之生物產物可包括非生物材料(包括化學品)或不需要之核酸、蛋白質、脂質或代謝物。

【0091】 如本文所用，術語「連接」係指第一胺基酸序列或多核苷酸序列分別與第二胺基酸序列或多核苷酸序列共價或非共價接合。第一胺基酸或多核苷酸序列可與第二胺基酸或多核苷酸序列直接接合或併置，或者插入序列可將第一序列與第二序列共價接合。術語「連接」不僅意

調第一多核苷酸序列在5'-末端或3'-末端與第二多核苷酸序列之融合，且亦包括整個第一多核苷酸序列(或第二多核苷酸序列)插入第二多核苷酸序列(或相應為第一多核苷酸序列)中之任意兩個核苷酸中。第一多核苷酸序列可藉由磷酸二酯鍵或連接子連接至第二多核苷酸序列。連接子可為例如多核苷酸。

【0092】如本文所用，「miRNA抑制劑」係指可減少、改變及/或調節miRNA之表現、功能及/或活動之化合物。miRNA抑制劑可為與標靶miRNA核酸序列至少部分互補以使得miRNA抑制劑與標靶miRNA序列雜交之多核苷酸序列。例如，在一些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑包含編碼與標靶miR-485（例如，miR-485-3p）核酸序列至少部分互補以使得miR-485抑制劑與miR-485序列雜交之核苷酸分子的核苷酸序列。在其他態樣中，miR-485與miR-485抑制劑序列之雜交減少、改變及/或調節miR-485之表現、功能及/或活性（例如，雜交引起SIRT1蛋白及/或SIRT1基因之表現增加）。

【0093】術語「miRNA」、「miR」及「微小RNA」可互換使用，係指在真核生物中發現之參與基於RNA之基因調控的微小RNA分子。該術語將用於指自前驅體加工之單股RNA分子。在一些態樣中，術語「反義寡聚物」亦可用於描述本揭示案之微小RNA分子。本文提供與本揭示案相關之miRNA之名稱及其序列。微小RNA經由不完全之鹼基配對識別且結合標靶mRNA，導致標靶mRNA之不穩定

或轉譯抑制，從而下調標靶基因之表現。相反，經由包含 miRNA 結合位點之分子(通常包含與 miRNA 之種子區互補之序列的分子)靶向 miRNA 可減少或抑制 miRNA 誘導之轉譯抑制，從而使得標靶基因上調。

【0094】術語「錯配」係指寡聚物核鹼基序列(例如，miR-485 抑制劑)中根據鹼基配對規則與標靶核酸序列(例如，miR-485)不匹配之一或多個核鹼基(無論為連續的亦或分開的)。雖然通常需要完美互補性，但在一些態樣中，可出現與標靶核酸序列之一或多個錯配(例如，6個、5個、4個、3個、2個或1個錯配)。寡聚物內任何位置之變化均包括在內。在某些態樣中，本揭示案之反義寡聚物(例如，miR-485 抑制劑)包括末端附近之核鹼基序列之變化、內部之變化，且若存在，則通常在5'末端及/或3'末端之約6個、5個、4個、3個、2個或1個次單元以內。在一些態樣中，一個、兩個或三個核鹼基可移除且仍然提供靶向結合。

【0095】如本文所用，術語「調節」、「修飾」及其語法變體在應用於特定濃度、水準、表現、功能或行為時，通常係指改變，藉由增加或減少，例如直接或間接促進/刺激/上調或干擾/抑制/下調特定濃度、水準、表現、功能或行為之能力，諸如例如，作為拮抗劑或促效劑。在一些情況下，調節劑可相對於對照物或相對於通常預期之平均活性水準或相對於對照活性水準，增加及/或降低特定濃度、水準、活性或功能。在一些態樣中，本文揭示之

miRNA抑制劑，例如miR-485抑制劑，可調節(例如，減少、改變或消除)miR-485之表現、功能及/或活性，從而調節SIRT1蛋白或基因之表現及/或活動。

【0096】「核酸」、「核酸分子」、「核苷酸序列」、「多核苷酸」及其語法變體可互換使用，係指核糖核苷(腺苷、鳥苷、尿苷或胞苷；「RNA分子」)或去氧核糖核苷(去氧腺苷、去氧鳥苷、去氧胸苷或去氧胞苷；「DNA分子」)之磷酸酯聚合物形式，或其任何磷酸酯類似物，諸如硫代磷酸酯及硫酯，呈單股形式或雙股螺旋體。單股核酸序列係指單股DNA(ssDNA)或單股RNA(ssRNA)。雙股DNA-DNA、DNA-RNA及RNA-RNA螺旋體係可能的。術語核酸分子，尤其是DNA或RNA分子，僅指分子之一級及二級結構，且不將其限制為任何特定之三級形式。因此，該術語包括尤其在線性或環狀DNA分子(例如限制性片段)、質體、超螺旋DNA及染色體中發現之雙股DNA。在討論特定雙股DNA分子之結構時，本文中可根據正常慣例來描述序列，亦即，僅在5'至3'方向上沿非轉錄DNA股(亦即，具有與mRNA同源之序列的股)給出序列。「重組DNA分子」係經過分子生物學操控之DNA分子。DNA包括但不限於cDNA、基因體DNA、質體DNA、合成DNA及半合成DNA。本揭示案之「核酸組合物」包含一或多種如本文所述之核酸。

【0097】術語「醫藥學上可接受之載劑」、「醫藥學上可接受之賦形劑」及其語法變體涵蓋美國聯邦政府

(U.S. Federal government)監管機構批准之或美國藥典(U.S. Pharmacopeia)中列出之用於動物(包括人類)的任何試劑，以及不會導致產生不良生理效應至禁止向個體投與組合物之程度且不會消除所投與化合物之生物活性及特性的任何載劑或稀釋劑。包括用於製備醫藥組合物且通常為安全、無毒及合乎需要之賦形劑及載劑。

【0098】如本文所用，術語「醫藥組合物」係指一或多種本文所述之化合物，諸如本揭示案之miRNA抑制劑，與一或多種其他化學組分，諸如醫藥學上可接受之載劑及賦形劑混合或混雜，或懸浮於該一或多種其他化學組分中。醫藥組合物之一個目的為促進向個體投與包含本揭示案之miRNA抑制劑之製劑。

【0099】如本文所用，術語「多核苷酸」係指包括核糖核苷酸、去氧核糖核苷酸、其類似物或其混合物的任何長度之核苷酸之聚合物。

【0100】在一些態樣中，該術語係指分子之一級結構。因此，該術語包括三股、雙股及單股去氧核糖核酸(「DNA」)，以及三股、雙股及單股核糖核酸(「RNA」)。其亦包括多核苷酸之例如藉由烷基化及/或藉由加帽修飾之形式，及未修飾形式。

【0101】在一些態樣中，術語「多核苷酸」包括聚去氧核糖核苷酸(含有2-去氧-D-核糖)；多核糖核苷酸(含有D-核糖)，包括tRNA、rRNA、shRNA、siRNA、miRNA及mRNA，無論剪接還是未剪接；為嘌呤或嘧啶鹼基之N-糖

苷或C-糖苷的任何其他類型之多核苷酸；以及其他含有正核苷酸骨架之聚合物，例如聚醯胺（例如，肽核酸「PNA」）及多嗎啉聚合物；以及其他合成序列特異性核酸聚合物，前提為聚合物含有處於允許鹼基配對及鹼基堆積之構型之核鹼基，諸如在DNA及RNA中發現的。

【0102】在本揭示案之一些態樣中，多核苷酸可為例如寡核苷酸，諸如反義寡核苷酸。在一些態樣中，寡核苷酸為RNA。在一些態樣中，RNA為合成RNA。在一些態樣中，合成RNA包含至少一種非天然核鹼基。在一些態樣中，某一類別之所有核鹼基均已經非天然核鹼基替換（例如，本文揭示之多核苷酸中之所有尿苷均可經非天然核鹼基替換，例如5-甲氧基尿苷）。

【0103】術語「多肽」、「肽」及「蛋白質」在本文中可互換使用，係指例如由SIRT1基因編碼之任何長度之胺基酸聚合物。聚合物可包含經修飾之胺基酸。該等術語亦涵蓋經天然修飾或藉由干預而修飾之胺基酸聚合物；例如，形成二硫鍵、糖基化、脂化、乙醯化、磷酸化或任何其他操控或修飾，諸如與標記組分結合。該定義亦包括例如含有一或多種胺基酸類似物之多肽（包括例如非天然胺基酸，例如高半胱胺酸、鳥胺酸、對乙醯苯丙胺酸、D-胺基酸及肌酸），以及如所屬領域已知之其他修飾。如本文所用，術語「多肽」係指任何大小、結構或功能之蛋白質、多肽及肽。

【0104】多肽包括基因產物、天然存在之多肽、合成

多肽、同源物、直向同源物、旁系同源物、片段及前述各物之其他同等物、變異體及類似物。

【0105】多肽可為單一多肽或可為多分子復合物，諸如二聚體、三聚體或四聚體。其亦可包含單鏈或多鏈多肽。最常見之二硫鍵存在於多鏈多肽中。術語多肽亦適用於胺基酸聚合物，其中一或多個胺基酸殘基為相應天然存在之胺基酸之人工化學類似物。在一些態樣中，「肽」之長度可小於或等於約50個胺基酸，例如長約5個、約10個、約15個、約20個、約25個、約30個、約35個、約40個、約45個或約50個胺基酸。

【0106】如本文所用，術語「預防(prevent)」、「預防(preventing)」及其變體係指部分或完全延遲疾病、病症及/或疾患之發作；部分或完全延遲特定疾病、病症及/或疾患之一或多種症狀、特徵或臨床表現之發作；部分或完全延遲特定疾病、病症及/或疾患之一或多種症狀、特徵或表現之發作；部分或完全延遲特定疾病、病症及/或疾患之進展；及/或降低顯現與疾病、病症及/或疾患相關之病理的風險。在一些態樣中，預防結果經由預防性治療實現。

【0107】如本文所用，術語「預防脫髮(prevent hair loss)」、「預防脫髮(preventing hair loss)」、「預防毛髮稀疏(prevent hair thinning)」及「防止毛髮稀疏(preventing hair thinning)」意謂預先減少如本文所述之任何脫髮或毛髮稀疏之作用。

【0108】如本文所用，術語「減少脫髮(reduce hair loss)」、「減少脫髮(reducing hair loss)」、「減少毛髮稀疏(reduce hair thinning)」及「減少毛髮稀疏(reducing hair thinning)」係指在有需要之個體中(例如在受脫髮影響之個體中)減少如本文所述之任何脫髮或毛髮稀疏之作用。

【0109】如本文所用，術語「啟動子」及「啟動子序列」可互換，係指能夠控制編碼序列或功能性RNA表現之DNA序列。通常，編碼序列位於啟動子序列之3'端。啟動子可全部源自天然基因，或者由源自自然界中發現之不同啟動子之不同元件構成，甚至包含合成DNA區段。所屬領域之技術人員理解，不同啟動子可指導基因在不同組織或細胞類型中、或在不同發育階段、或回應不同環境或生理條件表現。在大多數時間引起基因在大多數細胞類型中表現之啟動子通常稱為「組成型啟動子」。引起基因在特定細胞類型中表現之啟動子通常稱為「細胞特異性啟動子」或「組織特異性啟動子」。引起基因在發育或細胞分化之特定階段表現之啟動子通常稱為「發育特異性啟動子」或「細胞分化特異性啟動子」。在用誘導啟動子之試劑、生物分子、化學製品、配位體、光或其類似物暴露或處理細胞後經誘導且引起基因表現之啟動子通常稱為「誘導型啟動子」或「可調節之啟動子」。進一步認識到，由於在大多數情況下調控序列之確切邊界尚未完全確定，所以不同長度之DNA片段可具有相同啟動子活性。

【0110】啟動子序列通常在其3'末端以轉錄起始位點

為界，且向上游(5'方向)延伸以包括啟動高於背景之可偵測水準之轉錄所需的最少數目之鹼基或元件。在啟動子序列內將發現轉錄起始位點(宜例如藉由用核酸酶S1定位來界定)，以及負責結合RNA聚合酶之蛋白質結合域(一致序列)。在一些態樣中，可與本揭示案一起使用之啟動子包括組織特異性啟動子。

【0111】如本文所用，「預防性」係指用於預防疾病或疾患之發作，或預防或延遲與疾病或疾患相關之症狀之治療或作用過程。

【0112】如本文所用，「預防」係指為維持健康及預防疾病或疾患之發作，或預防或延遲與疾病或疾患相關之症狀而採取之措施。

【0113】如本文所用，術語「基因調控區」或「調控區」係指位於編碼區上游(5'非編碼序列)、內部或下游(3'非編碼序列)且影響相關編碼區之轉錄、RNA加工、穩定性或轉譯之核苷酸序列。調控區可包括啟動子、轉譯前導序列、內含子、聚腺苷酸化識別序列、RNA加工位點、效應子結合位點或莖環結構。若編碼區意欲在真核細胞中表現，則聚腺苷酸化信號及轉錄終止序列通常位於編碼序列之3'端。

【0114】在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑(例如，包含含有一或多個miR-485結合位點之RNA之多核苷酸)可包括啟動子及/或與一或多個編碼區可操作地關聯之其他表現(例如，轉錄)控制元件。在可操作之關聯中，

以將基因產物之表現置於調控區之影響或控制之下的方式，基因產物之編碼區與一或多個調控區關聯。例如，若啟動子功能之誘導引起編碼由編碼區編碼之基因產物之 mRNA 轉錄，且若啟動子與編碼區之間的連接性質不干擾啟動子指導基因產物表現之能力或干擾 DNA 模板轉錄之能力，則編碼區與啟動子「可操作地關聯」。除啟動子之外的其他表現控制元件，例如強化子、操縱子、阻遏子及轉錄終止信號，亦可與編碼區可操作地關聯以指導基因產物表現。

【0115】如本文所用，術語「相似性」係指聚合物分子之間，例如多核苷酸分子(例如 miRNA 分子)之間的總體相關性。聚合物分子彼此之相似性百分比之計算可以與一致性百分比之計算相同之方式進行，除了相似性百分比之計算考慮所屬領域所理解之保守取代。應當理解，相似性百分比取決於所使用之比較尺度，亦即是否比較核酸，例如根據其進化接近度、電荷、體積、可撓性、極性、疏水性、芳香性、等電點、抗原性或其組合。

【0116】術語「個體(subject)」、「患者」、「個體(individual)」及「宿主」及其變體在本文中可互換使用，係指任何哺乳動物個體，包括但不限於需要診斷、治療或進行治療之人類、家養動物(例如狗、貓及其類似動物)、農場動物(例如牛、羊、豬、馬及其類似動物)及實驗室動物(例如猴、大鼠、小鼠、兔、豚鼠及其類似動物)，特別是人類。本文描述之方法適用於人類療法及獸醫應用。

【0117】如本文所用，短語「有需要之個體」及「有脫髮風險之個體」包括將受益於投與本揭示案之miRNA抑制劑(例如，miR-485抑制劑)，例如誘導毛髮生長之個體，諸如哺乳動物個體。在一些態樣中，個體患有一或多種選自由以下組成之群的病症：大禿頭症、雄激素性禿頭症、斑禿、普遍禿頭症、退化性禿頭症、拔毛癖、休止期脫髮、生長期脫髮、斑痕禿頭症、癍痕性脫髮、頭皮稀疏、毛幹異常、傳染性毛髮病症、遺傳性病症以及由化學療法、激素失衡、真菌感染、藥物攝入、化學毛髮處理或衰老引起之脫髮。在一些態樣中，個體為人類。

【0118】如本文所用，術語「治療有效量」係包含本揭示案之miRNA抑制劑之試劑或醫藥化合物足以對有需要之個體產生所需治療作用、藥理學及/或生理作用之量。治療有效量可為「預防有效量」，因為預防可視為治療。

【0119】如本文所用，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」或「治療(treating)」係指例如疾病或疾患之嚴重性降低；病程持續時間減少；與疾病或疾患(例如，糖尿病)相關之一或多種症狀改善或消除；對患有疾病或疾患之個體提供有益作用，但不一定治愈該疾病或疾患。該術語亦包括防治或預防疾病或疾患或其症狀。

【0120】術語「上游」係指位於參考核苷酸序列5'端之核苷酸序列。

【0121】「載體」係指用於選殖核酸及/或將核酸轉移至宿主細胞中之任何載體。載體可為複製子，另一核酸

區段可附接至該複製子上以引起附接區段之複製。「複製子」係指充當活體內自主複製單元，亦即能夠在其自身控制下複製之任何遺傳元件(例如，質體、噬菌體、黏粒、染色體、病毒)。術語「載體」包括用於在活體外、離體或活體內將核酸引入細胞中之病毒及非病毒載體。大量載體係所屬領域已知及使用的，包括例如質體、經修飾之真核病毒或經修飾之細菌病毒。將多核苷酸插入合適載體中可藉由將適當多核苷酸片段連接至具有互補黏性末端之選定載體中來實現。

【0122】載體可經工程改造以編碼可選擇標記物或報導體，用於選擇或鑑定已併入載體之細胞。可選擇標記物或報導體之表現允許鑑定及/或選擇併入且表現載體上所含之其他編碼區的宿主細胞。所屬領域已知及使用之可選擇標記基因之實例包括：提供對胺苄青黴素(ampicillin)、鏈黴素(streptomycin)、慶大霉素(gentamycin)、卡那黴素(kanamycin)、潮黴素(hygromycin)、雙丙胺膦除草劑(bialaphos herbicide)、磺胺(sulfonamide)等之抗性的基因；及用作表型標記物之基因，亦即花青素調控基因、異戊基轉移酶基因及其類似物。所屬領域已知及使用之報導體之實例包括：螢光素酶(Luc)、綠色螢光蛋白(GFP)、氯黴素乙醯轉移酶(CAT)、 β -半乳糖苷酶(LacZ)、 β -葡萄糖醛酸酶(Gus)及其類似物。可選擇標記物亦可視為報導體。

II. 使用方法

【0123】本文提供在有需要之個體(例如有脫髮風險之個體)中誘導毛髮生長之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA 抑制劑」)。本文亦提供在有需要之個體(例如有脫髮風險之個體)中減少脫髮之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物。本文亦提供在有需要之個體(例如有脫髮風險之個體)中增加毛髮密度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物。本文亦提供在有需要之個體(例如有脫髮風險之個體)中增加毛髮長度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物。本文亦提供在有需要之個體(例如有脫髮風險之個體)中增加毛髮厚度之方法，其包括向個體投與抑制 miR-485 之化合物。本文亦提供在有脫髮風險之個體中預防脫髮之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物(「miRNA 抑制劑」)。

【0124】脫髮之根本原因因人而異。此外，毛髮生長之過程包括若干個階段，且存在許多影響因素可改變毛髮之正常旺盛生長。毛髮生長週期分為三個階段：生長期，在此階段毛髮生長活躍，毛囊中發生大量細胞增殖；退化期，此時毛囊暫時減緩其增殖活動以允許毛髮發育；及休止期，毛囊停止生長且退化，直至毛髮脫落，且新生長期開始。對於普通人而言，每天掉許多毛髮當然完全正常，

因此，此週期通常在一生中不斷重複，以補充損失之毛髮。所有個體之此週期會隨年齡增長而減慢，但正常毛髮逐漸為愈來愈細之毛髮(毫毛)所代替，且週期變得更短。早期至中期之脫髮幾乎完全表現為大部分毛囊之毛幹稀疏，且毛幹生長受阻，從而使存在之毛髮稀疏、輕且靠近頭皮，而毛囊密度及每個毛囊之毛幹基本不變。對於患有異常脫髮之個體而言，正常週期性過程顯然會以某種方式被破壞，無論經由異常加速亦或過程之其他改變。此最終導致更快地轉變為休止期，反過來又逐漸導致更多之毫毛產生，且最終導致禿髮。僅在脫髮晚期，毛囊才會變得不可逆轉地不活躍。參見例如 Int'l Publ. No. WO2004/078117A2。

【0125】毛髮厚度或密度D可量化為三個因素之乘積：(1)毛囊密度F，以每平方厘米之毛囊數目量測；(2)每個毛囊之平均毛幹數目N；以及(3)毛幹平均厚度T。此三個量之乘積指示毛髮密度D。

$$D=F*N*T$$

【0126】毛髮稀疏之另一個可能之客觀量度可為對於來自頭部之選定毛髮子集，毛髮寬度在兩個標準偏差之外之分數。

【0127】在毛髮密度之另一個替代量測中，毛髮厚度(直徑)可用毛髮橫截面積 $A=\pi T^2/4$ 代替。一頭毛髮「豐滿度」之整體感覺或指標亦可包括毛髮長度L，從而得到毛髮體積參數 $V=F*N*A*L$ 。由於可藉由使剩餘之毛髮生長

來增加毛髮體積感，因此 V 充當外觀量度但掩蓋毛髮稀疏。因此， $D=FNA$ 將為使用之客觀標準。

【0128】典型毛囊單位密度在 $60-120\text{ cm}^{-2}$ 之範圍內，且每個毛囊通常含有一個或兩個毛幹，但很少有超過兩個不同年齡之毛幹。毛幹厚度可分為粗、中、細，且毛幹厚度之平均值在細髮約 40 微米寬，而粗髮平均寬度可能為 90 微米之間變化。N 通常為 1 至 2 之間的數字，且更常為 1-1.25，其可自密度測定中排除，但在某些極少數情況下可能需要考慮。

【0129】每名個體之正規化毛髮密度量測值為頂部及/或前部毛髮密度與左側及/或右側毛髮密度之比率。因此，一名個體之毛髮稀疏率可表示為： $R=100\times(D_{\text{頂部}})/D_{\text{側}}$ ，其中對於各個別區域， $D_{\text{頂部}}$ 及 $D_{\text{側}}=F*N*T$ 。參見例如美國公開案第 2009/0036800 號，其以引用之方式整體併入本文中。

【0130】在一些態樣中，個體患有一或多種選自由以下組成之群的病症：大禿頭症、雄激素性禿頭症、斑禿、普遍禿頭症、退化性禿頭症、拔毛癖、休止期脫髮、生長期脫髮、斑痕禿頭症、癍痕性脫髮、頭皮稀疏、毛幹異常、傳染性毛髮病症、遺傳性病症以及由化學療法、激素失衡、真菌感染、藥物攝入、化學毛髮處理或衰老引起之脫髮。在一些態樣中，個體為人類。

【0131】在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可藉由所屬領域已知之任何合適途徑投與。在一些態樣

中，miR-485抑制劑係非經腸、肌肉內、皮下、經眼、靜脈內、腹膜內、皮內、眶內、腦內、顱內、腦室內、脊椎內、心室內、鞘內、腦池內、囊內、腫瘤內、經表面或經其任何組合投與。在某些態樣中，miR-485抑制劑經肌肉內投與。

【0132】在一些態樣中，miR-485抑制劑藉由塗抹、噴霧、蒸汽或注射投與至需要促進毛髮生長之皮膚區域。

【0133】在一些態樣中，miR-485抑制劑經表面投與至需要促進毛髮生長之皮膚區域。

【0134】在一些態樣中，miR-485抑制劑以選自由軟膏、洗髮精、護髮素、洗劑、滋補劑、凝膠及慕思劑組成之群的形式調配。在一些態樣中，投與步驟藉由將個體浸泡或沐浴在miRNA抑制劑中進行，該miRNA抑制劑以選自由軟膏、洗髮精、護髮素、洗劑、滋補劑、凝膠及慕思劑組成之群的形式調配。

【0135】在一些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑可與一或多種另外之治療劑組合使用。在一些態樣中，另外之治療劑及miR-485抑制劑同時投與。在某些態樣中，另外之治療劑及miR-485抑制劑依次投與。

【0136】在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之投與不會導致任何副作用。在某些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑在投與至個體時不會不利地影響體重。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑在投與至個體時不會導致死亡率增加或引起病理異常。

【0137】在一些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑可藉由調控一或多個基因之表現及/或活性來發揮治療作用(例如，誘導毛髮生長或預防脫髮)。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑能夠調控選自*CTBP1*、*TRIP6*、*SIRT1*、*CD36*、*PGC1-a*或其組合之基因之表現及/或活性。

CTBP1 調控

【0138】在一些態樣中，使本文所述之miR-485抑制劑與細胞接觸可增加細胞中CTBP1蛋白及/或*CTBP1*基因之表現。

【0139】C-末端結合蛋白1 (CTBP1)係人類中由*CTBP1*基因編碼之蛋白質。CTBP1為一種調控蛋白，其與序列特異性DNA結合蛋白結合且幫助關閉基因，例如藉由募集添加抑制性組蛋白標記及移除活化標記之組蛋白修飾酶。CTBP1蛋白亦可自締合且將基因調控複合物聚集在一起。

【0140】在人類中，*CTBP1*基因位於4號染色體(GenBank寄存編號NC_000004.12之核苷酸1,211,444至1,250,355，負鏈取向)。*CTBP1*基因之同義詞及其編碼蛋白係已知的，包括「布雷菲德菌素A-核糖基化受質(Brefeldin A-Ribosylated Substrate)」、「BARS」、「HADDTS」、「CtBP1」或「CTBP」。

【0141】至少存在兩種已知之人類CTBP1蛋白同功異

型物，由替代剪接產生。CTBP1同功異型物1 (UniProt標識符：Q13363-1；SEQ ID NO: 31)由440個胺基酸組成，且已被選為規範序列。CTBP1同功異型物2 (UniProt標識符：Q13363-2；SEQ ID NO: 32)由429個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-13: MGSSHLLNKGLPL → MS。下面之表1提供兩種CTBP1同功異型物之序列。

表 1. CTBP1 蛋白同功異型物

同功異型物1 (UniProt: Q13363-1) (SEQ ID NO: 31)	MGSSHLLNKGLPLGVRPPIMNGPLHPRPLVALLDGRDCTVEMPILKDVATVAFCDQSTQ EIHEKVLNEAVGALMYHTITLTREDLEKFKALRIIVRIGSGFDNIDIKSAGDLGIAVCNV PAASVEETADSTLCHILNLYRRATWLHQALREGTRVQSVEQIREVASGAARIRGETLGI GLGRVGQAVALLRAKAFGNVLFYDPYLSDGVERALGLQRVSTLQDLLFHSDCVTLHCGLN EHNHHLINDFTVKQMRQGAFLVNTARGGLVDEKALAQAALKEGRIRGAALDVHESEPFSS QGPKDAPNLICTPHAAWYSEQASIEMREEAAREIRRAITGRIPDSLKNVCNKDHLTAAT HWASMDPAVVHPELNGAAYRPPGVVGVAPTGIPAAVEGIVPSAMSLSHGLPPVAHPPHA PSPGQTVKPEADRDHASDQL
同功異型物2 (UniProt: Q13363-2) (SEQ ID NO: 32)	MSGVRPPIMNGPLHPRPLVALLDGRDCTVEMPILKDVATVAFCDQSTQEIHEKVLNEAV GALMYHTITLTREDLEKFKALRIIVRIGSGFDNIDIKSAGDLGIAVCNVPAASVEETADS TLCHILNLYRRATWLHQALREGTRVQSVEQIREVASGAARIRGETLGIIGLGRVGQAVALL RAKAFGNVLFYDPYLSDGVERALGLQRVSTLQDLLFHSDCVTLHCGLNEHNHHLINDFT VKQMRQGAFLVNTARGGLVDEKALAQAALKEGRIRGAALDVHESEPFSSQGPKDAPNLI CTPHAAWYSEQASIEMREEAAREIRRAITGRIPDSLKNVCNKDHLTAATHWASMDPAVVH PELNGAAYRPPGVVGVAPTGIPAAVEGIVPSAMSLSHGLPPVAHPPHAPSPGQTVKPEA DRDHASDQL

