



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104450691 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 25

(21) 申请号 201410657828. 4

(22) 申请日 2010. 04. 30

(30) 优先权数据

09006028. 6 2009. 04. 30 EP

10000635. 2 2010. 01. 22 EP

(62) 分案原申请数据

201080025093. 3 2010. 04. 30

(71) 申请人 诺松制药股份公司

地址 德国柏林

(72) 发明人 S·塞尔 F·莫里希 C·马什

S·克卢斯曼 N·丁斯 K·布赫纳

F·施沃布尔

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 傅宇昌

(51) Int. Cl.

C12N 15/11(2006. 01)

权利要求书1页 说明书74页

序列表48页 附图21页

(54) 发明名称

结合海帕西啉的核酸

(57) 摘要

本发明涉及能够结合海帕西啉 (hepcidin) 的核酸。

1. 能够结合海帕西啉的L-核酸,其中所述核酸由根据SEQ ID No. 115、SEQ ID No. 117、SEQ ID No. 118、SEQ ID No. 119 和 SEQ ID No. 121 中任一个的核酸序列组成。
2. 根据权利要求 1 的核酸,其中所述核酸包含修饰基团,其中所述修饰基团为由直链或支化的聚乙二醇组成的聚乙二醇部分,其中所述聚乙二醇部分的分子量为 40,000Da。
3. 根据权利要求 2 的核酸,其中所述修饰基团经由连接体偶联至所述核酸。
4. 根据权利要求 2 的核酸,其中所述修饰基团偶联至所述核酸的 5' - 末端核苷酸或 3' - 末端核苷酸。

结合海帕西啉的核酸

[0001] 本申请是申请日为 2010 年 4 月 30 日、申请号为 201080025093.3、发明名称为“结合海帕西啉的核酸”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 本发明涉及结合海帕西啉的核酸及其分别用于制备药剂 (medicament)、诊断剂和检测剂的用途。

[0003] 海帕西啉 (hepcidin) 的一级结构 (HEPC-HUMAN, SwissProt 条目 P81172) 于 2000 年得到测定 (Krause, 2000)。另一个研究抗微生物肽的团队独立地发现了海帕西啉 (Park, 2001)。该蛋白质的异名为“肝脏表达的抗微生物肽 (liver-expressed antimicrobial peptide)” (缩写: LEAP-1) 和“推定的肝脏肿瘤抑制物 (Putative liver tumour regressor)” (缩写: PLTR)。海帕西啉为富含半胱氨酸的阳离子肽, 并且由 25 个氨基酸组成, 从而导致 2,790 道尔顿的分子量。该 8 个半胱氨酸形成 4 个二硫键, 并且赋予该分子以稳定且刚性的结构。

[0004] 通过 NMR 分析测定了海帕西啉的三级结构 (Hunter, 2002)。该蛋白质由扭曲的 β -折叠片组成, 其中在发夹的转弯处发现有不常见的邻位二硫桥 (Hunter, 2002)。

[0005] 来自不同哺乳动物物种的海帕西啉的氨基酸序列在进化过程中通常是非常保守的。人海帕西啉与来自下列物种的海帕西啉共享如下的相同氨基酸的百分比:

[0006]

- 猕猴 (<i>Macaca mulatta</i>) (恒河猴)	100%
- 食蟹猕猴 (<i>Macaca fascicularis</i>) (食蟹猴)	100%
- 欧洲野猪 (<i>Sus scrofa</i>) (猪)	84%
- 小家鼠 (<i>Mus musculus</i>) (小鼠)	76%
- 褐家鼠 (<i>Rattus norvegicus</i>) (大鼠)	68%。

[0007] 除了由 25 个氨基酸组成的具有生物活性的海帕西啉 (也称为海帕西啉-25) 之外, 还鉴定出了两个具有 20 和 22 个氨基酸的截短的无活性变体: 海帕西啉-20 和海帕西啉-22 (Rivera, 2005)。所有这些肽是基于人和大鼠中的 84 个氨基酸的前肽原以及小鼠中的 83 个氨基酸的前肽原而产生的 (Pigeon, 2001)。所述 84 个氨基酸的海帕西啉前肽原包含被移除的典型的靶向内质网的 24-氨基酸信号肽, 以及用于激素原转变酶弗林蛋白酶的共有切割位点 (Valore, 2008)。这些加工步骤产生具有活性的 25 个氨基酸的肽激素, 其在血液和尿中被发现。

[0008] 海帕西啉为调节铁体内稳态的关键信号。高水平的人海帕西啉导致降低的血清铁水平, 而低水平导致增加的血清铁水平, 如在海帕西啉缺乏和海帕西啉过表达的小鼠模型中所显示的 (Nicolas, 2001; Nicolas, 2002; Nicolas, 2003)。此外, 导致海帕西啉活性缺乏的海帕西啉基因中的突变与青少年血色素沉着症 (其为一种严重的铁超负荷疾病) 有关 (Roetto, 2003)。在腹膜内注射海帕西啉后, 观察到剂量依赖性的且长期持续的血清铁降低 (Rivera, 2005)。

[0009] 铁是所有活的生物体的生长和发育所需的必需元素。哺乳动物中的铁含量通过控

制铁吸收、铁再循环和从储存铁的细胞中铁的释放来进行调节。铁主要在十二指肠和上段空肠中由肠细胞吸收。

[0010] 反馈机制增强铁缺乏的个体中的铁吸收,并且减少具有铁超负荷的个体中的铁吸收。该机制的关键化合物为铁转运蛋白“膜铁转运蛋白(ferroportin)”,其也作为海帕西啉受体(Abboud, 2000 ;Donovan, 2000 ;McKie, 2000)。膜铁转运蛋白为在小鼠、大鼠和人之间具有 90% 的氨基酸序列同一性的 571 个氨基酸的蛋白质,其控制铁的释放(McKie, 2000)。该主要的铁输出蛋白位于胎盘合胞滋养层和肠细胞的基底膜上,以及位于巨噬细胞和肝细胞的细胞表面上。

[0011] 海帕西啉通过与在上面提及的细胞类型上表达的膜铁转运蛋白结合而抑制铁从这些不同细胞类型中释放,并且引起膜铁转运蛋白的磷酸化、内在化、遍在化(ubiquitylation)和溶酶体降解,由此减少由膜铁转运蛋白介导的铁向血液中的释放(Nemeth, 2004 ;De Domenico, 2007)。当血浆铁持续被消耗以用于血红蛋白合成时,在健康受试者中血浆铁水平降低且海帕西啉产生减弱。

[0012] 在急性和慢性全身性炎症的情况下,细胞因子诱导海帕西啉产生。已经观察到,海帕西啉基因表达在炎症刺激(例如感染)后显著增加,所述炎症刺激诱导脊椎动物先天免疫系统的急性期应答。在小鼠中,海帕西啉基因表达显示出被脂多糖(Constante, 2006)、松节油(Nemeth, 2004)和弗氏完全佐剂(Frazer, 2004),以及腺病毒感染上调。在人中,海帕西啉表达由炎性细胞因子白介素-6 和 LPS 所诱导(Nemeth, 2004)。在具有慢性炎症性疾病(包括细菌、真菌和病毒感染)的患者中也发现海帕西啉表达和炎症性贫血之间的强烈的相关性。在所有这些状况下,增加的海帕西啉浓度抑制铁从巨噬细胞、肝脏储存和十二指肠流出到血浆中。在慢性炎症的状况下,血铁过少发生,并且红细胞生成变成铁限制性的且导致贫血(Weiss, 2005 ;Weiss, 2008 ;Andrews, 2008)。

[0013] 作为本发明的基础的问题是提供与海帕西啉特异性地相互作用的工具。更特别地,作为本发明的基础的问题是提供基于核酸的工具,其与海帕西啉特异性地相互作用。

[0014] 作为本发明的基础的另一个问题是提供用于制备用以治疗人或非人疾病的药物的工具,其中所述疾病的特征在于海帕西啉直接或间接地参与此类疾病的致病机制。

[0015] 作为本发明的基础的另外一个问题是提供用于制备用以治疗疾病的诊断剂的工具,其中所述疾病的特征在于海帕西啉直接或间接地参与此类疾病的致病机制。

[0016] 作为本发明的基础的这些和其他问题通过所附的独立权利要求的主题而得到解决。优选的实施方案可以从从属权利要求中获得。

[0017] 此外,作为本发明的基础的问题在第一个方面(其也为第一个方面的第一个实施方案)中通过能够结合海帕西啉的核酸而得到解决。

[0018] 在第一个方面的第二个实施方案(其也为第一个方面的第一个实施方案的一个具体化方案)中,所述核酸为海帕西啉的拮抗剂。

[0019] 在第一个方面的第三个实施方案(其也为第一个方面的第一和第二个实施方案的一个具体化方案)中,所述核酸为海帕西啉-膜铁转运蛋白系统的抑制剂。

[0020] 在第一个方面的第四个实施方案(其也为第一个方面的第一、第二和第三个实施方案的一个具体化方案)中,所述核酸以 5' → 3' 方向包含第一末端核苷酸序列段(stretch)、中央核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段,其中所述中央核苷酸序列段包含

32 至 40 个核苷酸,优选地 32 至 35 个核苷酸。

[0021] 在第一个方面的第五个实施方案(其也为第一个方面的第一和第二个实施方案的一个具体化方案)中,所述核酸以 5' → 3' 方向包含第二末端核苷酸序列段、中央核苷酸序列段和第一末端核苷酸序列段,其中所述中央核苷酸序列段包含 32 至 40 个核苷酸,优选地 32 至 35 个核苷酸。

[0022] 在第一个方面的第六个实施方案(其也为第一个方面的第四和第五个实施方案的一个具体化方案)中,所述中央核苷酸序列段对于结合海帕西啉来说是必需的。

[0023] 在第一个方面的第七个实施方案(其也为第一个方面的第四、第五和第六个实施方案的一个具体化方案)中,所述中央核苷酸序列段包含 5' RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3' 或 5' RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3' 的核苷酸序列。

[0024] 在第一个方面的第八个实施方案(其也为第一个方面的第四至第七个实施方案的一个具体化方案)中,所述中央核苷酸序列段包含 5' RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGRGUUGGAGGAAR 3', 优选地 5' GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG 3' 的核苷酸序列。

[0025] 在第一个方面的第九个实施方案(其也为第一个方面的第七和第八个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一末端核苷酸序列段与所述第二末端核苷酸序列段任选地相互杂交,其中在杂交后形成双链结构;所述第一末端核苷酸序列段包含 5 至 8 个核苷酸;并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5 至 8 个核苷酸。

[0026] 在第一个方面的第十个实施方案(其也为第一个方面的第九个实施方案的一个具体化方案)中,所述双链结构由 5 至 8 个碱基对组成。

[0027] 在第一个方面的第十一个实施方案(其也为第一个方面的第七至第十个实施方案,优选地第一个方面的第八至第十个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSBC 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GVBVYX₄X₅X₆3' 的核苷酸序列,

[0028] 其中

[0029] X₁为 A 或不存在, X₂为 G 或不存在, X₃为 B 或不存在, X₄为 S 或不存在, X₅为 C 或不存在,并且 X₆为 U 或不存在。

[0030] 在第一个方面的第十二个实施方案(其也为第一个方面的第七至第十一个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSBC 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GVBVBX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0031] 其中

[0032] a) X₁为 A, X₂为 G, X₃为 B, X₄为 S, X₅为 C, 并且 X₆为 U, 或者

[0033] b) X₁不存在, X₂为 G, X₃为 B, X₄为 S, X₅为 C, 并且 X₆为 U, 或者

[0034] c) X₁为 A, X₂为 G, X₃为 B, X₄为 S, X₅为 C, 并且 X₆不存在。

[0035] 在第一个方面的第 13 个实施方案(其也为第一个方面的第七个实施方案至第十二个实施方案的一个具体化方案)中,

[0036] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGUGUC 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGUGCGCU 3' 的核苷酸序列,或者

[0037] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGUGUC 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCAUGCU 3' 的核苷酸序列,或者

[0038] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGUGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GAUGCGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0039] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGUGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCAUGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0040] e) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGUGCC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGUGCGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0041] f) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGCGCC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCGCGCU 3' 的核苷酸序列。

[0042] 在第一个方面的第 14 个实施方案 (其也为第一个方面的第七个实施方案至第十个实施方案, 优选地第八至第十个实施方案的一个具体化方案) 中, 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3SBSBC$ 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' $GVBVYX_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列,

[0043] 其中

[0044] a) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者

[0045] b) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者

[0046] c) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0047] 在第一个方面的第 15 个实施方案 (其也为第一个方面的第七个实施方案至第十二个实施方案以及第 14 个实施方案的一个具体化方案) 中, 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3SBSBC$ 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' $GVBVYX_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列,

[0048] 其中

[0049] X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 B 或不存在, X_4 为 S 或不存在, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0050] 在第一个方面的第 16 个实施方案 (其也为第一个方面的第 15 个实施方案的一个具体化方案) 中,

[0051] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGCGC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GCGCGC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0052] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCAUC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0053] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCGCC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0054] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGCC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCGC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0055] e) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCGC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GCGCC 3' 的核苷酸序列。

[0056] 在第一个方面的第 17 个实施方案 (其也为第一个方面的第七个实施方案至第 16 个实施方案的一个具体化方案) 中, 所述核酸包含根据 SEQ ID No. 115 至 119、SEQ ID No. 121、SEQ ID No. 142、SEQ ID No. 144、SEQ ID No. 146、SEQ ID No. 148、SEQ ID No. 151、SEQ ID No. 152、SEQ ID No. 175 或 SEQ ID No. 176 中任一个的核酸序列。

[0057] 在第一个方面的第 18 个实施方案（其也为第一个方面的第四至第六个实施方案的一个具体化方案）中，所述中央核苷酸序列段包含 5'GRCRGCCGGVGGACACCAUAUACAGACUAC KAU A 3' 或 5' GRCRGCCGGARGGACACCAUAUACAGACUACKAU A 3' 的核苷酸序列。

[0058] 在第一个方面的第 19 个实施方案（其也为第一个方面的第四至第六个实施方案以及第 18 个实施方案的一个具体化方案）中，所述中央核苷酸序列段包含 5'GRCRGCCGGGG GACACCAUAUACAGACUACKAU A 3'，优选地 5' GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU A 3' 的核苷酸序列。

[0059] 在第一个方面的第 20 个实施方案（其也为第一个方面的第 18 和第 19 个实施方案的一个具体化方案）中，

[0060] 所述第一末端核苷酸序列段与所述第二末端核苷酸序列段任选地相互杂交，其中在杂交后形成双链结构，

[0061] 所述第一末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸，并且

[0062] 所述第二末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸。

[0063] 在第一个方面的第 21 个实施方案（其也为第一个方面的第 20 个实施方案的一个具体化方案）中，所述双链结构由 4 至 7 个碱基对组成。

[0064] 在第一个方面的第 22 个实施方案（其也为第一个方面的第 18 至第 21 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列，

[0065] 其中 X₁为 A 或不存在，X₂为 G 或不存在，X₃为 R 或不存在，X₄为 Y 或不存在，X₅为 C 或不存在，并且 X₆为 U 或不存在。

[0066] 在第一个方面的第 23 个实施方案（其也为第一个方面的第 18 至第 22 个实施方案，优选地第一个方面的第 19 至第 22 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列，

[0067] 其中

[0068] a) X₁为 A，X₂为 G，X₃为 R，X₄为 Y，X₅为 C，并且 X₆为 U，或者

[0069] b) X₁不存在，X₂为 G，X₃为 R，X₄为 Y，X₅为 C，并且 X₆为 U，或者

[0070] c) X₁为 A，X₂为 G，X₃为 R，X₄为 Y，X₅为 C，并且 X₆不存在。

[0071] 在第一个方面的第 24 个实施方案（其也为第一个方面的第 18 至第 23 个实施方案的一个具体化方案）中，

[0072] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGGCUCG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGGCCU 3' 的核苷酸序列，或者

[0073] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGGCCCG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGGCCU 3' 的核苷酸序列，或者

[0074] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGGCUUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGAGCCU 3' 的核苷酸序列，或者

[0075] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGACUUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGAGUCU 3' 的核苷酸序列。

[0076] 在第一个方面的第 25 个实施方案（其也为第一个方面的第 18 至第 22 个实施方

案,优选地第一个方面的第 19 至第 22 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆3' 的核苷酸序列,

[0077] 其中

[0078] a) X₁不存在, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆不存在, 或者

[0079] b) X₁不存在, X₂不存在, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆不存在, 或者

[0080] c) X₁不存在, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅不存在, 并且 X₆不存在。

[0081] 在第一个方面的第 26 个实施方案(其也为第一个方面的第 18 至第 22 个以及第 25 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCUCG 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGGCC 3' 的核苷酸序列。

[0082] 在第一个方面的第 27 个实施方案(其也为第一个方面的第 18 至第 22 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0083] 其中

[0084] X₁不存在, X₂不存在, X₃为 R 或不存在, X₄为 Y 或不存在, X₅不存在, 并且 X₆不存在。

[0085] 在第一个方面的第 28 个实施方案(其也为第一个方面的第 18 至第 22 个以及第 27 个实施方案的一个具体化方案)中,

[0086] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCCG 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGCC 3' 的核苷酸序列,或者

[0087] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGCG 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCGC 3' 的核苷酸序列。

[0088] 在第一个方面的第 29 个实施方案(其也为第一个方面的第一至第六个以及第 18 至第 28 个实施方案的一个具体化方案)中,所述核酸包含根据 SEQ ID No. 122 至 126、SEQ ID No. 154、SEQ ID No. 159、SEQ ID No. 163 或 SEQ ID No. 174 中任一个的核酸序列。

[0089] 在第一个方面的第 30 个实施方案(其也为第一个方面的第四至第六个实施方案的一个具体化方案)中,所述中央核苷酸序列段以 5' →3' 方向包含下列核苷酸序列段:盒(Box)A、连接性核苷酸序列段和盒 B;备选地,所述中央核苷酸序列段以 5' →3' 方向包含下列核苷酸序列段:盒 B、连接性核苷酸序列段和盒 A,其中所述盒 A 包含 5' WAAAGUWGAR 3' 的核苷酸序列,所述连接性核苷酸序列段包含 10 至 18 个核苷酸,并且所述盒 B 包含 5' RGMGUGWKAGUKC 3' 的核苷酸序列。

[0090] 在第一个方面的第 31 个实施方案(其也为第一个方面的第 30 个实施方案的一个具体化方案)中,所述盒 A 包含选自 5' UAAAGUAGAG 3'、5' AAAAGUAGAA 3'、5' AAAAGUUGAA 3' 和 5' GGGAUUAUAGUGC 3' 的核苷酸序列;优选地所述盒 A 包含 5' UAAAGUAGAG 3'。

[0091] 在第一个方面的第 32 个实施方案(其也为第一个方面的第 30 至第 31 个实施方案的一个具体化方案)中,所述盒 B 包含选自 5' GGCGUGAUAGUGC 3'、5' GGAGUGUUAGUUC 3'、5' GGCGUGAGAGUGC 3'、5' AGCGUGAUAGUGC 3' 和 5' GGCGUGUUAGUGC 3' 的核苷酸序列,优选地所述盒 B 包含 5' GGCGUGAUAGUGC 3'。

[0092] 在第一个方面的第 33 个实施方案(其也为第一个方面的第 30 至第 32 个实施方

案的一个具体化方案)中,所述连接性核苷酸序列段以 5'→3'方向包含第一连接性核苷酸子序列段(substretch)、第二连接性核苷酸子序列段和第三连接性核苷酸子序列段,其中优选地,所述第一连接性核苷酸子序列段与所述第三连接性核苷酸子序列段任选地相互杂交,其中在杂交后形成双链结构。

[0093] 在第一个方面的第 34 个实施方案(其也为第一个方面的第 33 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第一连接性核苷酸子序列段和所述第三连接性核苷酸子序列段各自且彼此独立地包含 3 至 6 个核苷酸。

[0094] 在第一个方面的第 35 个实施方案(其也为第一个方面的第 32 至第 34 个实施方案的一个具体化方案)中,所述双链结构由 3 至 6 个碱基对组成。

[0095] 在第一个方面的第 36 个实施方案(其也为第一个方面的第 32 至第 35 个实施方案的一个具体化方案)中,

[0096] a) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含选自 5' GGAC 3'、5' GGAU 3' 和 5' GGA 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GUCC 3' 的核苷酸序列,或者

[0097] b) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GCAG 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' CUGC 3' 的核苷酸序列,或者

[0098] c) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GGGC 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GCCC 3' 的核苷酸序列,或者

[0099] d) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GAC 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GUC 3' 的核苷酸序列,或者

[0100] e) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' ACUUGU 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含选自 5' GCAAGU 3' 和 5' GCAAGC 3' 的核苷酸序列,或者

[0101] f) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' UCCAG 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' CUGGA 3' 的核苷酸序列,

[0102] 优选地,所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GAC 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GUC 3' 的核苷酸序列。

[0103] 在第一个方面的第 37 个实施方案(其也为第一个方面的第 33 至第 36 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第二连接性核苷酸子序列段包含 3 至 5 个核苷酸。

[0104] 在第一个方面的第 38 个实施方案(其也为第一个方面的第 33 至第 37 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第二连接性核苷酸子序列段包含选自 5' VBAAW 3'、5' AAUW 3' 和 5' NBW 3' 的核苷酸序列。

[0105] 在第一个方面的第 39 个实施方案(其也为第一个方面的第 38 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第二连接性核苷酸子序列段包含 5' VBAAW 3' 的核苷酸序列,优选地选自 5' CGAAA 3'、5' GCAAU 3'、5' GUAAU 3' 和 5' AUAAU 3' 的核苷酸序列。

[0106] 在第一个方面的第 40 个实施方案(其也为第一个方面的第 38 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第二连接性核苷酸子序列段包含 5' AAUW 3' 的核苷酸序列,优选地 5' AAUU 3' 或 5' AAUA 3' 的核苷酸序列,更优选地 5' AAUA 3' 的核苷酸序列。

[0107] 在第一个方面的第 41 个实施方案(其也为第 38 个实施方案的一个具体化方案)中,所述第二连接性核苷酸子序列段包含 5' NBW 3' 的核苷酸序列,优选地选自 5' CCA 3'、5' CUA 3'、5' UCA 3'、5' ACA 3'、5' GUU 3'、5' UGA 3' 和 5' GUA 3' 的核苷酸序列,更优选地

选自 5' CCA 3'、5' CUA 3'、5' UCA 3'、5' ACA 3' 和 5' GUU 3' 的核苷酸序列。

[0108] 在第一个方面的第 42 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 41 个实施方案的一个具体化方案）中，所述连接性核苷酸序列段包含选自 5' GGACBYAGUCC 3'、5' GGAUACAGUCC 3'、5' GCAGGYAAUCUGC 3'、5' GACAAUWGUC 3'、5' ACUUGUCGAAAGCAAGYU 3'、5' UCCAGGUUCUGGA 3'、5' GGGCUGAGCCC 3'、5' GCAGAUAAUCUGC 3' 和 5' GGACCAGUCC 3' 的核苷酸序列，优选地选自 5' GGACCCAGUCC 3'、5' GGACCUAGUCC 3'、5' GGACUCAGUCC 3'、5' GCAGGUAUUCUGC 3'、5' GCAGGCAAUCUGC 3'、5' GACAAUUGUC 3' 和 5' GACAAUAGUC 3' 的核苷酸序列。

[0109] 在第一个方面的第 43 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 42 个实施方案的一个具体化方案）中，

[0110] 所述第一末端核苷酸序列段与所述第二末端核苷酸序列段任选地相互杂交，其中在杂交后形成双链结构，

[0111] 所述第一末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸，并且

[0112] 所述第二末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸。

[0113] 在第一个方面的第 44 个实施方案（其也为第一个方面的第 43 个实施方案的一个具体化方案）中，所述双链结构由 4 至 7 个碱基对组成。

[0114] 在第一个方面的第 45 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 44 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ BK BK 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVV V $X_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列，

[0115] 其中 X_1 为 G 或不存在， X_2 为 S 或不存在， X_3 为 V 或不存在， X_4 为 B 或不存在， X_5 为 S 或不存在，并且 X_6 为 C 或不存在。

[0116] 在第一个方面的第 46 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 44 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ BK BK 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVV V $X_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列，

[0117] 其中

[0118] a) X_1 为 G， X_2 为 S， X_3 为 V， X_4 为 B， X_5 为 S，并且 X_6 为 C，或者

[0119] b) X_1 不存在， X_2 为 S， X_3 为 V， X_4 为 B， X_5 为 S，并且 X_6 为 C，或者

[0120] c) X_1 为 G， X_2 为 S， X_3 为 V， X_4 为 B， X_5 为 S，并且 X_6 不存在。

[0121] 在第一个方面的第 47 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 46 个实施方案，优选地第一个方面的第 46 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCACUCG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGAGUGC 3' 的核苷酸序列。

[0122] 在第一个方面的第 48 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 45 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ BK BK 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVV V $X_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列，

[0123] 其中

[0124] a) X_1 不存在， X_2 为 S， X_3 为 V， X_4 为 B， X_5 为 S，并且 X_6 不存在，或者

[0125] b) X_1 不存在， X_2 不存在， X_3 为 V， X_4 为 B， X_5 为 S，并且 X_6 不存在，或者

[0126] c) X_1 不存在， X_2 为 S， X_3 为 V， X_4 为 B， X_5 不存在，并且 X_6 不存在。

[0127] 在第一个方面的第 49 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 45 个以及第 48 个实施方案的一个具体化方案）中，

[0128] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCUGUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACAGC 3' 的核苷酸序列，或者

[0129] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGUGUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACACG 3' 的核苷酸序列，或者

[0130] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGUGCU 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' AGCACG 3' 的核苷酸序列，或者

[0131] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGCGCG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCGCG 3' 的核苷酸序列，或者

[0132] e) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCCGUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACGCG 3' 的核苷酸序列，或者

[0133] f) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGGUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACCGC 3' 的核苷酸序列，或者

[0134] g) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCUGCG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCAGC 3' 的核苷酸序列，或者

[0135] h) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCUGGG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CCCAGC 3' 的核苷酸序列，或者

[0136] i) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGGCG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCCGC 3' 的核苷酸序列。

[0137] 在第一个方面的第 50 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 45 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ BK BK 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVVV $X_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列，

[0138] 其中

[0139] X_1 不存在， X_2 不存在， X_3 为 V 或不存在， X_4 为 B 或不存在， X_5 不存在，并且 X_6 不存在。

[0140] 在第一个方面的第 51 个实施方案（其也为第一个方面的第 30 至第 45 个以及第 50 个实施方案的一个具体化方案）中，所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGUG 3' 的核苷酸序列，并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACG 3' 的核苷酸序列。

[0141] 在第一个方面的第 52 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第六以及第 30 至第 11 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸包含根据 SEQ ID No. 29、SEQ ID No. 33、SEQ ID No. 34、SEQ ID No. 39 至 41、SEQ ID No. 43、SEQ ID No. 46、SEQ ID No. 137 至 141 或 SEQ ID No. 173 中任一个的核酸序列。

[0142] 在第一个方面的第 53 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第六个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸包含根据 SEQ ID No. 127 至 131 中任一个的核酸序列。

[0143] 在第一个方面的第 54 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 53 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸能够结合海帕西啶，其中海帕西啶为人海帕西啶-25、人海帕西啶-22、人海帕西啶-20、猴海帕西啶-25、猴海帕西啶-22、猴海帕西啶-20，优选地人海帕西啶-25。

[0144] 在第一个方面的第 55 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 54 个实施方案，优选地第一个方面的第 54 个实施方案的一个具体化方案）中，所述海帕西啉具有根据 SEQ ID No. 1 的氨基酸序列。

[0145] 在第一个方面的第 56 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 55 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸包含修饰基团，其中包含所述修饰基团的核酸分子从生物体中排泄的速率相比于不含所述修饰基团的核酸而言降低。

[0146] 在第一个方面的第 57 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 55 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸包含修饰基团，其中包含所述修饰基团的核酸分子具有相比于不含所述修饰基团的核酸而言增加的在生物体中的滞留时间。

[0147] 在第一个方面的第 58 个实施方案（其也为第一个方面的第 56 和第 57 个实施方案的一个具体化方案）中，所述修饰基团选自包括生物可降解的和生物不可降解的修饰的组，优选地所述修饰基团选自包括线性聚乙二醇、支化聚乙二醇、羟乙基淀粉、肽、蛋白质、多糖、固醇、聚氧丙烯、聚氧酰胺化物 (polyoxyamidate)、聚 (2-羟乙基)-L-谷氨酰胺和聚乙二醇的组。

