



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107922947 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201680038698.3

(22)申请日 2016.06.03

(30)优先权数据

62/171,743 2015.06.05 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.12.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/035794 2016.06.03

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/196978 EN 2016.12.08

(71)申请人 米拉根医疗股份有限公司

地址 美国科罗拉多州

申请人 布里格姆及妇女医院股份有限公司

(72)发明人 A.杰克逊 C.达尔比 H.L.韦纳

O.布托夫斯基

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张文辉 易方方

(51)Int.Cl.

C12N 15/113(2006.01)

A61K 31/7125(2006.01)

A61K 31/712(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

权利要求书3页 说明书14页

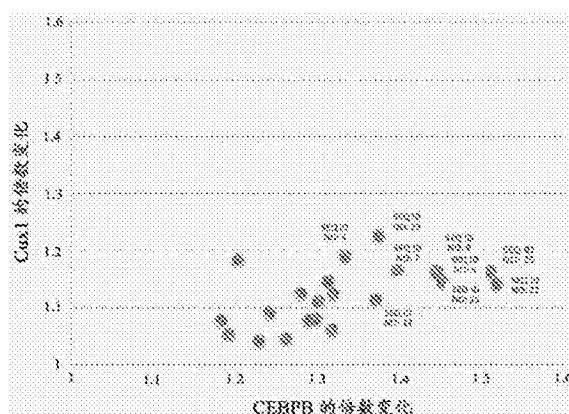
序列表31页 附图4页

(54)发明名称

用于治疗肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的MIR-155抑制剂

(57)摘要

本发明提供了通过向对象施用miR-155的寡核苷酸抑制剂在对象中治疗诸如ALS的神经系统疾病的方法。本发明还提供了通过施用miR-155的寡核苷酸抑制剂治疗神经炎症的方法。



1. 一种用于在有此需要的对象中治疗神经系统疾病的方法,所述方法包括向所述对象施用miR-155的寡核苷酸抑制剂,所述miR-155的寡核苷酸抑制剂包含11至16个核苷酸的序列,其中:

所述寡核苷酸抑制剂与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及

其中从所述寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从所述寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核酸(DNA)核苷酸。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述神经系统疾病是肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中从所述寡核苷酸抑制剂的5'末端起的第6个核苷酸是DNA核苷酸。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中从所述寡核苷酸抑制剂的3'末端起的第4个核苷酸是锁核苷酸。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂含有至少9个锁核苷酸。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂的长度为12个核苷酸。

7. 根据权利要求1所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂具有SEQ ID NO:23所示的序列。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中降低miR-155的活性或功能。

9. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中上调miR-155靶基因的表达或活性。

10. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中上调稳态基因的表达或活性。

11. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后降低或抑制CNS的炎性细胞的活性。

12. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后显示出减少炎性细胞向脊髓中的募集。

13. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中下调组织破坏性基因的表达或活性和/或上调组织保护性基因的表达或活性。

14. 根据权利要求8-13中任一项所述的方法,其中所述炎性细胞选自下组:神经元细胞、单核细胞和小胶质细胞。

15. 一种用于降低神经系统疾病中的炎性细胞活性的方法,所述方法包括施用miR-155的寡核苷酸抑制剂,所述miR-155的寡核苷酸抑制剂包含11至16个寡核苷酸的序列,其中:

所述寡核苷酸抑制剂与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及

其中从所述寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从所述寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核酸(DNA)核苷酸。

16.一种用于在有此需要的对象中治疗或改善神经炎症的方法,所述方法包括向所述对象施用miR-155的寡核苷酸抑制剂,所述miR-155的寡核苷酸抑制剂包含11至16个核苷酸的序列,其中:

所述寡核苷酸抑制剂与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及

其中从所述寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从所述寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核酸(DNA)核苷酸。

17.根据权利要求16所述的方法,其中有此需要的所述对象患有神经系统疾病或处于患有神经系统疾病的风险中。

18.根据权利要求15或16中任一项所述的方法,其中所述神经系统疾病是肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)。

19.根据权利要求15-18中任一项所述的方法,其中从所述寡核苷酸抑制剂的5'末端起的第6个核苷酸是DNA核苷酸。

20.根据权利要求15-19中任一项所述的方法,其中从所述寡核苷酸抑制剂的3'末端起的第4个核苷酸是锁核苷酸。

21.根据权利要求15-20中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂含有至少9个锁核苷酸。

22.根据权利要求15-21中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂的长度为12个核苷酸。

23.根据权利要求15-21中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂具有SEQ ID NO:23所示的序列。

24.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中降低miR-155的活性或功能。

25.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中上调miR-155靶基因的表达或活性。

26.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中上调稳态基因的表达或活性。

27.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后降低或抑制CNS的炎性细胞的活性。

28.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后显示出减少炎性细胞向脊髓中的募集。

29.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸抑制剂施用后在CNS细胞中下调组织破坏性基因的表达或活性和/或上调组织保护性基因的表达或活性。

30.根据权利要求15-23中任一项所述的方法,其中所述炎性细胞选自下组:神经元细胞、单核细胞和小胶质细胞。

31.一种用于选择治疗神经系统疾病的对象的方法,所述方法包括确定选自下组的一个或多个基因在所述对象的CNS细胞中的表达水平:IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2n1、1810011010Rik、Fads1、Cux1、Ap3d1、X99384、Olfml3、Mafk、Csflr、Tgfb2、Bach1、Sal11、Rapgef5、CEBPB、CCnd1、Msr1、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2;将所述一个或多个基因在所述对

象的CNS细胞中的水平与所述一个或多个基因的对照水平进行比较;以及选择与所述对照水平相比所述一个或多个基因在CNS细胞中的水平升高或降低的对象治疗所述神经系统疾病。

用于治疗肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 的MIR-155抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年6月5日提交的美国临时申请第62/171,743号的优先权的权益,其全部内容通过引用在此并入本申请。

发明领域

[0003] 本发明涉及miR-155的寡核苷酸抑制剂及其组合物。本发明还提供了通过施用miR-155的寡核苷酸抑制剂用于在有此需要的对象中治疗或预防神经系统疾病的方法。施用寡核苷酸抑制剂后miR-155在对象中枢神经系统 (CNS) 细胞中的活性或功能降低。

背景技术

[0004] 对临床样品的微RNA (miRNA) 分析已证实miR-155在散发性和家族性肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 患者的脊髓和外周单核细胞中上调 (Butovsky等人,2012;Koval等人,2013)。ALS是一种可能由多种神经病理性细胞机制引发的复杂疾病。不管事件是如何引发的,ALS与单核细胞性炎症细胞的局部和系统M1极化有关。在ALS患者以及动物模型中,包括小胶质细胞在内的非神经元细胞的炎症导致了神经元死亡 (Boillee等人,2006;Nagai等人,2007)。进入脊髓的脊髓小胶质细胞和循环单核细胞的M1极化与miR-155的表达增加相关和至少部分是miR-155表达增加的结果 (Butovsky等人,2012)。在ALS的临床前模型SOD1G93A小鼠中,miR-155的表达在驻地 (resident) 小胶质细胞和外周单核细胞中上调 (Butovsky等人,2012;Koval等人,2013)。在SOD1G93A小鼠中将miR-155基因缺失产生显著延长的存活 (51天),减少外周单核细胞募集进入脊髓并且逆转了在SOD1G93A小鼠中病理状态特征性的小胶质细胞特征失调 (Butovsky等人,2014)。此外,miR-155的基因切除将SOD1G93A小鼠脾脏Ly6Chi单核细胞和脊髓的miRNA/基因和蛋白标记由组织破坏性的M1型转变为组织保护性的M2型。而且,通过直接(脑室内注射)或全身施用药理学抑制miR-155也改善SOD1G93A小鼠的存活 (Koval等人,2013;Butovsky等人,2014) 和逆转疾病相关的小胶质细胞标记 (Butovsky等人,2014)。

[0005] 此前评估反义miR-155药理学施用的研究 (Koval等人,2013;Butovsky等人,2014) 使用了靶向小鼠miR-155的化合物。小鼠miR-155序列 (UAAAGCUAAUUGUGAUAGGGGU) 在引导链的12位有一个碱基 (miRBase 21, www.mirbase.org) 与人miR-155序列 (UAAAGCUAAUCGUGAUAGGGGU) 不同。尽管此前的研究已显示了反义miR-155化合物在治疗ALS中的作用,但是本发明提供了下调人miR-155的活性或功能的另一种寡核苷酸抑制剂。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明提供了用于在对象的细胞中调节miR-155的活性或功能的寡核苷酸抑制剂。在一个实施方式中,施用后miR-155的寡核苷酸抑制剂的施用下调对象CNS中miR-155的活性或功能。在某些实施方式中,CNS细胞是单核细胞、淋巴细胞、小胶质细胞、巨噬细胞和神经元细胞。在一些实施方式中,CNS细胞包括在外周血中能够迁移进入脊髓的细胞;例如外周血单核细胞、外周血淋巴细胞等。