【0142】如本文所用，術語「CTBP1」包括由細胞天然表現之CTBP1之任何變異體或同功異型物。因此，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CTBP1同功異型物1之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CTBP1同功異型物2之表現。在其他態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CTBP1同功異型物1及同功異型物2兩者之表現。除非另有指示，同功異型物1及同功異型物2兩者在本文中統稱為「CTBP1」。

【0143】在一些態樣中，與參考細胞(例如，未與miR-485抑制劑接觸之相應細胞)中之表現及/或活性相

比，使細胞與 *miR-485* 抑制劑接觸可使細胞中 *CTBP1* 蛋白及/或 *CTBP1* 基因之表現及/或活性增加至少約1倍、至少約2倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80倍、至少約90倍或至少約100倍或更多。

【0144】不受任一理論束縛，在一些態樣中，本文揭示之 *miR-485* 抑制劑藉由降低 *miR-485*，例如 *miR-485-3p* 之表現及/或活性增加 *CTBP1* 蛋白及/或 *CTBP1* 基因之表現。

TRIP6 調控

【0145】在一些態樣中，使本文所述之 *miR-485* 抑制劑與細胞接觸可增加細胞中 *TRIP6* 蛋白及/或 *TRIP6* 基因之表現。

【0146】甲狀腺受體相互作用蛋白6 (*TRIP6*) 係人類中由 *TRIP6* 基因編碼之蛋白質。*TRIP6* 蛋白為斑聯蛋白 (*zyxin*) 家族之成員，且包含三個 LIM 鋅結合域。*TRIP6* 蛋白已顯示定位於黏著斑位點且沿著肌動蛋白應力纖維。

【0147】在人類中，*TRIP6* 基因位於7號染色體 (GenBank 寄存編號 NC_000007.14 之核苷酸 100,867,387 至 100,873,454，正鏈取向)。*TRIP6* 基因之同義詞及其編碼蛋白係已知的，且包括：「甲狀腺激素受體相互作用蛋白6」、「ZRP-1」、「OIP1」、「甲狀腺激素受體相互作

用蛋白 6」、「OPA相互作用蛋白 1」及「斑联蛋白相關蛋白 1」。

【0148】至少存在三種已知之人類 TRIP6 蛋白同功異型物，由替代剪接產生。TRIP6 同功異型物 1 (UniProt 標識符: Q15654-1; SEQ ID NO: 78) 由 476 個胺基酸組成，且已被選為規範序列。TRIP6 同功異型物 2 (UniProt 標識符: Q15654-2; SEQ ID NO: 79) 由 106 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：(i) 37-106：ALQPHPRVNF...IDLLSSTLAE → VLPGPRGTGG...CVTATRPTGI；(ii) 107-476：缺少。TRIP6 同功異型物 3 (UniProt 標識符: Q15654-2; SEQ ID NO: 80) 由 80 個胺基酸組成，且與以下規範序列不同：(i) 37-80：ALQPHPRVNF...SHGVLQHTQG → GAPCRQGGPS...CVTATRPTGI；(ii) 81-476：缺少。下面之表 2 提供不同 TRIP6 蛋白同功異型物之序列。

表 2. TRIP6 蛋白同功異型物

同功異型物1 (UniProt: Q15654-1) (SEQ ID NO: 78)	MSGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAALQPHPRVNFCLPSEQCYQAPGG PEDRGPAWVGSHGVLQHTQGLPADRGGLRPGSLDAEIDLSSSTLAEINGGRGHASRRPDR QAYEPPPPPAYRTGSLKPNPASPLPASPYGGPTPASYYTTASTPAGPAFPVQVKVAQPVRG CGPPRRGASQASGPLPGPHFPLPGRGEVWGPYRSQREPGPGAKEEAAGVSGPAGRGRGG EHGPQVPLSQPPEDELDRLTKKLVHDMNHPPSGEYFGQCGGCGEDVVG DGAGVVALDRVF HVGCFVCSTCRAQLRGQHFYAVERRAYCEGCVATLEKCATCSQPILDRIILRAMGKAYHP GCFTCVVCHRGLDGIPFTVDATSQIHCIEDFHRKFAPRCVCGGAIMPEPGQEETVRIVA LDRSFHIGCYKCEECGLLLSSEGECCQGCYPLDGHILCKACSAWRIQELSATVTTDC
同功異型物2 (UniProt: Q15654-2) (SEQ ID NO: 79)	SGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAVALPGPRGTGGSGAGVGGVPWSTPA HAGAPCRQGGPSPWKPGRRDRLAEQHAGRAEWGSGSCVTATRPTGI
同功異型物3 (UniProt: Q15654-2) (SEQ ID NO: 80)	MSGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAAGAPCRQGGPSPWKPGRRDRLAEQH AGRAEWGSGSCVTATRPTGI

【 0149 】 如本文所用，術語「 TRIP6 」包括由細胞天然表現之 TRIP6 之任何變異體或同功異型物。因此，在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 TRIP6 同功異型物 1 之表現。在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 TRIP6 同功異型物 2 之表現。在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 TRIP6 同功異型物 3 之表現。在其他態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 TRIP6 同功異型物 1、同功異型物 2 及同功異型物 3 三者之表現。除非另有指示，同功異型物 1、同功異型物、2 及同功異型物 3 在本文中統稱為「 TRIP6 」。

【 0150 】 在一些態樣中，與參考細胞(例如，未與 miR-485 抑制劑接觸之相應細胞)中之表現及 / 或活性相比，使細胞與 miR-485 抑制劑接觸可使細胞中 TRIP6 蛋白及

/或 *TRIP6* 基因之表現及/或活性增加至少約1倍、至少約2倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80倍、至少約90倍或至少約100倍或更多。

【0151】在某些態樣中，miR-485抑制劑亦可增加其他含LIM域之蛋白質之表現及/或活性。

【0152】不受任一理論束縛，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑藉由降低miR-485，例如miR-485-3p之表現及/或活性增加TRIP6蛋白及/或*TRIP6*基因之表現。

SIRT1 調控

【0153】在一些態樣中，使本文所述之miR-485抑制劑與細胞(例如，神經幹細胞)接觸可增加細胞中SIRT1蛋白及/或*SIRT1*基因之表現。

【0154】Sirtuin 1 (SIRT1)，亦稱為NAD依賴性去乙酰醯酶 sirtuin-1，係人類中由*SIRT1*基因編碼之蛋白質。*SIRT1*基因位於人類10號染色體上(GenBank寄存編號NC_000010.11之核苷酸67,884,656至67,918,390，正鏈取向)。*SIRT1*基因之同義詞及其編碼蛋白係已知的，且包括「調控蛋白SIR2同源物1」、「沉默交配型資訊調控2同源物1」、「SIR2」、「SIR2樣蛋白1」、「SIR2L1」、「SIR2 α 」、「Sirtuin 1型」、「hSIRT1」或「hSIR2」。

【0155】至少存在兩種已知之人類 SIRT1 蛋白同功異型物，由替代剪接產生。SIRT1 同功異型物 1 (UniProt 標識符：Q96EB6-1) 由 747 個胺基酸組成，且已被選為規範序列 (SEQ ID NO: 31)。SIRT1 同功異型物 2 (亦稱為「 δ -外顯子 8) (UniProt 標識符：Q96EB6-2) 由 561 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：454-639：缺少 (SEQ ID NO: 32)。下面之表 3 提供兩種 SIRT1 同功異型物之序列。

表 3. SIRT1 蛋白同功異型物

同功異型物1 (UniProt: Q96EB6-1) (SEQ ID NO: 31)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGLERSPGEPGGAAPEREV PAAARGCPGAAAAALWREAEAEAAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGSPREPPLADNL YDEDDDDGEEEEEEEEAAAAIgyrdnllfgdeiiTNGFHSCESDEEDRASHASSSDWTPrp RIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPETIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDI NTIEDAVKLLQECKKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPQAMFDIE YFRKDPRPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSdKEGKLLRNYTQNIIDTLEQVAGIQRII QCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDI FNQVVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPE QFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSlKVRPVALIPSSIPHEVPQILINREPLPHLHFDVELLG DCDVIINELCHRLGGEYAKLCCNPVKLSEITEKPPRTQKELAYLSELPTPLHVSEDSSS PERTSPDSSVIVTLDDQAAKSNDDLDVSESkgcmEEKPQEVQTSRNVESIAEQMENPDL KNVGSSTGEKNERTSVAGTVRKWCWPNRVAKEQISRRLDGNQYLFLLPNRYIFHGAEVYSD SEDDVLSSSSCGSNSDSGTCQSPSLPEEPMEDSEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTD GDDQEAINEAISVKQEVTDmNYPsNKS
同功異型物2 (UniProt: Q96EB6-2) (SEQ ID NO: 32)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGLERSPGEPGGAAPEREV PAAARGCPGAAAAALWREAEAEAAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGSPREPPLADNL YDEDDDDGEEEEEEEEAAAAIgyrdnllfgdeiiTNGFHSCESDEEDRASHASSSDWTPrp RIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPETIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDI NTIEDAVKLLQECKKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPQAMFDIE YFRKDPRPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSdKEGKLLRNYTQNIIDTLEQVAGIQRII QCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDI FNQVVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPE QFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSlKVRPVALIPSNQYLFLLPNRYIFHGAEVYSDSEDDVL SSSSCGSNSDSGTCQSPSLPEEPMEDSEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTDGDDQEA INEAISVKQEVTDmNYPsNKS

【0156】如本文所用，術語「SIRT1」包括由細胞天然表現之 SIRT1 之任何變異體或同功異型物。因此，在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 SIRT1 同功異型物 1 之表現。在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 SIRT1 同功異型物 2 之表現。在其他態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑可增加 SIRT1 同功異型物 1 及同功異型

物2兩者之表現。除非另有指示，同功異型物1及同功異型物2兩者在本文中統稱為「SIRT1」。

【0157】在一些態樣中，與參考細胞(例如，未與miR-485抑制劑接觸之相應細胞)中之表現及/或活性相比，使細胞與miR-485抑制劑接觸可使細胞中SIRT1蛋白及/或SIRT1基因之表現及/或活性增加至少約1倍、至少約2倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80倍、至少約90倍或至少約100倍或更多。

【0158】不受任一理論束縛，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑藉由降低miR-485，例如miR-485-3p之表現及/或活性增加SIRT1蛋白及/或SIRT1基因之表現。

CD36調控

【0159】在一些態樣中，使本文所述之miR-485抑制劑與細胞接觸可增加細胞中CD36蛋白及/或CD36基因之表現。

【0160】決定簇36 (CD36)亦稱為血小板糖蛋白4，係人類中由CD36基因編碼之蛋白質。CD36基因位於7號染色體上(GenBank寄存編號NC_000007.14之核苷酸80,602,656至80,679,277，正鏈取向)。CD36基因及其編碼蛋白之同義詞係已知的，且包括「血小板糖蛋白IV」、「脂肪酸轉

位酶」、「B族清道夫受體成員3」、「糖蛋白88」、「糖蛋白IIIb」、「糖蛋白IV」、「血小板反應蛋白受體」、「GPIIIB」、「PAS IV」、「GP3B」、「GPIV」、「FAT」、「GP4」、「BDPLT10」、「SCARB3」、「CHDS7」、「PASIV」或「PAS-4」。

【0161】至少存在四種已知之人類CD36蛋白同功異型物，由替代剪接產生。CD36同功異型物1 (UniProt標識符：P16671-1)由472個胺基酸組成，且已被選為規範序列 (SEQ ID NO: 36)。CD36同功異型物2 (亦稱為「ex8-del」)(UniProt標識符：P16671-2) (SEQ ID NO: 37)由288個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：274-288：SIYAVFESDVNLKGI → ETCVHFTSSFSVCKS；及289-472：缺少。CD36同功異型物3 (亦稱為「ex6-7-del」)(UniProt標識符：P16671-3) (SEQ ID NO: 38)由433個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：234-272：缺少。CD36同功異型物4 (亦稱為「ex4-del」)(UniProt標識符：P16671-4) (SEQ ID NO: 39)由412個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：144-203：缺少。下面之表4提供四種CD36同功異型物之序列。

表 4. CD36 蛋白同功異型物

同功異型物1 (UniProt:P16671-1) (SEQ ID NO: 36)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDL LIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTD AEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTT VGLFY PYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLP SKAF ASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYCACRSKTIK
同功異型物2 (UniProt:P16671-2) (SEQ ID NO: 37)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDL LIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTD AEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTT VGLFY PYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRETCVHFTSSFSVCKS
同功異型物3 (UniProt: P16671-3) (SEQ ID NO: 38)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDL LIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTD AEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTT VGLFY PYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNSIYAVF ESDVNLKGIPVYRFVLP SKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPV YISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKI QVLKNLKRNYIVPILWLNETGTIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAF MISYCACRSKTIK
同功異型物4 (UniProt: P16671-4) (SEQ ID NO: 39)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDL LIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTD AEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAYNNTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLP SKAF ASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYCACRSKTIK

【0162】如本文所用，術語「CD36」包括由細胞天然表現之CD36之任何變異體或同功異型物。因此，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CD36同功異型物1之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CD36同功異型物2之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CD36同功異型物3之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CD36同功異型物4之表現。在其他態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加CD36同功異型物1及同功異型物2，及/或同功異型物3及同功異型物4，及/或同功異型物1及同功異型物4，及/或同功異型物2及同功異型物3之表現。在一些態樣

中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加所有 **CD36** 同功異型物之表現。除非另有指示，同功異型物 1、同功異型物 2、同功異型物 3 及同功異型物 4 在本文中統稱為「**CD36**」。

【0163】在一些態樣中，與參考細胞(例如，未與 **miR-485** 抑制劑接觸之相應細胞)中之表現及/或活性相比，使細胞與 **miR-485** 抑制劑接觸可使細胞中 **CD36** 蛋白及/或 **CD36** 基因之表現及/或活性增加至少約 1 倍、至少約 2 倍、至少約 3 倍、至少約 4 倍、至少約 5 倍、至少約 6 倍、至少約 7 倍、至少約 8 倍、至少約 9 倍、至少約 10 倍、至少約 20 倍、至少約 30 倍、至少約 40 倍、至少約 50 倍、至少約 60 倍、至少約 70 倍、至少約 80 倍、至少約 90 倍或至少約 100 倍或更多。

【0164】不受任一理論束縛，在一些態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑藉由降低 **miR-485**，例如 **miR-485-3p** 之表現及/或活性增加 **CD36** 蛋白及/或 **CD36** 基因之表現。

PGC1 調控

【0165】在一些態樣中，使本文所述之 **miR-485** 抑制劑與細胞接觸可增加細胞中 **PGC-1 α** 蛋白及/或 **PGC-1 α** 基因之表現。

【0166】過氧化物酶體增植物活化受體 γ 輔活化子 1- α (**PGC1- α**)，亦稱為 **PPARG** 輔活化子 1 α 或配位體效應調節子 -6，係人類中由 **PPARGC1A** 基因編碼之蛋白質。**PGC1- α** 基因位於人類 4 號染色體上 (GenBank 寄存編號 NC_000004.12

之核苷酸 23,792,021 至 24,472,905，正鏈取向)。PGC1- α 基因之同義詞及其編碼蛋白係已知的，且包括「PPARGC1A」、「LEM6」、「PGC1」、「PGC1A」、「PGC-1v」、「PPARGC1」、「PGC1 α 」或「PGC」-1(α)」。

【0167】至少存在九種已知之人類 PGC1- α 蛋白同功異型物，由替代剪接產生。PGC1- α 同功異型物 1 (UniProt 標識符：Q9UBK2-1) 由 798 個胺基酸組成，且已被選為規範序列 (SEQ ID NO: 40)。PGC1- α 同功異型物 2 (亦稱為「同功異型物 NT-7a」) (UniProt 標識符：Q9UBK2-2) (SEQ ID NO: 41) 由 271 個胺基酸組成，且與以下規範序列不同：269-271：DPK $\rightarrow$ LFL；272-798：缺少。PGC1- α 同功異型物 3 (亦稱為「同功異型物 B5」) (UniProt 標識符：Q9UBK2-3) (SEQ ID NO: 42) 由 803 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-18：MAWDMCNQDSESVWSDIE $\rightarrow$ MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQ。PGC1- α 同功異型物 4 (亦稱為「同功異型物 B4」) (UniProt 標識符：Q9UBK2-4) (SEQ ID NO: 43) 由 786 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-18：MAWDMCNQDSESVWSDIE $\rightarrow$ MDEGYF。PGC1- α 同功異型物 5 (亦稱為「同功異型物 B4-8a」) (UniProt 標識符：Q9UBK2-5) (SEQ ID NO: 44) 由 289 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-18：MAWDMCNQDSESVWSDIE $\rightarrow$ MDEGYF；294-301：LTPPTTPP $\rightarrow$ VKTNLISK；302-798：缺少。PGC1- α 同功

異型物 6 (亦稱為「同功異型物 B5-NT」) (UniProt 標識符: Q9UBK2-6) (SEQ ID NO: 45) 由 276 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-18：MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQ；269-271：DPK → LFL；272-798：缺少。PGC1-α 同功異型物 7 (亦稱為「B4-3ext」) (UniProt 標識符: Q9UBK2-7) (SEQ ID NO: 46) 由 138 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-18：MAWDMCNQDSESVWSDIE → MDEGYF；144-150：LKKLLLA → VRTLPTV；151-798：缺少。PGC1-α 同功異型物 8 (亦稱為「同功異型物 8a」) (UniProt 標識符: Q9UBK2-8) (SEQ ID NO: 47) 由 301 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：294-301：LTPPTTPP → VKTNLISK；302-798：缺少。PGC1-α 同功異型物 9 (亦稱為「同功異型物 9」或「L-PGG-1α」) (UniProt 標識符: Q9UBK2-9) (SEQ ID NO: 48) 由 671 個胺基酸組成，且與規範序列之區別如下：1-127：缺少。下面之表 5 提供九種 PGC1-α 同功異型物之序列。

表 5. PGC1-α 蛋白同功異型物

同功異型物 I (UniProt: Q9UBK2-1) (SEQ ID NO: 40)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNLDTDSTFLGGLKWCS QSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEGLPSFDALTGDVTTD NEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTP PHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSK SSVLTGGHEERKTKRPSLR LFGDHDYQCSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQ GQICSSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFGHPSQAVFDDEADK TGELRDSDFSNEQFSKLP MFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSC SSFNSPCRDSVSPPKSLFSQRPQRMRSR SRFSRHRSCSRSPYSR SRSPGSRSSSRSC YYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKR EYRREYEKRESE RAKQQRERQRQKAIEERRVIYVGKIRPDTTRTEL RDRFEVFG EIEECTVNLRDDGDSYGF I TYRYTCDAAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKY DSLDFD SLLKEAQRSLRR
---	---

同功異型物2 (UniProt: Q9UBK2-2) (SEQ ID NO: 41)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCS DQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRI RTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNRSS RDCKTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTLLSLPLTPESPNLFL
同功異型物3 (UniProt: Q9UBK2-3) (SEQ ID NO: 42)	MDETSRPLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGL KWCSQDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNH RI RTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNRSS RDCKTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGT AGLTPTTTPPHKANQDNPFRASPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQ SELYAQLSKSSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQ LENKDVSSDWQGGQICSSDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIARAE LNKHFHGHP SQAVFDDEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDG LFDDESESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPCRD SVSPPKSLFSQRPQRMRSRSRFSRHRSCSRSPYSRSRSPGSRSSRSC YYYESSHYRHRTHRNSPLVYRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYE KRESERAKQRE RQQAIEERRVIYVGKIRPD TTRTELDRDFEVFGEIEECTVNL RDDGDSYGFITYRYTCDAA FAALENGYTLRRSNETDFEL YFCGRKQFFKSNYADLDS NSDDFDPASTKSKYDSLDF DSSLKEAQRSLRR
同功異型物4 (UniProt: Q9UBK2-4) (SEQ ID NO: 43)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSQDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRI RTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNRSSRDCKTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQDNPFR ASPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGGHEERK TKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGGQICSSDSDQC YLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIARAE LNKHFHGHP SQAVFDDEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDG LFDDESESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPCRD SVSPPKSLFSQRPQRMRSRSRFSRHRSCSRSPYSRSRSPGSRSSRSC YYYESSHYRHRTHRNSPLVYRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRE RQQAIEERRVIYVGKIRPD TTRTELDRDFEVFGEIEECTVNL RDDGDSYGFITYRYTCDAA FAALENGYTLRRSNETDFEL YFCGRKQFFKSNYADLDS NSDDFDPASTKSKYDSLDF DSSLKEAQRSLRR
同功異型物5 (UniProt: Q9UBK2-5) (SEQ ID NO: 44)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSQDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRI RTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNRSSRDCKTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLISK
同功異型物6 (UniProt: Q9UBK2-6) (SEQ ID NO: 45)	MDETSRPLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGL KWCSQDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNH RI RTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNRSS RDCKTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTLLSLPLTPESPNLFL

同功異型物7 (UniProt: Q9UBK2-7) (SEQ ID NO: 46)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSDDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLVRTLPTV
同功異型物8 (UniProt: Q9UBK2-8) (SEQ ID NO: 47)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCSDD QSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDCKTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTLLSLPTESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLIS K
同功異型物9 (UniProt: Q9UBK2-9) (SEQ ID NO: 48)	MPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTEN SWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDCKTSKKKSHTQSQ SQHLQAKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQD NPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNSTKKGPESQELYAQLSKSSVL TGG HEERKTKRPSLR LFGDHDYQCSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGGQICSST DSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRDS DFSNEQFSKLP MFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPC RDSVSPPKSLFSQRPQRMRSRSRFSRHRSCSRSPYSRSRSRSPGSRSSSRSCYYYESSH YRHRTHRNSPLYVRSRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRE RQRQAIEERRVIYVGKIRPDTTRELDRFEVFGIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCD AFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKS NYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDS LLKEAQRSLRR

【0168】如本文所用，術語「PGC1-α」包括由細胞天然表現之PGC1-α之任何變異體或同功異型物。因此，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加PGC1-α同功異型物1之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加PGC1-α同功異型物2之表現。因此，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加PGC1-α同功異型物1之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加PGC1-α同功異型物2之表現。因此，在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加PGC1-α同功異型物3之表現。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑可增加PGC1-α同功異型物4之表現。因此，在一些態樣

中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加 **PGC1- α** 同功異型物 5 之表現。在某些態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加 **PGC1- α** 同功異型物 6 之表現。因此，在一些態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加 **PGC1- α** 同功異型物 7 之表現。在一些態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加 **PGC1- α** 同功異型物 8 之表現。因此，在一些態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加 **PGC1- α** 同功異型物 9 之表現。在其他態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑可增加 **PGC1- α** 同功異型物 1、同功異型物 2、同功異型物 3、同功異型物 4、同功異型物 5、同功異型物 6、同功異型物 7、同功異型物 8 及同功異型物 9 之表現。除非另有指示，同功異型物 1 及同功異型物 2 兩者在本文中統稱為「**PGC1- α** 」。

【0169】 在一些態樣中，與參考細胞(例如，未與 **miR-485** 抑制劑接觸之相應細胞)中之表現及/或活性相比，使細胞與 **miR-485** 抑制劑接觸可使細胞中 **PGC1- α** 蛋白及/或 **PGC1- α** 基因之表現及/或活性增加至少約 1 倍、至少約 2 倍、至少約 3 倍、至少約 4 倍、至少約 5 倍、至少約 6 倍、至少約 7 倍、至少約 8 倍、至少約 9 倍、至少約 10 倍、至少約 20 倍、至少約 30 倍、至少約 40 倍、至少約 50 倍、至少約 60 倍、至少約 70 倍、至少約 80 倍、至少約 90 倍或至少約 100 倍或更多。

【0170】 不受任一理論束縛，在一些態樣中，本文揭示之 **miR-485** 抑制劑藉由降低 **miR-485**，例如 **miR-485-3p** 之表現及/或活性增加 **PGC1- α** 蛋白及/或 **PGC1- α** 基因之表現。

III. 可用於本揭示案之miRNA-485抑制劑

【0171】本文揭示可抑制miR-485活性之化合物(miR-485抑制劑)。在一些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑包含編碼或包括包含至少一個miR-485結合位點之核苷酸分子之核苷酸序列，其中該核苷酸分子不編碼蛋白質。如本文所述，在一些態樣中，miR-485結合位點與標靶miRNA核酸序列(亦即，miR-485)至少部分互補，使得miR-485抑制劑與miR-485核酸序列雜交。

【0172】在一些態樣中，本文揭示之miR抑制劑之miR-485結合位點與miR-485，例如miR-485-3p之核酸序列具有至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列互補性。在某些態樣中，miR-485結合位點與miR-485，例如miR-485-3p之核酸序列完全互補。

【0173】miR-485髮夾前驅體可產生miR-485-5p及miR-485-3p。在本揭示案之上下文中，除非另有說明，否則「miR-485」涵蓋miR-485-5p及miR-485-3p。人類成熟miR-485-3p具有序列5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3'(SEQ ID NO: 1; miRBase寄存編號MIMAT0002176)。miR-485-3p 5'-UCAUACA-3'(SEQ ID NO: 49)之5'末端子序列為種子序列。人類成熟miR-485-5p具有序列5'-

AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC-3' (SEQ ID NO: 33 ; miRBase 寄存編號 MIMAT0002175) 。 miR-485-5p 5'-GAGGCUG-3' (SEQ ID NO: 50)之5'末端子序列為種子序列。

【0174】所屬領域之技術人員顯而易見，人類成熟 miR-485-3p與其他物種之序列具有顯著序列相似性。例如，小鼠成熟 miR-485-3p與人類成熟 miR-485-3p之區別在於5'-及3'-末端每一末端處的單個胺基酸(亦即，在5'-末端具有額外「A」且在3'-末端缺少「C」)。小鼠成熟 miR-485-3p具有以下序列：5'-AGUCAUACACGGCUCUCCUCUC-3' (SEQ ID NO: 34；miRBase寄存編號 MIMAT0003129；下劃線部分對應於與人類成熟 miR-485-3p之重疊)。小鼠成熟 miR-485-5p之序列與人類一致：5'-agaggcuggccgugaugaauuc-3' (SEQ ID NO: 33；miRBase寄存編號 MIMAT0003128)。在某些態樣中，本文揭示之 miR-485抑制劑能夠結合來自人類及小鼠之 miR-485-3p及/或 miR-485-5p。

【0175】在一些態樣中，miR-485結合位點為與 miR-485-3p (或其子序列)之序列互補(例如，完全互補)之單股多核苷酸序列。在一些態樣中，miR-485-3p子序列包含種子序列。因此，在某些態樣中，miR-485結合位點與 SEQ ID NO: 49中闡述之核酸序列具有至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%

或約100%序列互補性。在某些態樣中，除1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個或10個錯配外，miR-485結合位點與miR-485-3p互補。在其他態樣中，miR-485結合位點與SEQ ID NO: 1中闡述之核酸序列完全互補。

【0176】在一些態樣中，miR-485結合位點為與miR-485-5p（或其子序列）之序列互補（例如，完全互補）之單股多核苷酸序列。在一些態樣中，miR-485-5p子序列包含種子序列。在某些態樣中，miR-485結合位點與SEQ ID NO: 50中闡述之核酸序列具有至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列互補性。在某些態樣中，除1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個或10個錯配外，miR-485結合位點與miR-485-5p互補。