[0148] 在第一个方面的第 59 个实施方案（其也为第一个方面的第 58 个实施方案的一个具体化方案）中，所述修饰基团为由直链或支化的 PEG 组成的 PEG 部分，其中所述 PEG 部分的分子量优选地为大约 20,000 至大约 120,000Da，更优选地为大约 30,000 至大约 80,000Da，和最优选地为大约 40,000Da。

[0149] 在第一个方面的第 60 个实施方案（其也为第一个方面的第 58 个实施方案的一个具体化方案）中，所述修饰基团为 HES 部分，其中所述 HES 部分的分子量优选地为大约 10,000 至 200,000Da，更优选地为大约 30,000 至 170,000Da，和最优选地为大约 150,000Da。

[0150] 在第一个方面的第 61 个实施方案（其也为第一个方面的第 56 至第 60 个实施方案的一个具体化方案）中，所述修饰基团经由连接体偶联至所述核酸，其中所述连接体优选地为生物可降解的连接体。

[0151] 在第一个方面的第 62 个实施方案（其也为第一个方面的第 56 至第 61 个实施方案的一个具体化方案）中，所述修饰基团偶联至所述核酸的 5'-末端核苷酸和 / 或 3'-末端核苷酸，和 / 或偶联至在所述核酸的 5'-末端核苷酸和所述核酸的 3'-末端核苷酸之间的所述核酸的核苷酸。

[0152] 在第一个方面的第 63 个实施方案（其也为第一个方面的第 56 至第 62 个实施方案的一个具体化方案）中，所述生物体为动物体或人体，优选地人体。

[0153] 在第一个方面的第 64 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 63 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸的核苷酸或形成所述核酸的核苷酸为 L-核苷酸。

[0154] 在第一个方面的第 65 个实施方案（其也为第一个方面的第 1 至第 64 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸为 L-核酸。

[0155] 在第一个方面的第 66 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 65 个实施方案的一个具体化方案）中，所述核酸包含至少一个能够结合海帕西啉的结合部分，其中此类结合部分由 L-核苷酸组成。

[0156] 在第一个方面的第 67 个实施方案（其也为第一个方面的第一至第 66 个实施方案

的一个具体化方案)中,所述核酸用于在治疗和/或预防疾病的方法中使用,或者适合用于在治疗和/或预防疾病的方法中使用。

[0157] 作为本发明的基础的问题在第二个方面(其也为第二个方面的第一个实施方案)中通过药物组合物而得到解决,所述药物组合物包含根据第一个方面的任一个实施方案的核酸和任选地另外的组分,其中所述另外的组分选自包括药学上可接受的赋形剂、药学上可接受的载体和药学活性试剂的组。

[0158] 在第二个方面的第二个实施方案(其也为第二个方面的第一个实施方案的一个具体化方案)中,所述药物组合物包含根据第一个方面的任一个实施方案的核酸和药学上可接受的载体。

[0159] 作为本发明的基础的问题在第三个方面(其也为第三个方面的第一个实施方案)中通过根据第一个方面的任一个实施方案的核酸在制备药剂中的用途而得到解决。

[0160] 在第三个方面的第二个实施方案(其也为第三个方面的第一个实施方案的一个具体化方案)中,所述药剂用于在人医学中使用或用于在兽医医学中使用。

[0161] 作为本发明的基础的问题在第四个方面(其也为第四个方面的第一个实施方案)中通过根据第一个方面的任一个实施方案的核酸在制备诊断工具中的用途而得到解决。

[0162] 在第三个方面的第三个实施方案(其也为第三个方面的第一和第二个实施方案的一个具体化方案)中,所述药剂用于治疗 and / 或预防贫血、血铁过少、异食癖、具有升高的海帕西啶水平的病状、具有升高的铁水平的病状、或具有铁超负荷的病状。

[0163] 在第三个方面的第四个实施方案(其也为第三个方面的第三个实施方案的一个具体化方案)中,所述贫血选自铁粒幼细胞贫血、低色素小红细胞性贫血、由慢性疾病和/或病症引起的贫血、由炎症引起的贫血、由遗传病症引起的贫血、由急性感染引起的贫血、由铁代谢和/或体内稳态的基因中的突变引起的贫血、和由癌症治疗引起的贫血。

[0164] 在第三个方面的第五个实施方案(其也为第三个方面的第四个实施方案的一个具体化方案)中,所述慢性疾病和/或病症选自慢性炎症、癌症、自身免疫疾病和/或病症、慢性感染、动脉硬化、动脉粥样硬化和肝硬化。

[0165] 在第三个方面的第六个实施方案(其也为第三个方面的第五个实施方案的一个具体化方案)中,慢性炎症选自慢性肾疾病、慢性阻塞性肺部疾病、多发性硬化、骨关节炎、糖尿病、肥胖症、脑血管疾病、充血性心脏病、充血性心力衰竭、心肌梗死、冠状动脉疾病、周围闭塞性动脉疾病、胰腺炎和脉管炎,其中慢性肾疾病优选地选自肾脏病、慢性肾功能衰竭和慢性肾衰竭,和其中慢性肾疾病由肾脏透析或肾脏移植引起。

[0166] 在第三个方面的第七个实施方案(其也为第三个方面的第五个实施方案的一个具体化方案)中,自身免疫疾病和/或病症选自类风湿性关节炎、肠易激惹综合征、系统性红斑狼疮和克罗恩病。

[0167] 在第三个方面的第八个实施方案(其也为第三个方面的第五个实施方案的一个具体化方案)中,慢性感染选自病毒感染、病毒性疾病、细菌感染和真菌感染,其中优选地,所述病毒感染包括肝炎和 HIV 感染,和所述细菌感染包括幽门螺杆菌感染。

[0168] 在第三个方面的第九个实施方案(其也为第三个方面的第一至第四个实施方案的一个具体化方案)中,由炎症引起的贫血为正常红细胞性的至小红细胞性的,和/或其特征在于低的网织红细胞生成指数和/或增加的炎症标志物。

[0169] 在第三个方面的第十个实施方案（其也为第三个方面的第四个实施方案的一个具体化方案）中，所述遗传病症为卡斯尔曼病、施尼茨勒（Schnitzler's syndrome）综合征、铁难治性缺铁性贫血（matriptase-2(TMPRSS6) 突变）、缺转铁蛋白血症、先天性红细胞生成不良性贫血或血红蛋白病

[0170] 在第三个方面的第十一个实施方案（其也为第三个方面的第四个实施方案的一个具体化方案）中，所述急性感染选自病毒感染、细菌感染和真菌感染，优选地为脓毒症。

[0171] 在第三个方面的第十二个实施方案（其也为第三个方面的第五个实施方案的一个具体化方案）中，所述癌症选自肝细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、头与颈癌、乳腺癌、结肠直肠癌、非骨髓性癌、肾细胞癌、非小细胞肺癌、肿瘤和脑瘤。

[0172] 在第三个方面的第 13 个实施方案（其也为第三个方面的第三个实施方案的一个具体化方案）中，所述病状选自共济失调、弗里德赖希共济失调、年龄相关性黄斑变性、年龄相关性白内障、年龄相关性视网膜疾病和神经变性疾病，其中此类神经变性疾病优选地选自包括阿尔茨海默病、帕金森病、泛酸激酶相关的神经变性、腿多动综合征和亨廷顿舞蹈病的组。

[0173] 在第三个方面的第 14 个实施方案（其也为第三个方面的第三个实施方案的一个具体化方案）中，所述药剂用于治疗铁超负荷，其中海帕西啉血浆水平未升高。

[0174] 在第三个方面的第 15 个实施方案（其也为第三个方面的第 14 个实施方案的一个具体化方案）中，铁超负荷选自输血性铁超负荷、铁中毒、肺含铁血黄素沉着症、骨质减少、胰岛素抵抗、非洲人铁超负荷、哈 - 施病、高铁蛋白血症、血浆铜蓝蛋白缺乏症、新生儿血色素沉着症和红细胞病症，所述红细胞病症包括地中海贫血、 α 地中海贫血、中间型地中海贫血、镰状细胞病和骨髓增生异常综合征。

[0175] 在第三个方面的第 16 个实施方案（其也为第三个方面的第十二至第 15 个实施方案的一个具体化方案）中，所述药剂与铁螯合化合物联合使用。

[0176] 在第三个方面的第 17 个实施方案（其也为第三个方面的第 16 个实施方案的一个具体化方案）中，所述铁螯合化合物选自姜黄素、去铁胺、地拉罗司和去铁酮。

[0177] 在第三个方面的第 18 个实施方案（其也为第三个方面的第一个实施方案的一个具体化方案）中，所述药剂用于与另外的药剂或治疗方法相联合或者用于与另外的药剂或治疗方法相联合地使用，其中此类药剂或治疗方法包括另外的药学活性化合物或者施用此类另外的药学活性化合物，其中此类另外的药学活性化合物选自铁补充剂、维生素补充剂、红细胞生成刺激剂、抗生素、抗炎生物制剂、免疫系统的抑制剂、抗血栓溶解剂、他汀类、血管加压药和影响肌肉收缩的化合物。

[0178] 作为本发明的基础的问题在第五个方面（其也为第五个方面的第一个实施方案）中通过包含根据第一个方面的任一个实施方案的核酸和海帕西啉的复合物而得到解决，其中所述复合物优选地为晶体复合物。

[0179] 在第五个方面的第二个实施方案（其也为第五个方面的第一个实施方案的一个具体化方案）中，海帕西啉选自包括人海帕西啉、猴海帕西啉的组，更优选地海帕西啉为人海帕西啉。

[0180] 作为本发明的基础的问题在第六个方面（其也为第六个方面的第一个实施方案）中通过根据第一个方面的任一个实施方案的核酸用于检测海帕西啉的用途而得到解决。

[0181] 在第六个方面的第二个实施方案（其也为第六个方面的第一个实施方案的一个具体化方案）中，海帕西啉选自包括人海帕西啉、猴海帕西啉的组，更优选地海帕西啉为人海帕西啉。

[0182] 作为本发明的基础的问题在第七个方面（其也为第七个方面的第一个实施方案）中通过用于筛选海帕西啉的拮抗剂或激动剂的方法而得到解决，所述方法包括下列步骤：

[0183] 一提供海帕西啉的候选拮抗剂和 / 或候选激动剂，

[0184] 一提供根据第一个方面的任一个实施方案的核酸，

[0185] 一提供测试系统，其在存在海帕西啉的拮抗剂和 / 或激动剂时提供信号，和

[0186] 一测定所述候选拮抗剂是否为海帕西啉的拮抗剂和 / 或所述候选激动剂是否为海帕西啉的激动剂。

[0187] 在第七个方面的第二个实施方案（其也为第七个方面的第一个实施方案的一个具体化方案）中，海帕西啉选自包括人海帕西啉、猴海帕西啉的组，更优选地海帕西啉为人海帕西啉。

[0188] 作为本发明的基础的问题在第八个方面（其也为第八个方面的第一个实施方案）中通过用于检测海帕西啉的试剂盒而得到解决，所述试剂盒包含根据第一个方面的任一个实施方案的核酸，其中所述海帕西啉优选地为人海帕西啉。

[0189] 作为本发明的基础的问题在第九个方面（其也为第九个方面的第一个实施方案）中通过用于检测样品中的根据第一个方面的任一个实施方案的核酸的方法而得到解决，其中所述方法包括下列步骤：

[0190] a) 提供含有根据本发明的核酸的样品；

[0191] b) 提供捕获探针和检测探针，其中所述捕获探针与根据第一个方面的任一个实施方案的核酸的第一部分至少部分地互补，和所述检测探针与根据第一个方面的任一个实施方案的核酸的第二部分至少部分地互补，或者备选地，所述捕获探针与根据第一个方面的任一个实施方案的核酸的第二部分至少部分地互补，和所述检测探针与根据第一个方面的任一个实施方案的核酸的第一部分至少部分地互补；

[0192] c) 允许所述捕获探针和所述检测探针同时地或者以任何顺序依次地与根据第一个方面的任一个实施方案的核酸或其部分反应；

[0193] d) 任选地，检测所述捕获探针是否与在步骤 a) 中提供的根据第一个方面的任一个实施方案的核酸杂交；和

[0194] e) 检测在步骤 c) 中形成的复合物，其由根据第一个方面的任一个实施方案的核酸以及所述捕获探针和所述检测探针组成。

[0195] 在第九个方面的第二个实施方案（其也为第九个方面的第一个实施方案的一个具体化方案）中，所述检测探针包含检测工具，和 / 或其中所述捕获探针可以固定至支持物，优选地固体支持物。

[0196] 在第九个方面的第三个实施方案（其也为第九个方面的第一和第二个实施方案的一个具体化方案）中，将不作为所述复合物的一部分的任何检测探针从所述反应体系中去除，从而在步骤 e) 中仅检测作为所述复合物的一部分的检测探针。

[0197] 在第九个方面的第四个实施方案（其也为第九个方面的第一、第二和第三个实施方案的一个具体化方案）中，步骤 e) 包括下列步骤：比较当所述捕获探针和所述检测探针

在根据第一个方面的任一个实施方案的核酸或其部分存在的情况下和所述核酸或其部分不存在的情况下进行杂交时由所述检测工具所产生的信号。

[0198] 本文所描述的根据本发明的核酸的特征可以在本发明的任一方面中实现,其中单独地或者以任意的组合使用所述核酸。

[0199] 关于本发明,优选地,术语“提供样品”不同于人体或动物体的治疗或诊断方法,并且不包括人体或动物体的治疗或诊断方法。

[0200] 人海帕西啉-25 为碱性蛋白质,其具有根据 SEQ ID No. 1 的氨基酸序列和 8.2 的 pI。

[0201] 本发明基于令人惊讶的发现,即可以产生特异性地且以高亲和力结合海帕西啉的核酸。此类核酸优选地在本文中也称为根据本发明的核酸分子、根据本发明的核酸、本发明的核酸或本发明的核酸分子。

[0202] 可以鉴定出对于人海帕西啉的短的且高亲和力结合性的核酸这一发现在这种情况下是令人惊讶的,这是因为 Eaton 等人 (1997) 观察到针对碱性蛋白质的适体 (aptamer) (即结合靶分子的 D-核酸) 的产生通常是非常困难的,因为这种类型的靶标产生了高的但非特异性的信噪比。这种高的信噪比是由于由核酸所显示的对碱性靶标 (例如人海帕西啉) 的高的非特异性亲和力而引起的。

[0203] 如在权利要求书和实施例 1 中更详细概述的,本发明人能够更令人惊讶地鉴定出许多不同的结合人海帕西啉的核酸分子,其中大多数核酸可以根据核苷酸序列段 (其在本文中也称为盒) 来表征。基于所述盒和某些另外的结构特征及元件,可以将各种结合人海帕西啉的核酸分子分别地分类为 A 型、B 型和 C 型结合海帕西啉的核酸。

[0204] 不同类型的结合海帕西啉的核酸包含不同的核苷酸序列段。因此,不同类型的结合海帕西啉的核酸对于不同的海帕西啉肽显示出不同的结合行为。如实施例中所证明的,根据本发明的结合海帕西啉的核酸与人海帕西啉-25、人海帕西啉-22、人海帕西啉-20、食蟹猴海帕西啉-25 和狨海帕西啉-25 结合。

[0205] 应当理解,每当在本文中提及海帕西啉时,此类海帕西啉为海帕西啉-25,如果没有指明与此相反的话。

[0206] 在本发明范围内的是,根据本发明的核酸包含两个或更多个原则上可以相互杂交的序列段或其部分。在这样的杂交后,形成双链结构。本领域技术人员将会理解,这样的杂交可能发生或可能不发生,特别是在体外和 / 或体内条件下。此外,在这样的杂交的情况下,并不必然的情形是:所述杂交发生在所述两个序列段的全长上,其中至少基于碱基配对规则,原则上可能发生这样的杂交和因此双链结构的形成。如本文中优选地使用的,双链结构是核酸分子的一部分,或者由两条或更多条分开的链或者核酸分子的单链的两个在空间上分开的序列段所形成的结构,由此存在有至少一个,优选地两个或更多个碱基对,它们优选地根据 Watson-Crick 碱基配对规则进行碱基配对。本领域技术人员还将会理解,其他碱基配对例如 Hoogsteen 碱基配对可以存在于此类双链结构中或者形成此类双链结构。还应当承认的是,两个序列段杂交这一特征优选地表明,由于这两个序列段的碱基互补性而假定发生此类杂交。

[0207] 在优选地的实施方案中,本文中所使用的术语“排列”表示与在本文中所公开的核酸相关的在本文中所描述的结构或功能特征或元件的次序或顺序。

[0208] 本领域技术人员将会理解,根据本发明的核酸能够结合海帕西啶。不希望受任何理论的束缚,本发明人假设所述海帕西啶结合是由于所要求保护的核酸分子的三维结构特性或元件的组合而引起的,所述三维结构特性或元件由形成此类特性或元件的核苷酸的一级序列的方向和折叠模式造成。明显的是,独个特性或元件可由各种不同的独个序列(其变异程度可依据此类元件或特性必须形成的三维结构而变化)形成。所要求保护的核酸的总体结合特征分别起因于各种元件和特性的相互影响,这最终导致所要求保护的核酸与其靶标(即海帕西啶)的相互作用。再次不希望受任何理论的束缚,对于B型和C型结合海帕西啶的核酸而言特征性的中央序列段以及对于A型结合海帕西啶的核酸而言特征性的第一序列段盒A和第二序列段盒B,似乎对于介导所要求保护的核酸与海帕西啶的结合来说是重要的。因此,根据本发明的核酸适合于与海帕西啶相互作用和检测海帕西啶。此外,本领域技术人员将会理解,根据本发明的核酸为海帕西啶的拮抗剂。因此,根据本发明的核酸适合于分别治疗和预防与海帕西啶相关或由海帕西啶引起的任何疾病或病状。此类疾病和病状可以从现有技术中获得,所述现有技术确定海帕西啶分别参与所述疾病和病状或者与所述疾病和病状相关,并且通过提及而将所述现有技术引入本文以提供根据本发明的核酸的治疗和诊断用途的科学原理。

[0209] 在本发明范围内的是,根据本发明的核酸为核酸分子。如此,术语“核酸”和“核酸分子”在本文中以同义的方式进行使用,如果没有指明与此相反的话。在本申请的一个实施方案中,所述核酸和因此所述核酸分子包含这样的核酸分子,其特征不在于所有形成该核酸分子的连续核苷酸通过一个或超过一个的共价键彼此相连接或连结。更具体地,每个此类核苷酸优选地通过磷酸二酯键或其他键与其他两个核苷酸相连接或连结,从而形成连续核苷酸的序列段。然而,在这样的排列中,两个末端核苷酸(即优选地,在5'末端处和在3'末端处的核苷酸)各自仅与单个核苷酸相连接,条件是此类排列是线性的而非环状的排列,并因此为线性的而非环状的分子。

[0210] 在本申请的另一个实施方案中,所述核酸和因此所述核酸分子包含至少两组连续核苷酸,其中在每组连续核苷酸内,每个核苷酸优选地通过磷酸二酯键或其他键与其他两个核苷酸相连接或连结,从而形成连续核苷酸的序列段。然而,在这样的排列中,所述至少两组连续核苷酸的每个组的两个末端核苷酸(即优选地,在5'末端处和在3'末端处的核苷酸)各自仅与单个核苷酸相连接。但是,在这样的实施方案中,所述两组连续核苷酸不通过共价键相互连接或连结,所述共价键连接一个组的一个核苷酸与另一个或另外一个组的一个核苷酸,这通过共价键,优选地在所述两个核苷酸中一个核苷酸的糖部分与所述两个核苷酸或核苷中另一个核苷酸或核苷的磷酸部分之间形成的共价键来进行。但是,在备选的实施方案中,所述两组连续核苷酸通过共价键相互连接或连结,所述共价键连接一个组的一个核苷酸与另一个或另外一个组的一个核苷酸,这通过共价键,优选地在所述两个核苷酸中一个核苷酸的糖部分与所述两个核苷酸或核苷中另一个核苷酸或核苷的磷酸部分之间形成的共价键来进行。优选地,所述至少两组连续核苷酸不通过任何共价键相连接。在另一个优选地的实施方案中,所述至少两组通过与磷酸二酯键不同的共价键相连接。在另外一个实施方案中,所述至少两组通过为磷酸二酯键的共价键相连接。进一步地,优选地,所述两组连续核苷酸通过共价键互相连接或连结,其中所述共价键在所述两组连续核苷酸的第一组的3'末端处的核苷酸与所述两组连续核苷酸的第二组的5'末端处的核苷酸之间

形成,或者所述共价键在所述两组连续核苷酸的第一组的 5'末端处的核苷酸与所述两组连续核苷酸的第二组的 3'末端处的核苷酸之间形成。

[0211] 根据本发明的核酸还应该包括与本文所公开的特定序列基本同源的核酸。术语“基本同源”应该优选地理解为,同源性为至少 75%,优选地 85%,更优选地 90%,和最优选地大于 95%、96%、97%、98%或 99%。

[0212] 两个核酸分子之间的同源性可以如本领域技术人员已知的方式来测定。更具体而言,基于所指定的程序参数,可以将序列比较算法用于计算测试序列相对于参考序列的序列同源性百分比。测试序列优选是这样的序列或核酸分子,即所述序列或核酸分子据称与不同的核酸分子同源或者待测试它是否与不同的核酸分子同源(如果同源的话,同源到什么程度),其中这种不同的核酸分子也称为参考序列。在一个实施方案中,参考序列是本文所描述的核酸分子,更优选地为具有根据 SEQ ID No. 29 至 43、SEQ ID No. 45 至 48、SEQ ID No. 110 至 156、SEQ ID No. 158 至 176 或 SEQ ID No. 179 至 181 中任一个的序列的核酸分子。用于比较的最佳序列比对可以例如通过下列方法来进行:Smith&Waterman 的局部同源性算法 (Smith&Waterman(1981)), Needleman&Wunsch 的同源性比对算法 (Needleman&Wunsch, 1970), Pearson&Lipman 的相似性搜索方法 (Pearson&Lipman, 1988), 这些算法的计算机化实施 (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis. 中的 GAP、BESTFIT、FASTA 和 TFASTA), 或目测检查。

[0213] 适合于测定序列同一性百分比的算法的一个实例是在基本局部比对搜索工具 (basic local alignment search tool, 在下文中称为“BLAST”) 中使用的算法, 参见, 例如 Altschul 等人 (Altschul 等人, 1990; 和 Altschul 等人, 1997)。用于进行 BLAST 分析的软件是通过国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, 在下文中称为“NCBI”) 可公开获得的。在使用从 NCBI 可获得的软件(例如 BLASTN(用于核苷酸序列)和 BLASTP(用于氨基酸序列))进行的序列同一性测定中所采用的默认参数描述在 McGinnis 等人 (McGinnis 等人, 2004) 中。

[0214] 术语“本发明的核酸”或“根据本发明的核酸”(其中这两个术语可互换地进行使用)还应该包括包含本文所公开的核酸序列或其部分的那些核酸, 优选地至这样的程度, 即所述核酸或所述部分参与结合人海帕西啉。在一个实施方案中, 此类核酸是本文所描述的核酸分子之一, 或者其衍生物和/或代谢产物, 其中此类衍生物和/或代谢产物优选地为相比于本文所描述的核酸分子而言截短的核酸。截短可以涉及本文所公开的核酸的任一个末端或两个末端。此外, 截短可以涉及所述核酸的内部核苷酸序列, 即其可以分别涉及在 5'和 3'末端核苷酸之间的核苷酸。此外, 截短应该包括从本文所公开的核酸序列中删除至少单个核苷酸。截短还可以涉及本发明的核酸的超过一个的序列段, 其中该序列段可以仅为一个核苷酸长。本领域技术人员可以通过用常规试验或者通过使用或采用本文所描述的方法(优选地在本文中于实施例部分中所描述的方法)来测定根据本发明的核酸的结合。

[0215] 根据本发明的核酸可以是 D-核酸或 L-核酸。优选地, 本发明的核酸是 L-核酸。另外, 还可能的是, 所述核酸的一个或几个部分作为 D-核酸存在或者所述核酸的至少一个或几个部分是 L-核酸。术语核酸的“部分”应该表示至少一个核苷酸。因此, 在一个特别优选的实施方案中, 根据本发明的核酸由 L-核苷酸组成并包含至少一个 D-核苷酸。此类 D-核苷酸优选附着至与定义根据本发明的核酸的序列段不同的部分, 优选为其中涉及与

该核酸的其他部分或与靶标（即海帕西啉）相互作用的该核酸的那些部分。优选地，此类 D- 核苷酸分别附着在根据本发明的任意序列段的末端处或附着在根据本发明的任意核酸的末端处。在进一步优选的实施方案中，此类 D- 核苷酸可以用作间隔物或连接体，其优选地将修饰物或修饰基团例如 PEG 和 HES 附着至根据本发明的核酸。

[0216] 同样也在本发明的实施方案的范围内的是，每个和任意的在本文中在它们的核酸序列方面以其整体描述的核酸分子局限于特定的核苷酸序列。换言之，术语“包含”或“包括”在这样的实施方案中应该理解为“容纳”或“由…组成”。

[0217] 同样也在本发明范围内的，根据本发明的核酸是更长的核酸的部分，其中该更长的核酸包含几个部分，其中至少一个此类部分是根据本发明的核酸或其部分。这些更长的核酸的其他部分可以是一个或几个 D- 核酸或者一个或几个 L- 核酸。任何组合都可以用于本发明。更长的核酸的这些其他部分，单独地或合在一起，以其整体或以特定组合，可以表现出不同于结合（优选地，结合海帕西啉）的功能。一种可能的功能是允许与其他分子（其中此类其他分子优选地与海帕西啉不同）相互作用，例如，用于固定、交联、检测或扩增。在本发明的另外的实施方案中，根据本发明的核酸包含几个本发明核酸，作为独个或组合的部分。包含几个本发明核酸的此类核酸也由术语“更长的核酸”所涵盖。

[0218] 本文中所使用的“L- 核酸”或“L- 核酸分子”是由 L- 核苷酸组成的核酸或核酸分子，优选地完全由 L- 核苷酸组成的核酸或核酸分子。

[0219] 本文中所使用的“D- 核酸”或“D- 核酸分子”是由 D- 核苷酸组成的核酸或核酸分子，优选地完全由 D- 核苷酸组成的核酸或核酸分子。

[0220] 此外，如果没有指明与此相反，则任何核苷酸序列在本文中以 5'→3' 的方向示出。

[0221] 如本文中优选地使用的，相对于序列、序列段或子序列段的 5' 末端来确定或指称任何核苷酸位置。因此，第二个核苷酸为分别从序列、序列段或子序列段的 5' 末端起进行计数的第二个核苷酸。同样地，根据该原则，倒数第二个核苷酸为分别从序列、序列段或子序列段的 3' 末端起进行计数的第二个核苷酸。

[0222] 无论本发明的核酸由 D- 核苷酸组成、由 L- 核苷酸组成还是由两者的组合（该组合是例如随机的组合，或者是由至少一个 L- 核苷酸和至少一个 D- 核苷酸组成的序列段的限定序列）组成，所述核酸可以由脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸或其组合组成。

[0223] 因为几种原因，将本发明的核酸设计成 L- 核酸是有利的。L- 核酸是天然存在的核酸的对映体。然而，由于核酸酶的广泛存在，D- 核酸在含水溶液中并且特别是在生物系统或生物样品中不是非常稳定的。天然存在的核酸酶，特别是来自动物细胞的核酸酶不能降解 L- 核酸。因此，L- 核酸的生物学半衰期在此类系统（包括动物体和人体）中显著增加。由于缺乏 L- 核酸的可降解性，因此没有产生核酸酶降解产物并因而没有观察到从中产生的副作用。该方面界定了事实上所有其他化合物（其用于治疗涉及海帕西啉的存在的疾病和 / 或病症）的 L- 核酸。通过不同于 Watson-Crick 碱基配对的机制特异性地结合靶分子的 L- 核酸，或者部分或完全由 L- 核苷酸组成的适体（尤其是该适体的那些部分参与该适体与靶分子的结合）也称为镜像异构适体 (Spiegelmer)。如所指的，适体 (aptamer) 是本领域技术人员已知的，并且尤其描述在“The Aptamer Handbook”（编者：Klussmann, 2006）中。

[0224] 同样也在本发明范围内的，根据本发明的核酸可以作为单链或双链核酸存在，

不论它们作为 D- 核酸、L- 核酸或 D, L- 核酸存在或者它们是 DNA 或 RNA。通常,本发明的核酸是表现出由一级序列限定的二级结构并因而也可以形成三级结构的单链核酸。然而,本发明的核酸也可以是双链的,这意味着彼此互补或部分互补的两条链相互杂交,不论它们是否是两条分开的链或者它们是否相互结合(优选地,共价结合)。