[0008] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂包含11至16个核苷酸的序列,其中寡核苷酸抑制剂是与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及其中从寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核酸(DNA)核苷酸。在进一步的实施方式中,从寡核苷酸抑制剂的3'末端起的第4个核苷酸是锁核苷酸和/或从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的第6个核苷酸是DNA核苷酸。

[0009] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂的长度为12个核苷酸。在一些实施方式中,寡核苷酸抑制剂包含至少9个锁核苷酸。在一些其他实施方式中,寡核苷酸抑制剂包含至多1、2、3、4或5个DNA核苷酸。在某些实施方式中,从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第2个核苷酸是DNA核苷酸。在进一步的实施方式中,从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第6个和/或第8个核苷酸是DNA核苷酸。在又一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂从5'末端起在第2、6和8位包含DNA核苷酸。

[0010] 在一个实施方式中,根据本发明的miR-155的寡核苷酸抑制剂降低或抑制CNS的炎性细胞的活性。炎性细胞包括淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞和小胶质细胞。在一个实施方式中,在外周血中的细胞(如单核细胞、淋巴细胞、NK细胞、中性粒细胞等)能够迁移进入脊髓并作为CNS的炎性细胞。在一些实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂下调炎性细胞募集或迁移进入脊髓。

[0011] 在另一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂上调CNS细胞中miR-155的一个或多个靶基因。在又一个实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂上调CNS的细胞中稳态基因的表达或活性。在又一个实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS的细胞中下调组织破坏性基因的表达或活性和/或上调组织保护性基因的表达或活性。

[0012] 本发明还提供了包含miR-155的寡核苷酸抑制剂的组合物及其用途。在一个实施方式中,本发明提供了在有此需要的对象中治疗神经系统疾病的方法,包括向所述对象施用治疗有效量的本发明的miR-155的寡核苷酸抑制剂。在施用寡核苷酸抑制剂后对象的CNS细胞中的miR-155的活性或功能降低。在一个实施方式中,神经系统疾病是ALS。

[0013] 在一个实施方式中,本发明提供了在有此需要的对象中治疗或改善神经炎症的方法,包括向所述对象施用本发明的寡核苷酸抑制剂。在这些实施方式中,需要治疗神经炎症的对象可能患有神经系统疾病(如ALS)或处于患有神经系统疾病(如ALS)的风险中。

[0014] 附图简述

[0015] 图1显示了在使用反义miR-155化合物转染的MV4-11人单核细胞中miR-155的两个直接种子匹配靶基因的表达情况。

[0016] 图2A显示了与未经处理的细胞相比,在使用反义miR-155化合物被动孵育的小胶质细胞中直接种子匹配靶点CSF1R的相对表达情况。图2B显示了与未经处理的细胞相比,在使用反义miR-155化合物被动孵育的小胶质细胞中第二种子匹配靶点OLFML3的相对表达情况。

[0017] 图3显示了在从给予反义miR-15化合物的SOD1小鼠分离的小胶质细胞中miR-155的预测或经验种子匹配靶点基因表达变化的“热图”。

[0018] 图4显示了在 ≥ 4 只小鼠中被 ≥ 2 种反义miR-155化合物上调的一组miR-155靶基因表达的倍数变化。

[0019] 图5显示了在给予反义miR-155化合物的小鼠中小胶质细胞稳态基因的带注释的基因表达图。

[0020] 图6显示了在 ≥ 4 只小鼠中被 ≥ 2 种反义miR-155化合物上调的一组小胶质细胞稳态基因表达的倍数变化。

具体实施方式

[0021] 本发明提供了抑制miR-155活性或功能的寡核苷酸抑制剂及其组合物和用途。在人体内,miR-155由MIR155宿主基因或MIR155HG编码并且其位于人类第21号染色体上。由于前-miR-155的两个臂均能产生成熟的miRNA,因而将前-miR-155的加工产物称为miR-155-5p(来自5'臂)和miR-155-3p(来自3'臂)。人miR-155-5p和miR-155-3p的成熟序列如下所示:

[0022] 人成熟miR-155-5p (SEQ ID NO:1)

[0023] 5'-UUA AUGCUAAUCGUGAUAGGGGU-3'

[0024] 人成熟miR-155-3p (SEQ ID NO:2)

[0025] 5'-CUCCUACAUAUUAGCAUUAACA-3'

[0026] miR-155-5p在包括B-细胞、T-细胞、单核细胞和粒细胞的造血细胞中表达(Landgraf等,2007)。miR-155-5p是控制髓细胞生成和红细胞生成的重要分子。这种miRNA在处于早期干-祖细胞阶段的造血干-祖细胞中高表达,并阻止其分化成成熟的造血细胞(例如,淋巴细胞、红细胞)。随着细胞沿着这些谱系成熟miR-155-5p表达逐渐减少,在成熟的造血细胞中降低 ~ 200 倍(Masaki等,2007;Gerloff等,2015)。

[0027] 此前的研究表明miR-155在ALS患者的脊髓和外周单核细胞中上调。美国申请第14/350,977号(公开号为US 2014/0235697)公开了一种通过施用miR-155抑制剂诊断和治疗神经退行性疾病(例如,ALS)的方法。该申请用于所有目的的全部内容通过引用并入本申请。

[0028] 本发明提供了一种降低或抑制人miR-155的活性或功能的寡核苷酸抑制剂。在本发明的上下文中,术语“寡核苷酸抑制剂”、“反义miR”、“拮抗剂”、“反义寡核苷酸或ASO”、“寡聚物”、“抗-微RNA寡核苷酸或AMO”或

[0029] “mixmer”广泛使用并且包括包含核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸、经修饰的核糖核苷酸、经修饰的脱氧核糖核苷酸或其组合的寡聚物,其通过全部或部分与miRNA杂交抑制靶微RNA(miRNA)的活性或功能,从而抑制靶miRNA的功能或活性。

[0030] 如在本申请中使用的,术语“miR-155”包括pri-miR-155、前-miR-155、miR-155-5p和hsa-miR-155-5p。

[0031] 在一个实施方式中,本发明提供了长度为11至16个核苷酸的miR-155的寡核苷酸抑制剂。在不同实施方式中,靶向miR-155的寡核苷酸抑制剂的长度为11、12、13、14、15或16个核苷酸。在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂的长度为12个核苷酸。

[0032] 根据本发明的miR-155寡核苷酸抑制剂的序列与miR-155-5p的成熟序列充分互补以便在生理条件下与miR-155-5p杂交并且在对象的细胞中抑制miR-155-5p的活性或功能。例如,在一些实施方式中,寡核苷酸抑制剂包含与miR-155-5p的成熟序列至少部分互补的序列,例如与miR-155-5p的成熟序列至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%

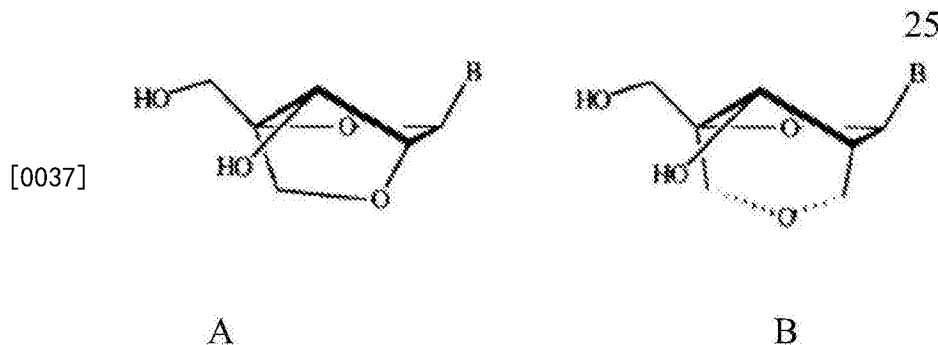
或99%互补。在一些实施方式中,寡核苷酸抑制剂可以基本上与miR-155-5p的成熟序列互补,即与miR-155-5p的成熟序列至少约90%、95%、96%、97%、98%或99%互补。在一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂包含与miR-155-5p的成熟序列100%或完全互补的序列。应当理解的是,即使寡核苷酸抑制剂序列包含经修饰的核苷酸而非天然存在的核苷酸,也将该寡核苷酸抑制剂的序列认为是与miR-155互补的。例如,如果miR-155的成熟序列在特定位置包含鸟嘌呤核苷酸,则寡核苷酸抑制剂在相应位置可以包含经修饰的胞嘧啶核苷酸(如锁定的胞嘧啶核苷酸或2'-氟-胞嘧啶核苷)。