【0177】miRNA之種子區域與標靶mRNA形成緊密之雙鏈體。大多數miRNA與標靶mRNA之3'未轉譯區(UTR)不完全鹼基配對，且miRNA之5'近端「種子」區域提供大部分配對特異性。不受任何理論之束縛，咸信前九個miRNA核苷酸（涵蓋種子序列）提供較大特異性，而此區域3'端之miRNA核糖核苷酸允許較低序列特異性，因此可耐受更高程度之錯配鹼基配對，其中位置2-7最重要。因此，在本揭示案之特定態樣中，miR-485結合位點包含在miR-485之種子序列之全長上完全互補（亦即，100%互補）之子序列。

【0178】可在本揭示案之上下文中使用之miRNA序列及miRNA結合序列(抑制劑)包括但不限於本文提供之序列表中之彼等序列之全部或部分，以及miRNA前驅體序列，或一或多種此等miRNA之補充。考慮名稱上涉及特定miRNA或miRNA結合位點之本揭示案的任何態樣亦涵蓋miRNA或其互補序列，其序列與特定miRNA序列或其互補序列之成熟序列至少約至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約71%、至少約72%、至少約73%、至少約74%、至少約75%、至少約76%、至少約77%、至少約78%、至少約79%、至少約80%、至少約81%、至少約82%、至少約83%、至少約84%、至少約85%、至少約86%、至少約87%、至少約88%、至少約89%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致。

【0179】在一些態樣中，本揭示案之miRNA結合序列可在本文提供之序列表中之彼等序列的5'、3'或5'及3'末端處包括額外核苷酸，只要經修飾之序列仍然能夠與miR-485特異性結合即可。在一些態樣中，本揭示案之miRNA結合序列相對於所提供之序列表中之彼等序列可在至少1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個或更多個核苷酸上不同，只要經修改後之序列仍然能夠與miR-485特異性結合即可。

【0180】亦特別考慮，本文中討論之關於miRNA結合分子或miRNA之任何方法及組合物可關於合成miRNA結合分子實施。亦應理解，本揭示案中與RNA序列相關之揭示同樣適用於相應之DNA序列。

【0181】在一些態樣中，本揭示案之miRNA-485抑制劑在核苷酸序列之5'處包含至少1個核苷酸、至少2個核苷酸、至少3個核苷酸、至少4個核苷酸、至少5個核苷酸、至少6個核苷酸、至少7個核苷酸、至少8個核苷酸、至少9個核苷酸、至少10個核苷酸、至少11個核苷酸、至少12個核苷酸、至少13個核苷酸、至少14個核苷酸、至少15個核苷酸、至少16個核苷酸、至少17個核苷酸、至少18個核苷酸、至少19個核苷酸或至少20個核苷酸。在一些態樣中，miRNA-485抑制劑在核苷酸序列之3'處包含至少1個核苷酸、至少2個核苷酸、至少3個核苷酸、至少4個核苷酸、至少5個核苷酸、至少6個核苷酸、至少7個核苷酸、至少8個核苷酸、至少9個核苷酸、至少10個核苷酸、至少11個核苷酸、至少12個核苷酸、至少13個核苷酸、至少14個核苷酸、至少15個核苷酸、至少16個核苷酸、至少17個核苷酸、至少18個核苷酸、至少19個核苷酸或至少20個核苷酸。

【0182】在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之長度為約6個至約30個核苷酸。在某些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之長度為7個核苷酸。在其他態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之長度為8個核苷酸。在一些態

樣中，miR-485抑制劑之長度為9個核苷酸。在一些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑之長度為10個核苷酸。在某些態樣中，miR-485抑制劑之長度為11個核苷酸。在其他態樣中，miR-485抑制劑之長度為12個核苷酸。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之長度為13個核苷酸。在某些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之長度為14個核苷酸。在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑之長度為15個核苷酸。在其他態樣中，miR-485抑制劑之長度為16個核苷酸。在某些態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑之長度為17個核苷酸。在一些態樣中，miR-485抑制劑之長度為18個核苷酸。在一些態樣中，miR-485抑制劑之長度為19個核苷酸。在某些態樣中，miR-485抑制劑之長度為20個核苷酸。在其他態樣中，本揭示案之miR-485抑制劑之長度為21個核苷酸。在一些態樣中，miR-485抑制劑之長度為22個核苷酸。

【0183】在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑包含與選自SEQ ID NO: 2至30之序列至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致的核苷酸序列。在某些態樣中，miR-485抑制劑包含選自由SEQ ID NO: 2至30組成之群的核苷酸序列，其中核苷酸序列可視情況包含1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個或10個錯配。

【 0184 】 在 一 些 態 樣 中 ， miRNA 抑 制 劑 包 含 5'-UGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 2)、5'-GUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 3)、5'-CGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 4)、5'-CCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 5)、5'-GCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 8)、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 9)、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 10)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 11)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 13)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 14) 或 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 15)。

【 0185 】 在 一 些 態 樣 中 ， miRNA 抑 制 劑 具 有 5'-UGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 16)、5'-GUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 17)、5'-CGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 18)、5'-CCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 19)、5'-GCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 20)、5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 21)、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 22)、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 23)、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 24)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 25)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 26)、5'-

GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 27)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 28)或5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 29)。

【0186】在一些態樣中，miRNA抑制劑具有選自由以下組成之群的序列：5'-TGTATGA-3' (SEQ ID NO: 30)、5'-GTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 51)、5'-CGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 52)、5'-CCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 53)、5'-GCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 54)、5'-AGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 55)、5'-GAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 35)、5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 56)、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 57)、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 58)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 59)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 60)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 61)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 62)；5'-TGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 63)、5'-GTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 64)、5'-CGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 65)、5'-CCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 66)、5'-GCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 67)、5'-AGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 68)、5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 69)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 70)、5'-

GAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 71) 、 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 72) 、 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 73) 、 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 74) 、 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 75) 及 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 76) 。

【0187】 在一些態樣中，本文揭示之 miRNA 抑制劑 (亦即，miR-485 抑制劑) 包含與 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28) 或 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77) 至少約 50%、至少約 55%、至少約 60%、至少約 65%、至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90% 或至少約 95% 一致之核苷酸序列。在一些態樣中，miRNA 抑制劑包含與 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28) 或 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77) 具有至少 90% 相似性之核苷酸序列。在一些態樣中，miRNA 抑制劑包含具有一個取代或兩個取代之核苷酸序列 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28) 或 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)。在某些態樣中，miRNA 抑制劑包含核苷酸序列 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28) 或 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)。在某些態樣中，miRNA 抑制劑包含核苷酸序列 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28) 。

【0188】在一些態樣中，本揭示案之 miR-485 抑制劑包含本文揭示之序列，例如 SEQ ID NO: 2 至 30 中之任一者，及 N 末端之至少一個、至少兩個、至少三個、至少四個或至少五個另外之核酸、C 末端之至少一個、至少兩個、至少三個、至少四個或至少五個另外之核酸、或兩者。在一些態樣中，本揭示案之 miR-485 抑制劑包含本文揭示之序列，例如 SEQ ID NO: 2 至 30 中之任一者，且 N 末端之一個另外之核酸及/或 C 末端之一個另外之核酸。在一些態樣中，本揭示案之 miR-485 抑制劑包含本文揭示之序列，例如 SEQ ID NO: 2 至 30 中之任一者，及 N 末端之一或兩個另外之核酸在及/或 C 末端之一或兩個另外之核酸。在一些態樣中，本揭示案之 miR-485 抑制劑包含本文揭示之序列，例如 SEQ ID NO: 2 至 30 中之任一者，且 N 末端之一至三個另外之核酸在及/或 C 末端之一至三個另外之核酸。在一些態樣中，miR-485 抑制劑包含 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 29)。

【0189】在一些態樣中，本揭示案之 miR-485 抑制劑包含一個 miR-485 結合位點。在其他態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑包含至少兩個 miR-485 結合位點。在某些態樣中，miR-485 抑制劑包含三個 miR-485 結合位點。在一些態樣中，miR-485 抑制劑包含四個 miR-485 結合位點。在一些態樣中，miR-485 抑制劑包含五個 miR-485 結合位點。在某些態樣中，miR-485 抑制劑包含六個或更多個 miR-485 結合位點。在一些態樣中，所有 miR-485 結合位點一致。在

一些態樣中，所有 miR-485 結合位點不同。在一些態樣中，至少一個 miR-485 結合位點不同。在一些態樣中，所有 miR-485 結合位點均為 miR-485-3p 結合位點。在其他態樣中，所有 miR-485 結合位點均為 miR-485-5p 結合位點。在其他態樣中，miR-485 抑制劑包含至少一個 miR-485-3p 結合位點及至少一個 miR-485-5p 結合位點。

III.a. 經化學修飾之多核苷酸

【0190】在一些態樣中，本文揭示之 miR-485 抑制劑包含多核苷酸，該多核苷酸包含至少一種經化學修飾之核苷及/或核苷酸。當本揭示案之多核苷酸經化學修飾時，多核苷酸可稱為「經修飾之多核苷酸」。

【0191】「核苷」係指含有糖分子(例如，戊糖或核糖)或其衍生物與有機鹼(例如，嘌呤或嘧啶)或其衍生物(在本文中亦稱為「核鹼基」)組合之化合物。「核苷酸」係指包括磷酸酯基之核苷。經修飾之核苷酸可藉由任何有用之方法，諸如化學、酶促或重組合成，以包括一或多個經修飾之核苷或非天然核苷。

【0192】多核苷酸可包含連接核苷之一或多個區域。此類區域可具有可變之骨架鍵聯。鍵聯可為標準磷酸二酯鍵聯，在此情況下多核苷酸將包含核苷酸區域。

【0193】本文揭示之經修飾之多核苷酸可包含各種不同之修飾。在一些態樣中，經修飾之多核苷酸含有一個、兩個或更多個(視情況不同)核苷或核苷酸修飾。在一些態

樣中，經修飾之多核苷酸可表現出一或多種期望之特性，例如與未修飾之多核苷酸相比，改善之熱穩定性或化學穩定性、降低之免疫原性、減少之降解、增加之與標靶微小RNA之結合、減少之與其他微小RNA或其他分子之非特異性結合。

【0194】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)經化學修飾。如本文所用，在提及多核苷酸時，術語「化學修飾」或適當時「經化學修飾之」係指關於腺苷(A)、鳥苷(G)、尿苷(U)、胸苷(T)或胞苷(C)核糖或去氧核糖核苷在其位置、模式、百分比或群體中之一或多個，包括但不限於其核鹼基、糖、骨架或其任何組合方面的修飾。

【0195】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)可具有所有或任何相同核苷類型之統一化學修飾，或藉由所有或任何相同核苷類型中之相同起始修飾的向下滴定所產生之修飾群體，或量測百分比的所有任何相同核苷類型但具有隨機摻入之化學修飾。在其他態樣中，本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)可具有在整個多核苷酸上兩種、三種或四種相同核苷類型之統一化學修飾(諸如所有尿苷及/或所有胞苷等均以相同方式修飾)。

【0196】經修飾之核苷酸鹼基配對不僅涵蓋標準之腺嘌呤-胸腺嘧啶、腺嘌呤-尿嘧啶或鳥嘌呤-胞嘧啶鹼基對，亦涵蓋在核苷酸及/或包含非標準或經修飾之鹼基的經修

飾之核苷酸之間形成的鹼基對，其中氫鍵供體及氫鍵受體之排列允許非標準鹼基與標準鹼基之間或兩個互補之非標準鹼基結構之間形成氫鍵。此類非標準鹼基配對之一個實例為經修飾之核鹼基肌苷與腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶之間的鹼基配對。鹼基/糖或連接子之任何組合可併入本揭示案之多核苷酸中。

【0197】技術人員將理解，除非另有指出，否則本申請案中闡述之多核苷酸序列將在代表性DNA序列中引用「T」，但當序列表示RNA時，「T」將替換為「U」。例如，本揭示案之TD可作為RNA、作為DNA、或作為包含RNA及DNA單元之雜交分子投與。

【0198】在一些態樣中，多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)包括至少兩種(例如，2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、8種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、18種、20種或更多種)經修飾之核鹼基的組合。

【0199】在一些態樣中，多核苷酸中之核鹼基、糖、骨架鍵聯或其任何組合經修飾至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%。

(i) 鹼基修飾

【0200】在某些態樣中，化學修飾位於本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)中之核鹼基處。在一些態樣中，至少一種經化學修飾之核苷為經修飾之尿苷(例如，假尿苷(ψ)、2-硫尿苷(s2U)、1-甲基-假尿苷(m1 ψ)、1-乙基-假尿苷(e1 ψ)或5-甲氧基-尿苷(mo5U))、經修飾之胞嘧啶(例如，5-甲基-胞苷(m5C))、經修飾之腺苷(例如，1-甲基-腺苷(m1A)、N6-甲基-腺苷(m6A)或2-甲基-腺嘌呤(m2A))、經修飾之鳥苷(例如7-甲基-鳥苷(m7G)或1-甲基-鳥苷(m1G))或其組合。

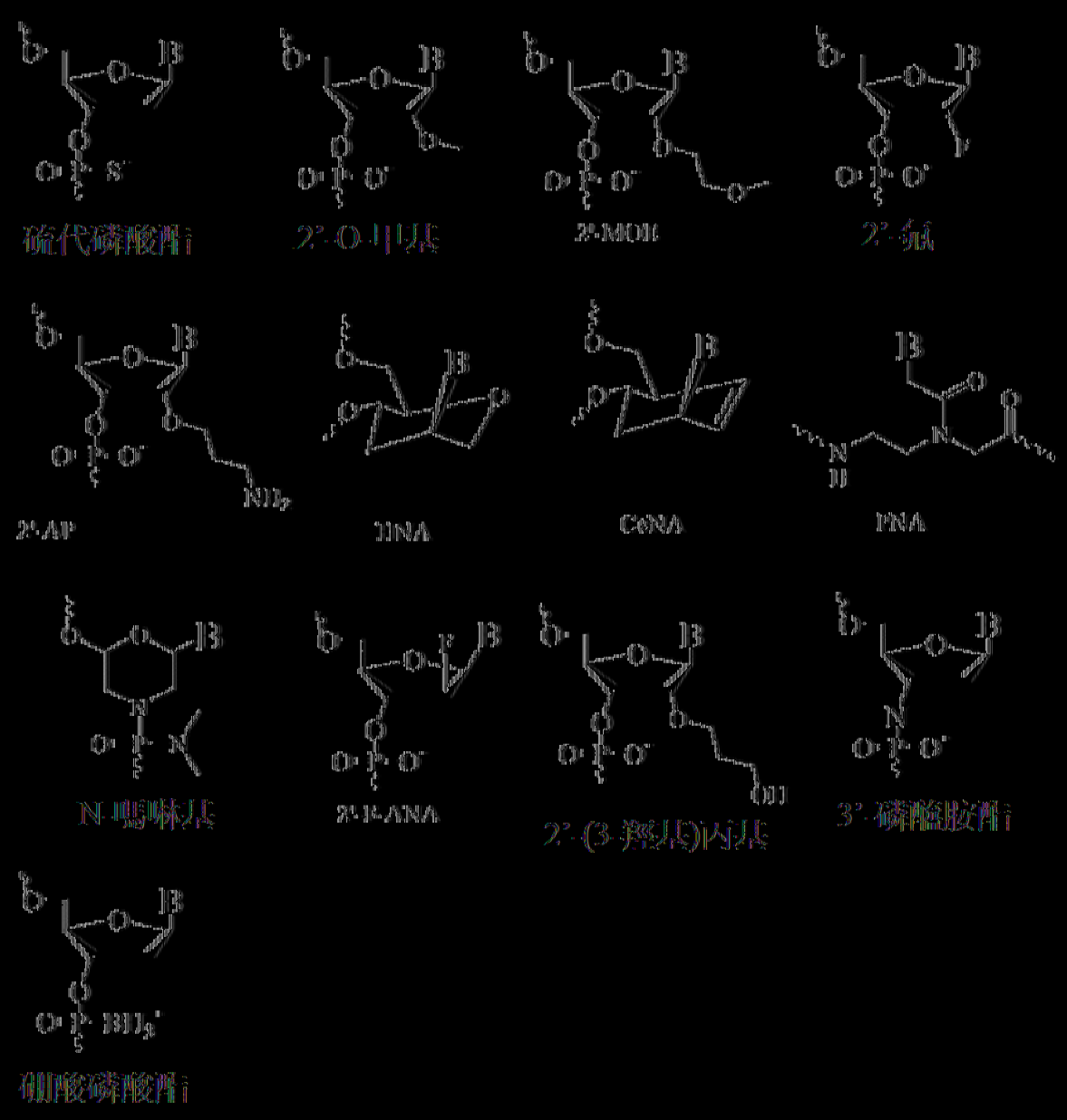
【0201】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)針對特定修飾進行統一修飾(例如，完全修飾、在整個序列中修飾)。例如，多核苷酸可用相同類型之鹼基修飾，例如5-甲基-胞苷(m5C)統一修飾，此意謂多核苷酸序列中之所有胞嘧啶殘基經5-甲基-胞苷(m5C)替換。類似地，多核苷酸可藉由用經修飾之核苷，諸如上面闡述之彼等經修飾之核苷中之任一種替換而針對序列中存在之任何類型之核苷殘基進行統一修飾。

【0202】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)包括至少兩種(例如，2種、3種、4種或更多種)經修飾之核鹼基之組合。在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(例如，miR-485抑制劑)中一類核鹼基之至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少

約 25%、至少約 30%、至少約 35%、至少約 40%、至少約 45%、至少約 50%、至少約 55%、至少約 60%、至少約 65%、至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%為經修飾之核鹼基。

(ii) 骨架修飾

【0203】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)可在核苷之間包括任何有用之鍵聯。可用於本揭示案之組合物之此類鍵聯，包括骨架修飾，包括但不限於以下：3'-伸烷基磷酸酯、3'-胺基磷醯胺酯、含烯烴之骨架、胺基烷基磷醯胺酯、胺基烷基磷酸三酯、硼酸磷酸酯、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、對掌性磷酸酯、對掌性硫代磷酸酯、甲乙醯基及硫代甲乙醯基骨架、亞甲基(甲基亞胺基)、亞甲基甲乙醯基及硫代甲乙醯基骨架、亞甲基亞胺基及亞甲基胍基骨架、N-嗎啉基鍵聯、 $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、具有雜原子核苷間鍵聯之寡核苷、次磷酸酯、磷醯胺酯、二硫代磷酸酯、硫代磷酸酯核苷間鍵聯、硫代磷酸酯、磷酸三酯、PNA、矽氧烷骨架、胺基磺酸酯骨架、硫化亞砷及砷骨架、磺酸酯及磺醯胺骨架、硫羰基烷基磷酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯及硫代磷醯胺酯。



〔0204〕 在一些態樣中，上文揭示之骨架鍵聯之存在增加本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)的穩定性及對降解之抗性。

〔0205〕 在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)中至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約

75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100%之骨架鍵聯經修飾(例如，所有均為硫代磷酸酯)。

【0206】在一些態樣中，在本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)中可包括之骨架修飾包含磷醯二胺 N-嗎啉基寡聚物(PMO)及/或硫代磷酸酯(PS)修飾。

(iii) 糖修飾

【0207】可併入本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)中的經修飾之核苷及核苷酸可在核酸之糖上進行修飾。在一些態樣中，糖修飾增加miR-485抑制劑與miR-485核酸序列結合之親和力。在miR-485抑制劑中併入親和力增強之核苷酸類似物，諸如LNA或2'-取代糖，可允許miR-485抑制劑之長度及/或尺寸減小。

【0208】在一些態樣中，核苷酸本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)中至少約 5%、至少約 10%、至少約 15%、至少約 20%、至少約 25%、至少約 30%、至少約 35%、至少約 40%、至少約 45%、至少約 50%、至少約 55%、至少約 60%、至少約 65%、至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100%核苷酸含有糖修飾(例如，LNA)。

【0209】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸中至少

1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個或22個核苷酸單元經糖修飾(例如，LNA)。

【0210】通常，RNA包括糖基核糖，其為具有氧之5員環。示例性非限制性之經修飾之核苷酸包括替換核糖中之氧(例如用S、Se或伸烷基，諸如亞甲基或伸乙基)；添加雙鍵(例如，用環戊烯基或環己烯基替換核糖)；核糖之環收縮(例如，形成環丁烷或氧雜環丁烷之四員環)；核糖之擴環(例如，形成具有額外碳或雜原子之6員或7員環，諸如失水己糖醇、阿曲糖醇、甘露糖醇、環己基、環己烯基及亦具有磷醯胺酯骨架之N-嗎啉基)；多環形式(例如，三環；及「未鎖定」形式，例如乙二醇核酸(GNA)(例如R-GNA或S-GNA，其中核糖經附接至磷酸二酯鍵之乙二醇單元替換)、蘇糖核酸(TNA，其中核糖經 α -L-呋喃蘇糖基-(3'→2')替換)及肽核酸(PNA，其中2-胺基-乙基-甘胺酸鍵聯替換核糖及磷酸二酯骨架)。糖基亦可含有一或多個碳，其具有與核糖中相應碳相反之立體化學構型。因此，多核苷酸分子可包括含有例如阿拉伯糖作為糖之核苷酸。

【0211】核糖之2'羥基(OH)可經許多不同之取代基修飾或替換。2'-位之示例性取代包括但不限於H、鹵素、視情況經取代之C₁₋₆烷基；視情況經取代之C₁₋₆烷氧基；視情況經取代之C₆₋₁₀芳氧基；視情況經取代之C₃₋₈環烷基；視情況經取代之C₃₋₈環烷氧基；視情況經取代之C₆₋₁₀芳氧

基；視情況經取代之 C_{6-10} 芳基- C_{1-6} 烷氧基；視情況經取代之 C_{1-12} （雜環基）氧基；糖（例如，核糖、戊糖或本文所述之任一種）；聚乙二醇（PEG）、 $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$ ，其中R為H或視情況經取代之烷基，且n為0至20之整數（例如0至4、0至8、0至10、0至16、1至4、1至8、1至10、1至16、1至20、2至4、2至8、2至10、2至16、2至20、4至8、4至10、4至16及4至20）；「鎖」核酸（LNA），其中2'-羥基藉由 C_{1-6} 伸烷基或 C_{1-6} 伸雜烷基橋連接至相同核糖之4'-碳，其中示例性橋包括亞甲基、伸丙基、醚、胺基橋、胺基烷基、胺基烷氧基、胺基及胺基酸。

【0212】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸（亦即，mir-485抑制劑）中存在之核苷酸類似物包含例如2'-O-烷基-RNA單元、2'-OMe-RNA單元、2'-O-烷基-SNA、2'-胺基-DNA單元、2'-氟-DNA單元、LNA單元、阿拉伯糖核酸（ANA）單元、2'-氟-ANA單元、HNA單元、INA（插入核酸）單元、2'MOE單元或其任何組合。在一些態樣中，LNA為例如氧基-LNA（諸如 β -D-氧基-LNA或 α -L-氧基-LNA）、胺基-LNA（諸如 β -D-胺基-LNA或 α -L-胺基-LNA）、硫基-LNA（諸如 β -D-硫基-LNA或 α -L-硫基-LNA）、ENA（諸如 β -D-ENA或 α -L-ENA）或其任何組合。在其他態樣中，本揭示案之多核苷酸（亦即，miR-485抑制劑）中可包括之核苷酸類似物包含鎖核酸（LNA）、非鎖核酸（UNA）、阿拉伯糖核酸（ABA）、橋連核酸（BNA）及/或肽核酸（PNA）。

【0213】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸（亦

即，miR-485抑制劑)可包含經修飾之RNA核苷酸類似物(例如，LNA)及DNA單元兩者。在一些態樣中，miR-485抑制劑為間隙聚物。參見例如美國專利第8,404,649號、第8,580,756號、第8,163,708號、第9,034,837號；均以全文引用的方式併入本文中。在一些態樣中，miR-485抑制劑為微小mir。參見美國專利申請公開案第US20180201928號，其以全文引用的方式併入本文中。

【0214】在一些態樣中，本揭示案之多核苷酸(亦即，miR-485抑制劑)可包括防止內切核酸酶及外切核酸酶快速降解之修飾。修飾包括但不限於例如(a)末端修飾，例如5'末端修飾(磷酸化、去磷酸化、結合、反向鍵聯等)、3'末端修飾(結合、DNA核苷酸、反向鍵聯等)；(b)鹼基修飾，例如用經修飾之鹼基、穩定鹼基、去穩定鹼基或與擴展之搭配物庫或結合鹼基進行鹼基配對之鹼基替換；(c)糖修飾(例如，在2'位或4'位)或糖替代；以及(d)核苷間鍵聯修飾，包括磷酸二酯鍵聯之修飾或替換。

IV. 載體及遞送系統

【0215】在一些態樣中，可使用所屬領域已知之任何相關遞送系統將本揭示案之miR-485抑制劑投與至例如有脫髮風險之個體。在某些態樣中，遞送系統為載體。因此，在一些態樣中，本揭示案提供包含本揭示案之miR-485抑制劑之載體。

【0216】在某些態樣中，載體為病毒載體。在一些態

樣中，病毒載體為腺病毒載體或腺相關病毒載體。在某些態樣中，病毒載體為具有AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或其任何組合之血清型的AAV。在一些態樣中，腺病毒載體為第三代腺病毒載體。ADEASY™為迄今為止最流行之建立腺病毒載體構築體的方法。該系統由兩類質體組成：穿梭(或轉移)載體及腺病毒載體。將感興趣之轉殖基因選殖至穿梭載體中，進行驗證，且使用限制酶PmeI線性化。接著將此構築體轉型至ADEASIER-1細胞中，該等細胞為含有PADEASY™之BJ5183大腸桿菌細胞。PADEASY™係一種約33Kb之腺病毒質體，其含有產生病毒所需之腺病毒基因。穿梭載體及腺病毒質體具有匹配之左右同源臂，此有助於轉殖基因同源重組至腺病毒質體中。亦可將標準BJ5183與超螺旋PADEASY™及穿梭載體共轉型，但此方法會導致非重組腺病毒質體之背景較高。接著驗證重組腺病毒質體之大小及適當之限制消化模式，以確定轉殖基因已插入腺病毒質體中，且未發生其他重組模式。經驗證後，將重組質體用PacI線性化，以建立側接ITR之線性dsDNA構築體。用線性化構築體轉染293或911細胞，且在約7-10天後可收穫病毒。除此方法之外，在申請本申請案時所屬領域已知之用於建立腺病毒載體構築體之其他方法可用於實踐本文揭示之方法。

【0217】在一些態樣中，病毒載體為逆轉錄病毒載體，例如慢病毒載體(例如第三代或第四代慢病毒載體)。

慢病毒載體通常在瞬時轉染系統中建立，在該系統中，將細胞株用三個獨立之質體表現系統進行轉染。此等包括轉移載體質體(HIV原病毒之一部分)、包裝質體或構築體，以及具有不同病毒之異源包膜基因(*env*)之質體。將載體之三種質體組分放入包裝細胞中，接著將其插入HIV外殼中。載體之病毒部分包含插入序列，以便病毒無法在細胞系統內復制。當前之第三代慢病毒載體僅編碼九種HIV-1蛋白中之三種(Gag、Pol、Rev)，此等蛋白自分開之質體表現，以避免重組介導之複製型病毒之產生。在第四代慢病毒載體中，已進一步減少逆轉錄病毒基因體(參見例如TAKARA® LENTI-X™第四代包裝系統)。