[0225] 可以修饰本发明的核酸。此类修饰物可以涉及所述核酸的单个核苷酸并且是本领域熟知的。此类修饰物的实例尤其描述在 Venkatesan(2003);Kusser(2000);Aurup(1994);Cummins(1995);Eaton(1995);Green(1995);Kawasaki(1993);Lesnik(1993);和 Miller(1993) 中。此类修饰物可以是在作为本发明核酸的一部分的独个核苷酸的 2' 位置处的 H 原子、F 原子或者 O-CH₃基团或 NH₂- 基团。此外,根据本发明的核酸可以包含至少一个 LNA 核苷酸。在一个实施方案中,根据本发明的核酸由 LNA 核苷酸组成。

[0226] 在一个实施方案中,根据本发明的核酸可以是多分体(multipartite)核酸。本文中所使用的“多分体核酸”是由至少两条分开的核酸链组成的核酸。这些至少两条核酸链形成功能单元,其中该功能单元是靶分子的配体。所述至少两条核酸链可以衍生自任何本发明的核酸,其中通过切割核酸分子以产生两条链而衍生,或者通过合成与本发明的(即整体)核酸的第一个部分相对应的一条核酸和与整体核酸的第二个部分相对应的另一条核酸而衍生。应当理解,切割和合成两者均可用于产生其中存在超过两条的如上所例示的链的多分体核酸。换言之,所述至少两条分开的核酸链通常不同于互补且相互杂交的两条链,尽管在所述至少两条核酸链之间可能存在一定程度的互补性,其中此类互补性可能导致所述分开的链杂交。

[0227] 最后,也在本发明范围内的是,实现了根据本发明的核酸的完全闭合(即环状的)结构,也就是说,根据本发明的核酸在一个实施方案中是闭合的,优选地通过共价连接闭合,其中更优选地,此类共价连接在本文所公开的核酸序列或其任何衍生物的 5' 末端和 3' 末端之间发生。

[0228] 测定根据本发明的核酸分子的结合常数的一种可能性是利用实施例 4 中所描述的表面等离子共振,所述实施例 4 证实了上述发现,即根据本发明的核酸表现出有利的 K_b 值范围。为了表示独个核酸分子和靶标(在本情况下为海帕西啉)之间的结合强度的合适量度是所谓的 K_b 值,其中 K_b 值本身以及其测定方法是本领域技术人员已知的。

[0229] 优选地,根据本发明的核酸所显示的 K_b 值低于 1 μM。大约 1 μM 的 K_b 值被认为是核酸与靶标非特异性结合的特征。如本领域技术人员将会理解的,一组化合物(例如根据本发明的核酸)的 K_b 值在某个范围内。上述的大约 1 μM 的 K_b 是优选的 K_b 值上限。结合靶标的核酸的 K_b 的下限可以小至大约 10pM 或者可以更高。在本发明范围内的是,结合海帕西啉的独个核酸的 K_b 值优选地在这一范围内。优选的范围可以通过选择该范围内的任意第一个数字和该范围内的任意第二个数字来限定。优选的上限 K_b 值为 250nM 和 100nM, 优选的下限 K_b 值为 50nM、10nM、1nM、100pM 和 10pM。更优选的上限 K_b 值为 2.5nM,更优选的下限 K_b 值为 400pM。

[0230] 根据本发明的核酸分子可以具有任意的长度,只要它们仍然能够结合靶分子。本领域技术人员将会理解,存在有根据本发明的核酸的优选长度。通常,长度在 15 和 120 个核苷酸之间。本领域技术人员将会理解,在 15 和 120 之间的任何整数是根据本发明的核酸

的可能长度。根据本发明核酸的长度的更优选的范围是大约 20 至 100 个核苷酸、大约 20 至 80 个核苷酸、大约 20 至 60 个核苷酸、大约 20 至 50 个核苷酸和大约 30 至 50 个核苷酸的长度。

[0231] 在本发明范围内的是,本文所公开的核酸包含这样的部分,所述部分优选地为高分子量部分和/或优选地使得能够改变所述核酸尤其是在动物体内(优选在人体内)的停留时间方面的特征。此类修饰的特别优选的实施方案是根据本发明的核酸的 PEG 化和 HES 化。如本文中所使用的,PEG 表示聚乙二醇,而 HES 表示羟乙基淀粉。如本文中优选地使用的,PEG 化是根据本发明的核酸的修饰,其中此类修饰由附着至根据本发明的核酸的 PEG 部分组成。如本文中优选地使用的,HES 化是根据本发明的核酸的修饰,其中此类修饰由附着至根据本发明的核酸的 HES 部分组成。这些修饰物例如线性聚乙二醇、支化聚乙二醇、羟乙基淀粉、肽、蛋白质、多糖、固醇、聚氧丙烯、聚氧酰胺化物、聚(2-羟乙基)-L-谷氨酰胺和聚乙二醇,以及用此类修饰物来修饰核酸的方法,描述在欧洲专利申请 EP 1 306 382 中,该专利申请的公开内容在此通过提及而整体合并入本文中。

[0232] 优选地,由高分子量部分组成或包含高分子量部分的修饰物的分子量为大约 2,000 至 250,000Da,优选地 20,000 至 200,000Da。在 PEG 为此类高分子量部分的情况下,分子量优选地为 20,000 至 120,000Da,更优选地 40,000 至 80,000Da。在 HES 为此类高分子量部分的情况下,分子量优选地为 20,000 至 200,000Da,更优选地 40,000 至 150,000Da。HES 修饰方法(例如)描述在德国专利申请 DE 1 2004 006249.8 中,该专利申请的公开内容在此通过提及而整体合并入本文中。

[0233] 在本发明范围内的是,PEG 和 HES 中的任一者可以以线性或支化的形式使用,如在专利申请 W02005/074993、W02003/035665 和 EP1496076 中进一步描述的。原则上,此类修饰可以在本发明核酸分子的任何位置处进行。优选地,此类修饰在根据本发明的核酸分子的 5'-末端核苷酸上、在根据本发明的核酸分子的 3'-末端核苷酸上和/或在根据本发明的核酸分子的 5' 核苷酸和 3' 核苷酸之间的任意核苷酸上进行。

[0234] 该修饰物,优选地 PEG 和/或 HES 部分,可以直接地或间接地(优选地通过连接体)附着至本发明核酸分子。同样也在本发明范围内的是,根据本发明的核酸分子包含一个或多个修饰物,优选地一个或多个 PEG 和/或 HES 部分。在一个实施方案中,单个连接体分子将超过一个的 PEG 部分或 HES 部分附着至根据本发明的核酸分子。在本发明中使用的连接体可以本身是线性的或支化的。这种类型的连接体是本领域技术人员已知的并且在专利申请 W02005/074993、W02003/035665 和 EP1496076 中进一步描述。

[0235] 在优选的实施方案中,所述连接体为生物可降解的连接体。由于从根据本发明的核酸上释放出该修饰物,因而生物可降解的连接体使得能够改变根据本发明的核酸尤其是在动物体内(优选在人体内)的停留时间方面的特征。使用生物可降解的连接体可能使得能够更好地控制根据本发明的核酸的停留时间。此类生物可降解的连接体的优选的实施方案为在国际专利申请 W02006/052790、W02008/034122、W02004/092191 和 W02005/099768 中所描述的生物可降解的连接体,但不限于此。

[0236] 在本发明范围内的是,所述修饰物或修饰基团为生物可降解的修饰物,其中所述生物可降解的修饰物可以直接地或间接地(优选地通过连接体)附着至本发明核酸分子。由于从根据本发明的核酸上释放出或降解下该修饰物,因而生物可降解的修饰物使得能够

改变根据本发明的核酸尤其是在动物体内（优选在人体内）的停留时间方面的特征。使用生物可降解的修饰物可能使得能够更好地控制根据本发明的核酸的停留时间。此类生物可降解的修饰物的优选的实施方案为在国际专利申请案 W02002/065963、W02003/070823、W02004/113394 和 W02000/41647（优选地，W02000/41647 的第 18 页第 4 至 24 行）中所描述的生物可降解的修饰物，但不限于此。

[0237] 除了上面描述的修饰物之外，其他修饰物也可以用于改变根据本发明的核酸的特征，其中此类其他修饰物可选自蛋白质、脂质（例如胆固醇）和糖链（例如淀粉酶、右旋糖酐等）。

[0238] 不希望受任何理论的束缚，看起来通过用高分子量部分例如聚合物，更特别地一种或几种本文所公开的聚合物（其优选地为生理学上可接受的）来修饰根据本发明的核酸，改变了排泄动力学。更具体而言，看起来由于这种经修饰的本发明的核酸的分子量增加并且由于本发明核酸不经历代谢（特别是在 L 形式时），减少了从动物体内，优选地从哺乳动物体内，和更优选地从人体内的排泄。由于排泄通常通过肾脏发生，因此本发明人推测：经如此修饰的核酸的肾小球滤过率相比于不具有这种类型的高分子量修饰的核酸而言显著减小，这导致在动物体内的停留时间增加。就此而言，特别值得注意的是，尽管具有这种高分子量修饰，但是根据本发明的核酸的特异性没有受到有害的影响。在这种情况下，根据本发明的核酸尤其具有令人惊讶的特征（该特征通常不能从药学活性化合物中预期），从而使得不必需要具有持续释放性质的药物制剂以提供根据本发明的核酸的持续释放。而是，以它们包含高分子量部分的修饰形式，根据本发明的核酸本身就可用作持续释放制剂，因为由于它们的修饰，它们已经就好像从持续释放制剂中释放那样行动。在这种情况下，本文所公开的根据本发明的核酸分子的修饰和经如此修饰的根据本发明的核酸分子以及任何包含其的组合物可以提供不同的，优选地受控的药物动力学及其生物分布。这还包括在循环中的停留时间和分配到组织中。此类修饰在专利申请 W02003/035665 中有进一步的描述。

[0239] 然而，同样也在本发明范围内的是，根据本发明的核酸不包含任何修饰，并且特别是不包含高分子量修饰例如 PEG 化或 HES 化。当根据本发明的核酸显示出优先分配到体内的任何靶器官或组织时或者当希望在施用后从体内快速清除根据本发明的核酸时，此类实施方案是特别优选的。具有对体内任何靶器官或组织的优先分布特性的本文所公开的根据本发明的核酸将使得能够在靶组织中建立有效的局部浓度，同时保持低的全身的核酸浓度。这将使得能够使用低剂量，这不但从经济学观点来说是有利的，而且还减少了其他组织对于该核酸试剂的非必需的暴露，从而降低了潜在的副作用风险。在施用后从体内快速清除根据本发明的核酸可能是所希望的，尤其是在使用根据本发明的核酸或包含其的药剂的体内成象或特别的治疗性按剂量给药要求的情况下。

[0240] 根据本发明的核酸和 / 或根据本发明的拮抗剂可用于产生或制备药剂或药物组合物，或者在产生或制备药剂或药物组合物中使用。根据本发明的此类药剂或药物组合物包含至少一种本发明的核酸，任选地与至少一种其他药学活性化合物一起，其中本发明的核酸优选地本身用作药学活性化合物。在优选的实施方案中，此类药剂或药物组合物至少包含药学上可接受的载体。此类载体可以是例如水、缓冲液、PBS、葡萄糖溶液（优选地，5% 葡萄糖的盐平衡溶液）、淀粉、糖、明胶或任何其他可接受的载体物质。此类载体通常是本领域

域技术人员已知的。本领域技术人员将会理解,本发明药剂的任何实施方案、用途和方面或者与之相关的任何实施方案、用途和方面也可应用于本发明的药物组合物,反之亦然。

[0241] 使用或意图使用各自根据本发明的或根据本发明制备的核酸、药物组合物和药剂来进行治疗和 / 或预防的适应症、疾病和病症是由于海帕西啶直接或间接参与各自的致病机理所致。

[0242] 如引言部分中所提及的,海帕西啶为调节铁体内稳态的关键信号,其中高水平的人海帕西啶导致降低的血清铁水平,而低水平导致增加的血清铁水平,如在海帕西啶缺乏和海帕西啶过表达的小鼠模型中所显示的 (Nicolas, 2001 ;Nicolas, 2002 ; Nicolas, 2003)。

[0243] 如在本文中也提及的,海帕西啶与膜铁转运蛋白的结合导致膜铁转运蛋白的立即内在化以及随后的长期持续的血清铁降低 (Rivera, 2005),其中血铁清的降低是贫血的原因。贫血被定义为循环血液中血红蛋白的量的绝对减少,并且常常是表现为低血红蛋白的疾病的症状,和不是本身孤立的诊断。贫血是由于负面地损害红细胞的产生和 / 或寿命的医学状况而引起的。另外,贫血可以为失血的结果。

[0244] 因此为了了解贫血的发展,基于作为基础的机制,将贫血分成三种病因学类别:

[0245] a) 减少的红细胞产生,

[0246] b) 增加的红细胞破坏,和

[0247] c) 失血。

[0248] 但是,这三种类别(减少的红细胞产生、增加的红细胞破坏和失血)相互间并无严格区分,而是可以相伴地或相互独立地发生。

[0249] 在许多疾病中,所述机制的组合可以导致贫血。因此,海帕西啶的中和在许多贫血的病状中可能是有益的。

[0250] 由于根据本发明的结合海帕西啶的核酸与人海帕西啶相互作用或结合人海帕西啶,因此技术人员将会了解,根据本发明的结合海帕西啶的核酸可以用于治疗、预防和 / 或诊断本文所描述的人和动物的任何疾病。就此而言,应当理解,根据本发明的核酸分子可以用于治疗和预防任何本文所描述的疾病、病症或疾病。

[0251] 在下文中并且不希望受任何理论的束缚,提供了关于各种疾病、病症和疾病而言使用根据本发明的核酸分子的原理,因而使得根据本发明的核酸分子的所要求保护的治疗、预防和诊断可应用性看起来是可信的。为了避免任何不必要的重复,应当理解,由于涉及本领域技术人员已知且也在本文中概述的海帕西啶-膜铁转运蛋白相互作用,因而所述相互作用可由根据本发明的核酸分子来进行,从而达到所要求保护的治疗和 / 或预防效应。

[0252] 因此,可使用根据本发明的药剂来治疗和 / 或预防的疾病和 / 或病症和 / 或患病状况包括但不限于贫血、血铁过少、异食癖、具有升高的海帕西啶水平的病状、具有升高的铁水平的病状和 / 或具有铁超负荷的病状。

[0253] 优选地,贫血选自铁粒幼细胞贫血、低色素小红细胞性贫血、由慢性疾病和 / 或病症引起的贫血、由炎症引起的贫血、由遗传病症引起的贫血、由急性感染引起的贫血、和 / 或由铁代谢和 / 或体内稳态的基因中的突变引起的贫血。

[0254] 可引起贫血的各种慢性疾病和 / 或病症选自慢性炎症、癌症、自身免疫疾病和 / 或

自身免疫病症、慢性感染、动脉硬化、动脉粥样硬化和肝硬化。在这种情况下,可通过本发明核酸进行治疗的贫血为由所述各种慢性疾病和 / 或病症中的任一种引起或与之相关的贫血。另外,贫血可以为由癌症治疗(优选地,化学疗法)引起的贫血。

[0255] 慢性炎症的亚群为慢性肾疾病、慢性阻塞性肺部疾病、多发性硬化、骨关节炎、糖尿病、肥胖症、脑血管疾病、充血性心脏病、充血性心力衰竭、心肌梗死、冠状动脉疾病、周围闭塞性动脉疾病、胰腺炎、脉管炎,其中此类慢性肾疾病包括肾脏病、慢性肾功能衰竭、慢性肾衰竭,和 / 或由肾脏透析或肾脏移植引起。

[0256] 癌症的亚群为肝细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、头与颈癌、乳腺癌、结肠直肠癌、非骨髓性癌、肾细胞癌、非小细胞肺癌、肿瘤和脑瘤。

[0257] 自体免疫疾病和 / 或病症的亚群为类风湿性关节炎、肠易激惹综合征、系统性红斑狼疮和克罗恩病。

[0258] 慢性感染的亚群为病毒感染、病毒性疾病、细菌感染和真菌感染,其中所述病毒感染包括但不限于肝炎和 HIV 感染,和所述细菌感染包括但不限于幽门螺杆菌感染。

[0259] 由炎症引起的贫血为正常红细胞性的至小红细胞性的,其特征在于低的网织红细胞生成指数,总铁结合能力(TIBC)低或正常。在由炎症引起贫血的情况下,海帕西啉、急性期蛋白和其他炎症标志物(例如C反应蛋白)增加。由炎症引起的贫血也称为炎症性贫血。

[0260] 可引起贫血的各种遗传病症选自卡斯尔曼病、施尼茨勒综合征、铁难治性缺铁性贫血(matriptase-2(TMPRSS6)突变)、缺转铁蛋白血症、先天性红细胞生成不良性贫血和血红蛋白病。

[0261] 可引起贫血的各种急性感染选自病毒感染、细菌感染和真菌感染,其中病毒感染、细菌感染和真菌感染独个地或相互组合地可以导致脓毒症。

[0262] 术语“具有升高的海帕西啉水平的病状”是指在哺乳动物(优选地,人)中的病状,其中机体内的海帕西啉水平相比于此类哺乳动物的正常的海帕西啉水平而言升高,例如相比于该哺乳动物的正常海帕西啉血清水平(在人类的情况下,大约 120ng/mL)而言升高的海帕西啉血清水平。升高的血清海帕西啉水平尤其可以通过酶联免疫测定法(DRG Diagnostics, Marburg, Germany 的市售试剂盒)来测定。

[0263] 因此,可优选地将根据本发明的药剂用于其的患者包括但不限于用促红细胞生成素和其他红细胞刺激疗法进行治疗并且优选地显示出对于促红细胞生成素的低反应性的患者,其中更优选地,所述患者具有慢性肾疾病或患有癌症,其中癌症选自肝细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、头与颈癌、乳腺癌、结肠直肠癌、非骨髓性癌、肾细胞癌、非小细胞肺癌、肿瘤和脑瘤。

[0264] 在进一步的实施方案中,根据本发明的药剂包含另外的药学活性化合物。此类另外的药学活性化合物优选地为可以调节海帕西啉或膜铁转运蛋白的活性、浓度或表达的化合物。此类化合物优选地为切割海帕西啉原的蛋白酶的抑制剂、海帕西啉原的抗体、膜铁转运蛋白的拮抗剂例如膜铁转运蛋白的抗体、JAK2 抑制剂、GDF15、BMP 调节剂、可溶性血幼素或 TGF- β 抑制剂。

[0265] 可与包含根据本发明的核酸的药剂一起使用或者包含在包含根据本发明的核酸的药剂中的其他另外的药学活性化合物为已知的和 / 或用于治疗贫血和 / 或炎性病状的那些化合物,其中所述炎性病状的治疗对贫血有正面影响。此类药学活性化合物选自包括铁

补充剂、维生素补充剂、红细胞生成刺激剂、抗生素、抗炎生物制剂、免疫系统的抑制剂、抗血栓溶解剂、他汀类、血管加压药和影响肌肉收缩的化合物的组。

[0266] 铁补充剂的非限制性实例为硫酸亚铁、葡糖酸亚铁、右旋糖酐铁、葡糖酸铁钠、羧基麦芽糖铁、聚麦芽糖氢氧化铁、富马酸铁、蔗糖铁和蔗糖氢氧化铁。

[0267] 维生素补充剂的非限制性实例为维生素 C、叶酸、维生素 B12、维生素 B6 和维生素 D。

[0268] 红细胞生成刺激剂的非限制性实例为促进红细胞生成素、依泊汀、达贝泊汀、CERA、HIF 脯氨酰羟化酶抑制剂（例如 FG-2216 和 FG-4592）以及其他刺激红细胞生成的试剂。

[0269] 抗生素的非限制性实例为氨基糖苷类、 β -内酰胺抗生素、肽类抗生素、旋转酶抑制剂、林可酰胺类、大环内酯抗生素、硝基咪唑衍生物、多肽抗生素、磺胺类、四环素和甲氧苄啶。

[0270] 抗炎生物制剂的非限制性实例为：

[0271] a) IL-6 受体拮抗剂，例如托珠单抗或阿特利珠单抗 (Atlizumab)

[0272] b) TNF 拮抗剂，例如依那西普、英利昔单抗、阿达木单抗、赛妥珠单抗 (Certolizumab)

[0273] c) IL-1 受体拮抗剂，例如阿那白滞素，和

[0274] d) CD20 结合分子，例如利妥昔单抗和伊贝莫单抗 (Ibritumab)。

[0275] 免疫系统的抑制剂的非限制性实例为硫唑嘌呤、布喹那、钙调神经磷酸酶抑制剂、苯丁酸氮芥、环孢菌素 A、脱氧精脒菌素、来氟米特、氨甲蝶呤、咪唑立宾、吗替麦考酚酯、雷帕霉素、他克莫司和沙利度胺。

[0276] 抗炎剂的非限制性实例为 PDE4 抑制剂例如罗氟司特，和皮质类固醇例如泼尼松龙、甲泼尼龙、氢化可的松、地塞米松、曲安西龙、倍他米松、泡腾剂 (effervescent)、布地奈德、环索奈德和氟替卡松。

[0277] 抗血栓溶解剂的非限制性实例为激活的人 C 蛋白，例如屈曲克凝 α 。

[0278] 他汀类的非限制性实例为阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀。

[0279] 血管加压药和 / 或影响肌肉收缩的化合物 (inotropic compound) 的非限制性实例为去甲肾上腺素、加压素和多巴酚丁胺。

[0280] 除了具有升高的海帕西啉血浆水平的情形之外，根据本发明的核酸分子也可以用于在具有升高的铁水平的患者和 / 或具有铁超负荷和未升高的海帕西啉血浆水平的病状中拮抗海帕西啉。优选地进行用根据本发明的核酸分子对此类患者的治疗以降低细胞铁浓度，其中所述治疗优选地与铁螯合化合物相联合。通过根据本发明的核酸对生理性海帕西啉的中和和保护了膜铁转运蛋白的表达，并由此支持了进一步的从细胞内储备中的铁释放。与铁螯合化合物相联合的膜铁转运蛋白保护经由尿液来去除铁，并且降低全身铁含量。

[0281] 在医学领域中，铁超负荷表示由于任何原因而引起的体内铁积累。在人的情况下，铁超负荷的特征为 $>5\text{mg}$ 的全身铁含量。铁超负荷也称为血色素沉着症。

[0282] 术语“具有铁超负荷的病状”是指在哺乳动物（优选地，人）中的病状，其中所述哺乳动物体内的铁水平相比于此类哺乳动物的正常的铁水平而言升高，例如相比于该哺乳动物的正常的铁血清水平（在人类的情况下，大约 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ ）而言升高的铁血清水平，或

者相比于该哺乳动物的肝脏中正常的铁水平而言增加的在该哺乳动物的肝脏中的铁水平。通过直接测量血清铁（其中尤其使用比色测定法），通过标准运铁蛋白饱和测定法（其揭示有多少铁结合至在血液中携带铁的蛋白质），或者通过标准血清铁蛋白测定法（例如：Calbiotech, USA 的 Ferritin Blood Test ELISA 试剂盒）来测定升高的血清铁水平。例如，45% 或更高的运铁蛋白饱和水平常常表明血清中异常高水平的铁。尤其可以通过从经肝脏活组织检查而获得的组织中测量肝脏的铁含量，或者通过成象技术例如 MRI 和 / 或 SQUID 来测定肝脏中的升高的铁水平。在其他组织（例如脑、心脏）中的铁水平的程度也可以通过使用这些和其他成象技术来评估。

[0283] 铁超负荷的亚群为输血性铁超负荷、铁中毒、肺含铁血黄素沉着症、骨质减少、胰岛素抵抗、非洲人铁超负荷、哈 - 施病、高铁蛋白血症、血浆铜蓝蛋白缺乏症、新生儿血色素沉着症和红细胞病症，所述红细胞病症包括地中海贫血、 α 地中海贫血、中间型地中海贫血、镰状细胞病和骨髓增生异常综合征。

[0284] 患有其他与升高的铁水平相关的病症 / 疾病的患者应当也可从用根据本发明的核酸分子的疗法（优选地与铁螯合化合物相联合）中获益。因此，可使用根据本发明的药剂来进行治疗和 / 或预防的疾病和 / 或病症和 / 或患病状况包括但不限于具有升高的铁水平的疾病，其包括共济失调、弗里德赖希共济失调、年龄相关性黄斑变性、年龄相关性白内障、年龄相关性视网膜疾病和神经变性疾病，其中此类神经变性疾病包括阿尔茨海默病、帕金森病、泛酸激酶相关的神经变性、腿多动综合征和亨廷顿舞蹈病。

[0285] 在进一步的实施方案中，根据本发明的药剂包含另外的药学活性化合物，所述药学活性化合物优选地为可以结合铁并从哺乳动物体（特别是人体）的组织中或从循环中去除铁的化合物。此类药学活性化合物优选地选自铁螯合化合物。此类化合物与根据本发明的核酸分子的组合将会进一步降低生理性海帕西啶浓度，并由此降低细胞铁负担。

[0286] 铁螯合化合物的非限制性实例为姜黄素、去铁胺、地拉罗司和去铁酮。

[0287] 最后，所述另外的药学活性试剂可为铁代谢和 / 或铁体内稳态的调节剂。备选地或另外地，此类另外的药学活性试剂为另外的，优选地第二种种类的根据本发明的核酸。备选地，所述药剂包含至少另一种核酸，所述核酸结合不同于海帕西啶的靶分子或者表现出与根据本发明的核酸之一不同的功能。优选地，此类至少另一种核酸表现出与本文所公开的所述一种或几种另外的药学活性化合物之一类似或相同的功能。

[0288] 在本发明范围内的是，原则上将包含根据本发明的核酸的药剂（在本文中也称为（本）发明的药剂）备选地或另外地用于预防任何在所述药剂用于治疗所述疾病的用途方面所公开的疾病。因此，各自的标志物，即各自疾病的各自标志物，是本领域技术人员已知的。优选地，各自的标志物为海帕西啶。

[0289] 在本发明的药剂的一个实施方案中，将此类药剂与用于任何本文所公开的疾病（特别是，将使用本发明的药剂进行治疗的那些疾病）的其他治疗联合使用。

[0290] 本文中优选地使用的“联合疗法 (combination therapy)”或“综合疗法 (co-therapy)”包括施用本发明的药剂和至少第二种试剂作为治疗方案的一部分，以期望从这些治疗剂即本发明的药剂和所述第二种试剂的共同作用中提供有益效应。这些治疗剂的作为联合或以联合方式的施用通常在限定的时间期间内进行（通常为数分钟、数小时、数天或数周，这取决于所选择的组合）。

[0291] “联合疗法”可能（但通常不）意在包括施用两种或更多种治疗剂作为分开的单一疗法方案的一部分，所述单一疗法方案偶然地和不定地导致本发明的联合。“联合疗法”意在包括以顺次的方式施用这些治疗剂，也就是说，其中每种治疗剂在不同的时间施用，以及以基本上同时的方式施用这些治疗剂或所述治疗剂中的至少两种。基本上同时施用可以例如通过下列方式来完成：将具有固定比例的每种治疗剂的单个胶囊或者将多个关于每种治疗剂的单胶囊施用给受试者。

[0292] 治疗剂的顺次施用或基本上同时施用可以通过任何合适的途径来实现，包括但不限于局部途径、口服途径、静脉内途径、肌肉内途径和经过粘膜组织的直接吸收。治疗剂可以通过相同的途径或通过不同的途径来进行施用。例如，治疗有效试剂的特定联合的第一种治疗剂可以通过注射施用，而该联合中的另一或其他治疗剂可以局部施用。

[0293] 备选地，例如，所有治疗剂可以局部施用或者所有治疗剂可以通过注射施用。治疗剂的施用顺序不是重要的，除非另外说明。如果联合疗法还包括非药物治疗，则该非药物治疗可以在任何合适的时间进行，只要能实现从治疗剂和非药物治疗的联合中获得有益效应。例如，在适当的情况下，当非药物治疗在时间上延缓可能几天或甚至几周，而仍施用治疗剂时，仍然可能达到有益效应。

[0294] 如在上述通用术语中所论述的，根据本发明的药剂原则上可以以本领域技术人员已知的任何形式施用。优选的施用途是全身性施用，更优选地，其通过肠胃外施用，优选通过注射来进行。备选地，所述药剂可以局部施用。其他施用途包括肌肉内、腹膜内、皮下、经口、鼻内、气管内和肺部施用，优先选择侵入性最低并同时确保效力的施用途。

[0295] 肠胃外施用通常用于皮下、肌肉内或静脉内注射和输注。另外，一种用于肠胃外施用的方法采用了缓释或持续释放系统的植入，其确保维持恒定的剂量水平，并且是本领域技术人员熟知的。