[0033] 如在本申请中使用的,术语“约”旨在包括+/-10%,更优选地+/-5%的变化,如适于实施本发明的变化。

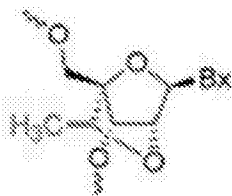
[0034] 在一些实施方式中,miR-155寡核苷酸抑制剂的全部序列与人miR-155-5p的成熟序列完全互补。在不同实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂序列与之部分、基本上或完全互补的人miR-155-5p的成熟序列包含从SEQ ID NO:1的5'末端起的1-17个核苷酸、或2-17个核苷酸、或2-16个核苷酸、或2至15个核苷酸、或2-14个核苷酸、或2-13个核苷酸、或2-12个核苷酸。在一个实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂序列与之部分、基本上或完全互补的人miR-155-5p的成熟序列包含从SEQ ID NO:1的5'末端起的2-13个核苷酸。

[0035] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂含有至少一个骨架修饰,如至少一个硫代磷酸酯、吗啉代或膦酰羧酸酯核苷酸间连接(参见,例如,美国专利号6,693,187和7,067,641,其全部内容通过引用并入本申请)。在某些实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂是完全硫代磷酸酯连接的。

[0036] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂含有至少一个经修饰的核苷酸如锁核苷酸或者含有其他糖或碱基修饰的核苷酸。术语“锁核苷酸”、“锁定的核酸单元”、“锁核苷酸残基”或“LNA单元”在整个公开的内容中可以互换使用并且指双环核苷类似物。例如,适宜的寡核苷酸抑制剂可以包含一个或多个“构象束缚”或双环糖核苷修饰(BSN),其使得在含有BSN的寡核苷酸与其互补的靶向链之间形成的复合物具有增强的热稳定性。在一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂含有包含2'-O,4'-C-亚甲基核糖核苷(结构A)的锁核苷酸或LNA,其中核糖的糖部分处于“锁定的”构象中。在另一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂含有至少一个2',4'-C-桥连2'脱氧核糖核苷(CDNA,结构B)。参见,例如美国专利号6,403,566和Wang等人,(1999) Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol.9:1147-1150,其全部内容通过引用并入本申请。在又一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂含有具有结构C中所示结构的至少一个经修饰的核苷。靶向miR-155的寡核苷酸抑制剂含有BSN(LNA、CDNA等)或其他经修饰的核苷酸以及核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸的组合。



[0038]



C。

[0039] 当在本发明的上下文中提及DNA或RNA核苷酸被其相应的锁定核苷酸取代时,术语“相应的锁定寡核苷酸”旨在指被锁核苷酸取代的DNA/RNA核苷酸,所述锁核苷酸含有与其取代的DNA/RNA核苷酸相同的天然存在的含氮碱基或被化学修饰的相同的含氮碱基。例如,含有含氮碱基C的DNA核苷酸的相应锁定核苷酸可以含有相同的含氮碱基C或被化学修饰的相同含氮碱基C(如5-甲基胞嘧啶)。

[0040] 术语“非-锁核苷酸”指不同于锁核苷酸的核苷酸,即术语“非-锁核苷酸”包括DNA核苷酸、RNA核苷酸以及经修饰的核苷酸,其中碱基和/或糖被修饰,但该修饰不是锁定的修饰。

[0041] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂含有至少9个锁核苷酸。在一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂3'末端起的至少前3个核苷酸是锁核苷酸。在另一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂3'末端起的至少前4个核苷酸是锁核苷酸。在又一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂5'末端起的第1个核苷酸是锁核苷酸。

[0042] 在某些实施方式中,寡核苷酸抑制剂含有至少1个、至少2个、至少3个、至少4个或至少5个DNA核苷酸。在一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂5'末端起的至少第2个核苷酸是DNA核苷酸。在另一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂5'末端起的至少第2个和第6个核苷酸是DNA核苷酸。在又一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂5'末端起的至少第2个、第6个和第8个核苷酸是DNA核苷酸。

[0043] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂包含11至16个核苷酸的序列,其中寡核苷酸抑制剂与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及其中从寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核酸(DNA)核苷酸。在又一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂的3'末端起的第4个核苷酸也是锁核苷酸。在又一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的第6个核苷酸是DNA核苷酸。在某些实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂的长度为12个核苷酸。在一些实施方式中,寡核苷酸抑制剂含有至少9个锁核苷酸。

[0044] 在一个实施方式中,miR-155的寡核苷酸抑制剂包含SEQ ID NO:23所示的序列。

[0045] 在不同实施方式中,miR-155-5P的寡核苷酸抑制剂具有选自表1的序列。

[0046] 表1

[0047]

SEQ ID NO.	具有修饰的序列 (5'-3') ¹
SEQ ID NO: 3	5'-lAs.dTs.dCs.dAs.lCs.lGs.dAs.lTs.dTs.lAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 4	5'-lAs.dTs.dCs.dAs.lCs.lGs.dAs.dTs.lTs.lAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 5	5'-lAs.lTs.dCs.dAs.dCs.lGs.dAs.lTs.dTs.lAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 6	5'-lAs.lTs.dCs.dAs.dCs.lGs.lAs.dTs.dTs.lAs.lGs.lCs.dAs.lTs.dTs.lA-3'
SEQ ID NO: 7	5'-lAs.dTs.dCs.dAs.lCs.lGs.dAs.lTs.dTs.lAs.lGs.dCs.lAs.lTs.dTs.lA-3'
SEQ ID NO: 8	5'-lAs.lTs.dCs.dAs.lCs.dGs.dAs.dTs.lTs.lAs.dGs.lCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 9	5'-lAs.dTs.dCs.dAs.lCs.dGs.lAs.dTs.lTs.lAs.dGs.lCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 10	5'-lAs.dTs.dCs.lAs.dCs.dGs.lAs.lTs.dTs.lAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 11	5'-lAs.dTs.lCs.dAs.dCs.lGs.dAs.lTs.lTs.dAs.dGs.lCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 12	5'-lAs.lTs.dCs.lAs.lCs.dGs.dAs.dTs.lTs.lAs.dGs.lCs.lAs.dTs.dTs.lA-3'
SEQ ID NO: 13	5'-lAs.dTs.lCs.dAs.dCs.dGs.lAs.dTs.lTs.lAs.dGs.lCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 14	5'-lAs.dTs.lCs.dAs.lCs.dGs.lAs.dTs.lTs.dAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 15	5'-lTs.dCs.dAs.lCs.dGs.dAs.lTs.dTs.dAs.lGs.dCs.lAs.lTs.dTs.lA-3'
SEQ ID NO: 16	5'-lTs.dCs.lAs.dCs.dGs.lAs.lTs.dTs.dAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 17	5'-lTs.dCs.dAs.dCs.lGs.lAs.lTs.dTs.dAs.lGs.dCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 18	5'-lTs.lCs.lAs.dCs.lGs.dAs.dTs.lTs.lAs.dGs.lCs.dAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 19	5'-lTs.dCs.dAs.lCs.dGs.dAs.dTs.lTs.lAs.lGs.lCs.lAs.lTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 20	5'-lTs.dCs.lAs.dCs.lGs.lAs.lTs.dTs.dAs.lGs.lCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 21	5'-lGs.lAs.lTs.lTs.lAs.lGs.dCs.lAs.lTs.dTs.lA-3'
SEQ ID NO: 22	5'-lCs.dGs.lAs.lTs.lTs.lAs.lGs.dCs.lAs.lTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 23	5'-lCs.dGs.lAs.lTs.lTs.dAs.lGs.dCs.lAs.lTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 24	5'-lCs.lAs.dCs.lGs.dAs.lTs.lTs.dAs.lGs.dCs.lAs.lTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 25	5'-lCs.dAs.lCs.dGs.dAs.lTs.lTs.dAs.lGs.dCs.lAs.lTs.lTs.lA-3'

[0048]

SEQ ID NO.	具有修饰的序列 (5'-3') ¹
SEQ ID NO: 26	5'-lTs.dCs.lAs.mdCs.lGs.lAs.lTs.dTs.dAs.lGs.lCs.lAs.dTs.lTs.lA-3'
SEQ ID NO: 27	5'-lTs.lAs.lGs.lCs.lAs.lTs.lTs.lA-3'

[0049] ¹l = 锁定核酸修饰; d = 脱氧核糖核苷酸; s = 硫代磷酸酯连接; md = 5-甲基胞嘧啶。

[0050] 本发明的寡核苷酸抑制剂可以包括具有碱基修饰或取代的经修饰的核苷酸。在RNA中天然的或未经修饰的碱基是嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G), 以及嘧啶碱基胞嘧啶

(C) 和尿嘧啶 (U) (DNA 具有胸腺嘧啶 (T))。经修饰的碱基,也称为杂环碱基部分,包括其他合成的和天然的核碱基,如 5-甲基胞嘧啶 (5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的 6-甲基和其他烷基衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的 2-丙基和其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶和 2-硫代胞嘧啶、5-卤素尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶以及嘧啶碱基的其他炔基衍生物、6-偶氮尿嘧啶,胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶 (假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤代,8-氨基,8-硫醇,8-硫代烷基,8-羟基和其他 8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤代 (包括 5-溴、5-三氟甲基和其他 5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶)、7-甲基鸟嘌呤和 7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和 8-氮杂腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤和 7-脱氮腺嘌呤以及 3-脱氮鸟嘌呤和 3-脱氮腺嘌呤。在某些实施方式中,靶向 miR-155 的寡核苷酸抑制剂包含一个或多个 BSN 修饰结合碱基修饰 (例如,5-甲基胞嘧啶)。