【0218】所屬領域中已知之任何AAV載體皆可用於本文所揭示之方法中。AAV載體可包含已知載體或可包含其變異體、片段或融合體。在一些態樣中，AAV載體係選自由以下組成之群：AAV 1型(AAV1)、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、aviAAV、牛AAV、犬AAV、馬AAV、山羊AAV、靈長類動物AAV、非靈長類動物AAV、牛AAV、蝦AAV、蛇AAV及其任何組合。

【0219】在一些態樣中，AAV載體源自選自由以下組成之群的AAV載體：AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、aviAAV、牛

AAV、犬 AAV、馬 AAV、山羊 AVV、靈長類動物 AAV、非靈長類動物 AAV、綿羊 AAV、蝦 AVV、蛇 AVV 及其任何組合。

【0220】在一些態樣中，AAV載體為源自至少兩種選自由以下組成之群之 AAV載體的嵌合載體：AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、aviAAV、牛 AAV、犬 AAV、馬 AAV、山羊 AVV、靈長類動物 AAV、非靈長類動物 AAV、綿羊 AAV、蝦 AVV、蛇 AVV 及其任何組合。

【0221】在某些態樣中，AAV載體包含所屬領域已知之至少兩種不同 AAV載體之區域。

【0222】在一些態樣中，AAV載體包含來自第一 AAV (例如，AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、aviAAV、牛 AAV、犬 AAV、馬 AAV、山羊 AVV、靈長類動物 AAV、非靈長類動物 AAV、綿羊 AAV、蝦 AVV、蛇 AVV 或其任何衍生物) 之反向末端重複序列及來自第二 AAV (例如，AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、aviAAV、牛 AAV、犬 AAV、馬 AAV、山羊 AVV、靈長類動物 AAV、非靈長類動物 AAV、綿羊 AAV、蝦 AVV、蛇 AVV 或其任何衍生物) 之

反向末端重複序列。

【0223】 在一些態樣中，AVV載體包含選自由以下組成之群之AAV載體的一部分：AAV1、AAV2、AAV3A、AVV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AVV9、AVV10、AVV11、AVV12、AVV13、AAVrh.74、aviAAV、牛AAV、犬AAV、馬AAV、山羊AVV、靈長類動物AAV、非靈長類動物AAV、綿羊AAV、蝦AVV、蛇AVV及其任何組合。在一些態樣中，AAV載體包含AAV2。

【0224】 在一些態樣中，AVV載體包含剪接受體位點。在一些態樣中，AVV載體包含啟動子。所屬領域中已知之任何啟動子皆可用於本揭示案之AAV載體中。在一些態樣中，啟動子為RNA Pol III啟動子。在一些態樣中，RNA Pol III啟動子係選自由U6啟動子、H1啟動子、7SK啟動子、5S啟動子、腺病毒2 (Ad2) VAI啟動子及其任何組合組成之群。在一些態樣中，啟動子為細胞巨大病毒即刻早期基因(CMV)啟動子、EF1a啟動子、SV40啟動子、PGK1啟動子、Ubc啟動子、人類 β 肌動蛋白啟動子、CAG啟動子、TRE啟動子、UAS啟動子、Ac5啟動子、多角體蛋白啟動子、CaMKIIa啟動子、GAL1啟動子、GAL10啟動子、TEF啟動子、GDS啟動子、ADH1啟動子、CaMV35S啟動子或Ubi啟動子。在一特定態樣中，啟動子包含U6啟動子。

【0225】 在一些態樣中，AAV載體包含組成型活性啟

動子(組成型啟動子)。在一些態樣中，組成型啟動子係選自由以下組成之群：次黃嘌呤磷酸核糖轉移酶(HPRT)、腺苷去胺酶、丙酮酸激酶、 β -肌動蛋白啟動子、細胞巨大病毒(CMV)、猿猴病毒(例如SV40)、乳頭狀瘤病毒、腺病毒、人類免疫缺乏病毒(HIV)、勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)、逆轉錄病毒長末端重複序列(LTR)、鼠幹細胞病毒(MSCV)及單純疱疹病毒之胸苷激酶啟動子。

【0226】在一些態樣中，啟動子為誘導型啟動子。在一些態樣中，誘導型啟動子為組織特異性啟動子。在某些態樣中，組織特異性啟動子在神經元、神經膠細胞或神經元及神經膠細胞兩者中驅動AAV載體之編碼區之轉錄。

【0227】在一些態樣中，AAV載體包含一或多種強化子。在一些態樣中，一或多種強化子單獨或與本文揭示之啟動子一起存在於AAV中。在一些態樣中，AAV載體包含3'UTR聚(A)尾序列。在一些態樣中，3'UTR聚(A)尾序列係選自由以下組成之群：bGH聚(A)、肌動蛋白聚(A)、血紅素聚(A)及其任何組合。在一些態樣中，3'UTR聚(A)尾序列包含bGH聚(A)。

【0228】在一些態樣中，本文揭示之miR-485抑制劑與遞送劑一起投與。可使用之遞送劑之非限制性實例包括胞外體、類脂質、脂質體、脂質複合物、脂質奈米粒子、細胞外囊泡、聚合化合物、肽、蛋白質、細胞、奈米粒子模擬物、奈米管、微胞、病毒載體或結合物。

【0229】因此，在一些態樣中，本揭示案亦提供包含

本揭示案之 miRNA 抑制劑(亦即，miR-485 抑制劑)及遞送劑之組合物。在一些態樣中，遞送劑包含例如可自組裝成微胞或併入微胞中之載劑單元。在一些態樣中，遞送劑包括包含以下之陽離子載劑單元：



或



其中

WP 為水溶性生物聚合物部分；

CC 為帶正電荷(亦即，陽離子)之載劑部分；

AM 為佐劑部分；且

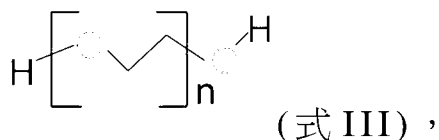
L1 及 L2 獨立地為視情況選用之連接子，且

其中當與核酸以約 1:1 之離子比混合時，陽離子載劑單元形成微胞。因此，在一些態樣中，miRNA 抑制劑及陽離子載劑單元在混合在一起時能夠彼此締合(例如，經由共價鍵或非價鍵)以形成微胞。

【0230】在一些態樣中，包含本揭示案之 miRNA 抑制劑(亦即，miR-485 抑制劑)之組合物經由離子鍵與陽離子載劑單元相互作用。

【0231】在一些態樣中，水溶性聚合物包含聚(烷二醇)、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯醇)、聚(乙烯吡咯啉酮)、聚(羥基烷基甲基丙烯醯胺)、聚(甲基丙烯酸羥基烷酯)、聚(醚)、聚(α -羥基酸)、聚(乙醇醇)、聚甘油、聚磷氮烯、聚噁唑啉(「POZ」)聚(N-丙烯醯基嗎啉)或其任何

組合。在一些態樣中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(「PEG」)、聚甘油或聚(丙二醇)(「PPG」)。在一些態樣中，水溶性聚合物包含：



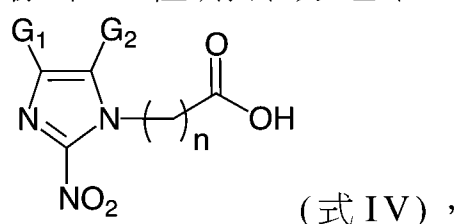
其中 n 為 1-1000。

【0232】在一些態樣中， n 為至少約 110、至少約 111、至少約 112、至少約 113、至少約 114、至少約 115、至少約 116、至少約 117、至少約 118、至少約 119、至少約 120、至少約 121、至少約 122、至少約 123、至少約 124、至少約 125、至少約 126、至少約 127、至少約 128、至少約 129、至少約 130、至少約 131、至少約 132、至少約 133、至少約 134、至少約 135、至少約 136、至少約 137、至少約 138、至少約 139、至少約 140 或至少約 141。在一些態樣中， n 為約 80 至約 90、約 90 至約 100、約 100 至約 110、約 110 至約 120、約 120 至約 130、約 140 至約 150、約 150 至約 160。

【0233】在一些態樣中，水溶性聚合物為線性、分支或樹枝狀。在一些態樣中，陽離子載劑部分包含一或多個鹼性胺基酸。在一些態樣中，陽離子載劑部分包含至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少 11 個、至少 12 個、至少 13 個、至少 14 個、至少 15 個、至少 16 個、至少 17 個、至少 18 個、至少 19 個、至少 20 個、至少 21 個、至少 22 個、至少 23

個、至少 24 個、至少 25 個、至少 26 個、至少 27 個、至少 28 個、至少 29 個、至少 30 個、至少 31 個、至少 32 個、至少 33 個、至少 34 個、至少 35 個、至少 36 個、至少 37 個、至少 38 個、至少 39 個、至少 40 個、至少 41 個、至少 42 個、至少 43 個、至少 44 個、至少 45 個、至少 46 個、至少 47 個、至少 48 個、至少 49 個或至少 50 個鹼性胺基酸。在一些態樣中，陽離子載劑部分包含約 30 個至約 50 個鹼性胺基酸。在一些態樣中，鹼性胺基酸包含精胺酸、離胺酸、組胺酸或其任何組合。在一些態樣中，陽離子載劑部分包含約 40 個離胺酸單體。

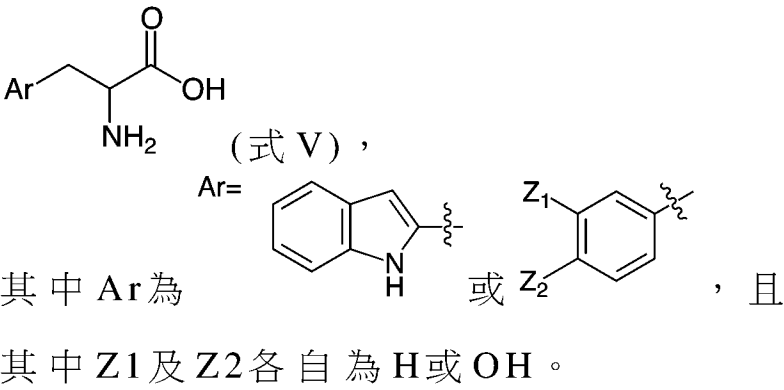
【0234】在一些態樣中，佐劑部分能夠調節免疫反應、發炎反應及/或組織微環境。在一些態樣中，佐劑部分包含咪唑衍生物、胺基酸、維生素或其任何組合。在一些態樣中，佐劑部分包含：



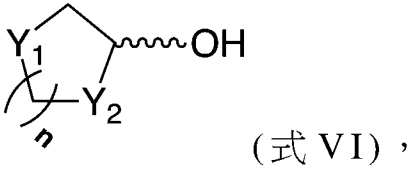
其中 G1 及 G2 各自為 H、芳環或 1-10 烷基，或 G1 及 G2 一起形成芳環，且其中 n 為 1-10。

【0235】在一些態樣中，佐劑部分包含硝基咪唑。在一些態樣中，佐劑部分包含甲硝唑、替硝唑、尼莫唑、二甲硝唑、普托馬尼、奧硝唑、美格唑、阿扎硝唑、苳硝唑或其任何組合。在一些態樣中，佐劑部分包含胺基酸。

【0236】在一些態樣中，佐劑部分包含



【0237】 在一些態樣中，佐劑部分包含維生素。在一些態樣中，維生素包含環或雜原子環及羧基或羥基。在一些態樣中，維生素包含：



【0238】 在一些態樣中，維生素係選自由以下組成之群：維生素 A、維生素 B1、維生素 B2、維生素 B3、維生素 B6、維生素 B7、維生素 B9、維生素 B12、維生素 C、維生素 D2、維生素 D3、維生素 E、維生素 M、維生素 H 及其任何組合。在一些態樣中，維生素為維生素 B3。

【0239】 在一些態樣中，佐劑部分包含至少約兩個、至少約三個、至少約四個、至少約五個、至少約六個、至少約七個、至少約八個、至少約九個、至少約十個、至少約 11 個、至少約 12 個、至少約 13 個、至少約 14 個、至少約 15 個、至少約 16 個、至少約 17 個、至少約 18 個、至少約 19 個或至少約 20 個維生素 B3。在一些態樣中，佐劑部分包含約 10 個維生素 B3。

【0240】 在一些態樣中，組合物包含具有約 120 個至

約 130 個 PEG 單元之水溶性生物聚合物部分、包含具有約 30 個至約 40 個離胺酸之聚離胺酸之陽離子載劑部分及具有約 5 個至約 10 個維生素 B3 之佐劑部分。

【0241】在一些態樣中，組合物包含：(i) 具有約 100 個至約 200 個 PEG 單元之水溶性生物聚合物部分；(ii) 約 30 個至約 40 個具有胺基之離胺酸(例如，約 32 個離胺酸)；(iii) 約 15 個至 20 個離胺酸，各自具有硫醇基團(例如，約 16 個離胺酸，各自具有硫醇基團)；及(iv) 約 30 個至 40 個與維生素 B3 融合之離胺酸(例如，約 32 個離胺酸，各自與維生素 B3 融合)。在一些態樣中，組合物進一步包含與水溶性聚合物連接之靶向部分，例如 LAT1 靶向配位體，例如苯丙胺酸。在一些態樣中，組合物中之硫醇基團形成二硫鍵。

【0242】在一些態樣中，組合物包含：(1) 微胞，其包含(i) 約 100 個至約 200 個 PEG 單元，(ii) 約 30 個至約 40 個具有胺基之離胺酸(例如，約 32 個離胺酸)，(iii) 約 15 個至 20 個離胺酸，各自具有硫醇基團(例如，約 16 個離胺酸，各自具有硫醇基團)，及(iv) 約 30 個至 40 個與維生素 B3 融合之離胺酸(例如，約 32 個離胺酸，各自與維生素 B3 融合)；及(2) miR485 抑制劑(例如，SEQ ID NO: 28)，其中 miR485 抑制劑囊封在微胞中。組合物進一步包含與 PEG 單元連接之靶向部分，例如 LAT1 靶向配位體，例如苯丙胺酸。在一些態樣中，微胞中之硫醇基團形成二硫鍵。

【0243】本揭示案亦提供包含本揭示案之 miRNA 抑制

劑(亦即，miR-485抑制劑)之微胞，其中該miRNA抑制劑及該遞送劑彼此締合。

【0244】在一些態樣中，締合為共價鍵、非共價鍵或離子鍵。在一些態樣中，當在溶液中與本文揭示之miR-485抑制劑混合時，陽離子載劑單元之陽離子載劑部分之正電荷足以形成微胞，其中溶液中陽離子載劑單元之陽離子載劑部分之正電荷與miR-485抑制劑(或包含抑制劑之載體)之負電荷的總離子比為約1:1。

【0245】在一些態樣中，陽離子載劑單元能夠保護本揭示案之miRNA抑制劑(亦即，miR-485抑制劑)免於酶促降解。參見PCT公開案第WO2020/261227號，其以全文引用的方式併入本文中。

V. 醫藥組合物

【0246】在一些態樣中，本揭示案亦提供適合投與至個體之醫藥組合物，其包含本文揭示之miR-485抑制劑(例如，包含miR-485抑制劑之多核苷酸或載體)。醫藥組合物通常包含本文所述之miR-485抑制劑(例如，多核苷酸或載體)及醫藥學上可接受之賦形劑或載劑，其呈適合投與至個體之形式。醫藥學上可接受之賦形劑或載劑部分取決於所投與之特定組合物，以及用於投與組合物之特定方法。

【0247】因此，存在多種合適的包含本揭示案之miR-485抑制劑之醫藥組合物調配物。(參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa.

第18版 (1990))。醫藥組合物通常係無菌調配的且完全符合美國食品與藥物管理局 (U.S. Food & Drug Administration) 之所有良好生產規範 (Good Manufacturing Practice, GMP) 規定。

VI. 套組

【0248】本揭示案亦提供套組或製造產品，其包含本揭示案之 miRNA 抑制劑 (例如，本文揭示之多核苷酸、載體或醫藥組合物) 及視情況使用說明書，例如根據本文揭示之方法之使用說明書。在一些態樣中，套組或製造產品包含一或多個容器中之 miR-485 抑制劑 (例如載體，例如本揭示案之 AAV 載體、多核苷酸或醫藥組合物)。在一些態樣中，套組或製造產品包含 miR-485 抑制劑 (例如載體，例如本揭示案之 AAV 載體、多核苷酸或醫藥組合物) 及小冊子。所屬領域之技術人員將容易認識到，本文揭示之 miR-485 抑制劑 (例如，本揭示案之載體、多核苷酸及醫藥組合物，或其組合) 可很容易地併入一種所屬領域中熟知之已建立之套組格式中。

【0249】以下實例作為例證來提供而非限制。

實例

實例 1：miR-485 抑制劑之製備

【0250】(a) 炔修飾之酪胺酸之合成：產生炔修飾之酪胺酸，作為合成陽離子載劑單元之組織特異性靶向部分

(TM，參見圖1)以將本揭示案之微胞引導至BBB中之LAT1轉運蛋白的中間物。

【0251】將N-(第三丁氧基羰基)-L-酪胺酸甲酯(Boc-Tyr-OMe) (0.5g, 1.69 mmol)及K₂CO₃ (1.5當量, 2.54 mmol)於乙腈(4.0 ml)中之混合物逐滴添加至炔丙基溴(1.2當量, 2.03 mmol)中。將反應混合物在60℃下加熱隔夜。反應後，將反應混合物用水:乙酸乙酯(EA)萃取。接著，使用鹽水溶液洗滌有機層。將粗物質藉由急驟管柱(己烷中EA 10%)純化。接著，將所得產物溶解在1,4-二噁烷(1.0 ml)及6.0M HCl (1.0 ml)中。將反應混合物在100℃下加熱隔夜。接著，移除二噁烷且藉由EA萃取。將NaOH水溶液(0.5M)添加至混合物中直至pH值變為7。藉由蒸發器濃縮反應物且在0℃下以12,000 rpm離心。沈澱物用去離子水洗滌且凍乾。

【0252】(b)聚(乙二醇)-*b*-聚(L-離胺酸)(PEG-PLL)之合成：此合成步驟產生本揭示案之陽離子載劑單元之水溶性生物聚合物(WP)及陽離子載劑(CC)(參見圖1)。

【0253】聚(乙二醇)-*b*-聚(L-離胺酸)係藉由Lys(TFA)-NCA之開環聚合反應利用單甲氧基PEG (MeO-PEG)作為大分子引髮劑來合成。簡而言之，將MeO-PEG (600 mg, 0.12 mmol)及Lys(TFA)-NCA (2574 mg, 9.6 mmol)分別溶解在含有1M硫脲之DMF及DMF (或NMP)中。藉由微型注射器將Lys(TFA)-NCA溶液滴入MeO-PEG溶液中，且將反應混合物在37℃下攪拌4天。將反應瓶用氬氣及真空吹

掃。所有反應均在氬氣氛圍中進行。反應後，使混合物沈澱至過量乙醚中。將沈澱物重新溶解在甲醇中且再次沈澱至冷乙醚中。接著過濾，且真空乾燥後得到白色粉末。對於 PEG-PLL(TFA)中 TFA基團之脫保護，進行下一步。

【0254】使 MeO-PEG-PLL(TFA) (500 mg)溶解在甲醇 (60 mL)中，且在攪拌下將 1N NaOH (6 mL)滴入聚合物溶液中。將混合物在攪拌下在 37°C 下維持 1天。將反應混合物對 10 mM HEPES及蒸餾水滲析 4次。凍乾後獲得白色 PEG-PLL粉末。

【0255】(b)疊氮基-聚(乙二醇)-*b*-聚(L-離胺酸) (N₃-PEG-PLL)之合成：此合成步驟產生本揭示案之陽離子載劑單元之水溶性生物聚合物(WP)及陽離子載劑(CC) (參見圖 1)。

【0256】疊氮基-聚(乙二醇)-*b*-聚(L-離胺酸)係藉由 Lys(TFA)-NCA之開環聚合反應利用疊氮基-PEG (N₃-PEG)來合成。簡而言之，將 N₃-PEG (300 mg，0.06 mmol)及 Lys(TFA)-NCA (1287 mg，4.8 mmol)分別溶解在含有 1M 硫脲之 DMF及 DMF (或 NMP)中。藉由微型注射器將 Lys(TFA)-NCA溶液滴入 N₃-PEG溶液中，且將反應混合物在 37°C 下攪拌 4天。將反應瓶用氬氣及真空吹掃。所有反應均在氬氣氛圍中進行。反應後，使混合物沈澱至過量乙醚中。將沈澱物重新溶解在甲醇中且再次沈澱至冷乙醚中。接著過濾，且真空乾燥後得到白色粉末。對於 PEG-PLL(TFA)中 TFA基團之脫保護，進行下一步。

【0257】使N₃-PEG-PLL (500 mg)溶解在甲醇(60 mL)中，且在攪拌下將1N NaOH (6 mL)滴入聚合物溶液中。將混合物在攪拌下在37℃下維持1天。將反應混合物對10 mM HEPES及蒸餾水滲析4次。凍乾後獲得白色N₃-PEG-PLL粉末。

【0258】(c)(甲氧基或)疊氮基-聚(乙二醇)-b-聚(L-離胺酸/菸鹼醯胺/巰基丙醯胺)(N₃-PEG-PLL(Nic/SH))之合成：在此步驟中，將組織特異性佐劑部分(AM，見圖1)附接至本揭示案之陽離子載劑單元之WP-CC組分。用於陽離子載劑單元中之組織特異性佐劑部分(AM)為菸鹼醯胺(維生素B3)。此步驟將產生圖1中描繪之陽離子載劑單元之WP-CC-AM組分。

【0259】疊氮基-聚(乙二醇)-b-聚(L-離胺酸/菸鹼醯胺/巰基丙醯胺)(N₃-PEG-PLL(Nic/SH))係在EDC/NHS之存在下藉由N₃-PEG-PLL及菸鹼酸之化學修飾來合成。將N₃-PEG-PLL (372 mg，25.8 μmol)及菸鹼酸(556.7 mg，相對於PEG-PLL之NH₂ 1.02當量)分別溶解在去離子水與甲醇之混合物(1:1)中。將EDC·HCl (556.7 mg，相對於N₃-PEG-PLL之NH₂ 1.5當量)添加至菸鹼酸溶液中，且將NHS (334.2 mg，相對於PEG-PLL之NH₂ 1.5當量)逐步添加至混合物中。

【0260】將反應混合物添加至N₃-PEG-PLL溶液中。在攪拌下將反應混合物在37℃下維持16小時。16小時後，將3,3'-二硫代二丙酸(36.8 mg，0.1當量)溶解在甲醇中，

將EDC·HCl (40.3 mg, 0.15當量)及NHS (24.2 mg, 0.15當量)各自溶解在去離子水中。接著,將NHS及EDC·HCl依次添加至3,3'-二硫代二丙酸溶液中。在添加粗N₃-PEG-PLL(Nic)溶液後,將混合物溶液在37°C下攪拌4小時。

【0261】為進行純化,將混合物對甲醇滲析2小時,添加DL-二硫蘇糖醇(DTT, 40.6 mg, 0.15當量),接著活化30分鐘。

【0262】為移除DTT,將混合物依次用甲醇、含50%甲醇之去離子水、去離子水滲析。

【0263】(d)苯丙胺酸-聚(乙二醇)-b-聚(L-離胺酸/菸鹼醯胺/巰基丙醯胺)(Phe-PEG-PLL(Nic/SH))之合成:在此步驟中,組織特異性靶向部分(TM)附接至上一步合成之WP-CC-AM組分。藉由步驟(a)中產生之中間物與步驟(c)之產物之反應產生TM組分(苯丙胺酸)。

【0264】為靶向血管中之腦內皮組織,藉由N₃-PEG-PLL(Nic/SH)與炔修飾之酪胺酸在銅催化劑之存在下的點擊反應引入苯丙胺酸,作為LAT1靶向胺基酸。簡而言之,將N₃-PEG-PLL(Nic/SH) (130 mg, 6.5 μmol)及炔修飾之苯丙胺酸(5.7 mg, 4.0當量)溶解在去離子水(或50 mM磷酸鈉緩衝液)中。接著,使CuSO₄·H₂O (0.4 mg, 25 mol%)及參(3-羥丙基三唑基甲基)胺(THPTA, 3.4 mg, 1.2當量)溶解在去離子水中且添加至N₃-PEG-PLL(Nic/SH)溶液中。接著,將抗壞血酸鈉(3.2 mg, 2.5當量)添加至混合物溶液中。將反應混合物在室溫下在攪拌下維持16小時。

反應後，將混合物轉移至滲析膜(MWCO = 7,000)且用去離子水滲析1天。凍乾後獲得最終產物。

【0265】(e)聚離子復合物(PIC)微胞製備-一旦如上所述產生本揭示案之陽離子載劑單元，即可產生微胞。本實例中描述之微胞包含與反義寡核苷酸有效載荷組合之陽離子載劑單元。

【0266】藉由將 MeO-或 Phe-PEG-PLL(Nic)及 miRNA 混合來製備奈米尺寸之 PIC 微胞。使 PEG-PLL(Nic)溶解在 HEPES 緩衝液(10 mM)中，濃度為 0.5 mg/mL。接著將無 RNA 酶之水中的 miRNA 溶液(22.5 μ M)與聚合物溶液以 2:1 (v/v) miRNA 抑制劑(SEQ ID NO: 28) (485 ASO-001)與聚合物之比率混合。

【0267】聚合物與抗 miRNA 之混合比藉由優化微胞形成條件來確定，亦即聚合物中之胺(本揭示案之載劑)與抗 miRNA (有效載荷)中之磷酸酯之間的比率。將聚合物(載劑)與抗 miRNA (有效載荷)之混合物藉由多渦旋以 3000 rpm 劇烈混合 90 秒，且保持在室溫下 30 分鐘以穩定微胞。

【0268】微胞(10 μ M 抗 miRNA 濃度)在使用前儲存在 4 $^{\circ}$ C 下。MeO-微胞或 Phe-微胞使用相同方法製備，且不同量之含 Phe 之微胞(25%~75%)藉由在微胞製備過程中混合兩種聚合物來製備。

實例2：材料及方法

【0269】除非另有規定，否則以下描述之實例使用一

或多種以下材料及方法：

C57BL/6J 中活體內毛髮生長之分析

【0270】C57BL/6J小鼠在6週齡時自DBL有限公司動物實驗室獲得，且允許其適應新環境一週。為觀測同步之休止期，使用電動剪刀自每隻小鼠身上移除毛髮，且在休止期中用脫毛膏自背部剃毛。除非另有指示，否則肌肉內(IM)注射媒劑對照物(PBS)或兩次(PD PD0及PD7)肌肉內(IM)注射 miR-485 抑制劑 -485 ASO-001 (0.3 mpk 及 0.6 mpk)。藉由數位顯微照片監測及記錄皮膚色素沉著之外觀及毛髮生長，其中實驗者對處理條件不知情。基於色素沉著水準及毛幹密度，亦分配進展0至6之值，其中0指示毛髮未生長(及無色素沉著)，且較高之數字對應於較深之皮膚及較大之密集毛髮生長區域。評分係盲法進行。代表不同評分之圖像以毛髮再生量化量表(0-6)呈現，其中等級0= 皮膚粉紅色，無色素沉著；等級1= <30%皮膚區域顯示變黑，但無可見毛髮；等級2= 30%-70%皮膚區域顯示變黑，無可見毛髮；等級3= >70%皮膚區域顯示變黑，或30%毛髮可見；等級4= >70%皮膚區域顯示變黑，且30%-70%毛髮可見；等級5= >70%皮膚區域顯示變黑，且>70%毛髮可見；及等級6= >90%皮膚區域顯示變黑，>90%及毛髮可見。