[0296] 此外，本发明的优选药剂可以通过局部使用合适的鼻内媒介物 (vehicle)、吸入剂来通过鼻内途径进行施用，或者可以采用那些本领域技术人员所熟知的透皮贴剂的形式通过透皮途径进行施用。为了以透皮递送系统的形式施用，在整个给药方案过程中，剂量的施用将通常是连续的而不是间歇性的。其他优选的局部制剂包括乳膏剂、软膏剂、洗剂、气雾喷雾剂和凝胶剂，其中活性成分的浓度的范围通常将是 0.01% 至 15% (w/w 或 w/v)。

[0297] 本发明的药剂将会通常包含对于所述疗法来说有效的量的活性组分，包括但不限于本发明的核酸分子，其优选地溶解或分散于药学上可接受的介质中。药学上可接受的介质或载体包括任何和所有的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。对于药学活性物质使用此类介质和试剂是本领域熟知的。补充的活性成分也可以掺入到本发明的药剂中。

[0298] 在进一步的方面，本发明涉及药物组合物。此类药物组合物包含至少一种根据本发明的核酸，和优选地包含药学上可接受的媒介物。此类媒介物可以是本领域使用的和/或已知的任何媒介物或任何粘合剂。更特别地，此类粘合剂或媒介物是任何在关于本文所公开的药剂的制备时所论述的粘合剂或媒介物。在进一步的实施方案中，所述药物组合物包含另外的药物学活性试剂。

[0299] 根据本公开内容，药剂和药物组合物的制备分别是本领域技术人员已知的。通常，此类组合物可以制备成注射剂（作为液体溶液或悬浮液）；制备成适合于在注射前溶解或

悬浮于液体中的固体形式；制备成用于口服施用的片剂或其他固体剂；制备成定时释放胶囊；或制备成当前使用的任何其他形式，包括滴眼剂、乳膏剂、洗剂、油膏剂、吸入剂等。由外科医生、内科医生或卫生保健工作者使用无菌制剂（例如基于盐水的洗液）来处理手术区中的特殊区域也可以是特别有用的。组合物也可以通过微型装置、微颗粒或海绵进行递送。

[0300] 在该情形中，待施用的活性成分的量 and 组合物的体积取决于待治疗的个体或受试者。对于施用而言所必需的活性化合物的具体量取决于从业者的判断，并且对于每个个体是特殊的。

[0301] 通常利用对于分散活性化合物而言所必需的最小体积的药剂。合适的施用方案也是可变的，但是典型的是：最初施用所述化合物并监测结果，然后以进一步的时间间隔提供进一步的受控剂量。

[0302] 例如，对于以片剂或胶囊（例如明胶胶囊）形式的口服施用，活性药物组分即根据本发明的核酸分子和 / 或任何另外的药学活性试剂（在本文中也将其统称为治疗剂或活性化合物）可以与口服的、无毒的、药学上可接受的和优选地惰性的载体例如乙醇、甘油、水等相组合。而且，当期望或需要时，也可以将合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂掺入到混合物中。合适的粘合剂包括淀粉，硅酸镁铝，淀粉浆，明胶，甲基纤维素，羧甲基纤维素钠和 / 或聚乙烯吡咯烷酮，天然糖类例如葡萄糖或 β -乳糖，玉米增甜剂，天然和合成的树胶例如阿拉伯胶、黄蓍胶或藻酸钠，聚乙二醇，蜡等。在这些剂型中使用的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、二氧化硅、滑石、硬脂酸、它的镁盐或钙盐和 / 或聚乙二醇等。崩解剂包括但不限于，淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶淀粉、琼脂、藻酸或其钠盐、或泡腾混合物等。稀释剂包括例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和 / 或甘氨酸。

[0303] 根据本发明的药剂还可以以诸如定时释放和持续释放片剂或胶囊、丸剂、粉剂、颗粒剂、酏剂、酞剂、混悬剂、糖浆剂和乳剂的口服剂型来进行施用。有利地，由脂肪乳浊液或悬浮液来制备栓剂。

[0304] 根据本发明的药物组合物或药剂可以是经灭菌的和 / 或含有辅助剂，例如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、溶液促进剂 (solution promoter)、用于调节渗透压的盐和 / 或缓冲剂。另外，它们还可以包含其他在治疗上有价值的物质。所述组合物根据传统的混合、粒化或包覆方法来制备，并且通常含有大约 0.1% 至 75%，优选地大约 1% 至 50% 的活性成分。

[0305] 液体的（特别是可注射的）组合物可以例如通过溶解、分散等来制备。将活性化合物溶解在药学上纯的溶剂（例如水、盐水、含水右旋糖、甘油、乙醇等）中或与之混合从而形成可注射的溶液或悬浮液。另外，可以配制适合于在注射前溶解于液体中的固体形式。

[0306] 对于固体组合物，赋形剂包括药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。还可以用例如聚亚烷基二醇如丙二醇作为载体将上文限定的活性化合物配制成栓剂。在一些实施方案中，栓剂有利地由脂肪乳浊液或悬浮液制备。

[0307] 各自地，本发明的药剂和核酸分子也可以以脂质体递送系统例如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡的形式进行施用。脂质体可以由各种磷脂（包含胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱）形成。在一些实施方案中，将脂质组分的薄膜与药物水溶液水合以形成包囊该

药物的脂质层,这是本领域技术人员熟知的。例如,可以作为用本领域已知方法构建的与亲脂化合物或非免疫原性高分子量化化合物的复合物来提供根据本发明的核酸分子。另外,脂质体可以在它们的表面上携带此类核酸分子,以便用于靶向和在内部携带细胞毒性试剂来介导细胞杀死。核酸相关的复合物的实例在美国专利号 6,011,020 中提供。

[0308] 各自地,本发明的药剂和核酸分子也可以与作为可靶向的药物载体的可溶性聚合物相偶联。此类聚合物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基-甲基丙烯酰胺-苯酚、聚羟乙基天冬酰胺苯酚 (polyhydroxyethylaspanamidephenol) 或聚环氧乙烷聚赖氨酸,其用棕榈酰残基取代。此外,各自地,本发明的药剂和核酸分子可以偶联至一类可用于实现药物的受控释放的生物可降解的聚合物,例如聚乳酸、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛类、聚二氢吡喃类、聚氰基丙烯酸酯类以及水凝胶的交联或两亲性的嵌段共聚物。

[0309] 如果需要,各自地,待施用的药物组合物和药剂还可以含有一些量,通常较少量的非毒性辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲剂以及其他物质例如乙酸钠和三乙醇胺油酸酯。

[0310] 各自使用本发明的核酸分子和药剂的给药方案可以根据多种因素进行选择,包括患者的类型、物种、年龄、体重、性别和医学状况;待治疗的病状的严重度;施用途径;患者的肾脏和肝脏的功能;以及所采用的特定的根据本发明的核酸或其盐。普通医师或兽医能够容易地确定和规定对于预防、对抗或阻止病状进展而言所需的药物的有效量。

[0311] 在治疗本文所公开的任何疾病中,根据本发明的核酸的有效血浆水平的范围优选地为 500 fM 至 500 μ M。

[0312] 各自地,本发明的核酸分子和药剂可优选地以单次日剂量、每两天或每三天、每周、每两周、以单次月剂量或者每三个月进行施用。

[0313] 在本发明范围内的是,本文所描述的药剂组成了本文所公开的药物组合物。

[0314] 在进一步的方面,本发明涉及用于治疗需要这种治疗的受试者的方法,其中该方法包括施用药学有效量的至少一种根据本发明的核酸。在一个实施方案中,受试者患有疾病或处于发展出此类疾病的风险中,其中所述疾病是本文所公开的那些疾病中的任何一种,特别是在关于任何根据本发明的核酸用于制备药剂的用途时所公开的那些疾病中的任何一种。

[0315] 应当理解,根据本发明的核酸以及拮抗剂不仅可用作药剂或用于制备药剂,而且还可用于美容目的,特别是与海帕西啶参与发炎的区域性皮肤损害有关的美容目的。因此,可使用根据本发明的核酸、药剂和 / 或药物组合物来治疗或预防的其他病状或疾病是发炎的区域性皮肤损害。

[0316] 如本文中优选地使用的,诊断或诊断剂或诊断工具适合于直接或间接地检测海帕西啶,优选地本文所描述的海帕西啶,和更优选地本文中在关于本文所描述的各种病症和疾病时所描述的海帕西啶。该诊断适合于检测和 / 或随访任何各自在本文中所描述的病症和疾病。此类检测通过根据本发明的核酸与海帕西啶的结合而成为可能。可以直接或间接地检测这种结合。相应的方法和工具是本领域技术人员已知的。尤其是,根据本发明的核酸可以包含标记,所述标记使得能够检测根据本发明的核酸,优选地结合至海帕西啶的核酸。此类标记优选地选自包括放射性标记、酶标记和荧光标记的组。原则上,所有已知的

对于抗体而开发的测定法都可采用并进行调整以用于根据本发明的核酸,其中将靶结合性抗体替换成本发明的靶结合性核酸。在使用未标记的靶结合性抗体的抗体-测定法中,所述检测优选地通过二抗来进行,所述二抗用放射性标记、酶标记和荧光标记进行修饰并且在所述靶结合性抗体的 Fc- 片段处结合所述靶结合性抗体。在核酸,优选地根据本发明的核酸的情形下,所述核酸用这样的标记进行修饰,其中优选地,此类标记选自包括生物素、Cy-3 和 Cy-5 的组,并且此类标记通过针对此类标记的抗体例如抗生物素抗体、抗-Cy3 抗体或抗-Cy5 抗体来进行检测,或者在所述标记是生物素的情况下,该标记通过天然结合生物素的链霉抗生物素蛋白或抗生物素蛋白来进行检测。继而,将此类抗体、链霉抗生物素蛋白或抗生物素蛋白优选地用相应的标记例如放射性标记、酶标记或荧光标记进行修饰,如同允许进行其检测的二抗一样。

[0317] 在进一步的实施方案中,根据本发明的核酸分子通过第二种检测工具进行检测或分析,其中所述第二种检测工具是分子信标。分子信标的方法学是本领域技术人员已知的。

[0318] 简而言之,核酸探针(其也称为分子信标)是待检测的核酸的反向互补序列并因而与待检测的核酸的部分或整体杂交。在结合至待检测的核酸后,分子信标的荧光基团分开,这导致荧光信号的变化,优选地为强度的变化。这种变化与待检测的核酸的量相关。

[0319] 将会理解,用根据本发明的核酸来检测海帕西啶将特别使得能够检测本文所定义的海帕西啶。

[0320] 关于海帕西啶的检测,优选的方法包括下列步骤:

[0321] (a) 提供样品,其待就海帕西啶的存在进行检测,

[0322] (b) 提供根据本发明的核酸,

[0323] (c) 让所述样品与所述核酸反应,优选地在反应容器中进行反应,

[0324] 其中步骤(a)可以在步骤(b)之前进行,或者步骤(b)可以在步骤(a)之前进行。

[0325] 在一个优选的实施方案中,提供了另外的步骤 d),其在于检测所述核酸是否已经与海帕西啶反应。优选地,将步骤 b) 的核酸固定至表面。该表面可以是反应容器例如反应管、平板上的孔的表面,或者可以是包含于此类反应容器中的装置(例如珠)的表面。将核酸固定至表面可以通过任何本领域技术人员已知的手段来完成,包括但不限于非共价或共价连接。优选地,通过在表面和核酸之间的共价化学键来建立连接。然而,同样也在本发明范围内的是,将核酸间接地固定至表面,其中此类间接固定涉及使用另外的组分或一对相互作用伙伴(interaction partners)。此类另外的组分优选地为与待固定的核酸特异性地相互作用的化合物(其也称为相互作用伙伴),并因而介导核酸附着至该表面。相互作用伙伴优选地选自包括核酸、多肽、蛋白质和抗体的组。优选地,相互作用伙伴为抗体,更优选地为单克隆抗体。备选地,相互作用伙伴为核酸,优选地为功能性核酸。更优选地,此类功能性核酸选自适体、镜像异构适体和至少与该核酸部分互补的核酸。在进一步的备选的实施方案中,核酸与表面的结合由多分体相互作用伙伴(multi-partite interaction partner)介导。此类多分体相互作用伙伴优选地为由第一个成员和第二个成员组成的一对相互作用伙伴或一个相互作用伙伴,其中第一个成员包含在该核酸中或与其相附着,而第二个成员附着至该表面或包含在该表面内。多分体相互作用伙伴优选地选自包括生物素和抗生物素蛋白、生物素和链霉抗生物素蛋白、以及生物素和中性链霉抗生物素蛋白(neutravidin)的相互作用伙伴对。优选地,所述相互作用伙伴对的第一个成员是生物素。

[0326] 此类用于检测海帕西啉的方法的优选的结果是形成了海帕西啉和所述核酸的经固定的复合物,其中更优选地,检测到所述复合物。在实施方案范围内的是,检测出包含于该复合物中或从该复合物中释放出的海帕西啉。

[0327] 适合于检测所述海帕西啉的相应的检测工具是任何对于海帕西啉特异的检测工具。特别优选的检测工具是选自包括核酸、多肽、蛋白质和抗体的组的检测工具。

[0328] 根据本发明的用于检测海帕西啉的方法还包括将样品从已经优选地用于实施步骤 c) 的反应容器中移除。

[0329] 在进一步的实施方案中,本发明的方法还包括将海帕西啉的相互作用伙伴固定在表面(优选地,如上定义的表面)上的步骤,其中该相互作用伙伴是如本文中定义的,和优选地如上面在关于相应的方法时所定义的,并且更优选地在它们的各种实施方案中包括核酸、多肽、蛋白质和抗体。在这个实施方案中,特别优选的检测工具是根据本发明的核酸,其中此类核酸可为经标记的或未标记的。在此类核酸为经标记的情况下,所述核酸包含检测标记。此类检测标记可以直接或间接地被检测。在本文所描述的各种实施方案中,此类检测也可以涉及第二种检测工具的使用,所述第二种检测工具也优选地选自包括核酸、多肽、蛋白质和抗体的组。此类第二种检测工具优选地为对于根据本发明的核酸是特异性的,并且在根据本发明的核酸包含检测标记的情况下,此类第二种检测工具为对于所述检测标记是特异性的。在更优选的实施方案中,第二种检测工具是分子信标。同样也在本发明范围内的是,第二种检测工具在优选的实施方案中包含检测标记。不论其是否被根据本发明的核酸或第二种检测工具所包含,所述检测标记优选地选自包括生物素、溴脱氧尿苷标记、洋地黄毒苷标记、荧光标记、UV- 标记、放射性标记和螯合剂分子的组。特别优选的组合如下:

[0330] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是生物素而第二种检测工具是针对生物素的抗体,或其中

[0331] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是生物素而第二种检测工具是抗生物素蛋白或携带抗生物素蛋白的分子,或其中

[0332] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是生物素而第二种检测工具是链霉抗生物素蛋白或携带链霉抗生物素蛋白的分子,或其中

[0333] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是生物素而第二种检测工具是中性链霉抗生物素蛋白或携带中性链霉抗生物素蛋白的分子,或其中

[0334] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是溴脱氧尿苷而第二种检测工具是针对溴脱氧尿苷的抗体,或其中

[0335] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是洋地黄毒苷而第二种检测工具是针对洋地黄毒苷的抗体,或其中

[0336] 附着至根据本发明的核酸的检测标记是螯合剂而第二种检测工具是放射性核素,

[0337] 其中优选的是,所述检测标记附着至根据本发明的核酸。

[0338] 应当理解,这些类型的组合也可应用于其中根据本发明的核酸附着至表面的实施方案。在此类实施方案中,优选的是,检测标记附着至第二种检测工具,即优选地相互作用伙伴。

[0339] 最后,同样也在本发明范围内的是,用第三种检测工具检测第二种检测工具,优选地,第三种检测工具是酶,更优选地在与第二种检测工具反应后显示出酶促反应的酶。备选

地,第三种检测工具是用于检测辐射(更优选地,由附着至根据本发明的核酸或第二种检测工具(优选地,第二种检测工具)的放射性核素发射的辐射)的工具。优选地,第三种检测工具特异性地检测第二种检测工具和/或与第二种检测工具相互作用。

[0340] 此外,在将海帕西啉的相互作用伙伴固定在表面上并将根据本发明的核酸优选地加入至在所述相互作用伙伴和所述海帕西啉之间形成的复合物中的实施方案之中,可以将样品从反应体系中移除,更优选地从在其中进行步骤 c) 和/或 d) 的反应容器中移除。

[0341] 在一个实施方案中,根据本发明的核酸包含荧光部分,并且其中该荧光部分的荧光在一方面在所述核酸与海帕西啉之间形成复合物时和在另一方面在所述核酸和游离的海帕西啉的情况下是不同的。

[0342] 在进一步的实施方案中,在根据本发明的用于检测海帕西啉的方法中所使用的核酸是根据本发明的核酸的衍生物,其中所述核酸的衍生物包含至少一种腺苷的荧光衍生物以替换腺苷。在优选的实施方案中,所述腺苷的荧光衍生物是亚乙烯基腺苷。

[0343] 在进一步的实施方案中,利用荧光来检测由根据本发明的核酸的衍生物和海帕西啉组成的复合物。

[0344] 在所述方法的一个实施方案中,信号在步骤(c)或步骤(d)中产生,并且优选地,所述信号与样品中海帕西啉的浓度相关。

[0345] 在一个优选的实施方案中,所述方法可以在 96 孔平板中进行,其中将组分固定在如上描述的反应容器中并且将孔用作反应容器。

[0346] 本发明的核酸可以进一步用作用于药物设计的起始材料。主要存在两种可能的方法。一种方法是筛选化合物文库,其中此类化合物文库优选地为低分子量化合物文库。在一个实施方案中,所述筛选是高通量筛选。优选地,高通量筛选是在基于靶标的测定法中对化合物进行快速且有效的试错法(trial-and-error)评估。在最好的情况下,基于靶标的测定法的测定法形式基于比色测量法。与之相关地使用的文库是本领域技术人员已知的。

[0347] 备选地,根据本发明的核酸可用于药物的合理设计。优选地,合理药物设计是设计药物学先导结构。从靶标的三维结构开始,用计算机程序把包含许多不同化合物的结构的数据库搜索一遍,所述三维结构通常通过诸如 X 射线晶体学或核磁共振光谱学之类的方法来确定。该选择通过计算机来完成,随后可在实验室中测试所确定的化合物。

[0348] 合理药物设计可以从任何根据本发明的核酸开始,并涉及与本发明的核酸的结构相似的或者与本发明的核酸的结构中的介导所述核酸与靶标(即海帕西啉)结合的那部分相同的结构,优选地三维结构。在合理药物设计中的进一步的步骤中或作为备选的步骤,用不同于核苷酸和核酸的化学基团来模拟结合至海帕西啉的所述核酸的那些部分的(优选地)三维结构。通过这种模拟,可以设计出不同于根据本发明的核酸的化合物。此类化合物优选地为小分子或肽。

[0349] 在例如通过使用本领域技术人员已知的竞争性测定法来筛选化合物文库的情况下,可发现合适的海帕西啉类似物、海帕西啉激动剂或海帕西啉拮抗剂。这种竞争性测定法可以如下建立。将本发明的核酸(优选地,作为结合靶标的 L-核酸的镜像异构适体)偶联至固相。为了鉴定海帕西啉类似物,可以将经标记的海帕西啉加入至该测定法。潜在的类似物将与海帕西啉分子竞争结合该镜像异构适体,这将伴随有通过相应标记获得的信号的减少。筛选激动剂或拮抗剂可以涉及使用本领域技术人员已知的细胞培养测定法。

[0350] 根据本发明的试剂盒可以包含至少一种或几种本发明的核酸。另外,所述试剂盒可以包含至少一种或几种阳性或阴性对照。阳性对照可以例如是海帕西啶,特别是被本发明的核酸结合的海帕西啶,其中优选地,阳性对照以液体或冻干的形式存在。阴性对照可以例如是根据类似于海帕西啶的生物物理学性质而限定的肽,但是其不会被本发明的核酸所识别。此外,所述试剂盒可以进一步包含一种或几种缓冲液。各种成分可以以干燥或冻干的形式包含在该试剂盒中,或者可以溶解或分散在液体中。所述试剂盒还可以进一步包括一个或几个容器,所述容器继而可以包含一种或几种该试剂盒的成分。在更进一步的实施方案中,所述试剂盒进一步包括说明书或说明书散页,其将有关如何使用试剂盒及其各种成分的信息提供给使用者。

[0351] 对在人体或非人体的数种体液、组织和器官中的根据本发明的核酸进行定量对于评估根据本发明的核酸的药物动力学和药效动力学特性来说是必需的。为此目的,可以采用使用根据本发明的核酸的任何本文所公开的或本领域技术人员已知的检测方法。在本发明的进一步的方面,提供了用于检测根据本发明的核酸的夹心杂交测定法。关于此类夹心杂交测定法,使用捕获探针和检测探针。所述捕获探针与根据本发明的核酸的第一部分基本上互补,而所述检测探针与根据本发明的核酸的第二部分基本上互补。捕获探针和检测探针均可以由 DNA 核苷酸、经修饰的 DNA 核苷酸、经修饰的 RNA 核苷酸、RNA 核苷酸、LNA 核苷酸和 / 或 PNA 核苷酸形成。

[0352] 因此,捕获探针包含与根据本发明的核酸的 5' - 末端基本上互补的核苷酸序列段,而检测探针包含与根据本发明的核酸的 3' - 末端基本上互补的核苷酸序列段。在该情况下,将捕获探针经由其 5' - 末端固定至表面或基质,其中该捕获探针可以在其 5' - 末端处直接固定,或者经由在其 5' - 末端和表面或基质之间的连接体进行固定。然而,原则上,所述连接体可以连接至捕获探针的每个核苷酸。所述连接体可以由亲水性连接体形成,或者由 D-DNA 核苷酸、经修饰的 D-DNA 核苷酸、D-RNA 核苷酸、经修饰的 D-RNA 核苷酸、D-LNA 核苷酸、PNA 核苷酸、L-RNA 核苷酸、L-DNA 核苷酸、经修饰的 L-RNA 核苷酸、经修饰的 L-DNA 核苷酸和 / 或 L-LNA 核苷酸形成,正如本领域技术人员所已知的。

[0353] 备选地,捕获探针可以包含与根据本发明的核酸的 3' - 末端基本上互补的核苷酸序列段,而检测探针包含与根据本发明的核酸的 5' - 末端基本上互补的核苷酸序列段。在该情况下,将捕获探针经由其 3' - 末端固定至表面或基质,其中该捕获探针可以在其 3' - 末端处直接固定,或者经由在其 3' - 末端和表面或基质之间的连接体进行固定。然而,原则上,所述连接体可以连接至与根据本发明的核酸基本上互补的核苷酸序列段的每个核苷酸。所述连接体可以由亲水性连接体形成,或者由 D-DNA 核苷酸、经修饰的 D-DNA 核苷酸、D-RNA 核苷酸、经修饰的 D-RNA 核苷酸、D-LNA 核苷酸、PNA 核苷酸、L-RNA 核苷酸、L-DNA 核苷酸、经修饰的 L-RNA 核苷酸、经修饰的 L-DNA 核苷酸和 / 或 L-LNA 核苷酸形成,正如本领域技术人员所已知的。

[0354] 各自地可以与根据本发明的核酸杂交的捕获探针和检测探针的核苷酸数目是可变的并且可依赖于捕获探针和 / 或检测探针和 / 或根据本发明的核酸自身的核苷酸数目。可与根据本发明的核酸杂交的捕获探针和检测探针的核苷酸总数目的最大值应该是根据本发明的核酸所包含的核苷酸数目。检测探针和捕获探针的各自独立的核苷酸的最小数目(通常为 2 至 10 个核苷酸)应该使得能够分别与根据本发明的核酸的 5' - 末端或 3' - 末

端杂交。

[0355] 此外,检测探针优选地携带有本文先前所描述的可检测的标志物分子或标记。原则上,所述标记或标志物分子可以连接至检测探针的每个核苷酸或检测探针的每个部分。优选地,所述标记或标志物位于检测探针的5'-末端或3'-末端,其中在与根据本发明的核酸互补的检测探针内的核苷酸和所述标记之间可以插入连接体。所述连接体可以由亲水性连接体形成,或者由D-DNA核苷酸、经修饰的D-DNA核苷酸、D-RNA核苷酸、经修饰的D-RNA核苷酸、D-LNA核苷酸、PNA核苷酸、L-RNA核苷酸、L-DNA核苷酸、经修饰的L-RNA核苷酸、经修饰的L-DNA核苷酸和/或L-LNA核苷酸形成,正如本领域技术人员所已知的。

[0356] 在用于检测海帕西啶的方法的一个实施方案中,根据本发明的核酸的检测可以如下进行:

[0357] 将根据本发明的核酸以其一端与捕获探针杂交,并且以其另一端与检测探针杂交。然后,通过例如一个或多个洗涤步骤来去除未结合的检测探针,即未与根据本发明的核酸结合的检测探针。随后,例如如在WO/2008/052774(其通过提及而合并入本文)中更详细地概括的,可以测量结合的检测探针的量,所述检测探针优选地携带有标记或标记物分子。

[0358] 如本文中优选地使用的,术语“治疗”在一个优选的实施方案中另外地或备选地包括预防和/或随访。

[0359] 如本文中优选地使用的,如果没有指出与此相反,术语“疾病”和“病症”应当可互换地进行使用。

[0360] 如本文中所使用的,术语“包含”优选地无意于限制该术语前面的主题或由该术语所描述的主题。然而,在一个备选的实施方案中,术语“包含”应当以容纳的含义理解,并因而理解为限制了该术语前面的主题或由该术语所描述的主题。

[0361] 本文所使用的根据本发明的核酸分子和靶分子海帕西啶的各个SEQ ID No.、化学性质,其实际序列,以及内部参考号概括在下表中。

[0362]

Seq. -ID	RNA/肽	序列	内部参考
1	L-肽	DTHFPICIFCCGGCCHRSKCGMCCKT	人海帕西啉, 人海帕西啉-25
2	L-肽	DTHFPICIFCCGGCCHRSKCGMCCKT	猕猴 (恒河猴) 的海帕西啉-25
3	L-肽	DTHFPICIFCCGGCCHRSKCGMCCKT	食蟹猕猴 (食蟹猴) 的海帕西啉-25
4	L-肽	DTHFPICIFCCGGCCRKAICGMCCCKT	欧洲野猪 (猪) 的海帕西啉-25
5	L-肽	DTNFPICIFCCCKCCNNSQCGICCKT	小家鼠 (小鼠) 的海帕西啉-25
6	L-肽	DTNFPICIFCCCKCCKNSSCGLCCIT	褐家鼠 (大鼠) 的海帕西啉-25
7	D-肽	DTHFPICIFCCGGCCHRSKCGMCCKT-生物素	生物素化的人 D-海帕西啉-25
8	L-肽	ICIFCCGGCCHRSKCGMCCKT	人海帕西啉-20
9	L-肽	FPICIFCCGGCCHRSKCGMCCKT	人海帕西啉-22
10	D-RNA	GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUGCCGAGUGC	223-C5-001
11	D-RNA	GCACUUGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUGCCGAGUGC	223-B5-001
12	D-RNA	GCAUUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUGCCGAGUGC	223-A5-001
13	D-RNA	GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUGCCGGGUGC	223-A3-001
14	D-RNA	GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUGCCGAGUGC	223-F5-001

[0363]

15	D-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGACUCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-G4-001
16	D-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGGAUACAGUCCGGCGUGAUAGUACGAGUGC	223-A4-001
17	D-RNA	CGUGUGUAAAAGUAGAGGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUUAUUCCACACG	229-C2-001
18	D-RNA	CGCGUGUAAAAGUAGAGGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUUAUUCCACACG	229-B4-001
19	D-RNA	CGUGUGUAAAAGUAGAGGGCAGGCAUUCUGCGGAGUGUUAUUCCACACG	229-E2-001
20	D-RNA	CGUGUGUAAAAGUAGAGGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUCCACACG	229-B1-001
21	D-RNA	GCUGUGUAAAAGUAGAGGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUCCACACG	229-B1-002
22	D-RNA	CGUGUGUAAAAGUAGAGGGACAAUAGUCCGGCGUGAGAGUCCACACG	229-G1-001
23	D-RNA	CGUGAAAAGUAGAAAACUUGUCGAAAGCAAGUAGCGUGAUAGUGCCACG	229-C4-001
24	D-RNA	CGUGCUGCGUGUAUAGUGCUCCAGGUUCUGGAUAAAGUAGAGAGCACG	229-D1-001
25	D-RNA	CGUGCGAAGGAGUGUAAGUGUUUCUGACUUCUCCAGACUCCACG	229-E1-001
26	D-RNA	CACUCGUAAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUG	223-C5-002
27	D-RNA	CGCGCGUAAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGCGCG	223-C5-006
28	D-RNA	GGCGGUAAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGCGCG	223-C5-007
29	L-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-C5-001
30	L-RNA	GCACUUGUAAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-B5-001
31	L-RNA	GCAUUCGUAAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-A5-001
32	L-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGACCUAGUCCGGCGUGAUAGUCCGGGUGC	223-A3-001
33	L-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGACCUAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-F5-001
34	L-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGACUCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-G4-001
35	L-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGAUACAGUCCGGCGUGAUAGUACGAGUGC	223-A4-001
36	L-RNA	CGUGUGUAAAAGUAGAGGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUUAUUCCACACG	229-C2-001