[0051] 本发明的寡核苷酸抑制剂可以包含具有经修饰的糖部分的核苷酸。典型的经修饰的糖包括碳环或非环糖,在其 2'、3' 或 4' 位置具有一个或多个取代的糖以及具有代替糖中的一个或多个氢原子的取代的糖。在某些实施方式中,通过在 2' 位置具有取代基团对糖进行修饰。在附加的实施方式中,通过在 3' 位置具有取代基团对糖进行修饰。在其他实施方式中,通过在 4' 位置具有取代基团对糖进行修饰。糖可以在一个以上这些位置具有取代,或者寡核苷酸抑制剂可以具有在一个位置带有糖修饰的一个或多个核苷酸,其还可以具有在不同位置带有糖修饰的一个或多个核苷酸也是可以预期的。

[0052] 在本发明的寡核苷酸抑制剂中涉及的糖修饰包括但不限于选自下组的取代基: OH; F; O-、S-或 N-烷基; O-、S-或 N-烯基; O-、S-或 N-炔基; 或 O-烷基-O-烷基,其中烷基、烯基和炔基可以是取代的或未被取代的 C₁ 至 C₁₀ 烷基或 C₂ 指 C₁₀ 烯基和炔基。在一个实施方式中,修饰包括 2'-甲氧基乙氧基 (2'-O-CH₂CH₂OCH₃, 还将其称为 2'-O-(2-甲氧基乙基) 或 2'-MOE), 即烷氧基烷氧基基团。另一种修饰包括 2'-二甲基氨基乙氧基, 即 O(CH₂)₂ON(CH₃)₂ 基团,也称为 2'-DMAOE 以及 2'-二甲基氨基乙氧基乙氧基 (在本领域中也称为 2'-O-二甲基-氨基-乙氧基-乙基或 2'-DMAEOE), 即 2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₃)₂。

[0053] 其他羰基取代基包括烯丙基 (-CH₂-CH=CH₂)、-O-烯丙基、甲氧基 (-O-CH₃)、氨基丙氧基 (-OCH₂CH₂CH₂NH₂) 和氟 (F)。在 2' 位置上 (2'-) 的糖取代基可以在阿拉伯糖基 (上) 位置或核糖基 (下) 位置。一个 2'-阿拉伯糖基修饰是 2'-F。其他类似的修饰还可以在糖部分上的其他位置进行,特别是在 3' 末端核苷酸上的糖的 3' 位置或者在 2'-5' 连接寡核苷酸和 5' 末端核苷酸的 5' 位置中。在某些实施方式中,糖修饰是 2'-O-烷基 (例如 2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基)、2'-卤素 (例如 2'-氟、2'-氯、2'-溴) 和 4' 硫代修饰。

[0054] 为了增强稳定性和改善效能的寡核苷酸抑制剂的其他修饰 (如在美国专利号 6,838,283 中所描述的那些,其全部内容通过引用并入本申请) 是本领域公知的并且适于在本发明的方法中使用。例如,为了促进体内递送和稳定性,可以将寡核苷酸抑制剂在其 3' 末端与类固醇 (如胆固醇部分)、微生物、脂肪酸、碳水化合物或糖苷、肽、或其他小分子配体连接。

[0055] 向对象施用本发明的寡核苷酸抑制剂在对象的细胞中降低或抑制 miR-155 的活性或功能。在一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂在中枢神经系统 (CNS) 的细胞中降低 miR-155 的活性或功能。在本申请中使用的术语“CNS 的细胞”或“CNS 的炎性细胞”包括淋巴细胞、单

核细胞、巨噬细胞、神经胶质细胞如小胶质细胞和星形胶质细胞以及神经元细胞。在一个实施方式中，CNS的细胞是能够迁移进入脊髓的外周或循环单核细胞或外周血淋巴细胞。在另一个实施方式中，CNS的细胞是小胶质细胞。

[0056] 在一些实施方式中，与其他miR-155抑制剂相比，本发明的某些寡核苷酸抑制剂在CNS的细胞中（如外周单核细胞或小胶质细胞）可以显示出对miR-155的活性或功能更强的抑制。术语“其他miR-155抑制剂”包括抑制miR-155的表达或活性的核酸抑制剂如反义寡核苷酸、反义miR、antagomiR、mixmer、gapmer、适体、核酶、小干扰RNA或小发夹RNA；其抗体或抗原结合片段；和/或药物。可能的是，与本发明的其他寡核苷酸抑制剂相比，本发明的特定寡核苷酸抑制剂在CNS细胞中可以显示出对miR-155更强的抑制。在本申请中使用的术语“更强”指在数量上更多或统计学上更显著。

[0057] 施用本发明的寡核苷酸抑制剂在对象的细胞中上调miR-155靶基因的表达或活性。miR-155的靶基因包括但不限于：IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2nl、1810011010Rik、Fads1、Cux1、Ap3d1、X99384、Olfml3、Mafk、Csflr、Tgfbr2、Bach1、Sal11、Rapgef5、CEBPB、CCnd1、Msr1、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2。在一个实施方式中，本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS的细胞中上调miR-155的至少4个靶基因的表达或活性。在一些实施方式中，被本发明的寡核苷酸上调的靶基因包括IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2nl、Sal11、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2。在另一个实施方式中，本发明的寡核苷酸抑制剂上调CNS的细胞中的稳态基因的表达或活性。本发明包括使用4个或更多个基因表达的变化（基因表达标记）或稳态基因表达的变化作为确定miR-155抑制剂的活性的方法。在一些实施方式中，在施用本发明的寡核苷酸抑制剂后，miR-155靶基因的表达或活性改变约1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍或8倍，包括其间的值。在一个实施方式中，在施用本发明的寡核苷酸抑制剂后，miR-155靶基因的表达或活性改变约2倍、3倍、4倍或5倍，包括其间的值。

[0058] 在一个实施方式中，与其他miR-155抑制剂相比，本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS细胞中显示出对miR-155靶基因更大的上调。在一些实施方式中，与其他miR-155抑制剂相比，本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS的细胞中显示出对miR-155的至少4个靶基因更大的上调。在一些其他实施方式中，与其他miR-155抑制剂相比，本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS的细胞中显示出对稳态基因更大的上调。在一个实施方式中，与其他miR-155抑制剂相比，本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS细胞中对选自下组的一个或多个基因的表达或活性显示出更大的上调：IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2nl、Sal11、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2。在另一个实施方式中，与其他miR-155抑制剂相比，本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS细胞中显示出对稳态基因的活性或功能更大的上调。在不同实施方式中，“更大的上调”包括与其他miR-155抑制剂相比，miR-155靶基因的表达或活性为约2倍、3倍、4倍或5倍，包括其间的值。

[0059] 在一些实施方式中，本发明的寡核苷酸抑制剂降低或抑制CNS的炎性细胞的活性。已发现，包括小胶质细胞在内的非神经元细胞的炎症有助于在ALS中的神经元死亡（Boillee等人，2006；Nagai等人，2007）。术语“CNS炎性细胞的活性”指由CNS的单核细胞和小胶质细胞介导的一种或多种炎性应答。炎性应答包括但不限于细胞因子和/或趋化因子的分泌，免疫系统细胞（如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞）向发炎区域的趋化、迁移或浸润，吞噬作用、活性氧物质和一氧化氮的释放等。在一个实施方式中，本发明的寡核苷酸抑制剂通过下调由诸如单核细胞和小胶质细胞的细胞介导的炎性应答下调CNS炎性细胞的活

性。例如,在一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂下调循环单核细胞迁移或募集进入患有神经炎症的对象的脊髓。在另一个实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂下调由CNS的单核细胞、巨噬细胞和/或小胶质细胞产生的炎性因子,如TNF α 、IL-1 β 、IL-6。

[0060] 已知的是,根据局部组织环境,单核细胞、巨噬细胞和小胶质细胞能够分化/极化成M1(促炎性/组织破坏性)或M2(抗炎性/组织保护性)表型。在一个实施方式中,本发明的寡核苷酸抑制剂在CNS的细胞中上调引导单核细胞、巨噬细胞和小胶质细胞向M2/组织保护性表型极化的基因的表达或活性。