組織染色、量測皮膚及毛囊之組織結構

【0271】在PD10及PD16將所有組之背部皮膚固定在4% PFA中且用蘇木精及伊紅(hematoxylin and eosin, H&E)染色評估。計算真皮及皮下組織中HF之數量(橫截面)。自可見顯微鏡視野(3個視野)獲取真皮及皮下組織之厚度，至少進行7次量測。毛囊長度及毛球直徑係藉由用Motic images plus 2.0 ML分析圖像自背部皮膚之縱向及橫向截面量測。

即時PCR

【0272】使用小型及大型RNA分離套組(Macherey Nagel, Dren)分離總RNA。使用核酸量化系統(Nanodrop. Thermo Scientific 公司)量測所收集之RNA的濃度。使用miScript II RT套組(Qiagen, Hilden, Germany)合成cDNA。為進行分析，在CFX連接系統(Bio-Rad)上使用TOPREAL™ qPCR 2X PreMIX (Enzynomics, Korea)藉由TaqMan miRNA分析進行miR-485-3p之表現。個別cDNA之即時PCR量測使用Taq man探針進行，以藉由Bio-Rad即時PCR系統量測雙鏈DNA之形成。引子如下：

【0273】探針：FAM-CGAGGTCGACTTCCTAGA-NFQ.miR-485 3p正向：

5'CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA-3'。藉由 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 分析相對基因表現。

西方墨點法

【0274】在脫毛後第10天及第16天收穫皮膚樣品。小鼠皮膚組織溶解產物藉由在含有蛋白酶/磷酸酶抑制劑混合物(Cell Signaling Technology, 目錄號5872)之冰冷RIPA緩衝液(iNtRON Biotechnology)中均質化來製備。藉由在4℃下以13,000 rpm離心15分鐘來移除組織碎片, 且收集上清液。溶解產物在含有5% β -巰基乙醇(Fisher Scientific)之1 x SDS (Fisher Scientific)負載緩衝液中煮沸5分鐘。接著在PAGE 8%、12% Bis-Tris凝膠(Invitrogen)上在MOPS SDS電泳緩衝液(Invitrogen)中樣品進行SDS-PAGE且轉移至PVDF膜且與以下初級抗體一起培育: 兔抗CD36 (Abcam, 目錄號ab80080, 1:1000)、兔抗VEGF-A (Abcam, 目錄號ab51745, 1:1000)、兔抗Wnt3a (IBL, 目錄號11088, 1:1000)、兔抗 β -肌動蛋白 (Abcam, 目錄號ab1997, 1:100)、抗肌動蛋白(Santa Cruz, 目錄號sc-47778)。使用增強之化學發光系統使結果可視化, 且藉由光密度分析(Image J軟體, NIH)進行量化。所有實驗至少獨立進行三次。

免疫螢光染色

【0275】將C57BL/6J小鼠皮膚組織包埋在冷凍組織包埋劑(OTC化合物, Sakura Finetek Japan有限公司)中, 且用冷凍切片生產系統(Cryostat, Leica Camera AG)製備冷凍切片載玻片。用4% PFA固定15分鐘後, 將組織用PBS洗滌, 且使用藉由添加5%脫脂乳、1%驢血清及0.1%

TritonX-100至PBS而獲得之阻斷溶液使之反應1小時。接著，使用藉由將CD36抗體溶液(Invitrogen目錄號PA1-16813)用阻斷溶液稀釋50倍而獲得之初級抗體溶液，使組織在室溫下反應1小時或在4℃下反應隔夜。用PBS洗滌3次後，使用藉由將FITC標記之抗小鼠IgG抗體(Invitrogen公司)分別用阻斷溶液稀釋200倍而獲得之二級抗體溶液，使組織在室溫下反應1小時。與DAPI溶液反應後，將組織用PBS洗滌3次，且用抗褪色試劑(Prolong Gold抗褪色試劑)及蓋玻片密封。使用螢光顯微鏡(Olympus公司)觀測組織。

實例3. 分析miR-485抑制劑之劑量依賴性毛髮生長促進作用

【0276】為開始評估miR-485抑制劑(485 ASO-001)(如實例1中所示來製備)對脫毛小鼠之毛髮再生作用，購買六週齡C57BL/6J小鼠且使其適應新環境一週。為觀測同步之休止期，使用脫毛膏自每隻小鼠身上移除毛髮。接著將動物分成五組(n = 6)以評估miR-485抑制劑(485 ASO-001)之毛髮再生作用。藉由一次性肌肉內注射投與陰性對照物(PBS)及485 ASO-001 (0.1 mpk、0.3 mpk及0.6 mpk)。脫毛後(pd.)在處理後第5天(圖2A)、第7天(圖2B)、第9天(圖2C)、第12天(圖2D)、第14天(圖2E)及第16天(圖2F)拍攝小鼠之數位照片，且經由形態觀測分析毛髮生長區域，評分為0-6 (圖2G)。

【0277】如圖2G所示，觀測到與經PBS處理之對照組相比，經485 ASO-001 (0.3 mpk及0.6 mpk)處理之小鼠組第7天及第12天之毛髮生長評分顯著增加。此外，與經485 ASO-001 (0.1 mpk及0.3 mpk)處理之小鼠組相比，經485 ASO-001 (0.6 mpk)處理之小鼠組顯示出更多之毛髮再生(圖2G)。

【0278】此外，將C57BL/6J小鼠分為五組(n = 5)以評估miR-485抑制劑(485 ASO-001)之毛髮再生作用。藉由兩次(PD0及PD7)肌肉內注射投與陰性對照物(PBS)及陽性對照物(2%米諾地爾)及485 ASO-001 (0.3 mpk及0.6 mpk)。脫毛後(pd.)在處理後第5天(圖4D)、第7天(圖4E)、第10天(圖4F)、第12天(圖4G)、第14天(圖4H)及第16天(圖4I)拍攝小鼠之數位照片，且經由形態觀測分析毛髮生長區域，評分為0-6 (圖4J)。觀測到與經PBS處理之對照組及陽性對照米諾地爾處理組相比，在經485 ASO-001兩次重複肌肉內注射(0.3 mpk及0.6 mpk)處理之小鼠組中第7天、第10天、第12天、第14天及第16天之毛髮生長評分顯著增加(圖4J)。此外，與經485 ASO-001 (0.3 mpk兩次)處理之小鼠組相比，經485 ASO-001 (0.6 mpk兩次)處理之小鼠組顯示出更多之毛髮再生(圖4J)。

【0279】上述結果證明miR-485抑制劑(485 ASO-001)在誘導毛髮生長方面之劑量依賴性功效。例如，結果顯示miR-485抑制劑(485 ASO-001)增強休止期小鼠之生長期毛髮生長的早期指示(參見例如圖4D-4J)。詳言之，與經PBS

處理之對照組及米諾地爾處理組相比，miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk兩次)處理之小鼠組顯示出強烈活化之毛髮生長且維持生長期毛髮生長(圖4D-4J)。此等結果表明miR-485抑制劑(485 ASO-001)活化自休止期至生長期之轉變，從而促進毛髮生長。

實例4：miR-485抑制劑對毛髮密度之劑量依賴性作用分析

【0280】為進一步評估如實例1中所示製備之miR-485抑制劑(485 ASO-001)對用PBS及如實例1中所述之485 ASO-001處理之脫毛小鼠的毛髮再生作用，將用485 ASO-001 (0.1 mpk、0.3 mpk、0.6 mpk)處理後之毛髮密度與經PBS處理之對照組進行比較。在第12天(圖3A)及第16天(圖3B)使用Kong, Bom-Viewer Plus軟體(Bomtech Electronics有限公司，Seoul, Korea)在肩胛間皮膚之相同區域(3.6 mm²)上獲取每隻小鼠之皮膚鏡圖像。藉由分析圖像(×200放大率；實際面積，3.6 mm²)評估毛髮密度。

【0281】如圖3C所示，與經PBS處理之對照組相比，在經485 ASO-001 (0.6 mpk)處理之小鼠組中，在第12天及第16天觀測到毛髮密度顯著增加。與經485 ASO-001 (0.1 mpk)及485 ASO-001 (0.3 mpk)處理之小鼠組相比，經485 ASO-001 (0.6 mpk)處理之小鼠組顯示出增加之毛髮密度。

【0282】上述結果證明miR-485抑制劑(485 ASO-001)增加毛髮密度之劑量依賴性功效。

實例5：miR-485抑制劑對毛髮長度之劑量依賴性作用分析

【0283】為進一步評估如實例1中所示製備之miR-485抑制劑(485 ASO-001)對用PBS及如實例1中所述之485 ASO-001處理之脫毛小鼠的毛髮再生作用，將用485 ASO-001 (0.1 mpk、0.3 mpk、0.6 mpk)處理後之毛髮長度與經PBS處理之對照組進行比較。在第16天(圖4A)及第21天(圖4B)，自背部脫毛之背肩胛間區域中之代表性區域拔出毛髮，且計算每隻小鼠30根毛髮之平均毛髮長度。

【0284】如圖4C所示，與經PBS處理之對照組相比，在經485 ASO-001 (0.3 mpk及0.6 mpk)處理之小鼠組中，在第16天觀測到毛髮長度顯著增加。

【0285】上述結果證明miR-485抑制劑(485 ASO-001)增加毛髮長度之劑量依賴性功效。

實例6：在皮膚發育及毛囊循環過程中miR-485-3p之表現

【0286】為測試miR-485抑制劑(485 ASO-001)對miR-485-3p (FW7_模擬物)之表現水準的影響，在pd10 (圖5A)及pd16 (圖5B)獲得早期生長期至晚期生長期之鼠類毛髮週期的組織樣品。與早期生長期相比，在成年毛髮週期之晚期生長期，miRNA表現降低。與經(485 ASO-001) (0.3 mpk兩次)及PBS處理之對照組相比，在pd10 ($p=0.01$)及pd16 ($p=0.03$)觀測到經miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk兩次)處理之小鼠組的miRNA表現顯著降低。上述結果證明miR-485抑制劑(485 ASO-001)對miR-485-3p表現之劑量

依賴性下調。

實例7：評估miR-485抑制劑對皮膚及毛囊密度之劑量依賴性作用

【0287】藉由H&E染色進一步評估miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.3 mpk及0.6 mpk)對毛髮生長之作用(圖6A、圖6B、圖7A、圖7B)。在10 pd觀測到真皮($p=0.03$) (圖6C)、皮下組織($p=0.0001$) (圖6D)、毛囊直徑($p=0.001$) (圖6E)、毛球直徑($p=0.01$) (圖6F)、真皮中之毛囊密度($p < 0.0009$) (圖6G)及皮下組織中之毛囊密度($p < 0.0009$) (圖6H)顯著增加。與經PBS處理之對照處理組相比，觀測到經485 ASO-001 (0.6 mpk兩次)處理之小鼠組中皮下組織($p=0.0003$) (圖7C)、毛囊直徑($p=0.008$) (圖7F)、真皮中之毛囊密度($p < 0.0001$) (圖7G)及皮下組織中之毛囊密度($p < 0.0001$) (圖7H)顯著增加。經485 ASO-001 (0.6 mpk)處理之小鼠組顯示與經米諾地爾處理之小鼠組相比，pd第10天皮下組織中之毛囊數目增加($p < 0.001$) (圖6H)及pd第16天真皮中之毛囊數目增加($p=0.004$) (圖7G)。與對照物相比，用miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.3 mpk及0.6 mpk)處理($p < 0.001$)以劑量依賴性方式增加毛囊數目(圖6G、圖6H、圖7G、圖7H)。儘管如此，與陰性對照物相比，米諾地爾處理亦顯著($p < 0.01$)增加毛囊數目，此增加低於使用miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk)處理(圖6G、圖6H)。與對照組相比，miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6

mpk)及米諾地爾處理顯著增加真皮厚度($p < 0.03$ 及 $p < 0.04$)，但米諾地爾處理對真皮及皮下組織厚度之增加低於使用miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk) ($p < 0.001$)處理(圖6C、圖6D)。與對照組及米諾地爾處理組相比，pd第10天miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk)處理顯著增加毛球直徑($p < 0.01$)。在pd第16天，與對照物相比，用miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.3 mpk及0.6 mpk)處理($p < 0.001$ 及0.0003)以劑量依賴性方式增加皮下組織之厚度。

實例8：miR-485抑制劑增加Wnt及 β -鏈蛋白表現

【0288】藉由西方墨點法評估miR-485抑制劑(485 ASO-001)對Wnt3a及 β -鏈蛋白表現之影響。Wnt/ β -鏈蛋白信號傳導明確參與毛囊形態發生、再生及生長。由於能夠活化真皮乳頭(DP)細胞中之Wnt/ β -鏈蛋白信號傳導路徑，故Wnt3a誘導毛髮生長。 β -鏈蛋白在真皮乳頭中表現，且促進生長期之誘導及持續時間，以及角質細胞之調節及分化。miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk)上調Wnt3a(圖9B)及 β -鏈蛋白(圖9C)之表現。 β -鏈蛋白與皮膚及毛囊發育有關，係Wnt信號傳導路徑中之不可或缺之分子。上述結果證明miR-485抑制劑(485 ASO-001)(0.6 mpk)顯著促進毛幹伸長及分化。

實例9：miR-485抑制劑增加CD36及VEGF-A蛋白表現

【0289】藉由西方墨點法評估miR-485抑制劑-485

ASO-001對CD36及血管內皮生長因子-A (VEGF-A)蛋白表現之影響。與PBS對照組相比，用miR-485抑制劑-485 ASO-001 (0.6 mpk)處理上調CD36 (圖8B)及VEGF-A (圖8C)之蛋白質表現水準。VEGF-A係最有效及特異性之血管生長因子，以及生理性及病理性血管生成(毛細血管形成)中之關鍵調控因子。VEGF-A水準經由轉錄控制及mRNA穩定性進行調控。

【0290】鼠類毛囊之間質由稱為真皮鞘(DS)之毛囊內襯平滑肌構成。DS調節與毛髮循環相關之毛囊中之毛細血管。進行免疫螢光實驗以評估miR-485抑制劑(485 ASO-001) (0.6 mpk)對DS影響之血管生成中之CD36表現的影響。免疫螢光結果(圖10B)顯示在經miR-485抑制劑(485 ASO-001)處理之毛囊中DS中表現CD36之細胞增加。此可能與血管生成有關，特別是在生長期毛囊處。

【0291】應當理解，實施方式，而不是發明內容及摘要部分，意欲用於解釋申請專利範圍。發明內容及摘要部分可闡述發明人所考慮之本揭示案之一或多個但非所有示例性態樣，因此，不意欲以任何方式限制本揭示案及所附申請專利範圍。

【0292】上面已藉助於功能建構塊描述本揭示案，該等功能建構塊說明特定功能之實現及其關係。為便於描述，本文已任意定義此等功能建構塊之邊界。只要適當地執行指定之功能及其關係，就可定義替代邊界。

【0293】特定態樣之上述描述將如此充分地揭露本揭示案之一般性質，以使得其他人可藉由應用所屬領域技術範圍內之知識，在不脫離本揭示案之一般概念下，無需過多之實驗，即可容易針對各種應用修改及/或改編此類特定態樣。因此，基於本文中呈現之教示及指導，此類改編及修改意欲處於所揭示態樣之等同物之含義及範圍內。應當理解，本文中之片語或術語係為了描述之目的而非限制，以使得本說明書之術語或片語將由所屬領域之技術人員根據教示及指導來解釋。

【0294】本揭示案之廣度及範疇不應受上述示例性態樣中之任一者限制，而應僅根據以下申請專利範圍及其等同物來界定。

【0295】可在本申請案中通篇引用之所有引用之參考文獻(包括參考文獻、專利、專利申請案及網站)之內容確切地以引用之方式整體併入本文中以用於任何目地，其中引用之參考文獻亦如此。

【序列表】

<110> 南韓商生物歐賽加有限責任公司(BIORCHESTRA Co., Ltd)

<120> miRNA-485抑制劑用於誘導毛髮生長之用途

<140> TW 110148527

<141> 2021-12-23

<150> US 63/130,121

<151> 2020-12-23

<160> 80

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 1

gucauacacg gcucuccucu cu 22

<210> 2

<211> 7

<212> RNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 2

uguauaga 7

<210> 3

<211> 8

<212> RNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 3

guguauaga	8
<210> 4	
<211> 9	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成	
<400> 4	
cguguauaga	9
<210> 5	
<211> 10	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成	
<400> 5	
ccguguauaga	10
<210> 6	
<211> 11	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成	
<400> 6	
gccguguau g a	11
<210> 7	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成	
<400> 7	
agccguguau g a	12

<210> 8
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 8
gagccgugua uga 13

<210> 9
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 9
agagccgugu auga 14

<210> 10
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 10
gagagccgug uauga 15

<210> 11
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 11
ggagagccgu guauga 16

<210> 12

<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 12
aggagagccg uguauga 17

<210> 13
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 13
gaggagagcc guguauga 18

<210> 14
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 14
agaggagagc cguguauga 19

<210> 15
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 15
gagaggagag ccguguauga 20

<210> 16
<211> 8
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 16

uguau^gac 8

<210> 17

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 17

guguau^gac 9

<210> 18

<211> 10

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 18

cguguau^gac 10

<210> 19

<211> 11

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 19

ccguguau^ga c 11

<210> 20

<211> 12

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 20
gccguguau g ac 12

<210> 21
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 21
agccguguau g ac 13

<210> 22
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 22
gagccgugua ug ac 14

<210> 23
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 23
agagccgugu aug ac 15

<210> 24
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 24
gagagccgug uaugac 16

<210> 25
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 25
ggagagccgu guaugac 17

<210> 26
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 26
aggagagccg uguaugac 18

<210> 27
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 27
gaggagagcc gugaugac 19

<210> 28
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 28

agaggagagc cguguaugac 20

<210> 29
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 29
gagaggagag ccguguauga c 21

<210> 30
<211> 7
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 30
tgtatga 7

<210> 31
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 31

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

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

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

Ala Thr Val Ala Phe Cys Asp Ala Gln Ser Thr Gln Glu Ile His Glu

50					55					60					
Lys	Val	Leu	Asn	Glu	Ala	Val	Gly	Ala	Leu	Met	Tyr	His	Thr	Ile	Thr
65					70					75					80
Leu	Thr	Arg	Glu	Asp	Leu	Glu	Lys	Phe	Lys	Ala	Leu	Arg	Ile	Ile	Val
			85						90					95	
Arg	Ile	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Asn	Ile	Asp	Ile	Lys	Ser	Ala	Gly	Asp
			100					105						110	
Leu	Gly	Ile	Ala	Val	Cys	Asn	Val	Pro	Ala	Ala	Ser	Val	Glu	Glu	Thr
		115					120					125			
Ala	Asp	Ser	Thr	Leu	Cys	His	Ile	Leu	Asn	Leu	Tyr	Arg	Arg	Ala	Thr
	130					135					140				
Trp	Leu	His	Gln	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Thr	Arg	Val	Gln	Ser	Val	Glu
145					150					155					160
Gln	Ile	Arg	Glu	Val	Ala	Ser	Gly	Ala	Ala	Arg	Ile	Arg	Gly	Glu	Thr
			165						170					175	
Leu	Gly	Ile	Ile	Gly	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Gln	Ala	Val	Ala	Leu	Arg
		180					185						190		
Ala	Lys	Ala	Phe	Gly	Phe	Asn	Val	Leu	Phe	Tyr	Asp	Pro	Tyr	Leu	Ser
		195					200					205			
Asp	Gly	Val	Glu	Arg	Ala	Leu	Gly	Leu	Gln	Arg	Val	Ser	Thr	Leu	Gln
	210					215					220				
Asp	Leu	Leu	Phe	His	Ser	Asp	Cys	Val	Thr	Leu	His	Cys	Gly	Leu	Asn
225					230					235					240
Glu	His	Asn	His	His	Leu	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	Val	Lys	Gln	Met	Arg
			245						250					255	

Gln Gly Ala Phe Leu Val Asn Thr Ala Arg Gly Gly Leu Val Asp Glu
260 265 270

Lys Ala Leu Ala Gln Ala Leu Lys Glu Gly Arg Ile Arg Gly Ala Ala
275 280 285

Leu Asp Val His Glu Ser Glu Pro Phe Ser Phe Ser Gln Gly Pro Leu
290 295 300

Lys Asp Ala Pro Asn Leu Ile Cys Thr Pro His Ala Ala Trp Tyr Ser
305 310 315 320

Glu Gln Ala Ser Ile Glu Met Arg Glu Glu Ala Ala Arg Glu Ile Arg
325 330 335

Arg Ala Ile Thr Gly Arg Ile Pro Asp Ser Leu Lys Asn Cys Val Asn
340 345 350

Lys Asp His Leu Thr Ala Ala Thr His Trp Ala Ser Met Asp Pro Ala
355 360 365

Val Val His Pro Glu Leu Asn Gly Ala Ala Tyr Arg Tyr Pro Pro Gly
370 375 380

Val Val Gly Val Ala Pro Thr Gly Ile Pro Ala Ala Val Glu Gly Ile
385 390 395 400

Val Pro Ser Ala Met Ser Leu Ser His Gly Leu Pro Pro Val Ala His
405 410 415

Pro Pro His Ala Pro Ser Pro Gly Gln Thr Val Lys Pro Glu Ala Asp
420 425 430

Arg Asp His Ala Ser Asp Gln Leu
435 440

<210> 32

<211> 429
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 32

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

Pro Leu Val Ala Leu Leu Asp Gly Arg Asp Cys Thr Val Glu Met Pro
20 25 30

Ile Leu Lys Asp Val Ala Thr Val Ala Phe Cys Asp Ala Gln Ser Thr
35 40 45

Gln Glu Ile His Glu Lys Val Leu Asn Glu Ala Val Gly Ala Leu Met
50 55 60

Tyr His Thr Ile Thr Leu Thr Arg Glu Asp Leu Glu Lys Phe Lys Ala
65 70 75 80

Leu Arg Ile Ile Val Arg Ile Gly Ser Gly Phe Asp Asn Ile Asp Ile
85 90 95

Lys Ser Ala Gly Asp Leu Gly Ile Ala Val Cys Asn Val Pro Ala Ala
100 105 110

Ser Val Glu Glu Thr Ala Asp Ser Thr Leu Cys His Ile Leu Asn Leu
115 120 125

Tyr Arg Arg Ala Thr Trp Leu His Gln Ala Leu Arg Glu Gly Thr Arg
130 135 140

Val Gln Ser Val Glu Gln Ile Arg Glu Val Ala Ser Gly Ala Ala Arg
145 150 155 160

Ile Arg Gly Glu Thr Leu Gly Ile Ile Gly Leu Gly Arg Val Gly Gln

165170175

Ala Val Ala Leu Arg Ala Lys Ala Phe Gly Phe Asn Val Leu Phe Tyr
180185190

Asp Pro Tyr Leu Ser Asp Gly Val Glu Arg Ala Leu Gly Leu Gln Arg
195200205

Val Ser Thr Leu Gln Asp Leu Leu Phe His Ser Asp Cys Val Thr Leu
210215220

His Cys Gly Leu Asn Glu His Asn His His Leu Ile Asn Asp Phe Thr
225230235240

Val Lys Gln Met Arg Gln Gly Ala Phe Leu Val Asn Thr Ala Arg Gly
245250255

Gly Leu Val Asp Glu Lys Ala Leu Ala Gln Ala Leu Lys Glu Gly Arg
260265270

Ile Arg Gly Ala Ala Leu Asp Val His Glu Ser Glu Pro Phe Ser Phe
275280285

Ser Gln Gly Pro Leu Lys Asp Ala Pro Asn Leu Ile Cys Thr Pro His
290295300

Ala Ala Trp Tyr Ser Glu Gln Ala Ser Ile Glu Met Arg Glu Glu Ala
305310315320

Ala Arg Glu Ile Arg Arg Ala Ile Thr Gly Arg Ile Pro Asp Ser Leu
325330335

Lys Asn Cys Val Asn Lys Asp His Leu Thr Ala Ala Thr His Trp Ala
340345350

Ser Met Asp Pro Ala Val Val His Pro Glu Leu Asn Gly Ala Ala Tyr
355360365

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

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

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

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

<210> 33
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 33
agaggcuggc cgugaugaau uc 22

<210> 34
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 34
agucauacac ggcucuccuc uc 22

<210> 35
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 35

gagccgtgta tga

13

<210> 36
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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

100105110

Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val
115120125

Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Ala
130135140

Ala Ser His Ile Tyr Gln Asn Gln Phe Val Gln Met Ile Leu Asn Ser
145150155160

Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg
165170175

Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr
180185190

Pro Val Thr Thr Thr Val Gly Leu Phe Tyr Pro Tyr Asn Asn Thr Ala
195200205

Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn Ile Ser Lys Val
210215220

Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe
225230235240

Glu Ser Asp Val Asn Leu Lys Gly Ile Pro Val Tyr Arg Phe Val Leu
245250255

Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Pro Val Glu Asn Pro Asp Asn Tyr Cys
260265270

Phe Cys Thr Glu Lys Ile Ile Ser Lys Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val
275280285

Leu Asp Ile Ser Lys Cys Lys Glu Gly Arg Pro Val Tyr Ile Ser Leu
290295300

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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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				
					245					250					255				
Ile					Ile					Ser					Lys				
					260					265					270				
Cys					Lys					Glu					Gly				
					275					280					285				
Ala					Ser					Pro					Asp				
					290					295					300				
Glu					Glu					His					Arg				
					305					310					315				
Leu					Gln					Phe					Ala				
					325					330					335				
Glu					Lys					Ile					Gln				
					340					345					350				
Ile					Leu					Thr					Gly				
					355					360					365				
Met					Phe					Arg					Ser				
					370					375					380				
Glu					Met					Ile					Leu				
					385					390					395				
Ile					Ser					Tyr					Cys				
					405					410									

<210> 40
<211> 798
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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 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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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

115120125

Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu
130135140

Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu
145150155160

Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile
165170175

Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys
180185190

Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser
195200205

Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys
210215220

Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys
225230235240

Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr
245250255

Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Leu Phe Leu
260265270

<210> 42
<211> 803
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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
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
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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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

165170175

His Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn
180185190

Ser Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln
195200205

Arg Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp
210215220

Pro Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys
225230235240

Cys Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu
245250255

Gln Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro
260265270

Asn Leu Phe Leu
275

<210> 46
<211> 138
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 46

Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro
151015

Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn
202530

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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<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

202241459

305 310 315 320

Ser Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala Glu Leu Asn
325 330 335

Lys His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp Glu Ala Asp
340 345 350

Lys Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu Gln Phe Ser
355 360 365

Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe
370 375 380

Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly
385 390 395 400

Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe
405 410 415

Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser
420 425 430

Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His
435 440 445

Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro
450 455 460

Gly Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His
465 470 475 480

Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val Arg Ser Arg
485 490 495

Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu
500 505 510

Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg Glu Tyr Glu
515 520 525

Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln Arg Gln Lys
530 535 540

Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp
545 550 555 560

Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe Gly Glu Ile
565 570 575

Glu Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp Ser Tyr Gly Phe
580 585 590

Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly
595 600 605

Tyr Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu Tyr Phe Cys
610 615 620

Gly Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Ser Asn
625 630 635 640

Ser Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr Asp Ser Leu
645 650 655

Asp Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg
660 665 670

<210> 49
<211> 7
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 49

ucauaca	7
<210> 50 <211> 7 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial Sequence) <220> <223> 合成 <400> 50 gaggcug	7
<210> 51 <211> 8 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial Sequence) <220> <223> 合成 <400> 51 gtgtatga	8
<210> 52 <211> 9 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial Sequence) <220> <223> 合成 <400> 52 cgtgtatga	9
<210> 53 <211> 10 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial Sequence) <220> <223> 合成 <400> 53 ccgtgtatga	10

<210> 54
<211> 11
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 54
gccgtgtatg a 11

<210> 55
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 55
agccgtgtat ga 12

<210> 56
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 56
agagccgtgt atga 14

<210> 57
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 57
gagagccgtg tatga 15

<210> 58

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 58
ggagagccgt gtatga 16

<210> 59
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 59
aggagagccg tgtatga 17

<210> 60
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 60
gaggagagcc gtgtatga 18

<210> 61
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 61
gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 62
<211> 20
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 62

gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 63

<211> 8

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 63

tgtatgac 8

<210> 64

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 64

gtgtatgac 9

<210> 65

<211> 10

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 65

cgtgtatgac 10

<210> 66

<211> 11

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 66
ccgtgtatga c 11

<210> 67
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 67
gccgtgtatg ac 12

<210> 68
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 68
agccgtgtat gac 13

<210> 69
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 69
gagccgtgta tgac 14

<210> 70
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 70
agagccgtgt atgac 15

<210> 71
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 71
gagagccgtg tatgac 16

<210> 72
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 72
ggagagccgt gtatgac 17

<210> 73
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 73
aggagagccg tgtatgac 18

<210> 74
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 74

gaggagagcc gtgtatgac 19

<210> 75
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 75
agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 76
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 76
gagaggagag ccgtgtatga c 21

<210> 77
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 77
agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 78
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 78

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

1				5					10					15			
Ala	Pro	Gln	Gly	Arg	Ala	Ile	Pro	Arg	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Pro	Pro		
			20					25					30				
Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Gln	Pro	His	Pro	Arg	Val	Asn	Phe	Cys	Pro		
		35					40					45					
Leu	Pro	Ser	Glu	Gln	Cys	Tyr	Gln	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Glu	Asp	Arg		
	50					55					60						
Gly	Pro	Ala	Trp	Val	Gly	Ser	His	Gly	Val	Leu	Gln	His	Thr	Gln	Gly		
65					70					75					80		
Leu	Pro	Ala	Asp	Arg	Gly	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	Ser	Leu	Asp	Ala	Glu		
			85					90						95			
Ile	Asp	Leu	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu	Asn	Gly	Gly	Arg	Gly		
		100						105					110				
His	Ala	Ser	Arg	Arg	Pro	Asp	Arg	Gln	Ala	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Pro		
		115					120					125					
Pro	Ala	Tyr	Arg	Thr	Gly	Ser	Leu	Lys	Pro	Asn	Pro	Ala	Ser	Pro	Leu		
	130					135					140						
Pro	Ala	Ser	Pro	Tyr	Gly	Gly	Pro	Thr	Pro	Ala	Ser	Tyr	Thr	Thr	Ala		
145					150					155					160		
Ser	Thr	Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Phe	Pro	Val	Gln	Val	Lys	Val	Ala	Gln		
			165					170						175			
Pro	Val	Arg	Gly	Cys	Gly	Pro	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Ser	Gln	Ala	Ser		
		180						185					190				
Gly	Pro	Leu	Pro	Gly	Pro	His	Phe	Pro	Leu	Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Val		
	195					200						205					

Trp	Gly	Pro	Gly	Tyr	Arg	Ser	Gln	Arg	Glu	Pro	Gly	Pro	Gly	Ala	Lys
210					215					220					
Glu	Glu	Ala	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Pro	Ala	Gly	Arg	Gly	Arg	Gly	Gly
225					230					235				240	
Glu	His	Gly	Pro	Gln	Val	Pro	Leu	Ser	Gln	Pro	Pro	Glu	Asp	Glu	Leu
245					250					255					
Asp	Arg	Leu	Thr	Lys	Lys	Leu	Val	His	Asp	Met	Asn	His	Pro	Pro	Ser
260					265					270					
Gly	Glu	Tyr	Phe	Gly	Gln	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Glu	Asp	Val	Val	Gly
275					280					285					
Asp	Gly	Ala	Gly	Val	Val	Ala	Leu	Asp	Arg	Val	Phe	His	Val	Gly	Cys
290					295					300					
Phe	Val	Cys	Ser	Thr	Cys	Arg	Ala	Gln	Leu	Arg	Gly	Gln	His	Phe	Tyr
305					310					315				320	
Ala	Val	Glu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Cys	Glu	Gly	Cys	Tyr	Val	Ala	Thr	Leu
325					330					335					
Glu	Lys	Cys	Ala	Thr	Cys	Ser	Gln	Pro	Ile	Leu	Asp	Arg	Ile	Leu	Arg
340					345					350					
Ala	Met	Gly	Lys	Ala	Tyr	His	Pro	Gly	Cys	Phe	Thr	Cys	Val	Val	Cys
355					360					365					
His	Arg	Gly	Leu	Asp	Gly	Ile	Pro	Phe	Thr	Val	Asp	Ala	Thr	Ser	Gln
370					375					380					
Ile	His	Cys	Ile	Glu	Asp	Phe	His	Arg	Lys	Phe	Ala	Pro	Arg	Cys	Ser
385					390					395				400	
Val	Cys	Gly	Gly	Ala	Ile	Met	Pro	Glu	Pro	Gly	Gln	Glu	Glu	Thr	Val

405 410 415

Arg Ile Val Ala Leu Asp Arg Ser Phe His Ile Gly Cys Tyr Lys Cys
420 425 430

Glu Glu Cys Gly Leu Leu Leu Ser Ser Glu Gly Glu Cys Gln Gly Cys
435 440 445

Tyr Pro Leu Asp Gly His Ile Leu Cys Lys Ala Cys Ser Ala Trp Arg
450 455 460

Ile Gln Glu Leu Ser Ala Thr Val Thr Thr Asp Cys
465 470 475

<210> 79
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 79

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

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

His Gly Ala Val Leu Pro Gly Pro Arg Gly Thr Gly Gly Ser Gly Ala
35 40 45

Gly Val Gly Gly Val Pro Trp Ser Thr Pro Ala His Ala Gly Ala Pro
50 55 60

Cys Arg Gln Gly Gly Pro Ser Pro Trp Lys Pro Gly Arg Arg Asp Arg
65 70 75 80

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

859095

Val Thr Ala Thr Arg Pro Thr Gly Ile
100105

<210> 80
<211> 80
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成

<400> 80

Met Ser Gly Pro Thr Trp Leu Pro Pro Lys Gln Pro Glu Pro Ala Arg
151015

Ala Pro Gln Gly Arg Ala Ile Pro Arg Gly Thr Pro Gly Pro Pro Pro
202530

Ala His Gly Ala Gly Ala Pro Cys Arg Gln Gly Gly Pro Ser Pro Trp
354045

Lys Pro Gly Arg Arg Asp Arg Leu Ala Glu Gln His Ala Gly Arg Ala
505560

Glu Trp Gly Ser Gly Ser Cys Val Thr Ala Thr Arg Pro Thr Gly Ile
65707580

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種在有需要之個體中誘導毛髮生長之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項2】一種在有需要之個體中增加毛髮密度之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項3】一種在有需要之個體中增加毛囊密度之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項4】一種在有需要之個體中增加毛幹厚度之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項5】一種在有需要之個體中增加毛髮長度之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項6】一種在有需要之個體中預防脫髮之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項7】一種在有需要之個體中減少脫髮之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485 之化合物（「miRNA抑制劑」）。

【請求項8】一種在有需要之個體中上調毛囊真皮鞘中之CD36蛋白之方法，其包括向該個體投與抑制 miR-485

之化合物(「miRNA抑制劑」)。

【請求項9】如請求項1至8中任一項之方法，其中該個體患有一或多種選自由以下組成之群的病症：大禿頭症(alopecia greata)、雄激素性禿頭症、斑禿、普遍禿頭症、退化性禿頭症(involutional alopecia)、拔毛癖、休止期脫髮、生長期脫髮、斑痕禿頭症、癍痕性脫髮、頭皮稀疏、毛幹異常、傳染性毛髮病症、遺傳性病變以及由化學療法、激素失衡、真菌感染、藥物攝入、化學毛髮處理或衰老引起之脫髮。

【請求項10】如請求項1至8中任一項之方法，其中該個體為人類。

【請求項11】如請求項1至10中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑誘導自噬及/或治療或預防發炎。

【請求項12】如請求項1至11中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑誘導吞噬作用。

【請求項13】如請求項1至12中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑抑制miR485-3p。

【請求項14】如請求項13之方法，其中該miR485-3p包含5'-gucauacacggcucuccucucu-3' (SEQ ID NO: 1)。

【請求項15】如請求項1至14中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑包括包含5'-UGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 2)之核苷酸序列且其中該miRNA抑制劑包含約6至約30個核苷酸之長度。

【請求項16】如請求項1至15中任一項之方法，其中

該 miRNA 抑制劑在該核苷酸序列之 5' 處包含至少 1 個核苷酸、至少 2 個核苷酸、至少 3 個核苷酸、至少 4 個核苷酸、至少 5 個核苷酸、至少 6 個核苷酸、至少 7 個核苷酸、至少 8 個核苷酸、至少 9 個核苷酸、至少 10 個核苷酸、至少 11 個核苷酸、至少 12 個核苷酸、至少 13 個核苷酸、至少 14 個核苷酸、至少 15 個核苷酸、至少 16 個核苷酸、至少 17 個核苷酸、至少 18 個核苷酸、至少 19 個核苷酸或至少 20 個核苷酸。

【請求項 17】如請求項 1 至 16 中任一項之方法，其中該 miRNA 抑制劑在該核苷酸序列之 3' 處包含至少 1 個核苷酸、至少 2 個核苷酸、至少 3 個核苷酸、至少 4 個核苷酸、至少 5 個核苷酸、至少 6 個核苷酸、至少 7 個核苷酸、至少 8 個核苷酸、至少 9 個核苷酸、至少 10 個核苷酸、至少 11 個核苷酸、至少 12 個核苷酸、至少 13 個核苷酸、至少 14 個核苷酸、至少 15 個核苷酸、至少 16 個核苷酸、至少 17 個核苷酸、至少 18 個核苷酸、至少 19 個核苷酸或至少 20 個核苷酸。

【請求項 18】如請求項 1 至 13 及 16 至 17 中任一項之方法，其中該 miRNA 抑制劑具有選自由以下組成之群的序列：5'-UGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 2)、5'-GUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 3)、5'-CGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 4)、5'-CCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 5)、5'-GCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 8)、5'-

AGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 9) 、 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 10) 、 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 11) 、 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 12) 、 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 13) 、 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 14) 、 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO: 15) ; 5'-UGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 16) 、 5'-GUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 17) 、 5'-CGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 18) 、 5'-CCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 19) 、 5'-GCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 20) 、 5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 21) 、 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 22) 、 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 23) 、 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 24) 、 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 25) 、 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 26) 、 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 27) 、 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 28) 或 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 29) 。

【請求項19】如請求項1至13及16至17中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑具有選自由以下組成之群的序列：5'-TGTATGA-3' (SEQ ID NO: 30)、5'-GTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 51)、5'-CGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 52)、

5'-CCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 53) 、 5'-GCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 54) 、 5'-AGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 55) 、 5'-GAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 35) 、 5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 56) 、 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 57) 、 5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 58) 、 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 59) 、 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 60) 、 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 61) 、 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO: 62) ; 5'-TGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 63) 、 5'-GTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 64) 、 5'-CGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 65) 、 5'-CCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 66) 、 5'-GCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 67) 、 5'-AGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 68) 、 5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 69) 、 5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 70) 、 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 71) 、 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 72) 、 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 73) 、 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 74) 、 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 75) 及 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO: 76) 。

【請求項20】如請求項1至18中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑之序列與5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%或至少約95%序列一致。

【請求項21】如請求項19之方法，其中該miRNA抑制劑具有與5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)具有至少90%相似性之序列。

【請求項22】如請求項1至20中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑包含具有一個取代或兩個取代之核苷酸序列5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)。

【請求項23】如請求項1至21中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑包含核苷酸序列5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)或5'- AGAGGAGAGCCGTGTATGAC -3' (SEQ ID NO: 77)。

【請求項24】如請求項23之方法，其中該miRNA抑制劑包含核苷酸序列5'- AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC -3' (SEQ ID NO: 28)。

【請求項25】如請求項1至22中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑包含至少一種經修飾之核苷酸。

【請求項26】如請求項25之方法，其中該至少一種經

修飾之核苷酸為鎖核酸(LNA)、非鎖核酸(UNA)、阿拉伯糖核酸(ABA)、橋連核酸(BNA)及/或肽核酸(PNA)。

【請求項27】如請求項1至26中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑包含骨架修飾。

【請求項28】如請求項27之方法，其中該骨架修飾為磷醯二胺N-嗎啉基寡聚物(PMO)及/或硫代磷酸酯(PS)修飾。

【請求項29】如請求項1至28中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑在遞送劑中遞送。

【請求項30】如請求項29之方法，其中該遞送劑為微胞、胞外體、脂質奈米粒子、細胞外囊泡或合成囊泡。

【請求項31】如請求項1至30中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑由病毒載體遞送。

【請求項32】如請求項31之方法，其中該病毒載體為AAV、腺病毒、逆轉錄病毒或慢病毒。

【請求項33】如請求項32之方法，其中該病毒載體為具有AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或其任何組合之血清型的AAV。

【請求項34】如請求項1至33中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑用遞送劑遞送。

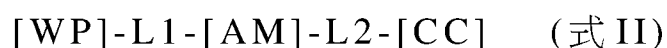
【請求項35】如請求項34之方法，其中該遞送劑包含微胞、胞外體、類脂質、脂質體、脂質複合物、脂質奈米粒子、細胞外囊泡、合成囊泡、聚合化合物、肽、蛋白質、細胞、奈米粒子模擬物、奈米管、結合物、病毒載體

或其組合。

【請求項36】如請求項34或35之方法，其中該遞送劑包含陽離子載劑單元，該陽離子載劑單元包含：



或



其中

WP為水溶性生物聚合物部分；

CC為帶正電荷之載劑部分；

AM為佐劑部分；且，

L1及L2獨立地為視情況選用之連接子，且

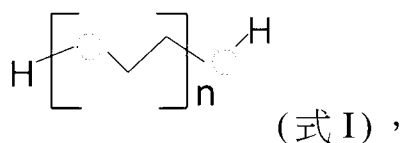
其中當與核酸以約1:1之離子比混合時，該陽離子載劑單元形成微胞。

【請求項37】如請求項36之方法，其中該miRNA抑制劑與該陽離子載劑單元經由離子鍵相互作用。

【請求項38】如請求項36或37之方法，其中該水溶性聚合物包含聚(烷二醇)、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯醇)、聚(乙烯吡咯啉酮)、聚(羥基烷基甲基丙烯醯胺)、聚(甲基丙烯酸羥基烷酯)、聚(醣)、聚(α -羥基酸)、聚(乙醇醇)、聚甘油、聚磷氮烯、聚噁唑啉(「POZ」)聚(N-丙烯醯基嗎啉)或其任何組合。

【請求項39】如請求項36至38中任一項之方法，其中該水溶性聚合物包含聚乙二醇(「PEG」)、聚甘油或聚(丙二醇)(「PPG」)。

【請求項40】如請求項36至39中任一項之方法，其中該水溶性聚合物包含：



其中 n 為 1-1000。

【請求項41】如請求項40之方法，其中該 n 為至少約 110、至少約 111、至少約 112、至少約 113、至少約 114、至少約 115、至少約 116、至少約 117、至少約 118、至少約 119、至少約 120、至少約 121、至少約 122、至少約 123、至少約 124、至少約 125、至少約 126、至少約 127、至少約 128、至少約 129、至少約 130、至少約 131、至少約 132、至少約 133、至少約 134、至少約 135、至少約 136、至少約 137、至少約 138、至少約 139、至少約 140或至少約 141。

【請求項42】如請求項40之方法，其中該 n 為約 80至約 90、約 90至約 100、約 100至約 110、約 110至約 120、約 120至約 130、約 140至約 150、約 150至約 160。

【請求項43】如請求項36至42中任一項之方法，其中該水溶性聚合物為線性、分支或樹枝狀。

【請求項44】如請求項36至43中任一項之方法，其中該陽離子載劑部分包含一或多個鹼性胺基酸。

【請求項45】如請求項44之方法，其中該陽離子載劑部分包含至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至

少 17 個、至少 18 個、至少 19 個、至少 20 個、至少 21 個、至少 22 個、至少 23 個、至少 24 個、至少 25 個、至少 26 個、至少 27 個、至少 28 個、至少 29 個、至少 30 個、至少 31 個、至少 32 個、至少 33 個、至少 34 個、至少 35 個、至少 36 個、至少 37 個、至少 38 個、至少 39 個、至少 40 個、至少 41 個、至少 42 個、至少 43 個、至少 44 個、至少 45 個、至少 46 個、至少 47 個、至少 48 個、至少 49 個或至少 50 個鹼性胺基酸。

【請求項 46】如請求項 45 之方法，其中該陽離子載劑部分包含約 30 個至約 50 個鹼性胺基酸。

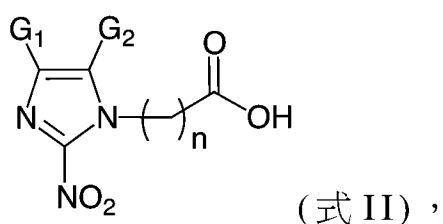
【請求項 47】如請求項 45 或 46 之方法，其中該鹼性胺基酸包含精胺酸、離胺酸、組胺酸或其任何組合。

【請求項 48】如請求項 36 至 47 中任一項之方法，其中該陽離子載劑部分包含約 40 個離胺酸單體。

【請求項 49】如請求項 36 至 48 中任一項之方法，其中該佐劑部分能夠調節免疫反應、發炎反應及/或組織微環境。

【請求項 50】如請求項 36 至 49 中任一項之方法，其中該佐劑部分包含咪唑衍生物、胺基酸、維生素或其任何組合。

【請求項 51】如請求項 50 之方法，其中該佐劑部分包含：



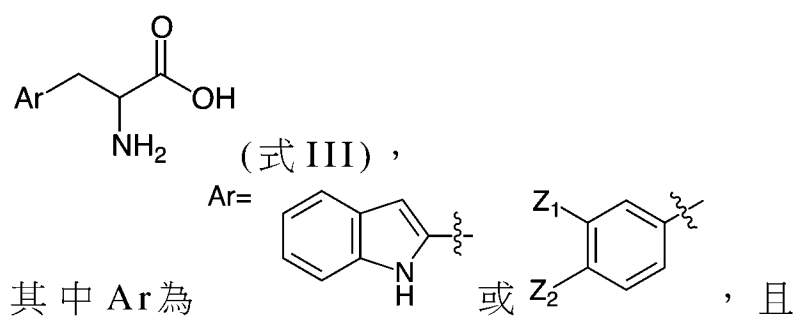
其中 G1 及 G2 各自為 H、芳環或 1-10 烷基，或 G1 及 G2 一起形成芳環，且其中 n 為 1-10。

【請求項 52】如請求項 50 之方法，其中該佐劑部分包含硝基咪唑。

【請求項 53】如請求項 50 之方法，其中該佐劑部分包含甲硝唑 (metronidazole)、替硝唑 (tinidazole)、尼莫唑 (nimorazole)、二甲硝唑 (dimetridazole)、普托馬尼 (pretomanid)、奧硝唑 (ornidazole)、美格唑 (megazol)、阿扎硝唑 (azanidazole)、苜硝唑 (benznidazole) 或其任何組合。

【請求項 54】如請求項 36 至 50 中任一項之方法，其中該佐劑部分包含胺基酸。

【請求項 55】如請求項 54 之方法，其中該佐劑部分包含



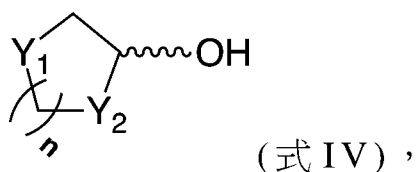
其中 Z1 及 Z2 各自為 H 或 OH。

【請求項 56】如請求項 36 至 50 中任一項之方法，其中該佐劑部分包含維生素。

【請求項 57】如請求項 56 之方法，其中該維生素包含環或雜原子環及羧基或羥基。

【請求項 58】如請求項 57 之方法，其中該維生素包

含：



其中 Y1 及 Y2 各自為 C、N、O 或 S，且其中 n 為 1 或 2。

【請求項 59】如請求項 56 至 58 中任一項之方法，其中該維生素係選自由以下組成之群：維生素 A、維生素 B1、維生素 B2、維生素 B3、維生素 B6、維生素 B7、維生素 B9、維生素 B12、維生素 C、維生素 D2、維生素 D3、維生素 E、維生素 M、維生素 H 及其任何組合。

【請求項 60】如請求項 56 至 59 中任一項之方法，其中該維生素為維生素 B3。

【請求項 61】如請求項 56 至 60 中任一項之方法，其中該佐劑部分包含至少約兩個、至少約三個、至少約四個、至少約五個、至少約六個、至少約七個、至少約八個、至少約九個、至少約十個、至少約 11 個、至少約 12 個、至少約 13 個、至少約 14 個、至少約 15 個、至少約 16 個、至少約 17 個、至少約 18 個、至少約 19 個或至少約 20 個維生素 B3。

【請求項 62】如請求項 61 之方法，其中該佐劑部分包含約 10 個維生素 B3。

【請求項 63】如請求項 56 至 62 中任一項之方法，其中該遞送劑包含約具有約 120 個至約 130 個 PEG 單元之水溶性生物聚合物部分、包含具有約 30 個至約 40 個離胺酸之聚離胺酸之陽離子載劑部分及具有約 5 個至約 10 個維生素 B3 之佐劑部分。

【請求項64】如請求項56至63中任一項之方法，其中該遞送劑與該miRNA抑制劑締合，從而形成微胞。

【請求項65】如請求項64之方法，其中該締合為共價鍵、非共價鍵或離子鍵。

【請求項66】如請求項64或65之方法，其中使該微胞中之該陽離子載劑單元及該miRNA抑制劑在溶液中混合，使得該陽離子載劑單元之正電荷與該miRNA抑制劑之負電荷之離子比為約1:1。

【請求項67】如請求項64至66中任一項之方法，其中該陽離子載劑單元能夠保護該miRNA抑制劑免於酶促降解。

【請求項68】如請求項1至67中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑係非經腸、肌肉內、皮下、經眼、靜脈內、腹膜內、皮內、眶內、腦內、顱內、腦室內、脊椎內、心室內、鞘內、腦池內、囊內、腫瘤內、經表面或經其任何組合投與。

【請求項69】如請求項1至68中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑藉由塗抹、噴霧、蒸汽或注射投與至需要促進毛髮生長之皮膚區域。

【請求項70】如請求項1至68中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑經表面投與至需要促進毛髮生長之皮膚區域。

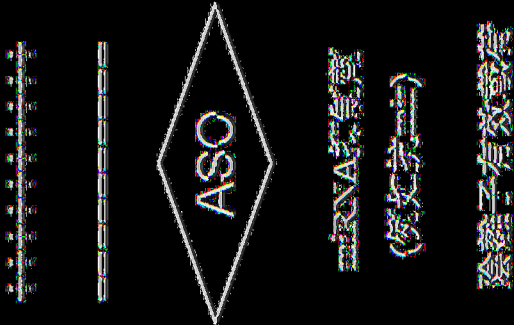
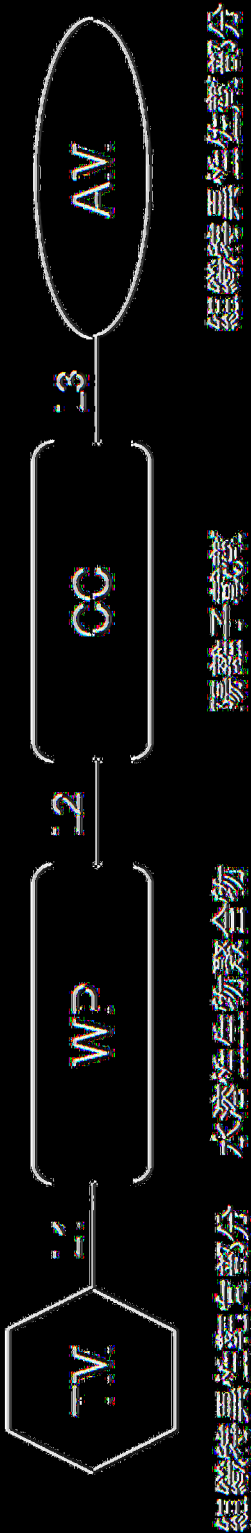
【請求項71】如請求項1至68中任一項之方法，其中該miRNA抑制劑以選自由軟膏、洗髮精、護髮素、洗劑、

滋補劑、凝膠及慕思劑(*mousse*)組成之群的形式調配。

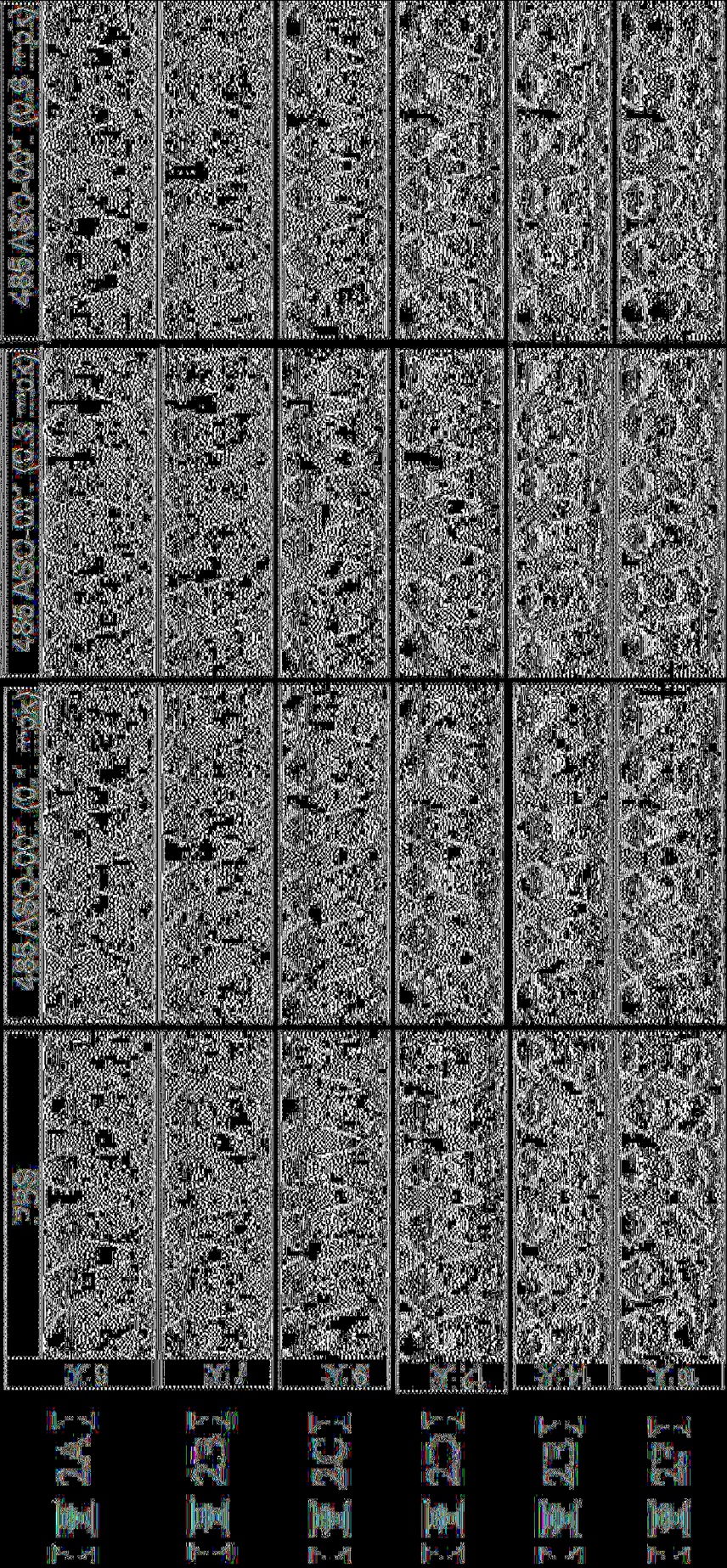
【請求項 72】如請求項 1 至 68 中任一項之方法，其中該投與步驟藉由將該個體浸泡或沐浴在該 *miRNA* 抑制劑中進行，該 *miRNA* 抑制劑以選自由軟膏、洗髮精、護髮素、洗劑、滋補劑、凝膠及慕思劑組成之群的形式調配。