[0364]

37	L-RNA	CGCGUGUAAAGUAGAGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUUAGUCCACACG	229-B4-001
38	L-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGCAGGCAUUCUGCGGAGUGUUAGUCCACACG	229-E2-001
39	L-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUGCCACACG	229-B1-001
40	L-RNA	GCUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUGCCACACG	229-B1-002
41	L-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUAGUCGGCGUGAGAGGCCACACG	229-G1-001
42	L-RNA	CGUGAAAAGUAGAAACUUGUCGAAAGCAAGUAGCGUGAUAGUGCCACG	229-C4-001
43	L-RNA	CGUGCUGGGUGAUAGUGCUCAGGUUCUGGUAUAAAGUAGAGACACG	229-D1-001
44	L-RNA	CGUGCGAAGGAGUGUAAGUGUUUCUGACUUUCUCCAGACUCCACG	229-E1-001
45	L-RNA	CACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGGUGAUAGUGCCGAGUG	223-C5-002
46	L-RNA	CGCGCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGGUGAUAGUGCCGGCGG	223-C5-006
47	L-RNA	GGCGGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGGUGAUAGUGCCGGCGG	223-C5-007
48	L-RNA	5'-40-kDa-PEG-GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGGUGAUAGUGCCGAGUGC	223-C5-001-5'-PEG
49	D-RNA	AGGCGUAAAGUAGAGGGCGUGAGCCCGCGGUGUUAGUGCCGCCU	238-A1-001
50	D-RNA	AGGCGUAAAGUAGAGGGACGUAUCUCCGGCGGUGAUAGUGCCGCCU	238-E2-001
51	D-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGCAGAUAAUUCUGCGGAGUGUUAGUCCACACG	237-A7-001
52	D-RNA	CGUGAAAAGUAGAAAACUUGUCGAAAGCAAGCAGCGGUGAUAGUGCCACG	236-G2-001
53	D-RNA	CGUGAAAAGUUGAAAUUUGUUGGAUUCAGCAGCGGAUUAUAGUGCCACG	236-D1-001
54	D-RNA	AGCGUGUCGUUUGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGGUGCGCU	238-D2-001
55	D-RNA	AGCGUGUCGUUUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGGCAUGCU	238-D4-001
56	D-RNA	AGUGUGUCGUUUGGGAUAAAGUAAAUGAGGGGUUGGAGGAAGGAUGCGCU	238-H1-001
57	D-RNA	AGUGUGUCAUUGGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGGCAUGCU	238-A2-001
58	D-RNA	AGCGUGCCCGAUGGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGGUGCGCU	238-G2-001

[0365]

59	D-RNA	AGCGUGCCGUUUGGGAUAAAGUAAUAGGAGUAGGAGGAAGGGUACGCU	238-G4-001
60	D-RNA	AGCGGCCGUUUGGGAGAAAGUAAUAGGAGUUGGAGGAAGGGCGCGCU	238-G3-001
61	D-RNA	AGGCUCCGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGCCU	238-C4-001
62	D-RNA	AGGCUCCGACGGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUACGGGGCCU	238-E3-001
63	D-RNA	AGGCCCCGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUACGGGGCCU	238-F2-001
64	D-RNA	AGGCUUGGGCGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUACGAGCCU	238-A4-001
65	D-RNA	AGACUUGGGCAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGAGUCU	238-E1-001
66	D-RNA	CGGGCCCCAUAGACCCGUUAUUAAGCACUGUAACUACCGAACCGGCCCG	237-A5-001
67	D-RNA	CGGGCGCCAUAGACCCGUUAACUACAUAAUACCGAACCGUGGCCG	237-C5-001
68	D-RNA	CGGGCGCUACCGAACCCACUAAACCAGUGCAUAGACCGCGCCG	236-F2-001
69	D-RNA	CGGGCGCUACCGAACCGUCACGAAGACCAUAGACCGCGCG	236-G4-001
70	D-RNA	CGAGCGCAACCGAACCCUCUACCCAGACAUAGACCGCGCCG	236-E3-001
71	D-RNA	GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-C5-008
72	D-RNA	GUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCACAC	229-B1-003
73	D-RNA	GCGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCACGC	229-B1-004
74	D-RNA	GCGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCCGCG	229-B1-005
75	D-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCACAC	229-B1-006
76	D-RNA	GCCGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCACGGC	229-B1-007
77	D-RNA	GCGGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCACCGC	229-B1-008
78	D-RNA	GCUGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCCGCAGC	229-B1-009
79	D-RNA	GCUGGGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCCCCAGC	229-B1-010
80	D-RNA	GCGGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUCCCGCGCG	229-B1-011

[0366]

81	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-002
82	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-003
83	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-004
84	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-005
85	D-RNA	GGUGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCAUC	238-D4-006
86	D-RNA	GGUGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCAUC	238-D4-007
87	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-008
88	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-009
89	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-010
90	D-RNA	GGCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-011
91	D-RNA	GGUGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-012
92	D-RNA	GGCGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGGAGUUGGAGGAAGGCGCGC	238-D4-013
93	D-RNA	GGCUCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGGGC	238-C4-002
94	D-RNA	GCUCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGGGC	238-C4-003
95	D-RNA	CUCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGGG	238-C4-004
96	D-RNA	GCCCGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGGGC	238-C4-005
97	D-RNA	GGCCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGGGC	238-C4-006
98	D-RNA	GCGGAGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAUCCGU	238-C4-007
99	D-RNA	AGGCUGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAAGGCCU	238-C4-008
100	D-RNA	GGCCUGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAAGGCCU	238-C4-009
101	D-RNA	GCGCGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGCGC	238-C4-010
102	D-RNA	GCCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGUAACGGCGC	238-C4-011

[0367]

103	D-RNA	GGCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGCC	238-C4-012
104	D-RNA	GGCCGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUAGGCC	238-C4-013
105	D-RNA	GGCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUAGCGC	238-C4-014
106	D-RNA	GGCCGGACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-024
107	D-RNA	GGCCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-025
108	D-RNA	GGCCGGACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-062
109	L-RNA	5' UCCAGGUUCUGGA	
110	L-RNA	AGCGGUAAAGUAGAGGGGCGUGAGCCCGCGGUGUUAGUGCCGCCU	238-A1-001
111	L-RNA	AGCGGUAAAGUAGAGGGGACGUAGUCCGGCGGUGAUAGUGCCGCCU	238-E2-001
112	L-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGGGACAGUAAUCUGCGGAGUGUUAGUCCACACG	237-A7-001
113	L-RNA	CGUGAAAGUAGAAACUUGUCGAAAGCAAGCAGCGUGAUAGUGCCACG	236-G2-001
114	L-RNA	CGUGAAAGUUGAAAUUUGUGGAUCAAGCAGGGAUAUAGUGCCACG	236-D1-001
115	L-RNA	AGCGUGUCGUAUGGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGUGCGCU	238-D2-001
116	L-RNA	AGCGUGUCGUAUGGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCAUGCU	238-D4-001
117	L-RNA	AGUGUGUCGUAUGGGGAUAAAGUAAAUAGAGGGGUGGAGGAAGGAUGCGCU	238-H1-001
118	L-RNA	AGUGUGUCAUAUGGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGCAUGCU	238-A2-001
119	L-RNA	AGCGUGCCGGAUGGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGUGCGCU	238-G2-001
120	L-RNA	AGCGUGCCGUAUGGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUAGGAGGAAGGGUACGCU	238-G4-001
121	L-RNA	AGCGCGCCGUAUGGGGAGAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGCGCU	238-G3-001
122	L-RNA	AGGCUCGGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGCCU	238-C4-001
123	L-RNA	AGGCUCGGACGGCGGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUACGGGGCCU	238-E3-001
124	L-RNA	AGGCCCGGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUACGGGGCCU	238-F2-001

[0368]

125	L-RNA	AGGCUUGGGCGCGGGGGACACCAUAUACAGACUAUAUACGAGCCU	238-A4-001
126	L-RNA	AGACUUGGGCAGCGGGGGACACCAUAUACAGACUAACGAUACGAGUCU	238-E1-001
127	L-RNA	CGGGCGCCAUAGAGACCGUUAUUAAGCACUCUGAAACUACCGAACCGCGCCCG	237-A5-001
128	L-RNA	CGGGCGCCAUAGAGACCGUUAACUACAUAAUACCGAACCGUGCCCG	237-C5-001
129	L-RNA	CGGGCGCUACCGAACCCACUAAAAACAGUGCAUAGACCGGCCCG	236-F2-001
130	L-RNA	CGGGCGCUACCGAACCGUACCGAACGAAGACCAUAGACCGGCCCG	236-G4-001
131	L-RNA	CGAGCGCAACCGAACCCUACCCAGACAUAGACCGGCCCG	236-E3-001
132	L-RNA	GCACUCGUAAAAGUAGAGGGACCAUCCGGCGGUGAUAGUGCCGAGUGC	223-C5-008
133	L-RNA	GUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCACAC	229-B1-003
134	L-RNA	GCGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCACGC	229-B1-004
135	L-RNA	GCGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCGCGC	229-B1-005
136	L-RNA	CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCACAC	229-B1-006
137	L-RNA	GCCGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCACGGC	229-B1-007
138	L-RNA	GCGGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCACCGC	229-B1-008
139	L-RNA	GCUGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCGCGCAGC	229-B1-009
140	L-RNA	GCUGGGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCCCCAGC	229-B1-010
141	L-RNA	GCGGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUGCCGCGCGC	229-B1-011
142	L-RNA	GCGGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGGC	238-D4-002
143	L-RNA	GCGGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGGC	238-D4-003
144	L-RNA	GCGGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGGC	238-D4-004
145	L-RNA	GCGGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGGC	238-D4-005
146	L-RNA	GGUGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCAUC	238-D4-006

[0369]

147	L-RNA	GGUGUCGUAUGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCAUC	238-D4-007
148	L-RNA	GGCCCGUAUGCGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGC	238-D4-008
149	L-RNA	GGCCCGUAUGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGC	238-D4-009
150	L-RNA	GGCCCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGCC	238-D4-010
151	L-RNA	GGCCCGUAUGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGCC	238-D4-011
152	L-RNA	GGCGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGCC	238-D4-012
153	L-RNA	GGCGUCGUAUGGGAUAAAGUAAAUAGAGGAGUUGGAGGAAGGGCGCC	238-D4-013
154	L-RNA	GGCUCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGCC	238-C4-002
155	L-RNA	GCUCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGC	238-C4-003
156	L-RNA	CUCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGG	238-C4-004
157	L-RNA	5' GACAAUAGUC	
158	L-RNA	GCCCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGC	238-C4-005
159	L-RNA	GGCCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGC	238-C4-006
160	L-RNA	GGGGAGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACCGU	238-C4-007
161	L-RNA	AGGCUGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCCU	238-C4-008
162	L-RNA	GGCCUGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCU	238-C4-009
163	L-RNA	GGCGGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCGC	238-C4-010
164	L-RNA	GGCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGC	238-C4-011
165	L-RNA	GGCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-012
166	L-RNA	GGCCGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-013
167	L-RNA	GGCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGC	238-C4-014
168	L-RNA	GGCCGGACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGGGC	238-C4-024

[0370]

169	L-RNA	GGCCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-025
170	L-RNA	GGCCGGACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-062
171	L-RNA	5'-NH ₂ -GCUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUCCACAGC	229-B1-002-5'-氨基
172	L-RNA	5'-NH ₂ -GCACUCGUAAAGUAGAGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUCCGAGUGC	223-C5-001-5'-氨基
173	L-RNA	5'-PEG- GCUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUCCACAGC	229-B1-002-5'-PEG
174	L-RNA	5'-PEG-GGCCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-006-5'-PEG
175	L-RNA	5'-PEG-GCGCGGUUUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGCGGC	238-D4-002-5'-PEG
176	L-RNA	5'-PEG-GCGCCGUUUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGCGGC	238-D4-008-5'-PEG, NOX-H94
177	L-RNA	5'-CCAUACGGCGC-C18-C18-NH ₂ -	5'CP-11_NOX-H94
178	L-RNA	5'-生物素-C18-C18-GCGCCUCCUCC	3'DP-13_NOX-H94
179	L-RNA	5'-NH ₂ -GCGCGGUUUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGCGGC	238-D4-002-5'-氨基
180	L-RNA	5'-NH ₂ -GCGCCGUUUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGCGGC	238-D4-008-5'-氨基
181	L-RNA	5'-NH ₂ -GCGCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGCC	238-C4-006-5'-氨基
182	L-RNA	5' RKAUGGGAKUAAAGUAAAUGAGGGRGUWGGAGGAAR	
183	L-RNA	5' RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGGRGUWGGAGGAAR	
184	L-RNA	5' GUAUGGGAUUAAAGUAAAUGAGGAGGUUGGAGGAAG	
185	L-RNA	5' GRCRCGCGVGGACACCAUAUACAGACUACKAUA	
186	L-RNA	5' GRCRCGCGGARGGACACCAUAUACAGACUACKAUA	
187	L-RNA	5' GACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA	
188	L-RNA	5' WAAAGUWGAR	
189	L-RNA	5' RGMGUGWKAGUKC	

[0371]

190	L-RNA	5' GGGCUGAGCCC	
191	L-RNA	5' GCAGAUAAUCUGC	
192	L-RNA	5' GGACCAGUCC	
193	L-RNA	5' GGACCCAGUCC	
194	L-RNA	5' GGACCUAGUCC	
195	L-RNA	5' GGACUCAGUCC	
196	L-RNA	5' GCAGGUAAUCUGC	
197	L-RNA	5' GCAGGCAAUCUGC	
198	L-RNA	5' GACAAUUGUC	
199	L-RNA	5' UAAAGUAGAG	
200	L-RNA	5' AAAAGUAGAA	
201	L-RNA	5' AAAAGUUGAA	
202	L-RNA	5' GGGAUUAGUGC	
203	L-RNA	5' GCGGUGAUAGUGC	
204	L-RNA	5' GGAGUGUUAGUUC	
205	L-RNA	5' GCGCUGAGAGUGC	
206	L-RNA	5' AGCGUGAUAGUGC	
207	L-RNA	5' GCGGUGUUAGUGC	
208	L-RNA	5' GGACBYAGUCC	
209	L-RNA	5' GGAUACAGUCC	
210	L-RNA	5' GCAGGYAAUCUGC	
211	L-RNA	5' GACAAUWGUC	

[0372]

[0373] 本发明通过附图、实施例和序列表来进一步举例说明,从这些附图、实施例和序列表中可获得另外的特征、实施方案和优点,其中

- [0374] 图 1 和 2 显示了 A 型结合海帕西啉的核酸的序列的比对；
- [0375] 图 3 显示了 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 的衍生物；
- [0376] 图 4 显示了 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 的衍生物；
- [0377] 图 5 显示了 B 型结合海帕西啉的核酸的序列的比对；
- [0378] 图 6 显示了 B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001 的衍生物；
- [0379] 图 7 显示了 C 型结合海帕西啉的核酸的序列的比对；
- [0380] 图 8 显示了 C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-001 的衍生物；
- [0381] 图 9 显示了其他结合海帕西啉的核酸的序列的比对；
- [0382] 图 10 显示了关于结合海帕西啉的核酸 223-C5-001、229-B1-002、238-C4-006、238-D4-001 和 238-D4-008 与人海帕西啉 -25、食蟹猴海帕西啉 -25、狨海帕西啉 -25、小鼠海帕西啉 -25 和大鼠海帕西啉 -25 的结合的数据；
- [0383] 图 11 显示了关于结合海帕西啉的核酸 223-C5-001、229-B1-002、238-C4-006、238-D4-001 和 238-D4-008 与人海帕西啉 -25、海帕西啉 -22 和海帕西啉 -20 的结合的数据；
- [0384] 图 12 显示了关于结合海帕西啉的核酸 223-C5-001-5'-PEG、229-B1-002-5'-PEG、238-C4-006-5'-PEG、238-D4-002-5'-PEG 和 238-D4-008-5'-PEG 与人海帕西啉 -25 的结合的数据；
- [0385] 图 13 显示了 Biacore 2000 传感图 (sensorgram)，其指明了在 37°C 下，A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 的适体与生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 结合的 K_D 值，其中所述生物素化的人 D- 海帕西啉在 37°C 下通过链霉抗生物素蛋白偶联过程而固定在缀合有链霉抗生物素蛋白的传感器芯片上，表示为随时间而变化的响应 (RU)；
- [0386] 图 14 和 15 显示了用于互相比较结合海帕西啉的核酸并鉴定出最好的结合海帕西啉的核酸的分级试验的结果，其中 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 是经标记的，并且于 37°C 分别在 10、50 或 250nM 未标记的竞争者 RNA (不同类型的结合海帕西啉的核酸) 存在下进行核酸 223-C5-001 与生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 的结合，表示为随生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 的浓度而变化的 223-C5-001 的结合 (“竞争性 pull-down 测定法”)；
- [0387] 图 16 显示了 Biacore 2000 传感图，其指明了在 37°C 下，A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 的适体与生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 结合的 K_D 值，其中所述生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 在 37°C 下通过链霉抗生物素蛋白偶联过程而固定在缀合有链霉抗生物素蛋白的传感器芯片上，表示为随时间而变化的响应 (RU)；
- [0388] 图 17A/17B 显示了镜像异构适体 223-C5-001-5'-PEG、238-D4-008-5'-氨基和 238-D4-008-5'-PEG (= NOX-H94) 对于人海帕西啉 -25 对铁诱导的膜铁转运蛋白上调的效应所产生的影响，其中在用人海帕西啉 -25 或海帕西啉 -25+ 镜像异构适体进行刺激后从 J774.1 细胞获得的裂解物通过 SDS- 凝胶电泳来分开，并通过使用针对小鼠膜铁转运蛋白的抗体的 Western 印迹法来进行分析；
- [0389] 图 18 显示了在体内镜像异构适体 223-C5-001-5'-PEG 对于海帕西啉活性的效应，其中通过在注射人海帕西啉之前施用镜像异构适体 223-C5-001-5'-PEG 而完全阻断了由人海帕西啉引起的血清铁的降低；
- [0390] 图 19 显示了 Biacore 2000 传感图，其指明了在 37°C 下，结合海帕西啉的核酸

NOX-H94(= 238-D4-008-5' -PEG) 的镜像异构适体与生物素化的人 L- 海帕西啉结合的 K_D 值,其中所述生物素化的人 L- 海帕西啉在 37℃ 下通过链霉抗生物素蛋白偶联过程而固定在缀合有链霉抗生物素蛋白的传感器芯片上,表示为随时间而变化的响应 (RU) ;

[0391] 图 20 显示了在体内镜像异构适体 NOX-H94(= 238-D4-008-5' -PEG) 对于海帕西啉活性的效应,其中通过在注射人海帕西啉之前施用镜像异构适体 NOX-H94(= 238-D4-008-5' -PEG) 而完全阻断了由人海帕西啉引起的血清铁的降低 ;

[0392] 图 21 显示了镜像异构适体 NOX-H94(= 238-D4-008-5' -PEG) 在炎症性贫血的动物模型 (食蟹猴) 中的效应,其中 IL-6 诱导海帕西啉分泌,这随后在非人灵长类中导致贫血 ;在该试验中,人 IL-6 致使血清铁浓度降低至经媒介物 /IL-6 处理的猴的给药前 (predose) 值的 27%,通过在注射人 IL-6 之前施用镜像异构适体 238-D4-008-5' -PEG 完全阻断了该血清铁的降低。

[0393] 实施例 1 :结合人海帕西啉的核酸

[0394] 通过使用生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 作为靶标,可以产生数种结合人海帕西啉 (特别地,人海帕西啉 -25、人海帕西啉 -22 和人海帕西啉 -20) 的核酸 :它们的核苷酸序列描绘在图 1 至 9 中。这些核酸如下进行表征 :采用使用生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 的直接 pull-down 测定法 (实施例 3)、竞争性 pull-down 测定法 (实施例 3) 和 / 或表面等离子共振测量 (实施例 4) 在适体 (即 D- 核酸) 水平上进行表征,或者使用人海帕西啉 -25 的天然构型 (人 L- 海帕西啉 -25) 在竞争性 pull-down 测定法 (实施例 3)、表面等离子共振测量 (实施例 4)、体外测定法 (实施例 5) 和 / 或体内测定法 (实施例 6 和 7) 中在镜像异构适体 (即 L- 核酸) 水平上进行表征。如实施例 2 中所描述的来合成所述镜像异构适体和适体。

[0395] 如此产生的核酸分子显示出不同的序列基序,其中鉴定出了三种主要类型,并将它们定义为 A 型、B 型和 C 型结合海帕西啉的核酸且描绘在图 1 至 8 中。

[0396] 对于核苷酸序列基序的定义,使用了 IUPAC 缩写以用于不确定的核苷酸 :

[0397]

S	强	G或C;
W	弱	A或U;
R	嘌呤	G或A;
Y	嘧啶	C或U;
K	酮基	G或U;
M	亚氨基	A或C;

[0398]

B	非A	C或U或G;
D	非C	A或G或U;
H	非G	A或C或U;
V	非U	A或C或G;
N	全部	A或G或C或U。

[0399] 如果未指明与此相反,则任何核酸序列或者序列段和盒的序列都分别以 5'→3' 的方向显示。

[0400] 1.1 A 型结合海帕西啉的核酸

[0401] 如在图 1、图 2、图 3 和图 4 中所描绘的,A 型结合海帕西啉的核酸包含一个中央核苷酸序列段,其中所述中央核苷酸序列段包含至少两个定义了潜在的海帕西啉结合性基序的核苷酸序列段(在本文中也称为核苷酸盒):第一核苷酸序列段盒 A 和第二核苷酸序列段盒 B。

[0402] 所述第一核苷酸序列段盒 A 和第二核苷酸序列段盒 B 通过连接性核苷酸序列段而互相连接。

[0403] 在所述连接性核苷酸序列段中,一些核苷酸可以相互杂交,其中在杂交后形成双链结构。但是,此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0404] 一般地,A 型结合海帕西啉的核酸在其 5' - 末端和 3' - 末端处包含末端核苷酸序列段:第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段。所述第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段可以相互杂交,其中在杂交后形成双链结构。但是,此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0405] A 型结合海帕西啉的核酸的五个核苷酸序列段(盒 A、盒 B、连接性核苷酸序列段、第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段)可以不同地相互排列:第一末端核苷酸序列段—盒 A—连接性核苷酸序列段—盒 B—第二末端核苷酸序列段,或者第一末端核苷酸序列段—盒 B—连接性核苷酸序列段—盒 A—第二末端核苷酸序列段。

[0406] 但是,A 型结合海帕西啉的核酸的五个核苷酸序列段(盒 A、盒 B、连接性核苷酸序列段、第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段)也可以如下相互排列:第二末端核苷酸序列段—盒 A—连接性核苷酸序列段—盒 B—第一末端核苷酸序列段,或者第二末端核苷酸序列段—盒 B—连接性核苷酸序列段—盒 A—第一末端核苷酸序列段。

[0407] 所定义的盒或核苷酸序列段的序列可能在 A 型结合海帕西啉的核酸之间不同,这影响对于人海帕西啉(特别地,人海帕西啉 -25)的结合亲和力。基于不同的 A 型结合海帕西啉的核酸的结合分析,下文中所描述的盒 A 和盒 B 以及其核苷酸序列独个地,更优选地以其整体地对于结合人海帕西啉(特别地,人海帕西啉 -25)来说是必需的。

[0408] 根据本发明的 A 型结合海帕西啉的核酸显示在图 1 至 4 中。它们均作为适体和/或镜像异构适体而就其结合人海帕西啉 -25(更精确地,分别生物素化的人 D-海帕西啉 -25 和生物素化的人 L-海帕西啉 -24)的能力进行测试。特征在于其与人海帕西啉 -25 的结合亲和力的第一种 A 型结合海帕西啉的核酸为结合海帕西啉的核酸 223-C5-001。通过表面等离子共振测量来测定关于人海帕西啉 -25 的平衡结合常数 K_D (用适体序列测定的 K_D =

1. 2nM, 图 13 ;用镜像异构适体序列测定的 $K_D = 2.7$ nM, 图 11)。除了人海帕西啉 -25 之外, 结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 以几乎相同的结合亲和力结合人海帕西啉 -20 (图 11)。

[0409] A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 的衍生物 223-C5-002、223-C5-007 和 223-C5-008 在竞争性 pull-down 测定法中显示出相比于 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 而言降低的结合亲和力 (图 3)。实际上, 结合海帕西啉的核酸 223-C5-006 在相同的测定法形式中显示出与 223-C5-001 类似的与人海帕西啉 -25 的结合 (图 3)。

[0410] A 型结合海帕西啉的核酸 223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、223-A4-001、229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、229-B1-001、229-G1-001、229-C4-001、238-A1-001、238-E2-001、237-A7-001、236-G2-001、236-D1-001、229-D1-001 和 229-E1-001 作为适体与 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 相对抗地在竞争性 pull-down 测定法中进行测试, 其中首先通过使用直接 pull-down 测定法来测定经放射性标记的适体 223-C5-001 的结合亲和力。不能观察到核酸 229-E1-001 对于 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 的结合发生竞争 (图 2 和 15)。该观察结果使得假设, 核酸 229-E1-001 不具有或具有非常低的对于人海帕西啉 -25 的结合亲和力。A 型结合海帕西啉的核酸 223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-A4-001、229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、229-C4-001、238-A1-001、238-E2-001、237-A7-001、236-G2-001 和 236-D1-001 在竞争性 pull-down 测定中显示出相比于 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 而言降低的结合亲和力 (图 1、14 和 15)。A 型结合海帕西啉的核酸 223-F5-001、223-G4-001、229-G1-001 和 229-D1-001 显示出与 223-C5-001 类似的结合亲和力 (图 1、2、14 和 15)。对于 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001, 可以观察到更好的对于生物素化的人 D-海帕西啉 -25 的结合亲和力 (图 1 和 15)。因此, 进一步表征了 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001。通过表面等离子共振测量来测定 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 的平衡结合常数 K_D (用适体序列测定的 $K_D = 0.5$ nM, 图 16 ;用镜像异构适体序列测定的 $K_D = 1.25$ nM, 数据未显示)。

[0411] A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 的衍生物 229-B1-003、229-B1-004、229-B1-005 和 229-B1-006 在竞争性 pull-down 测定法中显示出相比于 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 而言降低的结合亲和力 (图 4)。实际上, A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-002、229-B1-007、229-B1-008、229-B1-009、229-B1-010 和 229-B1-011 在相同的测定法形式中显示出与 229-B1-001 类似的或者相比于 229-B1-001 而言稍微经改善的与人海帕西啉 -25 的结合 (图 4)。

[0412] 进一步表征了 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-002。通过表面等离子共振测量来测定 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-002 的平衡结合常数 K_D (用镜像异构适体序列测定的 $K_D = 1.47$ nM, 图 10 和 11)。

[0413] 另外, A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-002 的结合特异地 / 选择性用下列海帕西啉分子来进行测试: 人海帕西啉 -25、食蟹猴海帕西啉 -25、小鼠海帕西啉 -25、大鼠海帕西啉 -25、人海帕西啉 -22 和人海帕西啉 -20 (图 10 和 11)。A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-002 显示出类似的与人海帕西啉 -25、食蟹猴海帕西啉 -25、人海帕西啉 -22 和人海帕西啉 -20 的结合, 但不与小鼠海帕西啉 -25 和大鼠海帕西啉 -25 结合 (图 10 和 11)。

[0414] 除了 A 型核酸 229-E1-001 之外, 所有根据本发明的 A 型结合海帕西啉的核酸包含第一序列段盒 A。在 A 型结合海帕西啉的核酸 229-D1-001 中, 盒 A 以其 3'-末端连接至第二

末端序列段的 5'-末端(图 2)。在所有其他 A 型结合海帕西啉的核酸中,盒 A 以其 5'-末端连接至第一末端序列段的 3'-末端(图 1 至 4)。包含盒 A 的 A 型结合海帕西啉的核酸共享关于盒 A 的序列 5'WAAAGUWGAR 3'。除了分别包含关于盒 A 的序列 5'AAAAGUAGAA 3'和 5'AAAAGUUGAA 3'的 A 型结合海帕西啉的核酸 229-C4-001/236-G2-001 和 236-D1-001 外,所有其他 A 型结合海帕西啉的核酸的盒 A 的序列为 5'UAAAGUAGAG 3'。