[0061] 本发明提供了用于在有此需要的对象中治疗神经系统疾病的方法,所述方法包括向对象施用根据本发明的miR-155的寡核苷酸抑制剂。施用寡核苷酸抑制剂后,在对象CNS细胞中的miR-155的活性或功能降低。在一个实施方式中,用于治疗神经系统疾病的方法包括向对象施用miR-155的寡核苷酸抑制剂,所述miR-155的寡核苷酸抑制剂包含11至16个核苷酸的序列,其中寡核苷酸抑制剂与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及其中从寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核酸(DNA)核苷酸。在又一个实施方式中,从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的第6个核苷酸也是DNA核苷酸。根据本发明能够治疗的神经系统疾病肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)、多发性硬化症(MS)、阿尔茨海默氏症(AD)、日本脑炎病毒(JEV)诱导的神经炎症、酒精诱导的神经炎症、包括创伤性脑损伤在内的急性和慢性中枢神经系统(CNS)损伤、自身免疫性脑脊髓炎、帕金森氏病(PD)、亨廷顿病(HD)、脑中风,脑肿瘤、心脏缺血、年龄相关的黄斑变性(AMD)、色素性视网膜炎(RP)和神经性疼痛。在某些实施方式中,用于治疗神经系统疾病的方法包括施用具有SEQ ID NO:23所示序列的寡核苷酸抑制剂。

[0062] 本发明还包括通过施用根据本发明的miR-155的寡核苷酸抑制剂在有此需要的对象中治疗或改善神经炎症的方法。施用寡核苷酸抑制剂后,在对象的CNS细胞中miR-155的活性或功能降低。需要治疗神经炎症的对象可能患有神经系统疾病或处于患有神经系统疾病的风险中,如ALS、多发性硬化症、阿尔茨海默氏症、日本脑炎病毒诱导的神经炎症、酒精诱导的神经炎症、包括创伤性脑损伤在内的急性和慢性中枢神经系统损伤、自身免疫性脑脊髓炎、帕金森氏病、亨廷顿病、脑中风,脑肿瘤、心脏缺血、年龄相关的黄斑变性、色素性视网膜炎和神经性疼痛。

[0063] 在一个实施方式中,本发明提供了用于在神经系统疾病中降低或抑制炎性细胞的活性的方法,所述方法包括施用本发明的寡核苷酸抑制剂。施用寡核苷酸抑制剂后,在中枢神经系统(CNS)的炎性细胞中miR-155的活性或功能降低。施用本发明的寡核苷酸抑制剂可以下调多种炎性细胞的活性,如细胞因子和/或趋化因子的分泌,免疫系统细胞(如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞)向发炎区域的趋化、迁移或浸润,吞噬作用、活性氧物质和一氧化氮的释放等。在一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂通过下调炎性细胞募集或迁移进入脊髓降低或抑制炎性细胞的活性。在另一个实施方式中,寡核苷酸抑制剂通过下调参与M1/促炎性/组织破坏性表型的基因的表达和/或上调参与M2/抗炎性/组织保护性表型的基因的表达降低或抑制炎性细胞的活性。

[0064] 优选地,向对象施用本发明的寡核苷酸抑制剂导致与神经系统疾病相关的一种或多种症状或病状的改善。例如,在一个实施方式中,向患有ALS的患者施用本发明的寡核苷

酸抑制剂减轻了腿、手、肩、臂和其他身体部位的肌肉无力；减轻肌肉痉挛；改善言语(speech)；改善行走能力等。在一个实施方式中，施用本发明的寡核苷酸抑制剂减轻CNS中存在的神经元炎症。

[0065] 如在本申请中所使用的，术语“对象”或“患者”指任意脊椎动物，包括但不限于人和其他灵长类(例如，黑猩猩以及其他猿和猴类)、农场动物(例如，牛、绵羊、猪、山羊和马)、家养哺乳动物(例如，狗和猫)、实验室动物(例如，啮齿动物如小鼠、大鼠和豚鼠)以及鸟(例如，家禽、野生的和猎鸟，如鸡、火鸡和其他鹌鸡类、鸭、鹅等)。在一些实施方式中，对象是哺乳动物。在其他实施方式中，对象是人。

[0066] 可以通过向细胞递送编码miR-155寡核苷酸抑制剂的表达载体向靶细胞(例如，单核细胞)递送本申请所述的任意miR-155的寡核苷酸抑制剂。“载体”是能够用于将目标核酸向细胞内部递送的物质的组合物。多种载体是本领域公知的，包括但不限于：线性多核苷酸、与离子或两亲性化合物结合的多核苷酸、质粒和病毒。因而，术语“载体”包括自主复制的质粒或病毒。病毒载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体等。在一个特定的实施方式中，病毒载体是慢病毒载体或腺病毒载体。表达构建体可以在活细胞中复制，或者可以合成制备。对于本申请的目的而言，术语“表达构建体”、“表达载体”和“载体”可以互换使用以显示在通常情况下本发明的应用，其具有说明性的意义，并且并非旨在限制本发明。

[0067] 在一个实施方式中，用于表达miR-155的寡核苷酸抑制剂的表达载体包含与编码寡核苷酸抑制剂的多核苷酸序列可操作地连接的启动子。在本申请中使用的短语“可操作地连接”或“在转录控制下”指启动子相对于多核苷酸处于正确的位置和方向以控制通过RNA聚合酶的转录起始和多核苷酸的表达。

[0068] 如在本申请中使用的，“启动子”指由启动基因特异性转录所需的细胞合成机制或引入合成机制识别的DNA序列。适宜的启动子包括但不限于RNA pol I、pol II、pol III和病毒启动子(例如，人巨细胞病毒(CMV)立即早期基因启动子、SV40早期启动子和劳斯肉瘤病毒长末端重复序列)。在一个实施方式中，启动子是单核细胞特异性启动子，如CD14启动子、CD68启动子等。在另一个实施方式中，启动子是小胶质细胞特异性启动子，如CX3CR1启动子、F4/80启动子等。

[0069] 在某些实施方式中，与编码miR-155的寡核苷酸抑制剂的多核苷酸可操作地连接的启动子可以是诱导型启动子。诱导型启动子是本领域公知的并且包括但不限于四环素启动子、金属硫蛋白IIA启动子、热激启动子、类固醇/甲状腺激素/视黄酸应答元件、腺病毒晚期启动子和诱导型小鼠乳腺肿瘤病毒LTR。

[0070] 向细胞递送表达构建体和核酸的方法是本领域公知的并且可以包括例如磷酸钙共沉淀、电穿孔、显微注射、DEAE-葡聚糖、脂转染、使用聚胺转染试剂的转染、细胞超声、使用高速微弹的基因轰击以及受体介导的转染。

[0071] 本发明还提供了用于诊断神经系统疾病(例如，ALS)的方法以及用于监测正在进行神经系统疾病治疗的患者的临床状态的方法。例如，本发明显示了与对照处理的细胞相比，施用本发明的反义miR-155化合物在从SOD1小鼠(ALS小鼠模型)分离的小胶质细胞中上调或下调独特的一组基因。本发明考虑使用基于该独特的一组基因的基因表达标记诊断ALS以及监测使用miR-155抑制剂治疗的ALS的进展。

[0072] 例如,在一个实施方式中,本发明提供了用于选择治疗ALS或神经炎症的对象的方法,所述方法包括确定选自下组的一个或多个基因在对象CNS细胞中的表达水平:IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2n1、1810011010Rik、Fads1、Cux1、Ap3d1、X99384、Olfml3、Mafk、Csflr、Tgfbr2、Bach1、Sal11、Rapgef5、CEBPB、CCnd1、Msrl、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2;将一个或多个基因在对象CNS细胞中的水平与一个或多个基因的对照水平进行比较;以及选择与对照水平相比一个或多个基因在CNS细胞中的水平升高或降低的对象治疗ALS或神经炎症。在一个实施方式中,用于选择治疗ALS或神经炎症的对象的方法包括确定选自下组的至少4个基因在对象CNS细胞中的水平:IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2n1、Sal11、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2,将其与相同基因的对照水平进行比较。在某些实施方式中,用于选择治疗ALS或神经炎症的对象的方法包括确定选自下组的至少4个基因在对象CNS细胞中的水平:IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2n1、Sal11、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2,将其与相同基因的对照水平进行比较;以及选择与对照水平相比所选择基因的水平至少降低2倍的对象治疗ALS或神经炎症。在一个实施方式中,CNS细胞可以通过获取对象的脑脊液(CSF)获得。在一个实施方式中,对照水平是在对照寡核苷酸处理的细胞中相同基因的表达水平。在另一个实施方式中,对照水平是在来自健康对象中的相同基因的表达水平(例如,不存在2种或多种神经退行性病症症状的对象,未被诊断为神经退行性病症的对象和/或无神经退行性疾病家族史的对象)。

[0073] 本发明还提供了用于评估使用反义miR-155化合物治疗的效能的方法,所述方法包括在使用反义miR-155化合物治疗前确定在对象的细胞中一个或多个基因的表达水平,其中所述一个或多个基因选自在CNS细胞中被调节的一组基因,例如,IL7r、Tlr6、Mef2a、Inpp5d、Cttnbp2n1、Sal11、Jarid2、Mr1、Gnas和Mecp2;确定在使用反义miR-155化合物治疗后在对象的细胞中相同的一个或多个基因的表达水平;以及根据治疗前后的表达水平确定治疗是有效的、不太有效的或无效的。也就是说,在一个实施方式中,将本申请公开的响应于反义miR-155化合物而上调或下调的靶基因作为反义miR-155治疗临床有效性的生物标记物。