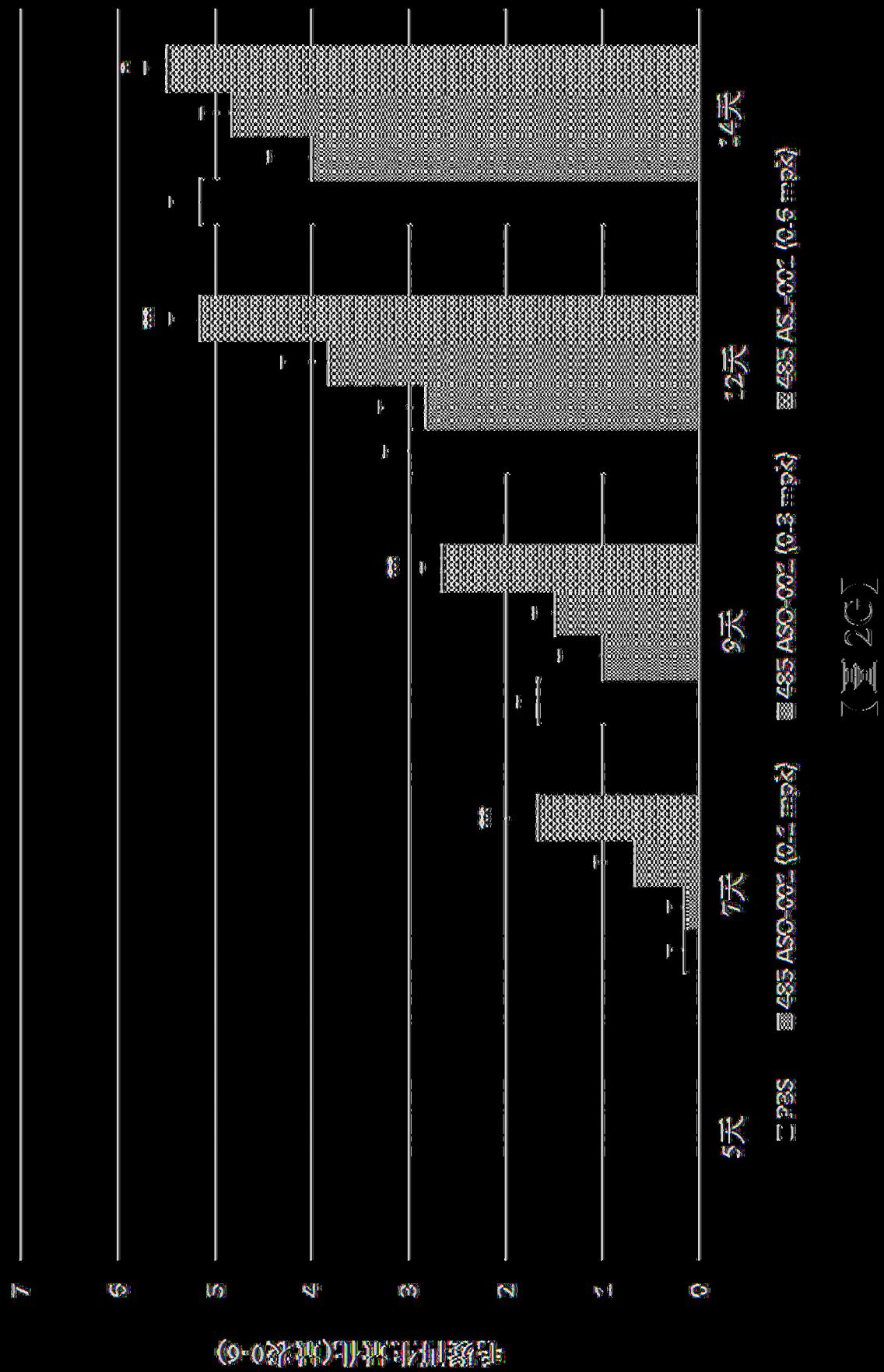
陽離子載體單元

22、22、23-氧膦烷選用之連接部分
(各部分可包含一或多個連接子，該一或多個連接子可相同或不同)

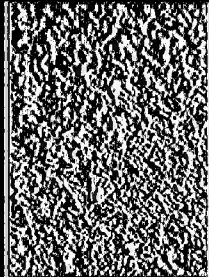
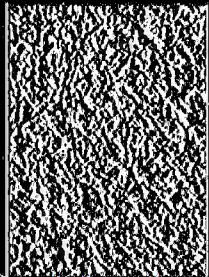
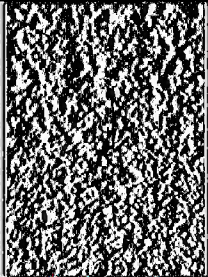
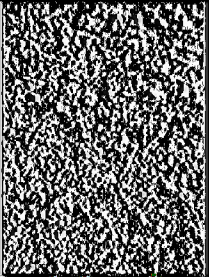
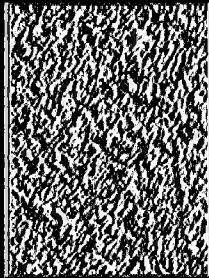
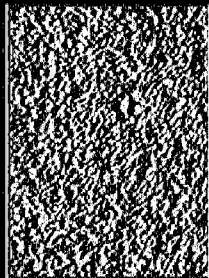
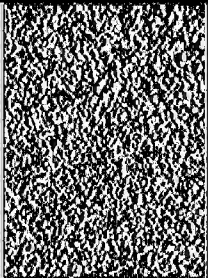
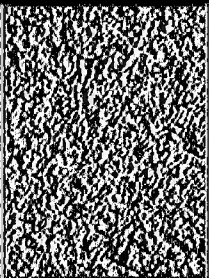
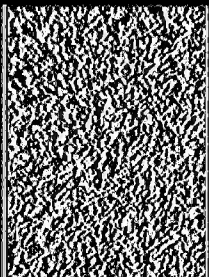
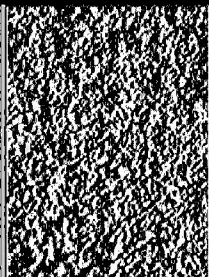
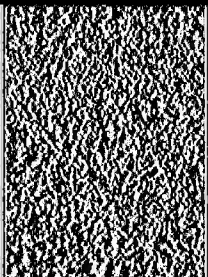
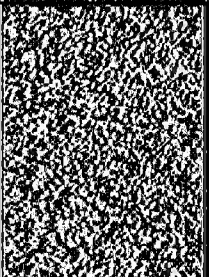
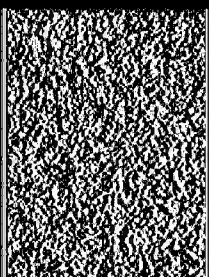
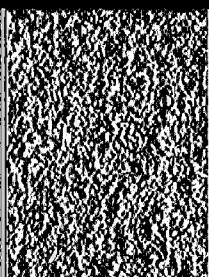
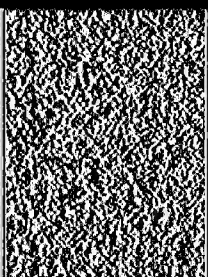
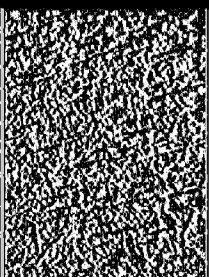
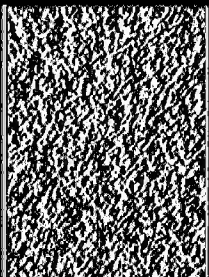
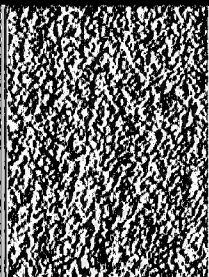
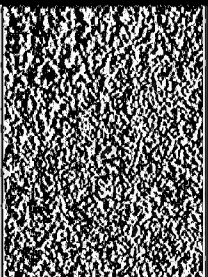
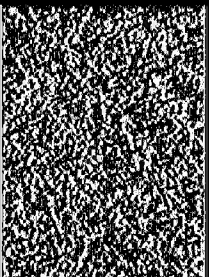
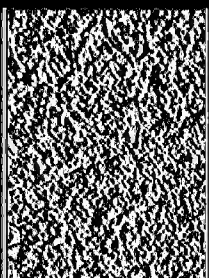
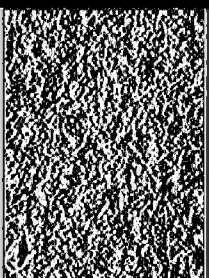
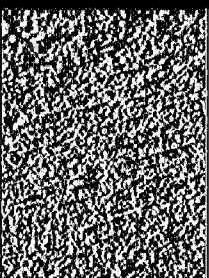


(圖式一)





2天

PS	185ASO-001 (0.1mpk)	185ASO-001 (0.3mpk)	185ASO-001 (0.6mpk)
			
			
			
			
			
			

[圖 3A]

圖 33

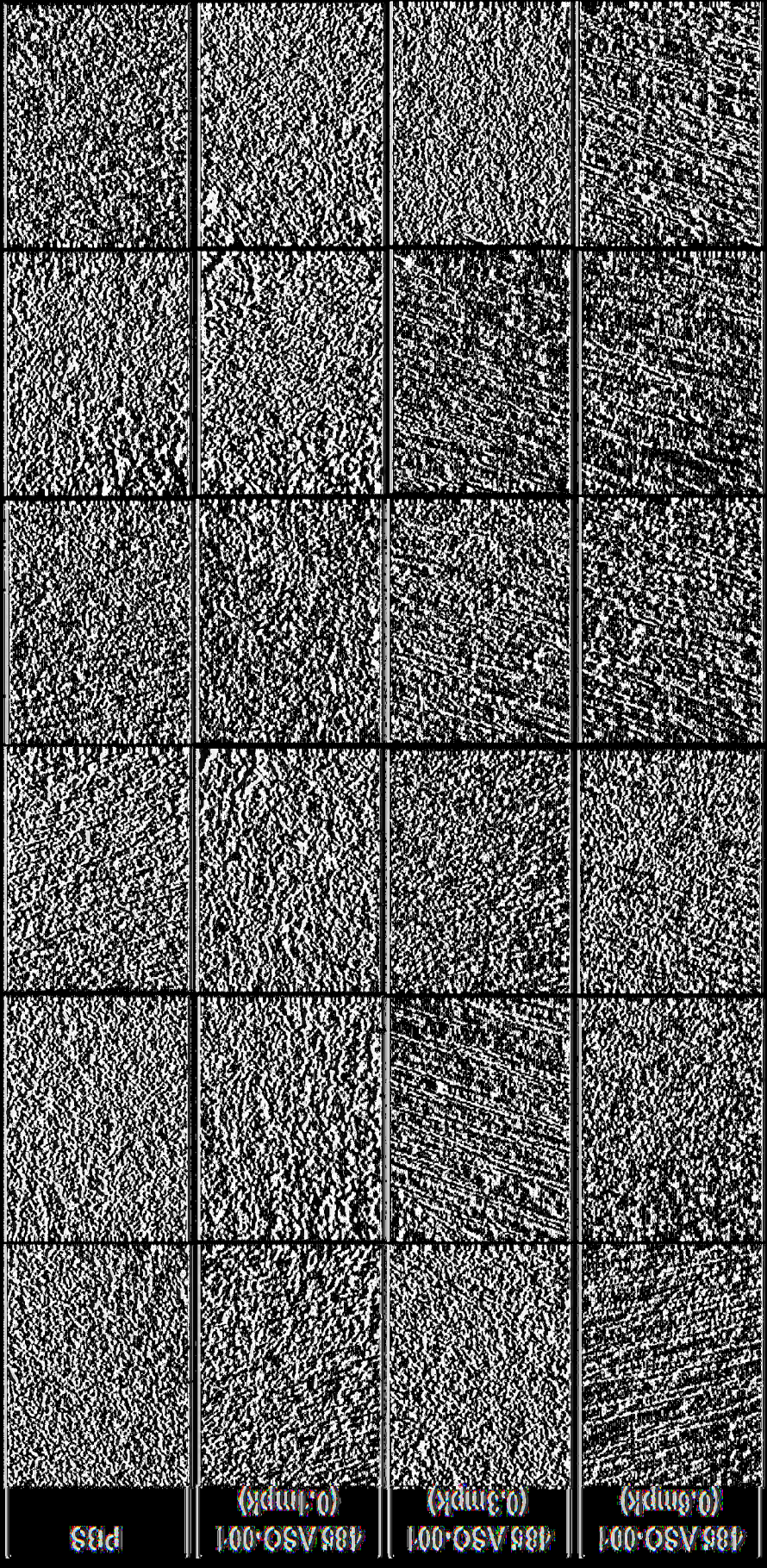
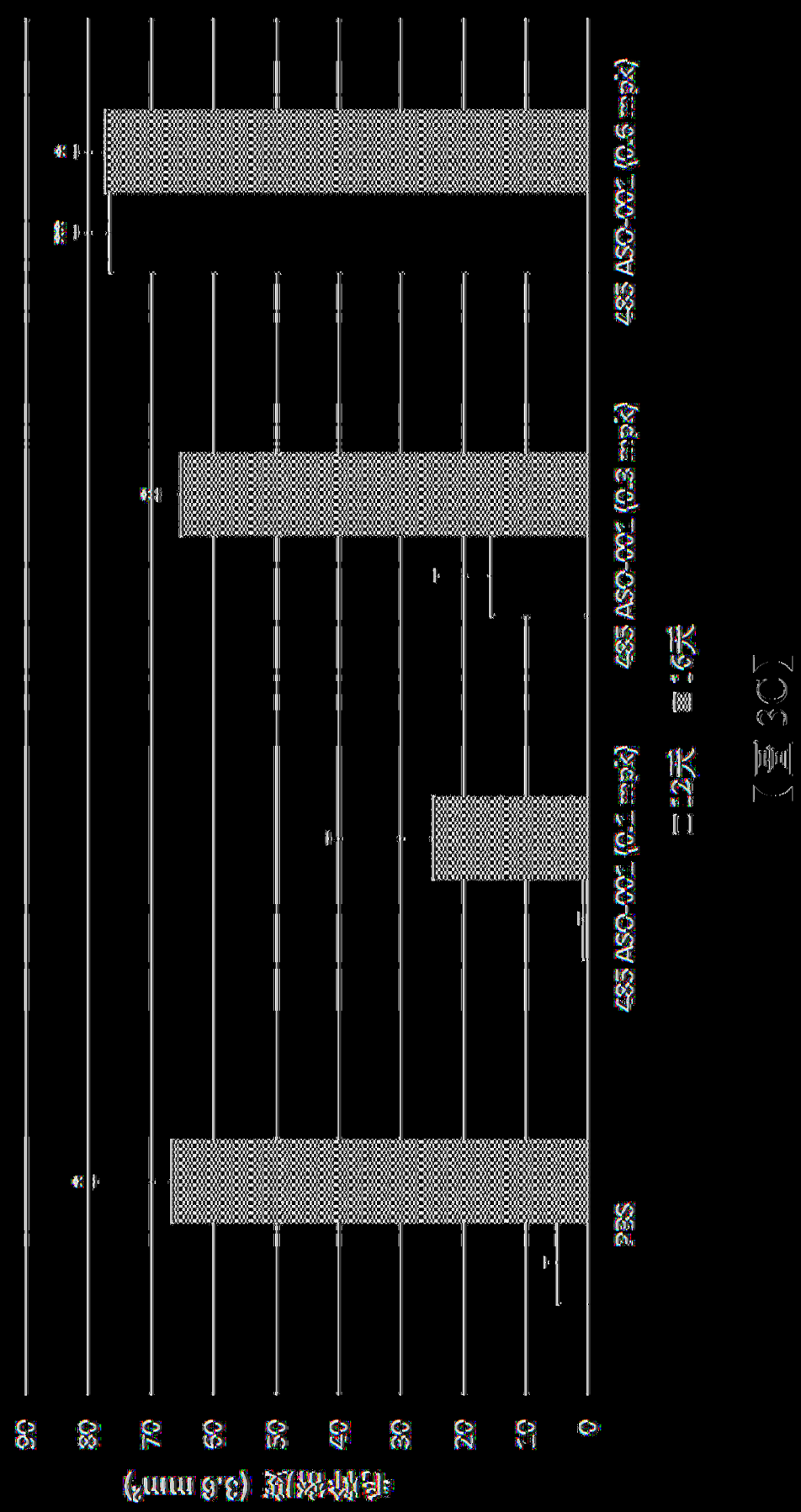
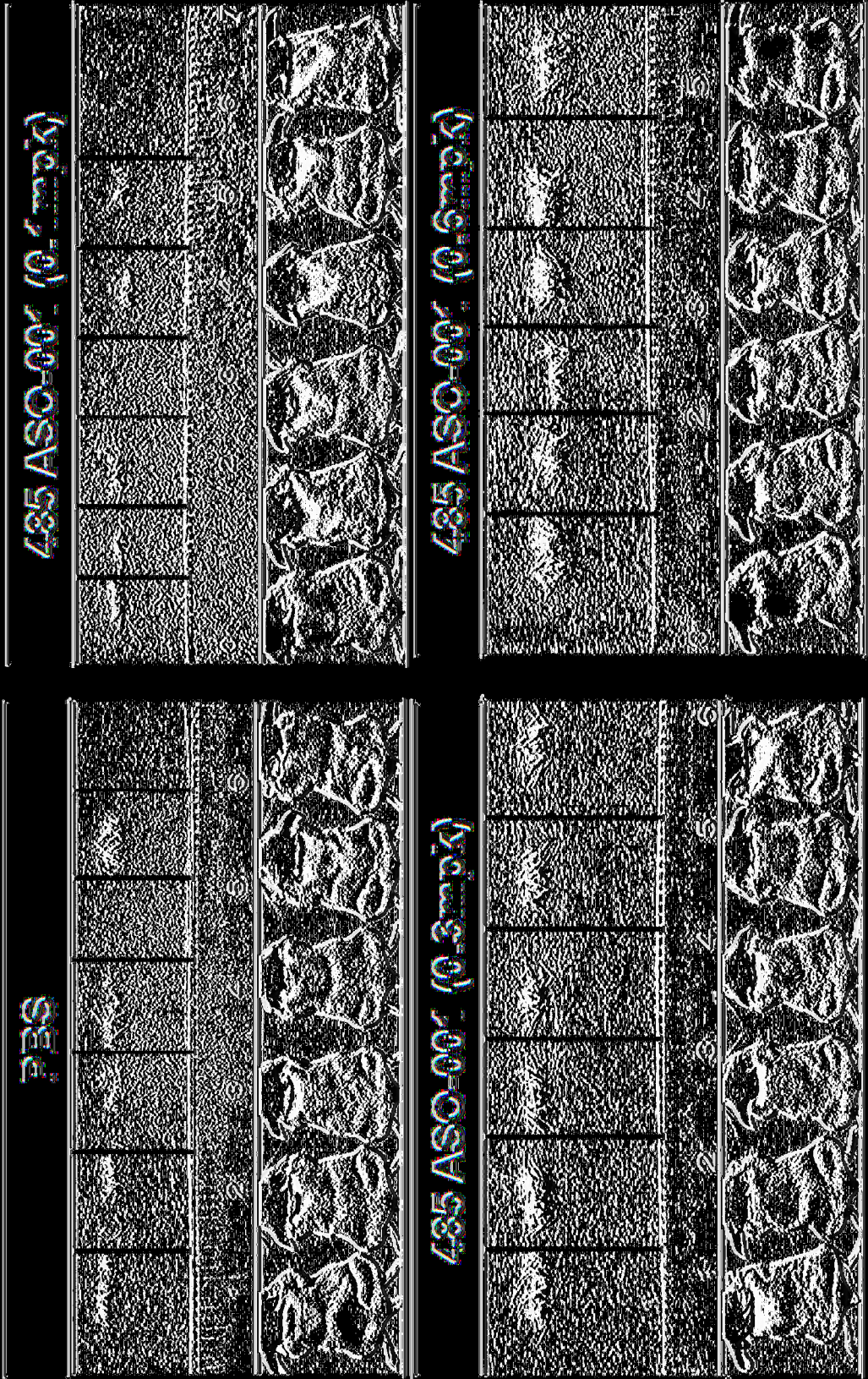


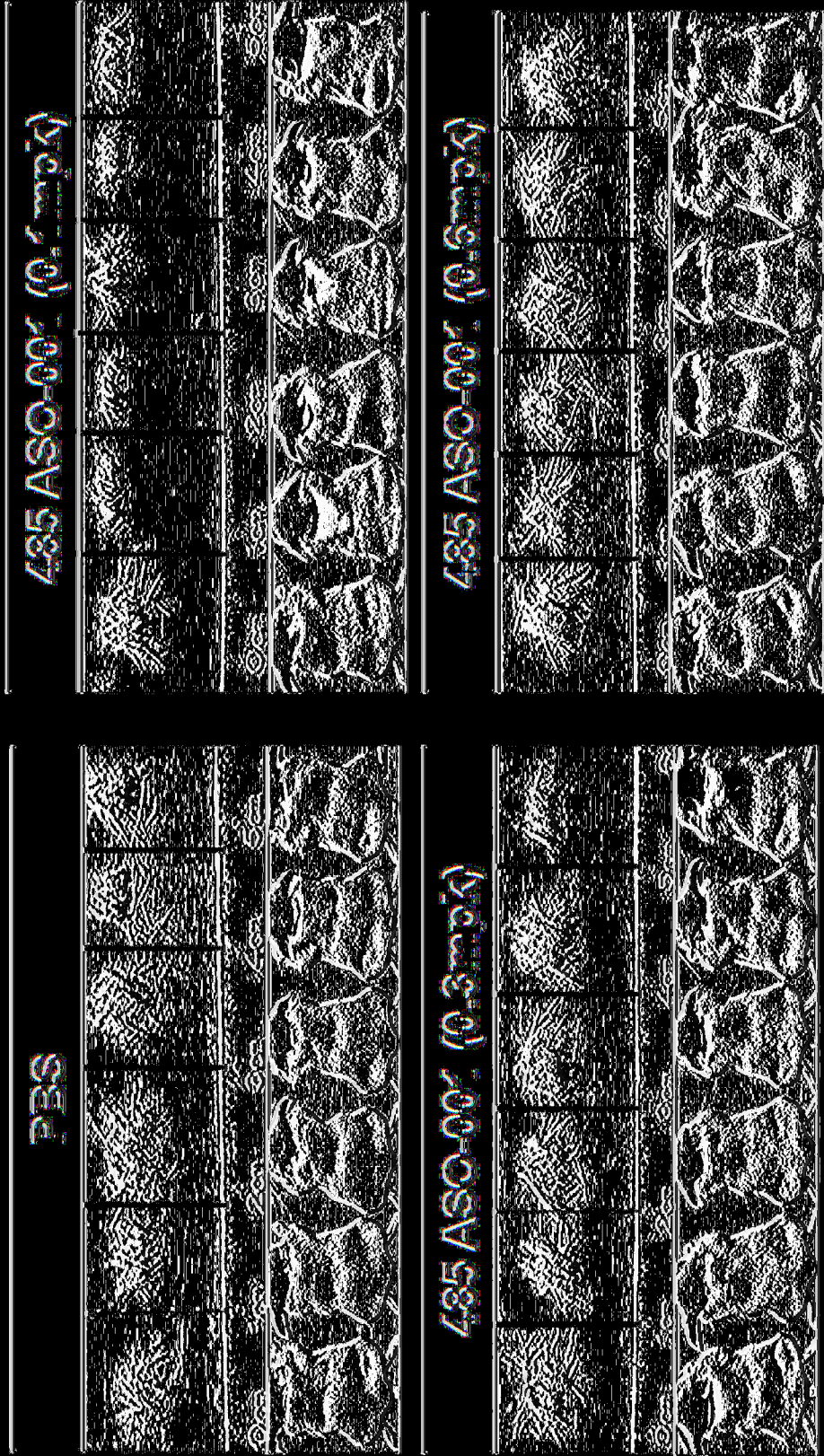
圖 33





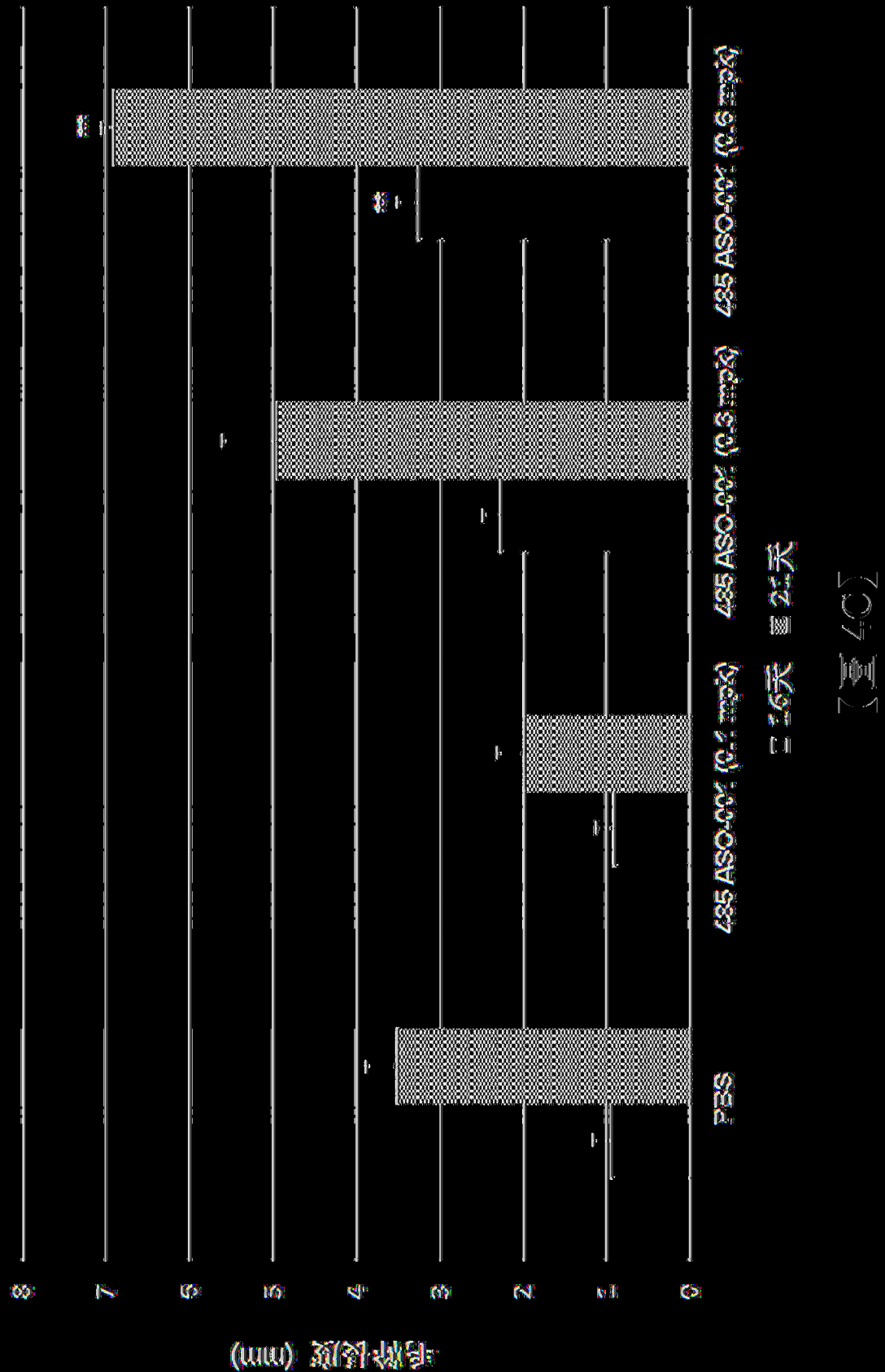
(圖 4A)