[0415] 除了 A 型结合海帕西啉的核酸 236-D1-001 之外(见图 2),所有 A 型结合海帕西啉的核酸包含具有序列 5'RGMGUGWKAGUKC 3'的盒 B。A 型结合海帕西啉的核酸 236-D1-001 包含与其他 A 型结合海帕西啉的核酸的盒的共有序列不同的盒 B:5'GGGAUUAUAGUGC 3'。由于不包含盒 A 的核酸 229-E1-001 如上所描述的不结合人海帕西啉-25 或弱地结合人海帕西啉-25,使得假设,除了盒 B 之外,盒 A 对于与人海帕西啉-25 的结合来说,特别地对于以高亲和力与人海帕西啉-25 结合来说也是必需的。在 A 型结合海帕西啉的核酸 229-D1-001 中,盒 B 以其 5'-末端连接至第一末端序列段的 3'-末端(图 2)。在所有其他 A 型结合海帕西啉的核酸中,盒 B(除了结合海帕西啉的核酸 229-E1-001 之外)以其 3'-末端连接至第二末端序列段的 5'-末端(图 1、3 和 4)。具有不同的盒 B 序列的结合海帕西啉的核酸显示出高的对于人海帕西啉-25 的结合亲和力:

[0416] a) 229-B1-001 及衍生物、223-C5-001 及衍生物、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、223-A4-001、238-E2:5'GGCGUGAUAGUGC 3';

[0417] b) 229-B4-001, 229-C2-001, 229-E2-001:5'GGAGUGUUAGUUC 3';

[0418] c) 229-G1-001:5'GGCGUGAGAGUGC 3';

[0419] d) 229-C4-001, 236-G2-001:5'AGCGUGAUAGUGC 3';

[0420] e) 238-A1-001:5'GGCGUGUUAGUGC 3';

[0421] f) 236-D1-001:5'GGGAUUAUAGUGC 3'。

[0422] 包含盒 A 和盒 B 的结合海帕西啉的核酸通过 10 至 18 个核苷酸的连接性核苷酸序列段而相互连接。所述连接性核苷酸序列段以 5'→3' 方向包含第一连接性核苷酸子序列段、第二连接性核苷酸子序列段和第三连接性核苷酸子序列段,其中优选地,所述第一连接性核苷酸子序列段与所述第三连接性核苷酸子序列段任意地相互杂交,其中在杂交后形成双链结构。但是,此类杂交并不一定在该分子中给出。如果第一连接性核苷酸子序列段的核苷酸与第三连接性核苷酸子序列段的核苷酸相互杂交,那么它们就在中间形成不相互杂交的核苷酸的环(即第二子序列段)。结合海帕西啉的核酸的所述连接性核苷酸序列段的第一核苷酸子序列段和第三核苷酸子序列段包含 3 个(见 229-B1-001 及衍生物、229-G1-001)、4 个(见 223-C5-001 及衍生物、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、223-A4-001、229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、238-A1-001、238-E2-001、237-A7-001)、5 个(229-D1-001) 或 6 个(229-C4-001、236-G2-001) 核苷酸。A 型结合性核酸 236-D1-001 包含 18 个核苷酸的连接性核苷酸序列段,其中由于所述连接性核苷酸序列段的特定序列,该连接性核苷酸序列段无法被归类成第一连接性核苷酸子序列段、第二连接性核苷酸子序列段和第三连接性核苷酸子序列段。

[0423] 如对于结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 及其衍生物、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、238-E2-001 和 223-A4-001 所显示的,所述连接性核苷酸序列段的第一子序列段包含序列 5'GGAC 3' 或 5'GGAU 3' 或 5'GGA 3',并且所述连

接性核苷酸序列段的第三子序列段包含 5'GUCC 3'的核苷酸序列。所述连接性核苷酸序列段的第一和第三子序列段的其他组合为：

[0424] a) 5' GCAG 3' 和 5' CUGC 3' (229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、237-A7-001)，或者

[0425] b) 5' GAC 3' 和 5' GUC 3' (229-B1-001 及其衍生物、229-G1-001)，或者

[0426] c) 5' ACUUGU 3' 和 5' GCAAGU 3' (229-C4-001)，或者

[0427] d) 5' ACUUGU 3' 和 5' GCAAGC 3' (236-G2-001)，或者

[0428] e) 5' UCCAG 3' 和 5' CUGGA 3' (229-D1-001)，或者

[0429] f) 5' GGGC 3' 和 5' GCCC 3' (238-A1-001)。

[0430] 如图 1、2、3 和 4 中所显示的，所述连接性核苷酸序列段的第二子序列段包含 3 至 5 个核苷酸，其中这些不同的序列是非常异源的：5' CGAAA 3'、5' GCAAU 3'、5' GUAAU 3'、5' AAUU 3'、5' AUAUU 3'、5' AAUA 3'、5' CCA 3'、5' CUA 3'、5' UCA 3'、5' ACA 3'、5' GUU 3'、5' UGA 3' 和 5' GUA 3'。结合海帕西啉的核酸的所述连接性核苷酸序列段的第二子序列段可以概括为下列通有序列：5' VBAAW 3'、5' AAUW 3' 或 5' NBW 3'。

[0431] 但是，具有最好的结合亲和力的结合海帕西啉的核酸包含下列关于连接性核苷酸序列段的第二子序列段的序列：

[0432] a) 5' AAUU 3' (229-B1 及其衍生物)

[0433] b) 5' CCA 3' (223-C5 及其衍生物)

[0434] c) 5' CUA 3' (223-F5-001)

[0435] d) 5' UCA 3' (223-G4-001)

[0436] e) 5' AAUA 3' (229-G1-001)。

[0437] 如上面所描述的，所述连接性序列段的第一和第三子序列段的核苷酸序列彼此相关。另外，所述连接性核苷酸序列段的第二子序列段的核苷酸序列与特定的第一和第三核苷酸子序列段的对相关，这导致结合海帕西啉的核酸的所述连接性核苷酸序列段的下列序列或通有序列：

[0438] a) 5' GGACBYAGUCC 3' (223-C5-001、223-C5-002、223-C5-006、223-C5-007、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、238-E2-001)，优选地 5' GGACCCAGUCC 3'、5' GGACCUAGUCC 3' 或 5' GGACUCAGUCC 3' 或 5' GGACGUAGUCC 3'，更优选地 5' GGACCCAGUCC 3'、5' GGACCUAGUCC 3' 或 5' GGACUCAGUCC 3'；或者

[0439] b) 5' GGAUACAGUCC 3' (223-A4-001)；或者

[0440] c) 5' GCAGGYAAUCUGC 3' (229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001)，优选地 5' GCAGGUAAUCUGC 3' 或 5' GCAGGCAAUCUGC 3'，更优选地 5' GCAGGUAAUCUGC 3'；或者

[0441] d) 5' GACAAUWGUC 3' (229-B1-001 及其衍生物、229-G1-001)，优选地 5' GACAAUUGUC 3' 或 5' GACAAUAGUC 3'；或者

[0442] e) 5' ACUUGUCGAAAGCAAGY 3' (229-C4-001、236-G2-001)；或者

[0443] f) 5' UCCAGGUUCUGGA 3' (229-D1-001)；或者

[0444] g) 5' GGGCUGAGCCC 3' (238-A1-001)；或者

[0445] h) 5' GCAGAUAAUCUGC 3' (237-A7-001)；或者

[0446] i) 5' GGACCAGUCC 3' (223-C5-008)。

[0447] 如前面所提及的, A 型结合性核酸 236-D1-001 的连接性核苷酸序列段无法被归类成第一连接性核苷酸子序列段、第二连接性核苷酸子序列段和第三连接性核苷酸子序列段。然而, A 型结合性核酸 236-D1-001 的连接性核苷酸序列段的序列为 5' AUUUGUUGGAAUCAAGCA 3'。

[0448] A 型结合海帕西啉的核酸的第一和第二末端核苷酸序列段包含 4 个(例如 229-C4-001)、5 个(例如 223-C5-007)、6 个(例如 229-B1-001)或 7 个(例如 223-C5-001)核苷酸, 其中这些序列段任选地相互杂交, 其中在杂交后形成双链结构。该双链结构可以由 4 至 7 个碱基对组成。但是, 此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0449] 通过组合所有经测试的结合海帕西啉的核酸的第一和第二末端核苷酸序列段, 关于第一末端核苷酸序列段和关于第二末端核苷酸序列段的通式为 5' $X_1X_2X_3BK BK$ 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' $MV VVX_4X_5X_6$ 3' (第二末端核苷酸序列段), 其中

[0450] X_1 为 G 或不存在, X_2 为 S 或不存在, X_3 为 V 或不存在, X_4 为 B 或不存在, X_5 为 S 或不存在, 并且 X_6 为 C 或不存在,

[0451] 优选地

[0452] a) X_1 为 G, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 为 C, 或者

[0453] b) X_1 不存在, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 为 C, 或者

[0454] c) X_1 为 G, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 不存在, 或者

[0455] d) X_1 不存在, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 不存在, 或者

[0456] e) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 不存在, 或者

[0457] f) X_1 不存在, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在, 或者

[0458] g) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 V 或不存在, X_4 为 B 或不存在, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0459] 但是, 具有最好的结合亲和力的结合海帕西啉的核酸包含第一和第二末端核苷酸序列段的下列组合:

[0460] a) 223-C5-001、223-F5-001、223-G4-001 : 5' GCACUCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGAGUGC 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0461] b) 229-B1-002 : 5' GCUGUG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CACAGC 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0462] c) 229-B1-001、229-G1-001 : 5' CGUGUG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CACACG 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0463] d) 229-D1-001 : 5' CGUGCU 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' AGCACG 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0464] e) 223-C5-006 : 5' CGCGCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGCGCG 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0465] f) 229-B1-007 : 5' GCCGUG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CACGGC 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0466] g) 229-B1-008 : 5' GCGGUG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CACCGC 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0467] h) 229-B1-009 : 5' GCUGCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGCAGC 3' (第二

末端核苷酸序列段)；

[0468] i) 229-B1-010 :5' GCUGGG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CCCAGC 3' (第二末端核苷酸序列段)；

[0469] j) 229-B1-011 :5' GCGGCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGCCGC 3' (第二末端核苷酸序列段)。

[0470] 为了证实结合海帕西啉的核酸作为镜像异构适体的功能性,将 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001 和 229-B1-002 合成为在其 5' - 末端包含氨基的镜像异构适体。向氨基 - 修饰的镜像异构适体 223-C5-001-5' - 氨基和 229-B1-002-5' - 氨基偶联 40kDa PEG- 部分,导致 A 型结合海帕西啉的核酸 223-C5-001-5' -PEG 和 229-B1-002-5' -PEG。所述镜像异构适体的合成和 PEG 化描述在实施例 2 中。

[0471] 通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 223-C5-001-5' -PEG 和 229-B1-002-5' -PEG 的平衡结合常数 K_D (图 12)：

[0472] 223-C5-001-5' -PEG : $K_D = 4.44\text{nM}$ ；

[0473] 229-B1-002-5' -PEG : $K_D = 1.92\text{nM}$ 。

[0474] 关于在体外和在体内抑制 / 拮抗海帕西啉的功能,来对镜像异构适体 223-C5-001-5' -PEG 进行测试。如实施例 5 中所显示的,镜像异构适体 223-C5-001-5' -PEG 在体外抑制由海帕西啉诱导的膜铁转运蛋白的下调。在炎症性贫血的动物模型中测试镜像异构适体 223-C5-001-5' -PEG 的体内使用的可应用性,其中利用人海帕西啉 -25 诱导血清铁下降的已知特性 (实施例 5)。

[0475] 1.2 B 型结合海帕西啉的核酸

[0476] 如在图 5 和 6 中所描绘的,B 型结合海帕西啉的核酸包含一个中央核苷酸序列段,其定义了潜在的海帕西啉结合性基序。

[0477] 一般地,B 型结合海帕西啉的核酸在其 5' - 末端和 3' - 末端处包含末端核苷酸序列段:第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段。所述第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段可以相互杂交,其中在杂交后形成双链结构。但是,此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0478] B 型结合海帕西啉的核酸的三个序列段 (第一末端核苷酸序列段、中央核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段) 可以不同地相互排列:第一末端核苷酸序列段—中央核苷酸序列段—第二末端核苷酸序列段,或者第二末端核苷酸序列段—中央核苷酸序列段—第一末端核苷酸序列段。

[0479] 所定义的序列段的序列可能在 B 型结合海帕西啉的核酸之间不同,这影响对于人海帕西啉 (特别地,人海帕西啉 -25) 的结合亲和力。基于不同的结合海帕西啉的核酸的结合分析,下文中所描述的中央核苷酸序列段及其核苷酸序列独个地,更优选地以其整体地对于结合人海帕西啉 -25 来说是必需的。

[0480] 根据本发明的 B 型结合海帕西啉的核酸显示在图 5 和 6 中。它们均作为适体或镜像异构适体而就其结合人海帕西啉 -25 (更精确地,分别生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 和生物素化的人 L- 海帕西啉 -25) 的能力进行测试。

[0481] B 型结合海帕西啉的核酸 238-D2-001、238-D4-001、238-H1-001、238-A2-001、238-G2-001、238-G4-001、238-G3-001 作为适体与 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 相

对抗地在竞争性 pull-down 测定法中进行测试。只有 B 型结合海帕西啉的核酸 238-G4-001 在竞争性 pull-down 测定中显示出相比于 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 而言降低的结合亲和力 (图 5)。B 型结合海帕西啉的核酸 238-D2-001、238-D4-001、238-H1-001、238-A2-001、238-G2-001 和 238-G3-001 显示出相比于 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 而言经改善的结合亲和力 (图 5)。进一步表征了 B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001。通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 238-D4-001 的平衡结合常数 K_D ($K_D = 0.51 \text{ nM}$; 图 5)。

[0482] B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001 的衍生物 238-D4-003、238-D4-005、238-D4-007、238-D4-009、238-D4-010、238-D4-011 和 238-D4-013 在竞争性 pull-down 测定法中 (或者通过表面等离子共振测量所显示的) 显示出相比于 B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001 而言降低的结合亲和力 (图 6)。实际上, 结合海帕西啉的核酸 238-D4-002、238-D4-004、238-D4-006、238-D4-008 和 238-D4-012 在相同的测定法形式中显示出与 238-D4-001 类似的与人海帕西啉的结合 (图 6)。通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 238-D4-002、238-D4-006 和 238-D4-008 的平衡结合常数 K_D 。计算出的 238-D4-001 的衍生物的平衡结合常数位于与关于 238-D4-001 本身所显示的相同的范围内 (图 6)。

[0483] 另外, B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001 和 238-D4-008 的结合选择性用下列海帕西啉分子来进行测试: 人海帕西啉 -25、食蟹猴海帕西啉 -25、狢海帕西啉 -25 (仅对于 238-D4-008)、小鼠海帕西啉 -25、大鼠海帕西啉 -25、人海帕西啉 -22 (未对于 238-D4-008) 和人海帕西啉 -20 (图 10 和 11)。B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001 和 238-D4-008 显示出类似的与人海帕西啉 -25、人海帕西啉 -22、人海帕西啉 -20 和食蟹猴海帕西啉 -25 的结合, 更弱的与狢海帕西啉 -25 的结合, 并且不与小鼠海帕西啉 -25 和大鼠海帕西啉 -25 结合 (图 10 和 11)。

[0484] 根据本发明的 B 型结合海帕西啉的核酸共享关于中央核苷酸序列段的序列 5' RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3' 或 5' RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3'。显示出相同的对于人海帕西啉 -25 的结合亲和力的 B 型结合海帕西啉的核酸 238-D4-001 及其衍生物共享共有序列, 该共有序列包含关于中央核苷酸序列段的序列 5' GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG 3'。

[0485] B 型结合海帕西啉的核酸的第一和第二末端核苷酸序列段包含 5 个 (238-D4-004、238-D4-005、238-D4-008、238-D4-009)、6 个 (238-D4-002、238-D4-003、238-D4-006、238-D4-007、238-D4-010、238-D4-011、238-D4-012、238-D4-013) 或 8 个 (238-D2-001、238-D4-001、238-H1-001、238-A2-001、238-G2-001、238-G4-001、238-G3-001) 核苷酸, 其中这些序列段任选地相互杂交, 其中在杂交后形成双链结构。该双链结构可以由 5 至 8 个碱基对组成。但是, 此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0486] 通过组合所有经测试的 B 型结合海帕西啉的核酸的第一和第二末端核苷酸序列段, 关于第一末端核苷酸序列段和关于第二末端核苷酸序列段的通式为 5' $X_1X_2X_3$ SBSBC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GVBVBX₄X₅X₆3' (第二末端核苷酸序列段), 其中

[0487] X_1 为 A 或不存在, X_2 为 G 或不存在, X_3 为 B 或不存在, X_4 为 S 或不存在, X_5 为 C 或不存在, 并且 X_6 为 U 或不存在,

[0488] 优选地

- [0489] a) X_1 为 A, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 为 U, 或者
- [0490] b) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 为 U, 或者
- [0491] c) X_1 为 A, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者
- [0492] d) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者
- [0493] e) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者
- [0494] f) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在, 或者
- [0495] g) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 B 或不存在, X_4 为 S 或不存在, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0496] 但是, 结合性最好的 B 型结合海帕西啉的核酸包含第一和第二末端核苷酸序列段的下列组合:

[0497] a) 238-D2-001 :5' AGCGUGUC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGUGCGCU 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0498] b) 238-D4-001 :5' AGCGUGUC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGCAUGCU 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0499] c) 238-H1-001 :5' AGUGUGUC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GAUGCGCU 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0500] d) 238-A2-001 :5' AGUGUGUC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGCAUGCU 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0501] e) 238-G2-001 :5' AGCGUGCC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGUGCGCU 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0502] f) 238-G3-001 :5' AGCGCGCC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGCGCGCU 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0503] g) 238-D4-002 :5' GCGCGC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GCGCGC 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0504] h) 238-D4-006 :5' GGUGUC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGCAUC 3' (第二末端核苷酸序列段);

[0505] i) 238-D4-012 :5' GGCGUC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGCGCC 3' (3'-末端核苷酸序列段);

[0506] j) 238-D4-008 :5' GCGCC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GGCGC3' (第二末端核苷酸序列段);

[0507] k) 238-D4-004 :5' GGCGC 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' GCGCC3' (第二末端核苷酸序列段)。

[0508] 为了证实 B 型结合海帕西啉的核酸作为镜像异构适体的功能性, 将结合海帕西啉的核酸 238-D4-002 和 238-D4-008 合成为在其 5'-末端包含氨基的镜像异构适体。向氨基-修饰的镜像异构适体 238-D4-002-5'-氨基和 238-D4-008-5'-氨基偶联 40kDa PEG-部分, 导致结合海帕西啉的核酸 238-D4-002-5'-PEG 和 238-D4-008-5'-PEG。所述镜像异构适体的合成和 PEG 化描述在实施例 2 中。

[0509] 通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 238-D4-002-5'-PEG 和 238-D4-008-5'-PEG 的平衡结合常数 K_D (图 12):

[0510] 238-D4-002-5'-PEG :0.53nM ;

[0511] 238-D4-008-5'-PEG :0.64nM。

[0512] 关于在体外和在体内抑制 / 拮抗海帕西啉的功能, 来对镜像异构适体 238-D4-008-5'-PEG 进行测试。如实施例 5 中所显示的, 镜像异构适体 238-D4-008-5'-PEG 在体外抑制由海帕西啉诱导的膜铁转运蛋白的下调。在炎症性贫血的动物模型中测试镜像异构适体 238-D4-008-5'-PEG 的体内使用的可应用性, 其中利用人海帕西啉 -25 诱导血清铁下降的已知特性 (实施例 5, 图 20)。另外, 在另一种关于炎症性贫血的动物模型 (食蟹猴) 中测试镜像异构适体 238-D4-008-5'-PEG, 其中 IL-6 诱导海帕西啉分泌, 这随后在非人灵长类中导致贫血。在该试验中, 人 IL-6 致使血清铁浓度降低 (实施例 6, 图 21)。

[0513] 1.3 C 型结合海帕西啉的核酸

[0514] 如在图 7 和 8 中所描绘的, C 型结合海帕西啉的核酸包含一个中央核苷酸序列段, 其定义了潜在的海帕西啉结合性基序。

[0515] 一般地, C 型结合海帕西啉的核酸在其 5'-末端和 3'-末端处包含末端序列段: 第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段。所述第一末端核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段可以相互杂交, 其中在杂交后形成双链结构。但是, 此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0516] C 型结合海帕西啉的核酸的三个核苷酸序列段 (第一末端核苷酸序列段、中央核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段) 可以不同地相互排列: 第一末端核苷酸序列段—中央核苷酸序列段—第二末端核苷酸序列段, 或者第二末端核苷酸序列段—中央核苷酸序列段—第一末端核苷酸序列段。

[0517] 所定义的序列段的序列可能在 C 型结合海帕西啉的核酸之间不同, 这影响对于人海帕西啉 (特别地, 人海帕西啉 -25) 的结合亲和力。基于不同的 C 型结合海帕西啉的核酸的结合分析, 下文中所描述的中央核苷酸序列段及其核苷酸序列独个地, 更优选地以其整体地对于结合人海帕西啉来说是必需的。

[0518] 根据本发明的 C 型结合海帕西啉的核酸显示在图 7 和 8 中。它们均作为适体或镜像异构适体而就其结合人海帕西啉 -25 (更精确地, 生物素化的人 D- 海帕西啉 -25 和生物素化的人 L- 海帕西啉 -25) 的能力进行测试。

[0519] C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-001、238-E3-001、238-F2-001、238-A4-001 和 238-E1-001 作为适体与 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 相对抗地在竞争性 pull-down 测定法中进行测试。C 型结合海帕西啉的核酸显示出相比于 A 型结合海帕西啉的核酸 229-B1-001 而言经改善的结合亲和力 (图 7)。进一步表征了 C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-001。通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 238-C4-001 的平衡结合常数 K_D ($K_D = 0.9\text{nM}$; 图 7)。

[0520] C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-001 的衍生物 238-C4-003、238-C4-004、238-C4-005、238-C4-007、238-C4-008、238-C4-009、238-C4-011、238-C4-012、238-C4-013、238-C4-014、238-C4-024、238-C4-025 和 238-C4-062 在竞争性 pull-down 测定法中或者通过等离子共振测量显示出相比于结合海帕西啉的核酸 238-C4-001 或 238-C4-006 而言降低的结合亲和力 (图 8)。核酸 238-C4-063 显示出不与海帕西啉结合。实际上, 结合海帕西啉的核酸 238-C4-002、238-C4-006 和 238-C4-010 在相同的测定法中显示出与 238-C4-001

类似的与人海帕西啉-25 的结合 (图 8)。通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 238-C4-002 和 238-C4-006 的平衡结合常数 K_D 。计算出的 238-C4-001 的衍生物的平衡结合常数位于与关于 238-C4-001 本身所显示的相同的范围内 (图 8)。

[0521] 另外, C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-006 的结合特异性 / 选择性用下列海帕西啉分子来进行测试: 人海帕西啉-25、食蟹猴海帕西啉-25、狨海帕西啉-25、小鼠海帕西啉-25、大鼠海帕西啉-25、人海帕西啉-22 和人海帕西啉-20 (图 10 和 11)。C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-006 显示出类似的与人海帕西啉-25、人海帕西啉-22、人海帕西啉-20 和食蟹猴海帕西啉-25 的结合, 并且不与狨海帕西啉-25、小鼠海帕西啉-25 和大鼠海帕西啉-25 结合 (图 10 和 11)。

[0522] 除了显示不与海帕西啉-25 结合的核酸 238-C4-063 之外, 根据本发明的 C 型结合海帕西啉的核酸共享关于中央核苷酸序列段的序列 5' GRCRGCCGGVGGACACCAUAUACAGACUACKAUA 3' 或 5' GRCRGCCGGVAGGACACCAUAUACAGACUACKAUA 3'。C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-001 及其衍生物 238-C4-002、238-C4-005、238-C4-010 以及 C 型结合海帕西啉的核酸 238-E3-001、238-F2-001、238-A4-001、238-E1-001 (其均显示出相同的结合亲和力) 共享共有序列 5' GRCRGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACKAUA 3', 优选地序列 5' GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA 3'。

[0523] C 型结合海帕西啉的核酸的第一和第二末端核苷酸序列段包含 4 个 (238-C4-004、238-C4-011、238-C4-012、238-C4-013、238-C4-014)、5 个 (238-C4-003、238-C4-005、238-C4-006、238-C4-007、238-C4-008、238-C4-009、238-C4-010、238-C4-024、238-C4-025、238-C4-062)、6 个 (238-C4-002) 或 7 个 (238-C4-001、238-E3-001、238-F2-001、238-A4-001、238-E1-001) 核苷酸, 其中这些序列段任选地相互杂交, 其中在杂交后形成双链结构。该双链结构可以由 4 至 7 个碱基对组成。但是, 此类杂交并不一定在该分子中给出。

[0524] 通过组合所有经测试的 C 型结合海帕西啉的核酸的第一和第二末端核苷酸序列段, 关于第一末端核苷酸序列段和关于第二末端核苷酸序列段的通式为 5' $X_1X_2X_3$ SBSN 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' (第二末端核苷酸序列段), 其中

[0525] X_1 为 A 或不存在, X_2 为 G 或不存在, X_3 为 R 或不存在, X_4 为 Y 或不存在, X_5 为 C 或不存在, 并且 X_6 为 U 或不存在,

[0526] 优选地

[0527] a) X_1 为 A, X_2 为 G, X_3 为 R, X_4 为 Y, X_5 为 C, 并且 X_6 为 U, 或者

[0528] b) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 R, X_4 为 Y, X_5 为 C, 并且 X_6 为 U, 或者

[0529] c) X_1 为 A, X_2 为 G, X_3 为 R, X_4 为 Y, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者

[0530] d) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 R, X_4 为 Y, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者

[0531] e) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 R, X_4 为 Y, X_5 为 C, 并且 X_6 不存在, 或者

[0532] f) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 R, X_4 为 Y, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在, 或者

[0533] g) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 R 或不存在, X_4 为 Y 或不存在, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0534] 但是, 结合性最好的 C 型结合海帕西啉的核酸包含第一和 3' - 末端核苷酸序列段的下列组合:

[0535] a) 238-C4-001、238-E3-001 :5' AGGCUCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGGGCCU 3' (第二末端核苷酸序列段) ;

[0536] b) 238-F2-001 :5' AGGCCCCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGGGCCU 3' (第二末端核苷酸序列段) ;

[0537] c) 238-A4-001 :5' AGGCUUG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGAGCCU 3' (第二末端核苷酸序列段) ;

[0538] d) 238-E1-001 :5' AGACUUG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGAGUCU 3' (第二末端核苷酸序列段) ;

[0539] e) 238-C4-002 :5' GGCUCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGGGCC 3' (第二末端核苷酸序列段) ;

[0540] f) 238-C4-006 :5' GGCCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGGCC 3' (第二末端核苷酸序列段) ;

[0541] g) 238-C4-010 :5' GCGCG 3' (第一末端核苷酸序列段) 和 5' CGCGC 3' (第二末端核苷酸序列段) 。

[0542] 为了证实结合海帕西啉的核酸作为镜像异构适体的功能性, 将结合海帕西啉的核酸 238-C4-006 合成为在其 5' - 末端包含氨基的镜像异构适体。向氨基 - 修饰的镜像异构适体 238-C4-006-5' - 氨基偶联 40kDaPEG- 部分, 导致 C 型结合海帕西啉的核酸 238-C4-006-5' - PEG。所述镜像异构适体的合成和 PEG 化描述在实施例 2 中。

[0543] 通过表面等离子共振测量来测定镜像异构适体 238-C4-006-5' - PEG 的平衡结合常数 K_D (图 12) : 0.76nM。

[0544] 1.4 其他结合海帕西啉的核酸

[0545] 如在图 9 中所描绘的, 显示了与 A 型、B 型和 C 型结合海帕西啉的核酸不相关的其他结合海帕西啉的核酸。通过等离子共振测量以及通过与 A 型结合海帕西啉的核酸 229-G1-001 相对抗地进行竞争性结合试验来测定这些海帕西啉核酸的结合亲和力。所有核酸显示出比 A 型结合海帕西啉的核酸 229-G1-001 更弱的结合亲和力 (图 9)。