[0074] 本发明还提供了包含本申请公开的miR-155的寡核苷酸抑制剂和药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。在一个实施方式中,药物组合物包含有效剂量的miR-155的寡核苷酸抑制剂,所述miR-155的寡核苷酸抑制剂具有11至16个核苷酸的序列,其中寡核苷酸抑制剂与miR-155的成熟序列完全互补并且具有完整的硫代磷酸酯骨架;以及其中从寡核苷酸抑制剂的3'末端起的至少前三个核苷酸是锁核苷酸和从寡核苷酸抑制剂的5'末端起的至少第二个核苷酸是脱氧核糖核苷酸(DNA)核苷酸。在某些实施方式中,药物组合物包含有效剂量的具有SEQ ID NO:23所示序列的寡核苷酸抑制剂。在又一个实施方式中,药物组合物包含寡核苷酸抑制剂,所述寡核苷酸抑制剂具有选自表1中所列序列的序列。

[0075] “有效剂量”是足以实现有益的或所期望的临床结果的量。本发明的miR-155寡核苷酸抑制剂的有效剂量可以从约1mg/kg至约100mg/kg、约2.5mg/kg至约50mg/kg或约5mg/kg至约25mg/kg。可以根据每名患者的个体因素,包括其体格、年龄、病症类型和抑制剂的形式(例如,裸寡核苷酸或表达构建体等)精确地确定怎样才算是有效剂量。因此,因此,根据本公开内容及本领域中的知识,本领域普通技术人员可以容易地确定剂量。在考虑临床应用的情况下,药物组合物将以适合预期应用的形式制备。在通常情况下,这将需要制备基本

上不含热源以及可能对人或动物有害的其他杂质的组合物。

[0076] 可以将本发明的药物组合物配制成为用于向中枢神经系统全身或局部(直接递送)递送寡核苷酸抑制剂。由于存在血脑屏障,因而将药物/组合物递送进入中枢神经系统(CNS)是具有挑战性的。已使用多种药物递送策略改善活性剂穿过血脑屏障(BBB)向CNS的递送。例如,为了向CNS递送全身施用的活性剂,可以使用胶体药物纳米载体(即,胶束、脂质体和纳米颗粒),通过将其包封在纳米载体内部而掩盖其固有的物理化学特性而使非可运输性(non-transportable)药物穿过BBB。近年来,已将来自脑毛细血管内皮的内源性转运蛋白(如受体转运蛋白、载体转运蛋白和活性外排转运蛋白)作为配体并将其引入纳米载体系统以提高递送效力。本发明包含通过这些和其他本领域公认的技术制备的药物组合物以便向CNS递送本发明的寡核苷酸抑制剂。

[0077] 在一个实施方式中,可以将诸如大分子复合物、纳米囊、微球、小珠的胶体分散系统以及包括水包油乳剂、胶束、混合胶束和脂质体在内的基于脂质的系统作为本发明的寡核苷酸抑制剂或表达其的构建体的递送载体。可适于递送本发明的核酸的市售脂肪乳剂包括Intralipid®、Liposyn®、Liposyn® II、Liposyn® III、Nutrilipid和其他类似的脂质乳剂。用于作为体内递送载体的优选胶体系统是脂质体(即人工膜囊泡)。此类系统的制备和使用是本领域熟知的。在US 5,981,505;US 6,217,900;US 6,383,512;US 5,783,565;US 7,202,227;US 6,379,965;US 6,127,170;US 5,837,533;US 6,747,014以及W003/093449中还公开了示例性的处方,其全部内容通过引用并入本申请。

[0078] 在某些实施方式中,用于递送的脂质体是两亲性脂质体如SMARTICLES®(Marina Biotech, Inc.),在美国授权前公开号20110076322中对其进行了详细描述。SMARTICLES®上的表面电荷是完全可逆的,这使得其特别适于递送核酸。SMARTICLES®能够通过注射递送,其仍是稳定并且不产生聚集以及穿过细胞膜递送核酸。

[0079] 在其他实施方式中,可以通过脑室内(ICV)注射/输注入脑脊液(CSF)、鞘内注射、硬膜外注射、使用导管通过对流增强递送(CED)将药物溶液实质内输注进入脑实质以及将可生物降解的药物递送载体直接植入脑实质中直接向中枢神经系统施用本发明的药物组合物。在由C.Lei和C.Wang在期刊Controlled Release Topic Collection:Central Nervous System Drug Delivery Volume 2, Issue 2上发表题为“Central Nervous System Drug Delivery”的文章中公开了向CNS递送活性剂的多种途径,其全部内容通过引用并入本申请。

[0080] 人们通常希望使用适宜的盐和缓冲剂以使得递送载体稳定并能够被靶细胞摄取。本发明的药物组合物包含有效量的递送载体,所述递送载体包含溶解或分散在药学上可接受的载体或水性基质中的抑制剂多核苷酸(例如,脂质体或其他复合物或表达载体)。短语“药学上可接受的”或“药理学上可接受的”指当向动物或人施用时不产生不利的、过敏的或其他不良反应的分子实体和组合物。如在本申请中使用的,“药学上可接受的载体”包括适于在配制药剂(如适于向人施用的药物)中使用的溶剂、缓冲剂、溶液、分散介质、涂层、抗菌剂和抗真菌剂、等张剂和吸收延迟剂等。此类介质和试剂用于药物活性物质的用途是本领域熟知的。除了任意常规介质或试剂与本发明的活性成分不相容以外,其在治疗组合物中的用途是能够预期的。也可以将补充活性成分加入组合物中,条件是其不会使组合物的载

体或多核苷酸失活。

[0081] 适于注射使用的药物形式包括例如无菌水溶液或分散剂和用于临时制备无菌可注射溶液或分散剂的无菌粉末。在通常情况下,这些制剂是无菌的并且是达到以易于注射程度存在的流体。制剂在生产和储存条件下应保持稳定,并应防止细菌和真菌等微生物的污染。适当的溶剂或分散介质可以包括例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液态聚乙二醇等)及其适宜的混合物以及植物油。可以例如通过使用包衣材料(如卵磷脂)在分散剂的情况下通过维持需要的颗粒尺寸及通过使用表面活性剂来维持适当流动性。可以通过各种抗细菌和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等)来预防微生物的作用。在许多情况下,会优选包括例如糖或氯化钠的等张剂。可以通过在组合物中使用吸收延迟剂(例如,单硬脂酸铝和明胶)来延长可注射组合物的吸收。

[0082] 可以通过将适量活性化合物与所需要的任意其他成分(例如如上面所列举的)一起加入溶剂中,随后过滤灭菌制备无菌可注射溶液。在通常情况下,通过将各种灭菌的活性成分加入含有碱性分散介质和所需的其他成分(例如如上面所列举的)的无菌载体中制备分散剂。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法包括真空干燥和冷冻干燥技术,其产生活性成分及来自其先前无菌过滤溶液的任何其他所需成分的粉末。

[0083] 通常可以将本发明的组合物以中性或盐形式制剂。药学上可接受的盐包括例如,来自无机酸(例如,盐酸或磷酸)或来自有机酸(例如,乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等)的酸加成盐(与蛋白的游离氨基基团形成)。与蛋白游离羧基基团形成的盐还可以来自无机碱(例如,钠、钾、铵、钙或铁的氢氧化物)或来自有机碱(例如,异丙胺、三甲胺、组氨酸普鲁卡因等)。

[0084] 配制后,组合物优选以剂型相容的方式和以其量是治疗有效的施用。可以以多种剂型容易地施用制剂,如可注射溶液、口服延迟释放剂型等。对于在水溶液中的胃肠外施用而言,例如,溶液通常适宜地缓冲并且首先使液体稀释剂等张,例如使用足量的盐水或葡萄糖。此类水溶液可以用于例如静脉内、肌内、皮下和皮内施用。优选地,采用本领域技术人员公知的无菌水性介质,特别是根据本公开的内容。根据所治疗对象的病况,必然会发生一些剂量变化。在任何情况下,负责施用的人员将决定适合于个体对象的剂量。而且,对于向人体内施用,制剂应当满足主管机关要求的无菌性、致热原性、总体安全性和纯度标准。

[0085] 在本发明的某些实施方式中,本发明的药物组合物与用于施用的装置一起包装或储存。用于可注射制剂的装置包括但不限于注射口、自动注射器、注射泵和注射笔。用于雾化或粉末制剂的装置包括但不限于吸入器、吹入器、抽吸器等。因此,本发明包括施用装置,所述施用装置包含用于治疗或预防本申请所述的一种或多种病症的本发明的药物组合物。

[0086] 通过下述附加的实施例对本发明进行进一步说明,其不应被解释为限制。根据本公开,本领域技术人员应当意识到,在不脱离本发明的精神和范围的前提下,可以对所公开的特定实施方式进行很多改变,并且仍能获得相同或相似的结果。