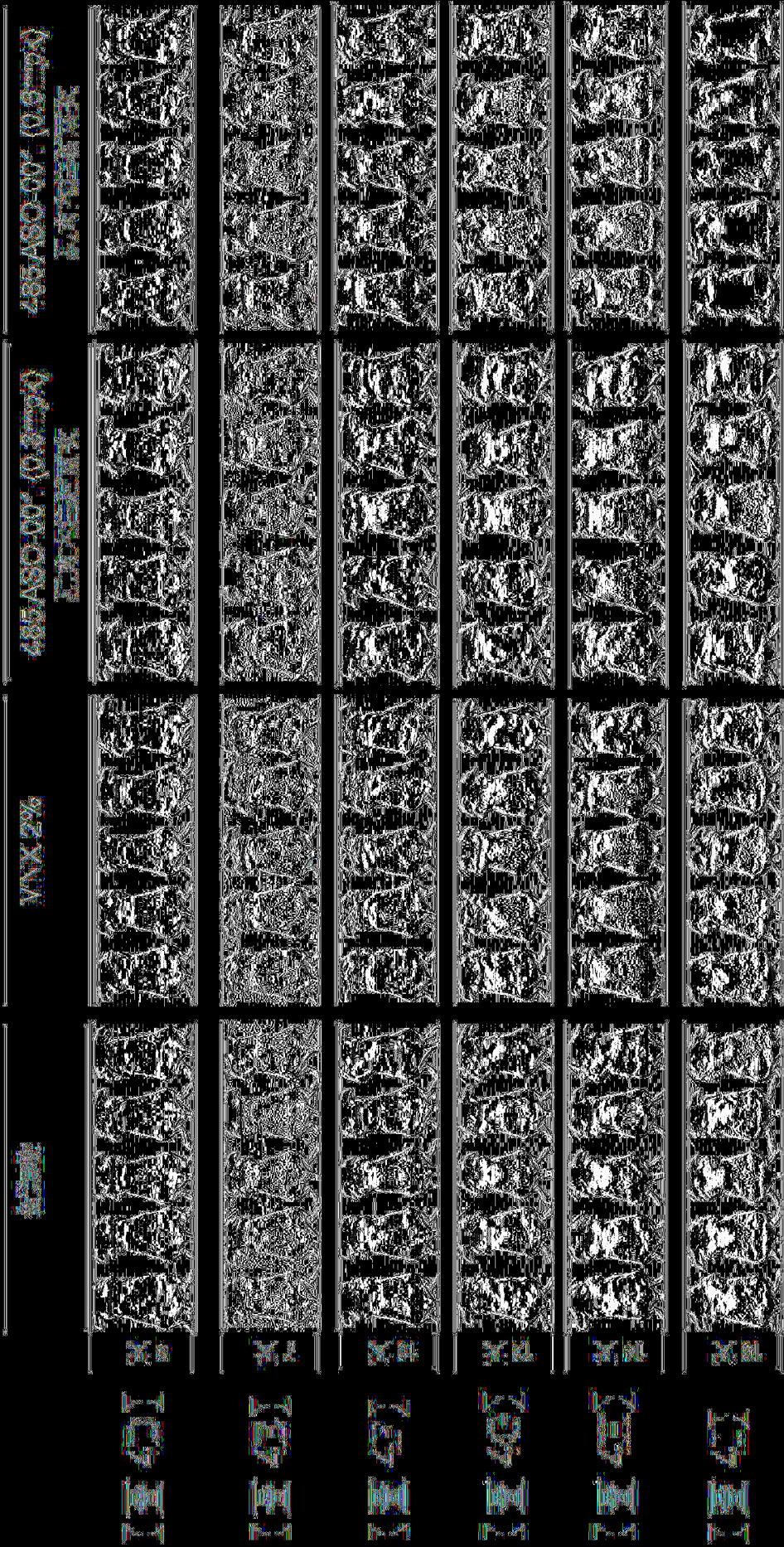
16天

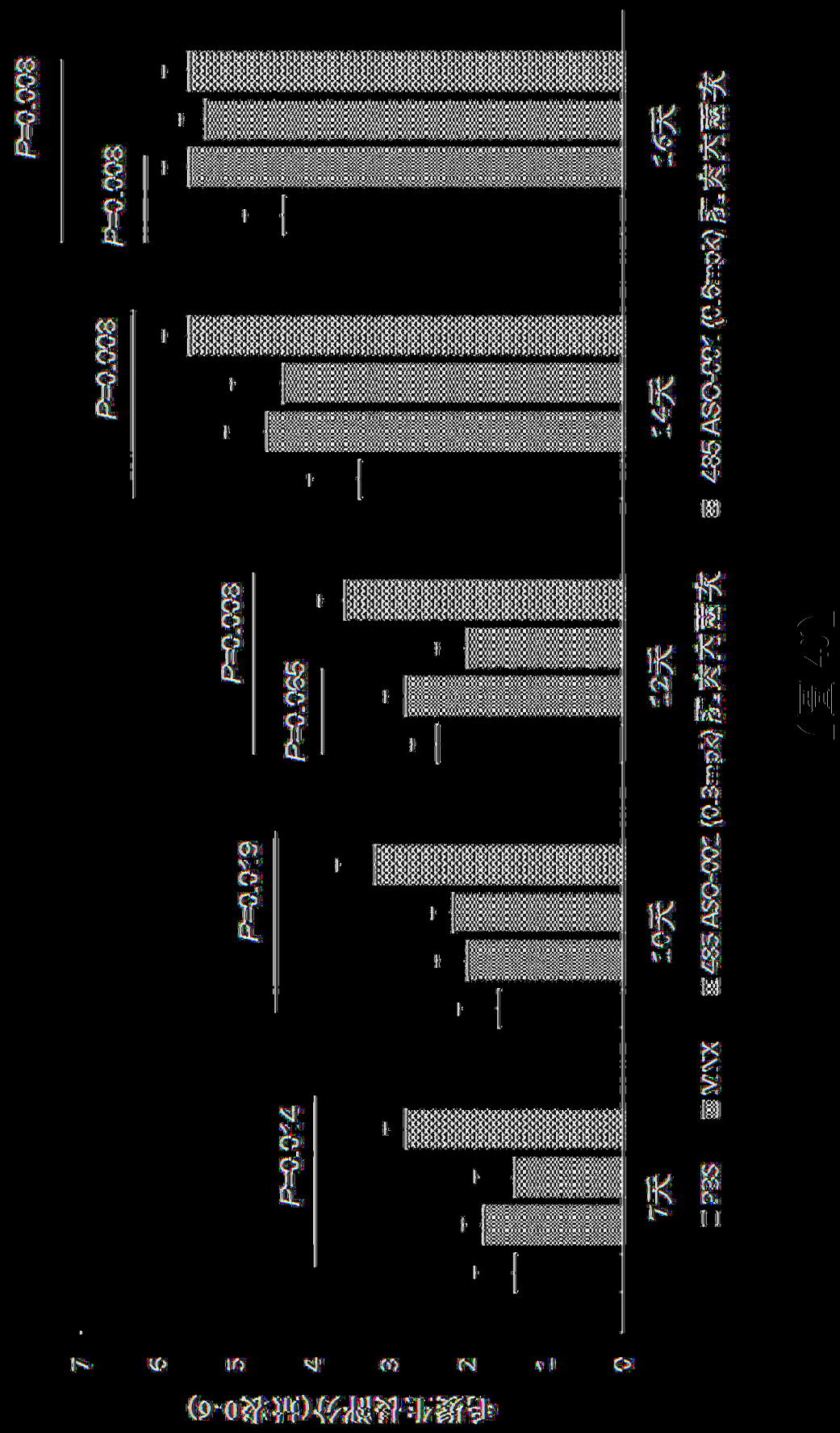


(圖 13)

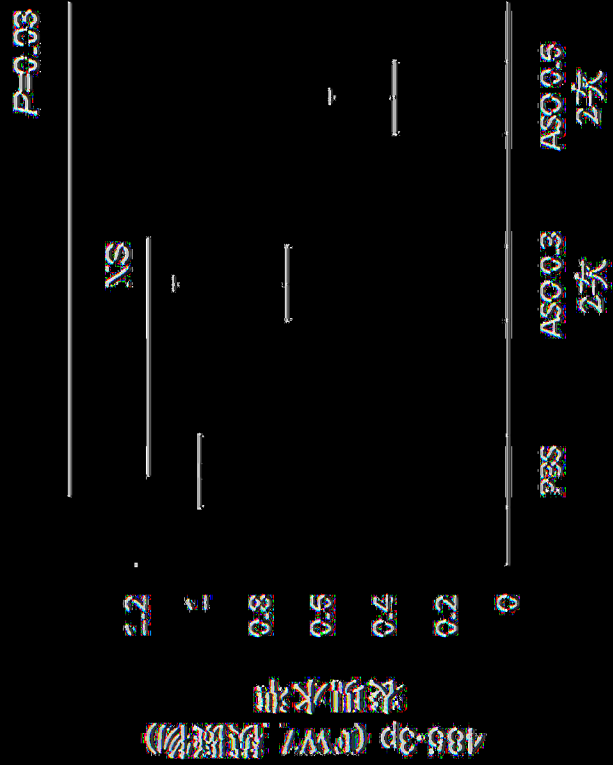
21天



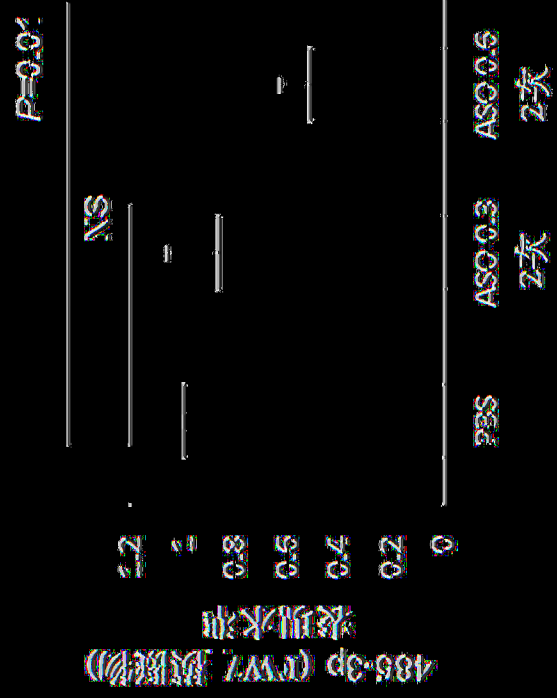




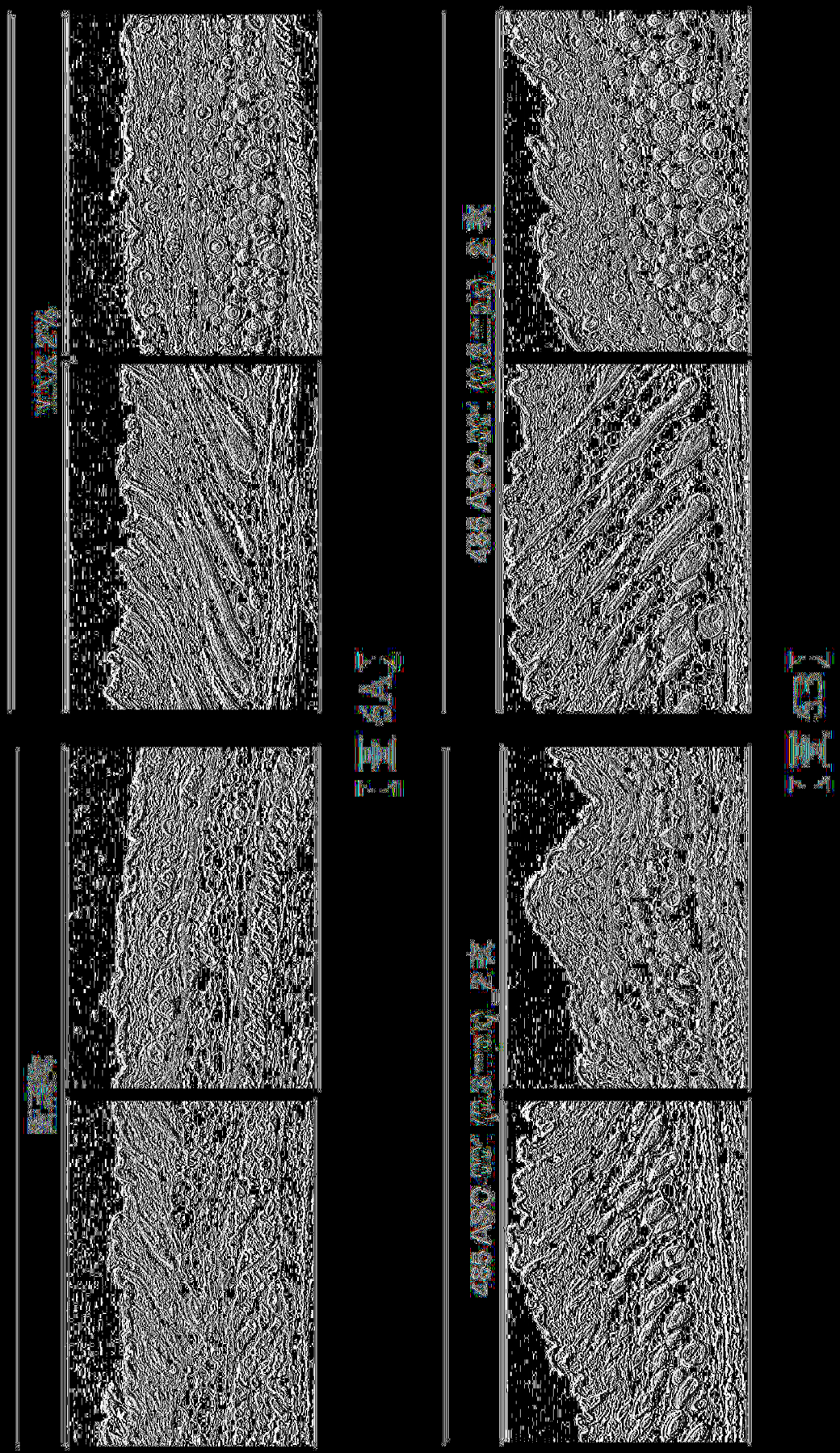
(圖 4)

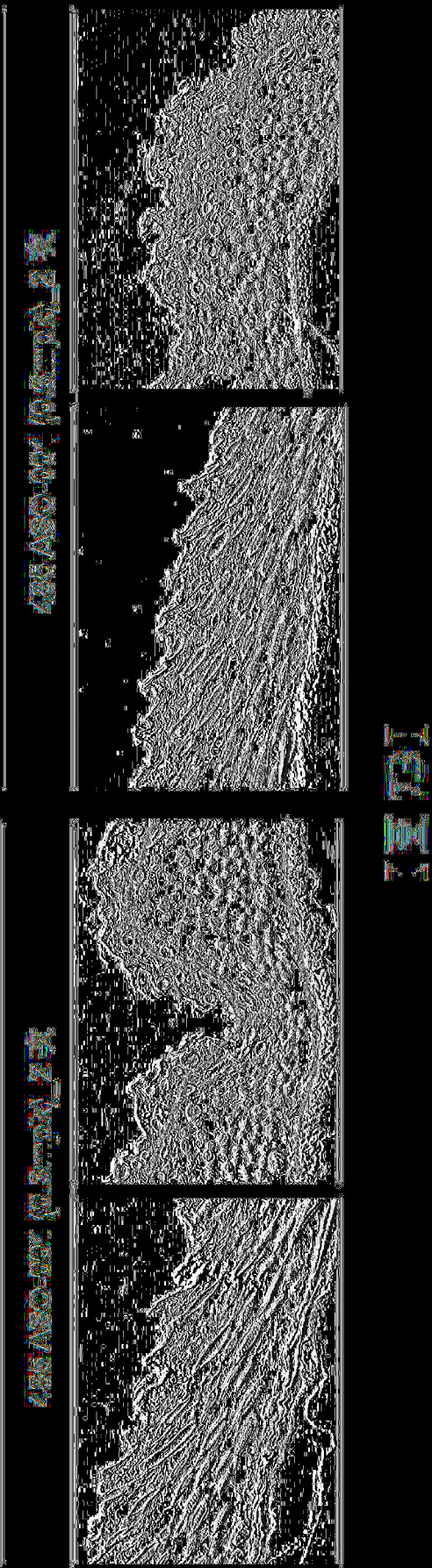
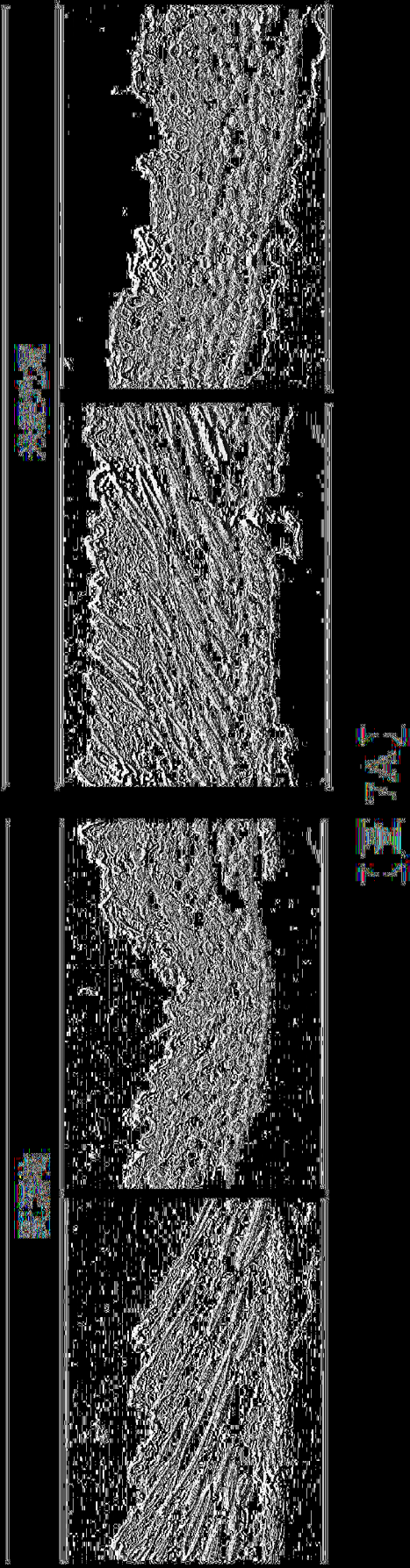


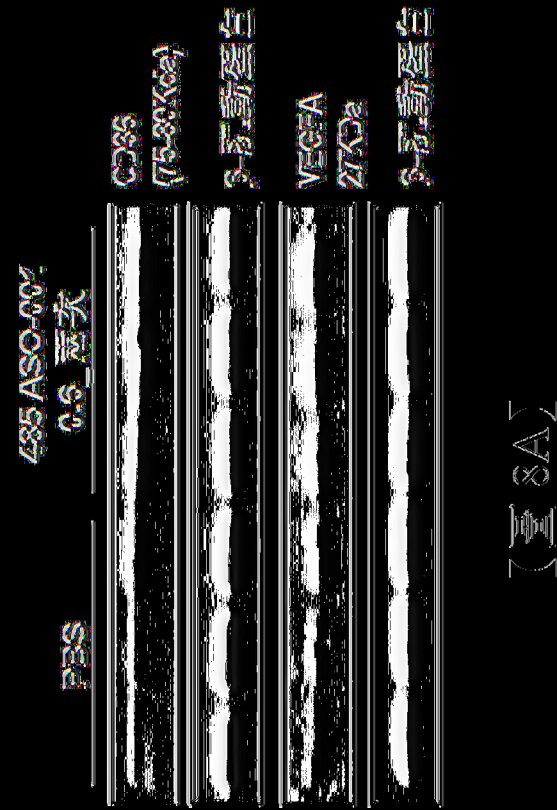
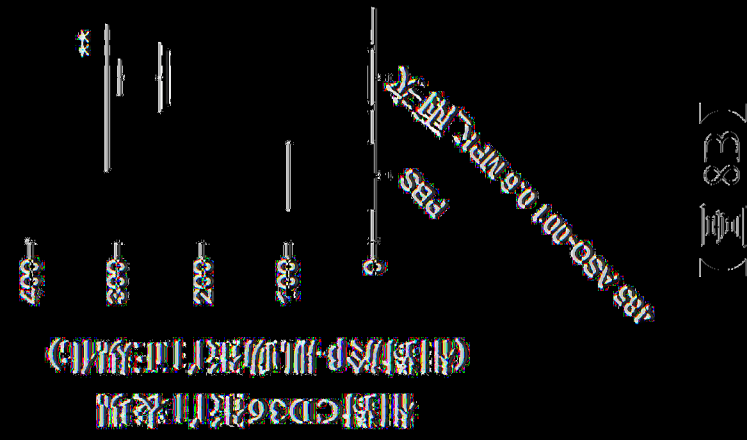
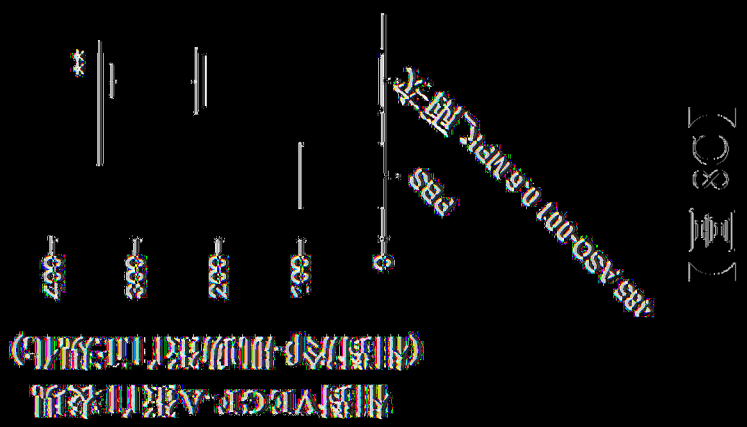
[圖 5B]

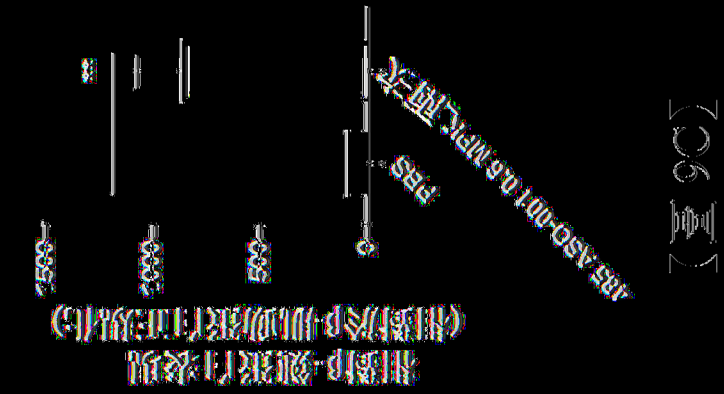


[圖 5A]

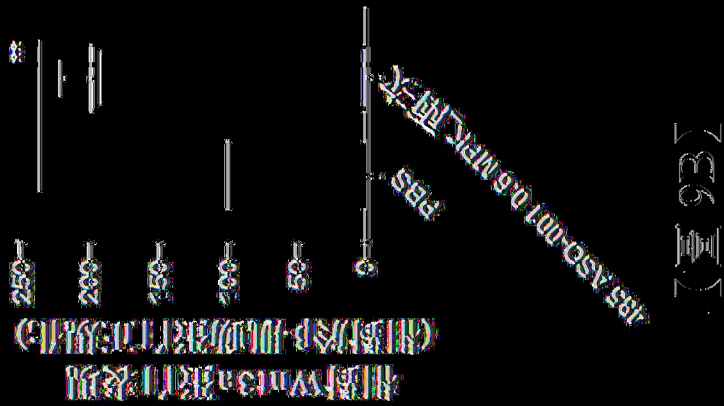




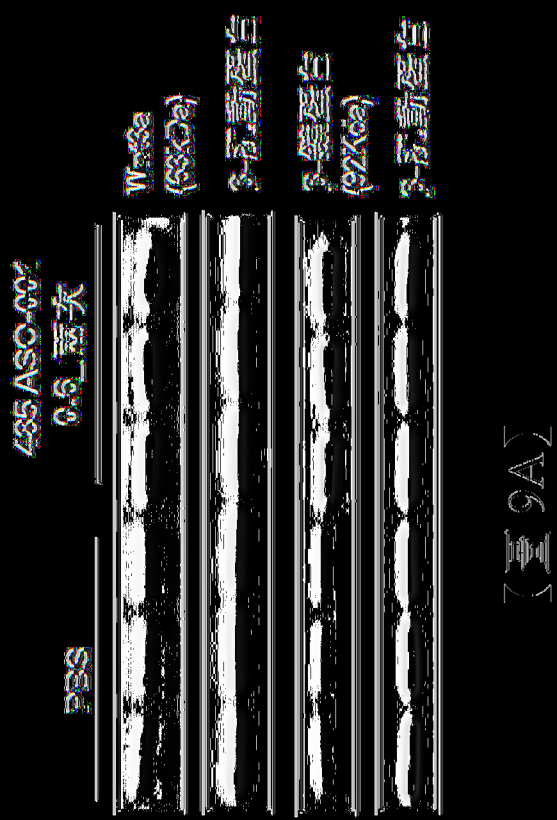




[圖 96]



[圖 97]



[圖 9A]