[0546] 实施例 2 : 适体和镜像异构适体的合成和衍生化

[0547] 小规模合成

[0548] 利用 2' TBDMS RNA 亚磷酸胺化学 (Damha 和 Ogilvie, 1993), 使用 ABI 394 合成仪 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 通过固相合成来制备适体 (D-RNA 核酸) 和镜像异构适体 (L-RNA 核酸)。D- 和 L- 构型的 rA(N-Bz)-、rC(Ac)-、rG(N-ibu)- 和 rU- 亚磷酸胺购自 ChemGenes, Wilmington, MA。适体和镜像异构适体通过凝胶电泳进行纯化。

[0549] 大规模合成加修饰

[0550] 利用 2' TBDMS RNA 亚磷酸胺化学 (Damha 和 Ogilvie, 1993), 使用 **ÄktaPilot100** 合成仪 (Amersham Biosciences ; General Electric Healthcare, Freiburg), 通过固相合成来制备镜像异构适体。L-rA(N-Bz)-、L-rC(Ac)-、L-rG(N-ibu)- 和 L-rU- 亚磷酸胺购自 ChemGenes, Wilmington, MA。5' - 氨基 - 修饰剂购自 American International Chemicals Inc. (Framingham, MA, USA)。未经修饰的或 5' - 氨基 - 修饰的镜像异构适体的合成开始于 L-riboG、L-riboC、L-riboA 或 L-riboU 修饰的 CPG,

孔径为 **1000 Å** (Link Technology, Glasgow, UK)。对于偶联 (每次循环 15 分钟), 使用 0.3M 在乙腈中的苄硫基四唑 (CMS-Chemicals, Abingdon, UK) 和 3.5 当量的各自 0.1M 在乙腈中的亚磷酰胺溶液。使用氧化封端循环。其他用于寡核苷酸合成的标准溶剂和试剂购自 Biosolve (Valkenswaard, NL)。合成镜像异构适体, DMT-ON; 在去保护后, 使用 Source15RPC 介质 (Amersham), 通过制备型 RP-HPLC (Wincott 等人, 1995) 进行纯化。用 80% 乙酸除去 5' DMT-基团 (在室温下 30 分钟)。随后, 添加 2M NaOAc 水溶液, 并使用 5K 再生纤维素膜 (Millipore, Bedford, MA) 通过切向流过滤来对镜像异构适体进行脱盐。

[0551] 镜像异构适体的 PEG 化

[0552] 为了延长镜像异构适体的体内血浆停留时间, 将镜像异构适体在 5'-末端处共价偶联至 40kDa 聚乙二醇 (PEG) 部分。

[0553] 镜像异构适体的 5'-PEG 化

[0554] 为了 PEG 化 (关于 PEG 化方法的技术细节, 可参见欧洲专利申请 EP 1 306 382), 将经纯化的 5'-氨基修饰的镜像异构适体溶解在 H₂O (2.5ml)、DMF (5ml) 和缓冲液 A (5ml; 通过混合柠檬酸·H₂O [7g]、硼酸 [3.54g]、磷酸 [2.26ml] 和 1M NaOH [343ml] 并添加水以达到 1L 的终体积来制备; 用 1M HCl 调节 pH = 8.4) 的混合物中。

[0555] 用 1M NaOH 使镜像异构适体溶液的 pH 达到 8.4。然后, 在 37°C 下以 6 份 (每份 0.25 当量) 每 30 分钟添加 40kDa PEG-NHS 酯 (Jenkem Technology, Allen, TX, USA), 直至达到 75 至 85% 的最大收率。在添加 PEG-NHS 酯的过程中, 用 1M NaOH 将反应混合物的 pH 保持在 8-8.5。

[0556] 将该反应混合物与 4ml 尿素溶液 (8M) 和 4ml 缓冲液 B (0.1M 的在 H₂O 中的乙酸三乙基铵) 相混合, 并加热至 95°C 15 分钟。然后, 采用乙腈梯度 (缓冲液 B; 缓冲液 C: 0.1M 的在乙腈中的乙酸三乙基铵), 使用 Source 15RPC 介质 (Amersham), 通过 RP-HPLC 来纯化 PEG 化的镜像异构适体。在 5% 缓冲液 C 处洗脱过量的 PEG, 在 10-15% 缓冲液 C 处洗脱 PEG 化的镜像异构适体。将纯度 >95% (这通过 HPLC 来评估) 的产物级分合并, 并与 40ml 3 M NaOAc 相混合。通过切向流过滤 (5K 再生纤维素膜, Millipore, Bedford MA) 对 PEG 化的镜像异构适体进行脱盐。

[0557] 实施例 3: 与海帕西啉的结合常数的测定 (Pull-Down 测定法)

[0558] 直接 pull-down 测定法

[0559] 在 37°C 下, 在 pull down 测定法形式中测量结合海帕西啉的核酸作为适体 (D-RNA 核酸) 对于生物素化的人 D-海帕西啉-25 (SEQ ID No. 7) 的亲和力。使用 [γ -³²P]-标记的 ATP (Hartmann Analytic, Braunschweig, Germany), 通过 T4 多核苷酸激酶 (Invitrogen, Karlsruhe, Germany) 对适体进行 5'-磷酸标记。经标记的适体的比放射性为 200,000-800,000cpm/pmol。在变性和复性后将适体在 37°C 下以 20pM 的浓度与不同量的生物素化的人 D-海帕西啉一起于选择缓冲液 (20mM Tris-HCl pH 7.4; 137mM NaCl; 5mM KCl; 1mM MgCl₂; 1mM CaCl₂; 0.1% [w/vol] Tween-20) 中温育 2-12 小时以便在低浓度下达到平衡。给选择缓冲液补充以 10 μ g/ml 人血清白蛋白 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) 和 10 μ g/ml 酵母 RNA (Ambion, Austin, USA), 以便防止结合伙伴吸附至所使用的塑料器具或固定基质的表面。生物素化的人 D-海帕西啉的浓度范围被设定为 32pM 至 500nM; 总反应体积为 1ml。将生物素化的人 D-海帕西啉以及适体和生物素化的人 D-海帕西

啉的复合物固定在 $6\mu\text{l}$ NeutrAvidin 或 Streptavidin Ultralink Plus 颗粒 (Thermo Scientific, Rockford, USA) 上, 所述颗粒已用选择缓冲液预平衡并重悬浮在 $12\mu\text{l}$ 的总体积中。颗粒在相应的温度下于热混匀器中保持悬浮 30 分钟。在分离上清液并适当洗涤后, 在闪烁计数器中对固定的放射性进行定量。将结合百分比对生物素化的人 D-海帕西啉的浓度进行绘图, 并且通过使用软件算法 (GRAFIT; Erithacus Software; Surrey U.K.) 并假定 1:1 的化学计量来获得解离常数。

[0560] 适体竞争性 pull-down 测定法

[0561] 为了比较不同的结合海帕西啉的核酸的适体, 施行竞争性分级测定法。为此目的, 将可获得的最具亲和力的适体进行放射性标记 (参见上文) 并用作参考。在变性和复性后, 将它在一定的条件下于 37°C 与生物素化的人 D-海帕西啉一起在 0.8ml 选择缓冲液中进行温育, 所述条件导致在 NeutrAvidin 琼脂糖或 Streptavidin Ultralink Plus (两者都来自 Thermo Scientific) 上固定和洗涤之后大约 5-10% 的与所述生物素化的人 D-海帕西啉-25 的结合 (无竞争)。将过量的变性和复性的未标记的 D-RNA 适体变体以不同的浓度 (例如 10、50 和 250nM) 与经标记的参考适体一起进行添加, 以便进行平行的结合反应。待测试的适体与参考适体竞争结合靶标, 从而减少了结合信号, 信号减少的情况取决于它们的结合特征。在该测定法中发现的最具活性的适体随后可以作为新的参考以用于其他适体变体的比较分析。

[0562] 镜像异构适体竞争性 pull-down 测定法

[0563] 另外, 施行竞争性 pull-down 测定法以分析结合海帕西啉的镜像异构适体的亲和力。为此目的, 应用结合生物素化的人 L-海帕西啉-25 的镜像异构适体。在镜像异构适体的 5'-末端处添加两个额外的 D-构型的鸟苷残基使得能够通过 T4 多核苷酸激酶来对镜像异构适体进行放射性标记 (见上文)。在变性和复性后, 将经标记的镜像异构适体和一组 0.032 至 500nM 的竞争者分子 (例如不同种类的海帕西啉、海帕西啉的截短形式或镜像异构适体; 见下文) 的 5-倍稀释液与恒定量的生物素化的人 L-海帕西啉一起于 37°C 在 0.8ml 选择缓冲液中温育 2-4 小时。所选择的肽浓度应当导致在最低的竞争者浓度下大约 5-10% 的经放射性标记的镜像异构适体的最终结合。在竞争性 pull-down 测定法的一种形式中, 过量的变性和复性的未标记的 L-RNA 镜像异构适体变体用作竞争者, 而测试未修饰的以及 PEG 化的形式。在另一种测定法方法中, 未生物素化的来自各种物种的 L-海帕西啉-25 (例如人 L-海帕西啉-25、食蟹猴 L-海帕西啉-25、猴 L-海帕西啉-25 或大鼠 L-海帕西啉-25) 或者未生物素化的 N-末端截短的 L-海帕西啉-20 和 L-海帕西啉-22 与生物素化的 L-海帕西啉竞争结合镜像异构适体。在将生物素化的 L-海帕西啉-25 和经结合的镜像异构适体固定在 $1.5-3\mu\text{l}$ Streptavidin Ultralink Plus 基质 (Thermo Scientific, Rockford, USA) 上、洗涤和闪烁计数 (见上文) 之后, 将经结合的经放射性标记的镜像异构适体的经标准化的百分比对相应的竞争者分子浓度进行绘图。通过采用 GraFit 软件来计算所得的解离常数。

[0564] 实施例 4: 通过表面等离子共振测量来进行的结合分析

[0565] 使用 Biacore 2000 仪器 (Biacore AB, Uppsala, Sweden) 来分析结合海帕西啉的核酸的适体对于生物素化的人 D-海帕西啉-25 的结合, 以及结合海帕西啉的核酸的镜像异构适体对于生物素化的人 L-海帕西啉-20 以及人、大鼠和小鼠 L-海帕西啉 25 的结合。

[0566] 将该仪器设定为 37℃ 的持久温度。在每次试验开始前,根据制造商的说明书,使用 DESORB 方法来清洁 Biacore。在安装维持芯片后,连续地用 DESORB 溶液 1 (0.5% 十二基硫酸钠, SDS)、DESORB 溶液 2 (50mM 甘氨酸, pH 9.5) 和最后脱气的 MilliQ 水来对该仪器进行预先准备 (prime)。随后,用 0.1M NaOCl 来运行 SANATIZE 方法,并且该系统然后用 MilliQ 水进行预先准备。

[0567] 将生物素化的人 D-海帕西啉 25、人 L-海帕西啉 20 以及人、大鼠和小鼠 L-海帕西啉 25 (所有肽来自 BACHEM, 委托合成) 在螺旋锁小瓶 (screw lock vial) 中以 1mM 的浓度溶解在具有 1mg/ml 无脂肪酸的 BSA 的水中,并且储存于 4℃ 直至使用。

[0568] 在安装具有羧甲基化右旋糖酐基质的传感器芯片 (Sensor Chip CM5, GE, BR-1000-14) 后,用 MilliQ 水和随后用 HBS-EP 缓冲液 (0.01M HEPES 缓冲液 (pH 7.4), 0.15 M NaCl, 具有 0.005% 表面活性剂 P20 ;GE, BR-1001-88) 对 Biacore 仪器进行预先准备,并进行平衡直至观察到稳定的基线。从流动池 4 开始至流动池 1 将流动池 (FC) 进行固定以避免肽类被挟带至其他流动池。

[0569] 使用 QUICKINJECT 命令,以 10 μ l/ 分钟的流速,注射 100 μ l 的 0.4M EDC (在水中的 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺 ;GE, BR-1000-50) 和 0.1M NHS (在水中的 N-羟基琥珀酰亚胺 ;GE, BR-1000-50) 的 1:1 混合物。在 NHS/EDC 注射后通过 RU 的增加来监控流动池的活化 (对于 CM5 芯片,通常为 500-600 RU)。

[0570] 将可溶性中性抗生物素蛋白 (neutravidin) 溶解在水中至 1mg/ml 的浓度,在 HBS-EP 中稀释至 50 μ g/ml,随后使用 MANUALINJECT 命令以 10 μ l/ 分钟的流速进行注射。经共价固定的中性抗生物素蛋白的所观察到的最大量为大约 10,000-15,000 RU。通过以 10 μ l/ 分钟的流速注射 70 μ l 的 1M 盐酸乙醇胺 (GE, BR-1000-50) 来对流动池进行封闭 ;通常未共价结合的肽 / 蛋白质通过该程序而被去除。通过注射 10-30 μ l 的 50mM NaOH 溶液来去除未共价偶联的中性抗生物素蛋白。将生物素化的人 D-海帕西啉 25、人 L-海帕西啉 20 以及人、大鼠和小鼠 L-海帕西啉 25 在 HBS-EP 缓冲液中直接稀释至 10-20nM 的终浓度,并立即涡旋振荡。将 1000 μ l 的该样品转移至 **Ø 9 mm** 的玻璃小瓶 (Glass Vials, **Ø 9 mm**, GE, BR-1002-07), 并且使用 MANUALINJECT 命令以 10 μ l/ 分钟的流速进行注射。对于结合试验,将高至 5000 个响应单位 (RU) 的生物素化的人 D-海帕西啉 25、人 L-海帕西啉 20 以及人、大鼠和小鼠 L-海帕西啉 25 固定在流动池上 ;和对于动力学评价,将 500-1500 RU 固定在流动池上。随后,用 1M NaCl (Ambion, Cat. No. AM9759) 洗涤流动池,以避免由于生物素化的人 D-海帕西啉 25、人 L-海帕西啉 20 以及人、大鼠和小鼠 L-海帕西啉 25 与 Biacore 管道和其他表面的非特异性相互作用而造成的生物素化的人 D-海帕西啉 25、人 L-海帕西啉 20 以及人、大鼠和小鼠 L-海帕西啉 25 的挟带。FC1 用作经封闭的对照流动池。

[0571] 最后,通过以 20 μ l/ 分钟的流速注射 20 μ l 的在 HBS-EP 缓冲液中作 1:10 稀释的饱和生物素溶液 (Biotin, Sigma-Aldrich B-4501Lot 68H1373) 来封闭所有传感器流动池 (从 FC1 开始至 FC4)。传感器芯片用脱气的运行缓冲液 (20mM Tris pH 7.4 ;150mM NaCl ; 5mM KCl, 1mM MgCl₂, 1mM CaCl₂ 和 0.1% Tween20) 进行预先准备二次,并以 30 μ l/ 分钟进行平衡直至基线呈现稳定。

[0572] 通常,对于分析目的,将结合海帕西啉的核酸的适体 / 镜像异构适体在水中稀释至 100 μ M 的储存浓度 (通过 UV 测量来进行定量),在水浴或热混匀器中加热至 95℃ 30 秒,

并且在冰上急速冷却以确保均匀的溶解溶液。

[0573] 通过一系列以在运行缓冲液中稀释的 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.63、7.8、3.9 和 0nM 的浓度来进行的适体注射来评价动力学参数和解离常数。在所有试验中,使用 Kinject 命令(其定义 360 秒的结合时间和 360 秒的解离时间,以 30 μ l/ 分钟的流速)于 37°C 来进行所述分析。该测定法是经双重参照的,而 FC1 用作(经封闭的)表面对照(每个适体浓度的总体贡献),和一系列不含分析物的缓冲液注射决定该缓冲液本身的总体贡献。使用 Langmuir 1:1 化学计量拟合算法,用 BIAevaluation 3.0 软件(BIACOREAB, Uppsala, Sweden)来进行数据分析和解离常数(KD)的计算。

[0574] 实施例 5:通过结合海帕西啉的镜像异构适体来抑制由人和小鼠海帕西啉诱导的膜铁转运蛋白的下调

[0575] 方法

[0576] 在具有 Glutamax (Invitrogen, Karlsruhe, Germany) 的 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基(DMEM)(其包含 10%胎牛血清、100 个单位/ml 青霉素和 100 μ g/ml 链霉素)中在 37°C 和 5% CO₂下培养 J774.1 细胞(小鼠单核细胞-巨噬细胞,获自 DSMZ, Braunschweig)。对于这些试验,在 12-孔平板中,将细胞以 7.3×10^5 个细胞/孔 (2×10^5 个细胞/cm²) 的密度接种在 2ml 培养基中,并且在 37°C 和 5% CO₂下培养数小时。在细胞贴壁后,通过添加 20 μ l 的 Fe-NTA- 溶液来给细胞加载铁,所述 Fe-NTA- 溶液通过混合 1 份的 0.3M 在水中的 FeCl₃ 和 2 份的 0.3M 在水中的 NTA(次氨基三乙酸盐)并随后用 DMEM 进行 1:10 稀释来制备。如所描述的,将细胞培养过夜。第二天,在 DMEM 中制备刺激溶液,其包含各自以 5X 所需终浓度的人海帕西啉和(当指明时)镜像异构适体(见下面,所添加的镜像异构适体),并且于 37°C 预温育 30 分钟。将 0.5ml 的所述溶液添加至 12-孔平板的每个孔。在 3 小时的刺激后,移去培养基,并且用 1ml 冰冷的磷酸盐缓冲盐水(PBS)快速洗涤细胞一次。然后,在 1ml 冷的 PBS 中从孔上刮除下细胞,并且收集在预冷的 Eppendorf 管中。在 4°C 下以 500g 离心 5 分钟后,移去上清液,并且将粒状沉淀重悬浮在 75 μ l 的裂解缓冲液(Tris/HCl, pH 7.5, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1% Triton X-100 和蛋白酶抑制剂(蛋白酶抑制剂混合物片剂, Roche#11873580001))中。将细胞悬浮液在干冰上冷冻,解冻,充分涡旋振荡,并且在 4°C 下以 1000g 离心 10 分钟。收集裂解物上清液,并储存于 -80°C 直至进一步分析。

[0577] 使用双金鸡宁酸方法来进行蛋白质测定。将包含 20 μ g 蛋白质的裂解物量与 2X 样品缓冲液(125mM Tris/HCl, pH 6.8; 20%甘油; 4% SDS; 0.02% 溴酚蓝)相混合,并且于 37°C 温育 10 分钟。在 10% SDS- 聚丙烯酰胺凝胶上来分开蛋白质,然后通过电印迹而转移到 HybondECL 硝化纤维素或 Hybond-P PVDF 膜(GE Healthcare, Munich, Germany)上。在印迹后,用丽春红(0.2%, 在 3% 三氯乙酸中)对所述膜进行染色以检查蛋白质加载和转移。用兔抗小鼠膜铁转运蛋白抗体(Alpha Diagnostics, #MTP11-A)和抗兔 IgG-HRP 缀合物(New England Biolabs, Frankfurt a. M., Germany)来检测膜铁转运蛋白,其中使用 LumiGlo[®] 化学发光试剂(CellSignaling Technology, Frankfurt a. M., Germany)和 Hyperfilm[™] ECL 化学发光薄膜(GE Healthcare, Munich, Germany)。

[0578] 结果

[0579] 在用人海帕西啉或者海帕西啉+各镜像异构适体进行刺激后从 J774.1 细胞获得的裂解物通过 SDS- 凝胶电泳来分开,并且通过使用针对小鼠膜铁转运蛋白的抗体的

Western 印迹法来进行分析。

[0580] 用 Fe/NTA 处理 J774.1 细胞导致膜铁转运蛋白表达的重大上调。通过用 100nM 人海帕西啉-25 刺激细胞 3 小时而显著逆转了该效应。当将海帕西啉与镜像异构适体 226-C5-001-5'-PEG、238-D4-008-5'-氨基和 238-D4-008-5'-PEG (= NOX-H94) 一起进行预温育时,阻断了该海帕西啉效应。

[0581] 图 17A:在未处理的细胞中勉强可检测到(泳道 1)的膜铁转运蛋白(箭头)通过用 Fe/NTA 进行处理而被上调(泳道 2、3)。100nM 人海帕西啉-25 (HEP) 导致膜铁转运蛋白下调(泳道 4、5),并且该效应可以被镜像异构适体 226-C5-001 (C5-PEG) 强烈地抑制(泳道 6、7)。

[0582] 图 17B:人海帕西啉导致在经 Fe/NTA 处理的 J774.1 细胞中膜铁转运蛋白下调(泳道 6、7)。人海帕西啉-25 的该效应可以被镜像异构适体 NOX-H94 (泳道 12-15) 和镜像异构适体 HEP-238-D4-008a (其是 238-D4-008-5'-PEG (= NOX-H94) 的氨基-修饰的寡核苷酸中间体)(泳道 8-11) 强烈地抑制。

[0583] 实施例 6:结合海帕西啉的镜像异构适体在体内的活性

[0584] 慢性疾病的贫血的目前概念是,在肝细胞中促炎细胞因子(尤其是 IL-6) 刺激海帕西啉的合成和释放。然后,海帕西啉结合至表达膜铁转运蛋白这种铁转运蛋白的不同细胞类型。该相互作用诱导海帕西啉-膜铁转运蛋白复合物的内在化和降解,随后为血清铁下降。血清铁的长期降低负面地影响红细胞生成,并最后表现为贫血。将人海帕西啉-25 在小鼠中诱导血清铁下降的已知特性(Rivera, 2005) 用作炎症性贫血的模型。为了测试镜像异构适体的体内活性,用人海帕西啉-25 在 C57BL/6 小鼠中诱导血铁过少的状态。为了在该模型中表征镜像异构适体,动物接受使用镜像异构适体的预防性处理以阻断人海帕西啉的效应。

[0585] 方法

[0586] 雌性 C57BL/6 小鼠(Elevage Janvier, France, 6 周龄, n = 6-7 只/组) 接受抗海帕西啉镜像异构适体(10-20ml/kg 体重) 或媒介物(5% 葡萄糖, 10-20ml/kg 体重) 的单次静脉内注射。在 30 分钟后,以 1-2mg/kg 体重的剂量腹膜内注射合成的人海帕西啉-25 (Bachem, Weil am Rhein, Germany, Cat No. H-5926) (10ml/kg 体重)。在海帕西啉注射后 2 小时,收集血液。获得血清和血浆样品以分别用于铁测定和全血细胞计数。对于每只动物,测定血清铁、血红蛋白、血细胞比容、白细胞计数、红细胞计数、血小板计数、平均红细胞容积和平均红细胞血红蛋白值。

[0587] 结果

[0588] 注射合成的人海帕西啉-25 导致血清铁的快速降低。在注射后 2 小时,血清铁浓度降低至经媒介物处理的小鼠的值的 56%。这些体内发现与由 Rivera 等人(Ribera 等人) 所发表的数据相一致,Rivera 等人报道了在使用更高的海帕西啉剂量的非常类似的试验中减少至大约 25%。如在图 9 中所描绘的,通过在注射人海帕西啉之前施用镜像异构适体 223-C5-001-5'-PEG 完全阻断了血清铁的降低(对照的 98%)。用 239-D4-008-5'-PEG 观察到相同的效应,如在图 20 中所描绘的。

[0589] 实施例 7:在用人白介素-6 刺激的食蟹猴中结合海帕西啉的镜像异构适体的活性

[0590] 用 IL-6 受体抗体托珠单抗证明了白介素-6 (IL-6) 在慢性疾病的贫血中的主要

作用。用该抗体进行的治疗在具有卡斯尔曼病的患者中 (Nishimoto, 2008) 和也在食蟹猴关节炎模型中 (Hashizume, 2009) 显示出效用。将 IL-6 诱导海帕西啉分泌 (这随后在非人灵长类中导致贫血) 的已知特性用作另一种关于炎症性贫血的模型 (Asano, 1990 ;Klug 1994)。不选用血红蛋白这一参数,而是选择血清铁含量作为终点以显示抗海帕西啉镜像异构适体的效用。用人重组 IL-6 在食蟹猴中诱导血铁过少的状态。该模型对于显示抗海帕西啉镜像异构适体也结合内源的海帕西啉来说是重要的,正如在所有其他试验中使用合成的人海帕西啉一样。为了测试镜像异构适体的体内活性,用人重组 IL-6 在食蟹猴中诱导血铁过少的状态。为了在该模型中表征镜像异构适体,动物接受使用镜像异构适体的预防性处理以阻断食蟹猴海帕西啉的效应。

[0591] 方法

[0592] 雄性食蟹猴 (Roberto C.Hartelust, Tilburg, The Netherlands, 34 至 38 月龄, $n = 3$ 只 / 组) 接受抗海帕西啉镜像异构适体 (1ml/kg 体重) 或媒介物 (5% 葡萄糖, 1ml/kg 体重) 的单次静脉内注射。在 30 分钟后, 以 $10 \mu\text{g/kg}$ 体重的剂量皮下注射重组人 IL-6 (Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Germany) (1ml/kg 体重)。在 IL-6 注射后 8 小时, 收集血液。获得血清和血浆样品以分别用于铁测定和全血细胞计数。对于每只动物, 测定血清铁、血红蛋白、血细胞比容、白细胞计数、红细胞计数、血小板计数、平均红细胞容积和平均红细胞血红蛋白值。

[0593] 结果

[0594] 注射重组人 IL-6 导致血清铁降低。在注射后 8 小时, 血清铁浓度降低至经媒介物 /IL-6 处理的猴的给药前值的 27%。如在图 21 中所描绘的, 通过在注射人 IL-6 之前施用镜像异构适体 238-D4-008-5' -PEG 完全阻断了血清铁的降低。

[0595] 本发明的优选实施方案如下:

[0596] 1. 能够结合海帕西啉的核酸。

[0597] 2. 根据实施方案 1 的核酸, 其中所述核酸为海帕西啉的拮抗剂。

[0598] 3. 根据实施方案 1 和 2 中任一项的核酸, 其中所述核酸为海帕西啉 - 膜铁转运蛋白系统的抑制剂。

[0599] 4. 根据实施方案 1 至 3 中任一项的核酸, 其中所述核酸以 5' → 3' 方向包含第一末端核苷酸序列段、中央核苷酸序列段和第二末端核苷酸序列段, 其中所述中央核苷酸序列段包含 32 至 40 个核苷酸, 优选地 32 至 35 个核苷酸。

[0600] 5. 根据实施方案 1 至 3 中任一项的核酸, 其中所述核酸以 5' → 3' 方向包含第二末端核苷酸序列段、中央核苷酸序列段和第一末端核苷酸序列段, 其中所述中央核苷酸序列段包含 32 至 40 个核苷酸, 优选地 32 至 35 个核苷酸。

[0601] 6. 根据实施方案 4 至 5 中任一项的核酸, 其中所述中央核苷酸序列段对于结合海帕西啉来说是必需的。

[0602] 7. 根据实施方案 4 至 6 中任一项的核酸, 其中所述中央核苷酸序列段包含 5' RKAU GGGAKUAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3' 或 5' RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3' 的核苷酸序列。

[0603] 8. 根据实施方案 4 至 7 中任一项的核酸, 其中所述中央核苷酸序列段包含 5' RKAU GGGAKUAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR 3', 优选地 5' GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUWGGAGGAAG

3' 的核苷酸序列。

[0604] 9. 根据实施方案 7 至 8 中任一项的核酸, 其中

[0605] 所述第一末端核苷酸序列段与所述第二末端核苷酸序列段任选地相互杂交, 其中在杂交后形成双链结构,

[0606] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5 至 8 个核苷酸, 并且

[0607] 所述第二末端核苷酸序列段包含 5 至 8 个核苷酸。

[0608] 10. 根据实施方案 9 的核酸, 其中所述双链结构由 5 至 8 个碱基对组成。

[0609] 11. 根据实施方案 7 至 10 中任一项, 优选地实施方案 8 至 10 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSBC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GVBVYX₄X₅X₆3' 的核苷酸序列,

[0610] 其中

[0611] X₁ 为 A 或不存在, X₂ 为 G 或不存在, X₃ 为 B 或不存在, X₄ 为 S 或不存在, X₅ 为 C 或不存在, 并且 X₆ 为 U 或不存在。

[0612] 12. 根据实施方案 7 至 11 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSBC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GVBVBX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0613] 其中

[0614] a) X₁ 为 A, X₂ 为 G, X₃ 为 B, X₄ 为 S, X₅ 为 C, 并且 X₆ 为 U, 或者

[0615] b) X₁ 不存在, X₂ 为 G, X₃ 为 B, X₄ 为 S, X₅ 为 C, 并且 X₆ 为 U, 或者

[0616] c) X₁ 为 A, X₂ 为 G, X₃ 为 B, X₄ 为 S, X₅ 为 C, 并且 X₆ 不存在。

[0617] 13. 根据实施方案 7 至 12 中任一项的核酸, 其中

[0618] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGUGCGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0619] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCAUGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0620] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGUGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GAUGCGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0621] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGUGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCAUGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0622] e) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGUGCC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGUGCGCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0623] f) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGCGCGCC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCGCGCU 3' 的核苷酸序列。