[0087] 针对所有目的的,本申请通篇引用的所有专利和非专利文档其全部内容通过引用并入本申请。

[0088] 实施例

[0089] 实施例1:反义miR-155化合物对在人单核细胞中两种直接种子匹配靶点(Cux1和

CEBPB) 表达的影响

[0090] 通过核转染向MV4-11人单核细胞递送反义miR-155化合物。通过实时PCR测量与未经处理的细胞相比2个直接种子匹配靶点 (Cux1和CEBPB) 的调节情况。标记化合物显示了对所分析的2个靶点的最高调节情况(图1)。

[0091] 实施例2:通过小胶质细胞对反义miR-155化合物的被动摄取上调miR-155靶基因的表达

[0092] 将从成年SOD1小鼠中分离的小胶质细胞在含有终浓度为1 μ M的反义miR-155化合物 (SEQ ID NO:21、23、25、26和3) 的培养基中被动孵育。通过实时PCR测量了在使用反义miR-155化合物被动处理的细胞中和未经处理的细胞中2个直接种子匹配靶点 (8个、7个和6个核苷酸的结合位点) CSF1R和OLFML3的表达情况(图2)。

[0093] 实施例3:向SOD1小鼠施用反义miR-155化合物在小胶质细胞中上调miR-155靶基因的表达

[0094] 以2mg/kg的剂量通过单次脑室内 (i.c.v.) 注射向SOD1小鼠 (每个治疗组n=6-8只小鼠) 施用6个反义miR-155化合物 (SEQ ID NO:27、21、22、23、25、26和3)。注射5天后,通过细胞分选分离小胶质细胞,并且通过Nanostring编码集收集用于基因表达的mRNA。预测的或经验证的miR-155种子匹配靶点的基因表达谱的热图如图3中所示。热图显示了对每种反义miR-155化合物产生应答的每个基因的log10倍数变化vs生理盐水(在给定治疗组中的所有动物的平均值)。在选择该基因标记时未使用统计学切割。具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:3的反义miR-155化合物显示出直接miR-155靶点最大数量的去阻遏。

[0095] 对Nanostring基因表达编码集进行进一步分析并且选择在 ≥ 4 只小鼠中被 ≥ 2 个反义miR-155化合物上调的一组直接靶基因代表反义miR活性的基因表达标记。图4显示了每个反义miR-155化合物的该基因表达标记的倍数变化结果。通过Mann-Whitney非参数检验得出,具有SEQ ID NO:23和3的反义miR化合物对这组靶点显示出显著的上调。

[0096] Nanostring基因表达编码集中注释了在SOD1小鼠中下调,但是其表达在miR-155敲除小鼠中出现一定程度的恢复的小胶质细胞稳态基因。针对每个反义miR-155化合物计算在该集合中每个基因对比生理盐水的平均倍数变化,以及使用log10倍数变化产生热图(图5)。具有SEQ ID NO:23和3的反义miR-155化合物恢复了该基因集合中最高数量基因的表达。具有SEQ ID NO:25的反义miR-155化合物也显示出了对这些基因靶点去阻遏的趋势。

[0097] 从上文所述的小胶质细胞稳态基因集合中,选出在 ≥ 4 只小鼠中被 ≥ 2 个反义miR-155化合物上调的一组直接靶基因代表反义miR活性的基因表达标记。图6显示了每个反义miR-155化合物的该基因表达标记的倍数变化结果。通过Mann-Whitney非参数检验得出,具有SEQ ID NO:23和3的反义miR化合物对这组稳态基因靶点显示出显著的上调。具有SEQ ID NO:25的反义miR-155化合物也显示出了对该基因表达标记去阻遏的趋势。

序列表

<110> 米拉根医疗股份有限公司

布里格姆及妇女医院股份有限公司

Jackson, Aimee

Dalby, Christina

Weiner, Howard L.

Butovsky, Oleg

<120> 治疗肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 的MIR-155抑制剂

<130> MIRG-052/01W0 308934-2517

<150> US 62/171,743

<151> 2015-06-05

<160> 28

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 23

<212> RNA

<213> 智人

<400> 1

uuaaugcuua ucgugauagg ggu 23

<210> 2

<211> 22

<212> RNA

<213> 智人

<400> 2

cuccuacaua uuagcauuaa ca 22

<210> 3

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> miR-155-5p寡核苷酸抑制剂

<220>

<221> misc_feature

<222> (1) .. (16)

<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的

<220>

<221> 修饰的碱基

<222> (1) .. (1)

<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 3
atcacgatta gcatta 16
<210> 4
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>

<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 4
atcacgatta gcatta 16
<210> 5
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷

<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 5
atcacgatta gcatta 16
<210> 6
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)

<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 6
atcacgatta gcatta 16
<210> 7
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 7
atcacgatta gcatta 16
<210> 8
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>

<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷

<400> 8
atcacgatta gcatta 16
<210> 9
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)

<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 9
atcacgatta gcatta 16
<210> 10
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 10
atcacgatta gcatta 16
<210> 11
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>

<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 11
atcacgatta gcatta 16
<210> 12
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷

<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 12
atcacgatta gcatta 16
<210> 13
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 13
atcacgatta gcatta 16
<210> 14
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (16)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>

<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (16) .. (16)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 14
atcacgatta gcatta 16
<210> 15
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷

<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 15
tcacgattag catta 15
<210> 16
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)

<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 16
tcacgattag catta 15
<210> 17
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 17
tcacgattag catta 15
<210> 18
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>

<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 18
tcacgattag catta 15
<210> 19
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂

<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (13) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)

<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 19
tcacgattag catta 15
<210> 20
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 20
tcacgattag catta 15
<210> 21
<211> 11
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (11)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>

<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 21
gattagcatt a 11
<210> 22
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (12)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷

<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 22
cgattagcat ta 12
<210> 23
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (12)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)

<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 23
cgattagcat ta 12
<210> 24
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (14)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 24
cacgattagc atta 14
<210> 25
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>

<221> misc_feature
<222> (1) .. (14)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (9) .. (9)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (13)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 25
cacgattagc atta 14
<210> 26
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂

<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (15)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是5-甲基胞嘧啶
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (6)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (7) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (10) .. (10)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (11) .. (11)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (12) .. (12)

<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (14) .. (14)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (15) .. (15)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 26
tcacgattag catta 15
<210> 27
<211> 8
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> miR-155-5p的寡核苷酸抑制剂
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (8)
<223> 可能是通过硫代磷酸酯键连接的
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (1) .. (1)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (2) .. (2)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (3) .. (3)
<223> 可能是锁定核酸鸟嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4) .. (4)
<223> 可能是锁定核酸胞嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基

<222> (5) .. (5)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (6) .. (7)
<223> 可能是锁定核酸胸腺嘧啶核苷
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (8) .. (8)
<223> 可能是锁定核酸腺嘌呤核苷
<400> 27
tagcatta 8
<210> 28
<211> 23
<212> RNA
<213> Mus sp.
<400> 28
uuaaugcuaa uugugauagg ggu 23

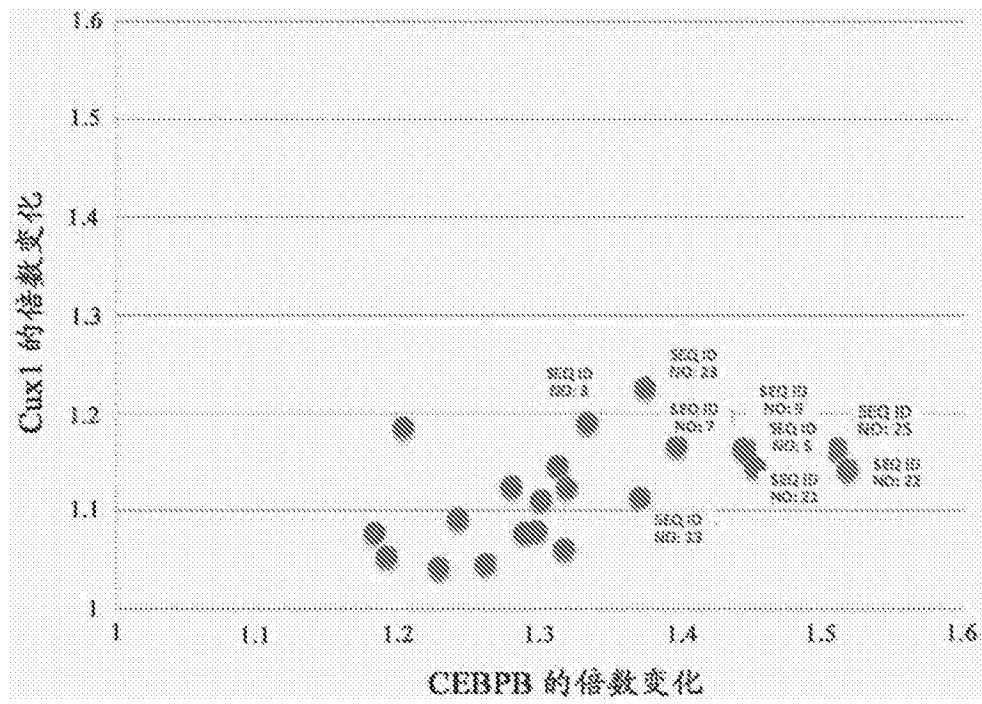


图1

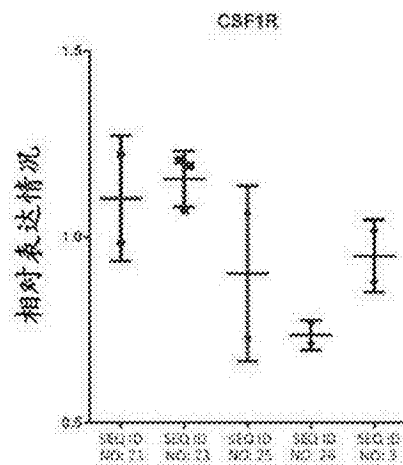


图2A

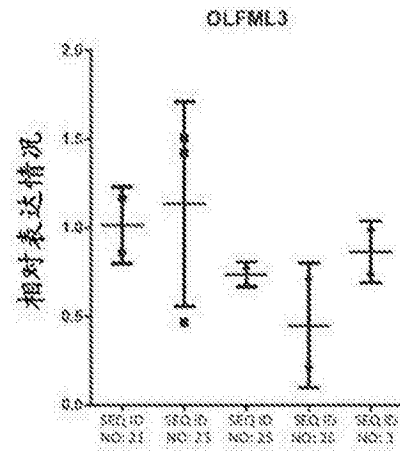


图2B

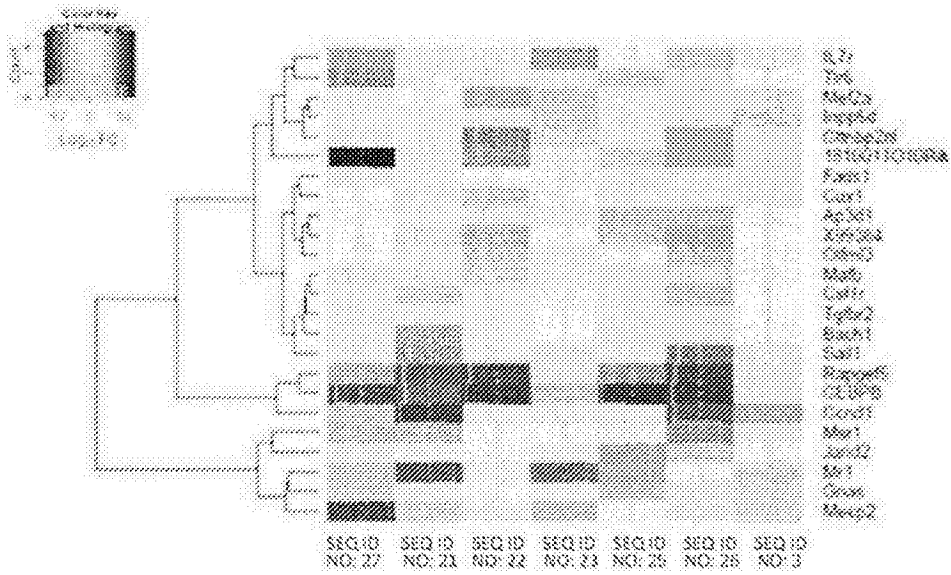


图3

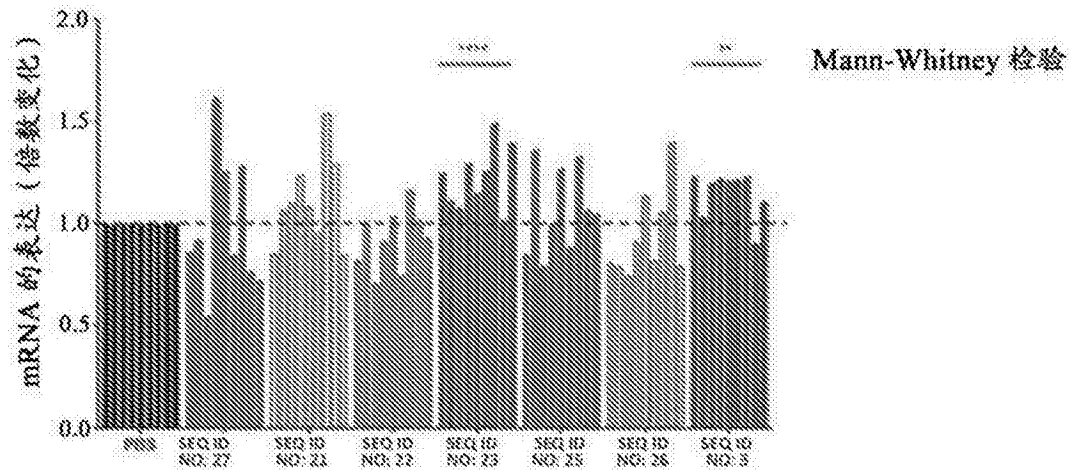


图4

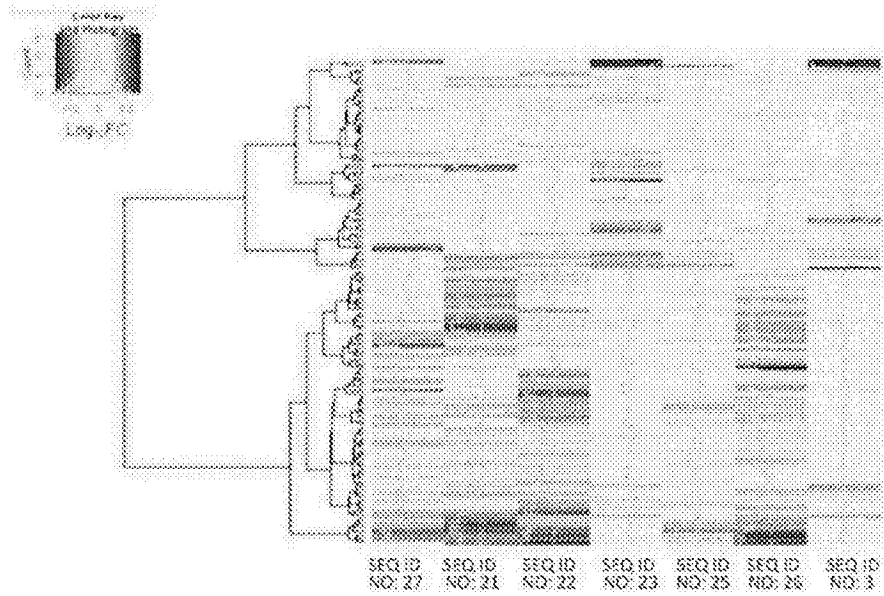


图5

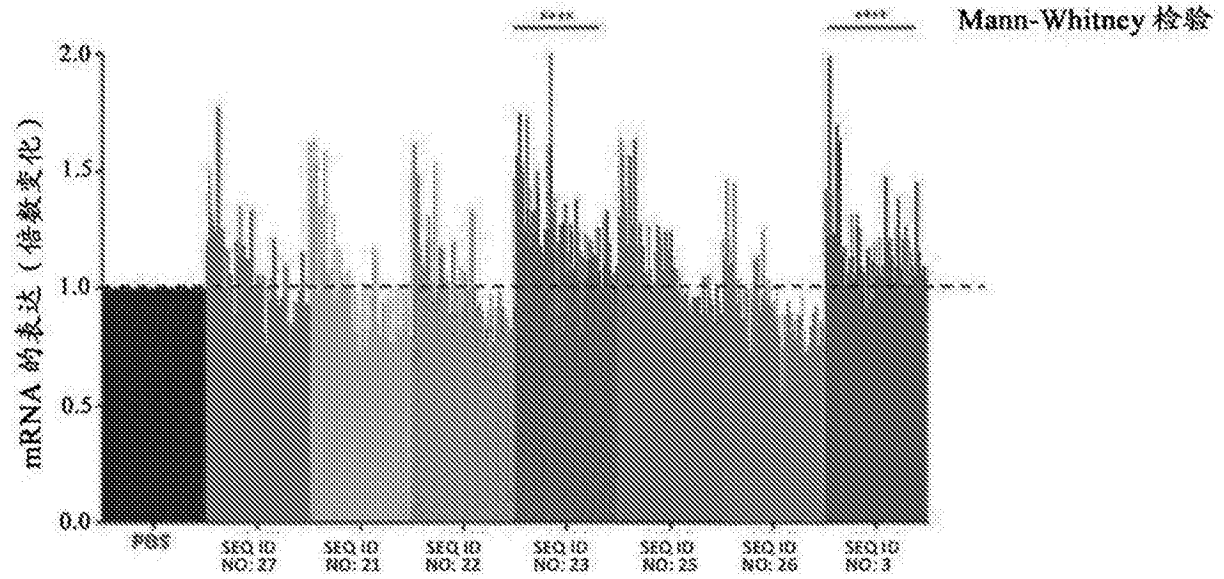


图6