[0624] 14. 根据实施方案 7 至 10 中任一项, 优选地实施方案 8 至 10 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSBC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GVBVYX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0625] 其中

[0626] a) X₁ 不存在, X₂ 为 G, X₃ 为 B, X₄ 为 S, X₅ 为 C, 并且 X₆ 不存在, 或者

[0627] b) X₁ 不存在, X₂ 不存在, X₃ 为 B, X₄ 为 S, X₅ 为 C, 并且 X₆ 不存在, 或者

[0628] c) X_1 不存在, X_2 为 G, X_3 为 B, X_4 为 S, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0629] 15. 根据实施方案 7 至 11 和 14 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ SBSBC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GVBVYX $_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列,

[0630] 其中

[0631] X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 B 或不存在, X_4 为 S 或不存在, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。

[0632] 16. 根据实施方案 15 的核酸, 其中

[0633] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGCGC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GCGCGC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0634] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGUGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCAUC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0635] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCGUC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCGCC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0636] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGCC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GGCGC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0637] e) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCGC 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' GCGCC 3' 的核苷酸序列。

[0638] 17. 根据实施方案 7 至 16 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含根据 SEQ ID No. 115 至 119、SEQ ID No. 121、SEQ ID No. 142、SEQ ID No. 144、SEQ ID No. 146、SEQ ID No. 148、SEQ ID No. 151、SEQ ID No. 152、SEQ ID No. 175 或 SEQ ID No. 176 中任一个的核酸序列。

[0639] 18. 根据实施方案 4 至 6 中任一项的核酸, 其中所述中央核苷酸序列段包含 5' GRCRGCCGGVGGACACCAUAUACAGACUACKAUA 3' 或 5' GRCRGCCGGARGGACACCAUAUACAGACUACKAUA 3' 的核苷酸序列。

[0640] 19. 根据实施方案 4 至 6 和 18 中任一项的核酸, 其中所述中央核苷酸序列段包含 5' GRCRGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACKAUA 3', 优选地 5' GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA 3' 的核苷酸序列。

[0641] 20. 根据实施方案 18 至 19 中任一项的核酸, 其中

[0642] 所述第一末端核苷酸序列段与所述第二末端核苷酸序列段任选地相互杂交, 其中在杂交后形成双链结构,

[0643] 所述第一末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸, 并且

[0644] 所述第二末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸。

[0645] 21. 根据实施方案 20 的核酸, 其中所述双链结构由 4 至 7 个碱基对组成。

[0646] 22. 根据实施方案 18 至 21 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ SBSN 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX $_4X_5X_6$ 3' 的核苷酸序列,

[0647] 其中 X_1 为 A 或不存在, X_2 为 G 或不存在, X_3 为 R 或不存在, X_4 为 Y 或不存在, X_5 为 C 或不存在, 并且 X_6 为 U 或不存在。

[0648] 23. 根据实施方案 18 至 22 中任一项, 优选地实施方案 19 至 22 中任一项的核酸分

子,其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0649] 其中

[0650] a) X₁为 A, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆为 U, 或者

[0651] b) X₁不存在, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆为 U, 或者

[0652] c) X₁为 A, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆不存在。

[0653] 24. 根据实施方案 18 至 23 中任一项的核酸, 其中

[0654] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGGCUCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGGCCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0655] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGGCCCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGGCCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0656] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGGCUUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGAGCCU 3' 的核苷酸序列, 或者

[0657] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' AGACUUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGAGUCU 3' 的核苷酸序列。

[0658] 25. 根据实施方案 18 至 22 中任一项, 优选地实施方案 19 至 22 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0659] 其中

[0660] a) X₁不存在, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆不存在, 或者

[0661] b) X₁不存在, X₂不存在, X₃为 R, X₄为 Y, X₅为 C, 并且 X₆不存在, 或者

[0662] c) X₁不存在, X₂为 G, X₃为 R, X₄为 Y, X₅不存在, 并且 X₆不存在。

[0663] 26. 根据实施方案 18 至 22 和 25 中任一项的核酸, 其中

[0664] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCUCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGGCC 3' 的核苷酸序列。

[0665] 27. 根据实施方案 18 至 22 中任一项的核酸分子, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃SBSN 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' NSVSX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0666] 其中

[0667] X₁不存在, X₂不存在, X₃为 R 或不存在, X₄为 Y 或不存在, X₅不存在, 并且 X₆不存在。

[0668] 28. 根据实施方案 18 至 22 和 27 中任一项的核酸, 其中

[0669] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GGCCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGGCC 3' 的核苷酸序列, 或者

[0670] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCGC 3' 的核苷酸序列。

[0671] 29. 根据实施方案 1 至 6 和 18 至 28 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含根据 SEQ ID No. 122 至 126、SEQ ID No. 154、SEQ ID No. 159、SEQ ID No. 163 或 SEQ ID No. 174 中任一个的核酸序列。

[0672] 30. 根据实施方案 4 至 6 中任一项的核酸,其中所述中央核苷酸序列段以 5' → 3' 方向包含下列核苷酸序列段:盒 A、连接性核苷酸序列段和盒 B;或者盒 B、连接性核苷酸序列段和盒 A,其中所述盒 A 包含 5' WAAAGUWGAR 3' 的核苷酸序列,所述连接性核苷酸序列段包含 10 至 18 个核苷酸,并且所述盒 B 包含 5' RGMGUGWKAGUKC 3' 的核苷酸序列。

[0673] 31. 根据实施方案 30 的核酸,其中所述盒 A 包含选自 5' UAAAGUAGAG 3'、5' AAAAGUAGAA 3'、5' AAAAGUUGAA 3' 和 5' GGGAUUAUAGUGC 3' 的核苷酸序列,优选地 5' UAAAGUAGAG 3' 的核苷酸序列。

[0674] 32. 根据实施方案 30 和 31 中任一项的核酸,其中所述盒 B 包含选自 5' GGCGUGAUAGUGC 3'、5' GGAGUGUUAGUUC 3'、5' GGCGUGAGAGUGC 3'、5' AGCGUGAUAGUGC 3' 和 5' GGCGUGUUAGUGC 3' 的核苷酸序列,优选地 5' GGCGUGAUAGUGC 3' 的核苷酸序列。

[0675] 33. 根据实施方案 30 至 32 中任一项的核酸,其中所述连接性核苷酸序列段以 5' → 3' 方向包含第一连接性核苷酸子序列段、第二连接性核苷酸子序列段和第三连接性核苷酸子序列段,其中优选地,所述第一连接性核苷酸子序列段与所述第三连接性核苷酸子序列段任选地相互杂交,其中在杂交后形成双链结构。

[0676] 34. 根据实施方案 33 的核酸,其中所述第一连接性核苷酸子序列段和所述第三连接性核苷酸子序列段各自且彼此独立地包含 3 至 6 个核苷酸。

[0677] 35. 根据实施方案 33 至 34 中任一项的核酸,其中所述双链结构由 3 至 6 个碱基对组成。

[0678] 36. 根据实施方案 33 至 35 中任一项的核酸,其中

[0679] a) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含选自 5' GGAC 3'、5' GGAU 3' 和 5' GGA 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GUCC 3' 的核苷酸序列,或者

[0680] b) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GCAG 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' CUGC 3' 的核苷酸序列,或者

[0681] c) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GGGC 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GCCC 3' 的核苷酸序列,或者

[0682] d) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GAC 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GUC 3' 的核苷酸序列,或者

[0683] e) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' ACUUGU 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含选自 5' GCAAGU 3' 和 5' GCAAGC 3' 的核苷酸序列,或者

[0684] f) 所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' UCCAG 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' CUGGA 3' 的核苷酸序列,

[0685] 优选地,所述第一连接性核苷酸子序列段包含 5' GAC 3' 的核苷酸序列,并且所述第三连接性核苷酸子序列段包含 5' GUC 3' 的核苷酸序列。

[0686] 37. 根据实施方案 33 至 36 中任一项的核酸,其中所述第二连接性核苷酸子序列段包含 3 至 5 个核苷酸。

[0687] 38. 根据实施方案 33 至 37 中任一项的核酸,其中所述第二连接性核苷酸子序列段包含选自 5' VBAAW 3'、5' AAUW 3' 和 5' NBW 3' 的核苷酸序列。

[0688] 39. 根据实施方案 38 的核酸,其中所述第二连接性核苷酸子序列段包含 5' VBAAW 3' 的核苷酸序列,优选地选自 5' CGAAA 3'、5' GCAAU 3'、5' GUAAU 3' 和 5' AUAUU 3' 的核

核苷酸序列。

[0689] 40. 根据实施方案 38 的核酸,其中所述第二连接性核苷酸子序列段包含 5' AAUW 3' 的核苷酸序列,优选地 5' AAUU 3' 或 5' AAUA 3' 的核苷酸序列,更优选地 5' AAUA 3' 的核苷酸序列。

[0690] 41. 根据实施方案 38 的核酸,其中所述第二连接性核苷酸子序列段包含 5' NBW 3' 的核苷酸序列,优选地选自 5' CCA 3'、5' CUA 3'、5' UCA 3'、5' ACA 3'、5' GUU 3'、5' UGA 3' 和 5' GUA 3' 的核苷酸序列,更优选地选自 5' CCA 3'、5' CUA 3'、5' UCA 3'、5' ACA 3' 和 5' GUU 3' 的核苷酸序列。

[0691] 42. 根据实施方案 30 至 41 中任一项的核酸,其中所述连接性核苷酸序列段包含选自 5' GGACBYAGUCC 3'、5' GGAUACAGUCC 3'、5' GCAGGYAAUCUGC 3'、5' GACAAUWGUC 3'、5' ACUUGUCGAAAGCAAGYU 3'、5' UCCAGGUUCUGGA 3'、5' GGGCUGAGCCC 3'、5' GCAGAUAAUCUGC 3' 和 5' GGACCAGUCC 3' 的核苷酸序列,优选地选自 5' GGACCCAGUCC 3'、5' GGACCUAGUCC 3'、5' GGACUCAGUCC 3'、5' GCAGGUAUUCUGC 3'、5' GCAGGCAAUCUGC 3'、5' GACAAUUGUC 3' 和 5' GACAAUAGUC 3' 的核苷酸序列。

[0692] 43. 根据实施方案 30 至 42 中任一项的核酸,其中

[0693] 所述第一末端核苷酸序列段与所述第二末端核苷酸序列段任选地相互杂交,其中在杂交后形成双链结构,

[0694] 所述第一末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸,并且

[0695] 所述第二末端核苷酸序列段包含 4 至 7 个核苷酸。

[0696] 44. 根据实施方案 43 的核酸,其中所述双链结构由 4 至 7 个碱基对组成。

[0697] 45. 根据实施方案 30 至 44 中任一项的核酸分子,其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃BK BK 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVVVX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0698] 其中 X₁为 G 或不存在, X₂为 S 或不存在, X₃为 V 或不存在, X₄为 B 或不存在, X₅为 S 或不存在,并且 X₆为 C 或不存在。

[0699] 46. 根据实施方案 30 至 45 中任一项的核酸分子,其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃BK BK 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVVVX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0700] 其中

[0701] a) X₁为 G, X₂为 S, X₃为 V, X₄为 B, X₅为 S, 并且 X₆为 C, 或者

[0702] b) X₁不存在, X₂为 S, X₃为 V, X₄为 B, X₅为 S, 并且 X₆为 C, 或者

[0703] c) X₁为 G, X₂为 S, X₃为 V, X₄为 B, X₅为 S, 并且 X₆不存在。

[0704] 47. 根据实施方案 30 至 46 中任一项,优选地实施方案 46 的核酸分子,其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCACUCG 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGAGUGC 3' 的核苷酸序列。

[0705] 48. 根据实施方案 30 至 45 中任一项的核酸分子,其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' X₁X₂X₃BK BK 3' 的核苷酸序列,并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVVVX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,

[0706] 其中

- [0707] a) X_1 不存在, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 不存在, 或者
- [0708] b) X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 为 S, 并且 X_6 不存在, 或者
- [0709] c) X_1 不存在, X_2 为 S, X_3 为 V, X_4 为 B, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。
- [0710] 49. 根据实施方案 30 至 45 和 48 中任一项的核酸, 其中
- [0711] a) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCUGUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACAGC 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0712] b) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGUGUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACACG 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0713] c) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGUGCU 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' AGCACG 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0714] d) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGCGCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCGCG 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0715] e) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCCGUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACGCG 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0716] f) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGGUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACCGC 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0717] g) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCUGCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCAGC 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0718] h) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCUGGG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CCCAGC 3' 的核苷酸序列, 或者
- [0719] i) 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' GCGGCG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CGCCGC 3' 的核苷酸序列。
- [0720] 50. 根据实施方案 30 至 45 中任一项的核酸, 其中所述第一末端核苷酸序列段包含 5' $X_1X_2X_3$ BK BK 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' MVVX₄X₅X₆ 3' 的核苷酸序列,
- [0721] 其中
- [0722] X_1 不存在, X_2 不存在, X_3 为 V 或不存在, X_4 为 B 或不存在, X_5 不存在, 并且 X_6 不存在。
- [0723] 51. 根据实施方案 30 至 45 和 50 中任一项的核酸, 其中
- [0724] 所述第一末端核苷酸序列段包含 5' CGUG 3' 的核苷酸序列, 并且所述第二末端核苷酸序列段包含 5' CACG 3' 的核苷酸序列。
- [0725] 52. 根据实施方案 1 至 6 和 30 至 51 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含根据 SEQ ID No. 29、SEQ ID No. 33、SEQ ID No. 34、SEQ ID No. 39 至 41、SEQ ID No. 43、SEQ ID No. 46、SEQ ID No. 137 至 141 或 SEQ ID No. 173 中任一个的核酸序列。
- [0726] 53. 根据实施方案 1 至 6 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含根据 SEQ ID No. 127 至 131 中任一个的核酸序列。
- [0727] 54. 根据实施方案 1 至 53 中任一项的核酸, 其中所述核酸能够结合海帕西啶, 其中海帕西啶为人海帕西啶-25、人海帕西啶-22、人海帕西啶-20、猴海帕西啶-25、猴海帕西啶-22、猴海帕西啶-20, 优选地人海帕西啶-25。

[0728] 55. 根据实施方案 1 至 54 中任一项, 优选地实施方案 54 的核酸, 其中所述海帕西啉具有根据 SEQ ID No. 1 的氨基酸序列。

[0729] 56. 根据实施方案 1 至 55 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含修饰基团, 其中包含所述修饰基团的核酸分子从生物体中排泄的速率相比于不含所述修饰基团的核酸而言降低。

[0730] 57. 根据实施方案 1 至 55 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含修饰基团, 其中包含所述修饰基团的核酸分子具有相比于不含所述修饰基团的核酸而言增加的在生物体中的滞留时间。

[0731] 58. 根据实施方案 56 和 57 的核酸, 其中所述修饰基团选自包括生物可降解的和生物不可降解的修饰的组, 优选地所述修饰基团选自包括线性聚乙二醇、支化聚乙二醇、羟乙基淀粉、肽、蛋白质、多糖、固醇、聚氧丙烯、聚氧酰胺化物、聚(2-羟乙基)-L-谷氨酰胺和聚乙二醇的组。

[0732] 59. 根据实施方案 58 的核酸, 其中所述修饰基团为由直链或支化的 PEG 组成的 PEG 部分, 其中所述 PEG 部分的分子量优选地为大约 20,000 至大约 120,000Da, 更优选地为大约 30,000 至大约 80,000Da, 和最优选地为大约 40,000Da。

[0733] 60. 根据实施方案 58 的核酸, 其中所述修饰基团为 HES 部分, 其中所述 HES 部分的分子量优选地为大约 10,000 至大约 200,000Da, 更优选地为大约 30,000 至大约 170,000Da, 和最优选地为大约 150,000Da。

[0734] 61. 根据实施方案 56 至 60 中任一项的核酸, 其中所述修饰基团经由连接体偶联至所述核酸, 其中所述连接体优选地为生物可降解的连接体。

[0735] 62. 根据实施方案 56 至 61 中任一项的核酸, 其中所述修饰基团偶联至所述核酸的 5'-末端核苷酸和 / 或 3'-末端核苷酸, 和 / 或偶联至在所述核酸的 5'-末端核苷酸和所述核酸的 3'-末端核苷酸之间的所述核酸的核苷酸。

[0736] 63. 根据实施方案 56 至 62 中任一项的核酸, 其中所述生物体为动物体或人体, 优选地人体。

[0737] 64. 根据实施方案 1 至 63 中任一项的核酸, 其中所述核酸的核苷酸或形成所述核酸的核苷酸为 L-核苷酸。

[0738] 65. 根据实施方案 1 至 64 中任一项的核酸, 其中所述核酸为 L-核酸。

[0739] 66. 根据实施方案 1 至 65 中任一项的核酸, 其中所述核酸包含至少一个能够结合海帕西啉的结合部分, 其中此类结合部分由 L-核苷酸组成。

[0740] 67. 根据实施方案 1 至 66 中任一项的核酸, 其用于在治疗和 / 或预防疾病的方法中使用。

[0741] 68. 药物组合物, 其包含根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸和任选地另外的组分, 其中所述另外的组分选自包括药学上可接受的赋形剂、药学上可接受的载体和药学活性试剂的组。

[0742] 69. 根据实施方案 68 的药物组合物, 其中所述药物组合物包含根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸和药学上可接受的载体。

[0743] 70. 根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸在制备药剂中的用途。

[0744] 71. 根据实施方案 70 的用途, 其中所述药剂用于在人医学中使用或用于在兽医医

学中使用。

[0745] 72. 根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸在制备诊断工具中的用途。

[0746] 73. 根据实施方案 70 的用途,其中所述药剂用于治疗 and / 或预防贫血、血铁过少、异食癖、具有升高的海帕西啉水平的病状、具有升高的铁水平的病状、或具有铁超负荷的病状。

[0747] 74. 根据实施方案 73 的用途,其中所述贫血选自铁粒幼细胞贫血、低色素小红细胞性贫血、由慢性疾病和 / 或病症引起的贫血、由炎症引起的贫血、由遗传病症引起的贫血、由急性感染引起的贫血、由铁代谢和 / 或体内稳态的基因中的突变引起的贫血、和由癌症治疗引起的贫血。

[0748] 75. 根据实施方案 74 的用途,其中所述慢性疾病和 / 或病症选自慢性炎症、癌症、自身免疫疾病和 / 或病症、慢性感染、动脉硬化、动脉粥样硬化和肝硬化。

[0749] 76. 根据实施方案 75 的用途,其中慢性炎症选自慢性肾疾病、慢性阻塞性肺部疾病、多发性硬化、骨关节炎、糖尿病、肥胖症、脑血管疾病、充血性心脏病、充血性心力衰竭、心肌梗死、冠状动脉疾病、周围闭塞性动脉疾病、胰腺炎和脉管炎,其中慢性肾疾病优选地选自肾脏病、慢性肾功能衰竭、慢性肾衰竭,和 / 或其中慢性肾疾病由肾脏透析或肾脏移植引起。

[0750] 77. 根据实施方案 75 的用途,其中自身免疫疾病和 / 或病症选自类风湿性关节炎、肠易激惹综合征、系统性红斑狼疮和克罗恩病。

[0751] 78. 根据实施方案 75 的用途,其中慢性感染选自病毒感染、病毒性疾病、细菌感染和真菌感染,其中优选地,所述病毒感染包括肝炎和 HIV 感染,和所述细菌感染包括幽门螺杆菌感染。

[0752] 79. 根据实施方案 74 的用途,其中由炎症引起的贫血为正常红细胞性的至小红细胞性的,和 / 或其特征在于低的网织红细胞生成指数和 / 或增加的炎症标志物。

[0753] 80. 根据实施方案 74 的用途,其中所述遗传病症为卡斯尔曼病、施尼茨勒综合征、铁难治性缺铁性贫血 (matriptase-2 (TMPRSS6) 突变)、缺转铁蛋白血症、先天性红细胞生成不良性贫血或血红蛋白病。

[0754] 81. 根据实施方案 74 的用途,其中所述急性感染选自病毒感染、细菌感染和真菌感染,优选地为脓毒症。

[0755] 82. 根据实施方案 75 的用途,其中所述癌症选自肝细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、头与颈癌、乳腺癌、结肠直肠癌、非骨髓性癌、肾细胞癌、非小细胞肺癌、肿瘤和脑瘤。

[0756] 83. 根据实施方案 73 的用途,其中所述药剂用于治疗具有升高的铁水平的病状,其中所述病状选自共济失调、弗里德赖希共济失调、年龄相关性黄斑变性、年龄相关性白内障、年龄相关性视网膜疾病和神经变性疾病,所述神经变性疾病包括阿尔茨海默病、帕金森病、泛酸激酶相关的神经变性、腿多动综合征和亨廷顿舞蹈病。

[0757] 84. 根据实施方案 73 的用途,其中所述药剂用于治疗铁超负荷,其中海帕西啉血浆水平未升高。

[0758] 85. 根据实施方案 84 的用途,其中铁超负荷选自输血性铁超负荷、铁中毒、肺含铁血黄素沉着症、骨质减少、胰岛素抵抗、非洲人铁超负荷、哈 - 施病、高铁蛋白血症、血浆铜蓝蛋白缺乏症、新生儿血色素沉着症和红细胞病症,所述红细胞病症包括地中海贫血、 α 地

中海贫血、中间型地中海贫血、镰状细胞病和骨髓增生异常综合征。

[0759] 86. 根据实施方案 82 至 85 中任一项的用途,其中所述药剂与铁螯合化合物联合使用。

[0760] 87. 根据实施方案 86 的用途,其中所述铁螯合化合物选自姜黄素、去铁胺、地拉罗司和去铁酮。

[0761] 88. 根据实施方案 70 的用途,其中所述药剂用于与另外的药剂或治疗方法相联合或者用于与另外的药剂或治疗方法相联合地使用,其中此类药剂或治疗方法包括另外的药理学活性化合物或者施用此类另外的药理学活性化合物,其中此类另外的药理学活性化合物选自铁补充剂、维生素补充剂、红细胞生成刺激剂、抗生素、抗炎生物制剂、免疫系统的抑制剂、抗血栓溶解剂、他汀类、血管加压药和影响肌肉收缩的化合物。

[0762] 89. 包含根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸和海帕西啶的复合物,其中所述复合物优选地为晶体复合物。

[0763] 90. 根据实施方案 89 的复合物,其中海帕西啶选自包括人海帕西啶、猴海帕西啶的组,更优选地海帕西啶为人海帕西啶。

[0764] 91. 根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸用于检测海帕西啶的用途。

[0765] 92. 根据实施方案 91 的用途,其中海帕西啶选自包括人海帕西啶、猴海帕西啶的组,更优选地海帕西啶为人海帕西啶。

[0766] 93. 用于筛选海帕西啶的拮抗剂或激动剂的方法,所述方法包括下列步骤:

[0767] 一提供海帕西啶的候选拮抗剂和 / 或候选激动剂,

[0768] 一提供根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸,

[0769] 一提供测试系统,其在存在海帕西啶的拮抗剂和 / 或激动剂时提供信号,和

[0770] 一测定所述候选拮抗剂是否为海帕西啶的拮抗剂和 / 或所述候选激动剂是否为海帕西啶的激动剂。

[0771] 94. 根据实施方案 93 的方法,其中海帕西啶选自包括人海帕西啶、猴海帕西啶的组,更优选地海帕西啶为人海帕西啶。

[0772] 95. 用于检测海帕西啶的试剂盒,其包含根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸,其中所述海帕西啶优选地为人海帕西啶。

[0773] 96. 用于检测样品中的根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸的方法,其中所述方法包括下列步骤:

[0774] a) 提供含有根据本发明的核酸的样品;

[0775] b) 提供捕获探针和检测探针,其中所述捕获探针与根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸的第一部分至少部分地互补,和所述检测探针与根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸的第二部分至少部分地互补,或者备选地,所述捕获探针与根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸的第二部分至少部分地互补,和所述检测探针与根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸的第一部分至少部分地互补;

[0776] c) 允许所述捕获探针和所述检测探针同时地或者以任何顺序依次地与根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸或其部分反应;

[0777] d) 任选地,检测所述捕获探针是否与在步骤 a) 中提供的根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸杂交;和

[0778] e) 检测在步骤 c) 中形成的复合物,其由根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸以及所述捕获探针和所述检测探针组成。

[0779] 97. 根据实施方案 96 的方法,其中所述检测探针包含检测工具,和/或其中所述捕获探针可以固定至支持物,优选地固体支持物。

[0780] 98. 根据实施方案 96 或 97 的方法,其中将不作为所述复合物的一部分的任何检测探针从所述反应体系中去除,从而在步骤 e) 中仅检测作为所述复合物的一部分的检测探针。

[0781] 99. 根据实施方案 96 至 98 中任一项的方法,其中步骤 e) 包括下列步骤:比较当所述捕获探针和所述检测探针在根据实施方案 1 至 67 中任一项的核酸或其部分存在的情况下和所述核酸或其部分不存在的情况下进行杂交时由所述检测工具所产生的信号。

[0782] 参考文献

[0783] Abboud S,Haile DJ(2000)A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 275(26):19906-19912

[0784] Altschul SF,Gish W,Miller W,Myers EW,Lipmann DJ(1990),Basic local alignment search tool *J Mol Biol* 215(3):403-10.

[0785] Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ(1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acid Research* 25(17):3389-402.

[0786] Andrews NC(2008)Forging a field:the golden age of iron biology. *Blood* 112(2):219-230

[0787] Asano S, Okano A, Ozawa K, Nakahata T, Ishibashi T, Koike K, Kimura H, Tanioka Y, Shibuya A, Hirano T(1990) In vivo effects of recombinant human interleukin-6 in primates: stimulated production of platelets. *Blood* 75(8):1602-1605

[0788] Constante M, Jiang W, Wang D, Raymond VA, Bilodeau M, Santos MM(2006) Distinct requirements for Hfe in basal and induced hepcidin levels in iron overload and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291(2):G229-237

[0789] De Domenico I, Ward DM, Langelier C, Vaughn MB, Nemeth E, Sundquist WI, Ganz T, Musci G, Kaplan J(2007) The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation. *Mol Biol Cell* 18(7):2569-2578

[0790] Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI(2000) Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 403(6771):776-781

[0791] Eaton BE et(1995) *Chem Biol* 2:633 Eaton BE, Gold L, Hicke BJ, Janjic N, Jucker FM, Sebosta DP, Tarasow TM, Willis MC, Zichi DA(1997) *Bioorg Med Chem* 5:1087.

[0792] Frazer DM, Wilkins SJ, Millard KN, McKie AT, Vulpe CD, Anderson GJ(2004)

Increased hepcidin expression and hypoferraemia associated with an acute phase response are not affected by inactivation of HFE. *Br J Haematol* 126(3):434-436

[0793] Hashizume M, Uchiyama Y, Horai N, Tomosugi N, Mihara M (2009) Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, improved anemia in monkey arthritis by suppressing IL-6-induced hepcidin production. *Rheumatol Int* Jul 29, DOI 10.1007/s00296-009-1075-4.

[0794] Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ (2002) The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 277(40):37597-37603

[0795] Klug S, Neubert R, Stahlmann R, Thiel R, Ryffel B, Car BD, Neubert D (1994) Effects of recombinant human interleukin 6 (rhIL-6) in marmosets (*Callithrix jacchus*). 1. General toxicity and hematological changes. *Arch Toxicol* 68(10):619-31

[0796] Klussmann, S. (eds.) ; The Aptamer Handbook, 1. Edition-February 2006, Wiley-VCH, Weinheim

[0797] Krause A, Neitz S, Magert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, Adermann K (2000) LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 480(2-3):147-150

[0798] McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, Miret S, Bomford A, Peters TJ, Farzaneh F, Hediger MA, Hentze MW, Simpson RJ (2000) A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 5(2):299-309

[0799] Needleman & Wunsch (1970), A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J Mol Biol* 48(3):443-53.

[0800] Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T (2004a) IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 113(9):1271-1276

[0801] Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J (2004b) Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 306(5704):2090-2093

[0802] Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S (2001) Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(15):8780-8785

[0803] Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S (2002a) Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(7):4596-4601

[0804] Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn

A, Vaulont S (2002b) The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 110(7):1037-1044

[0805] Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Andrews NC, Vaulont S (2003) Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 34(1):97-101

[0806] Nishimoto N, Terao K, Mima T, Nakahara H, Takagi N, Takeuchi T (2008) Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. *Blood* 112(10):3959-3964.

[0807] Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T (2001) Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 276(11):7806-7810

[0808] Pearson & Lipman (1988), Improved tools for biological sequence comparison. *Proc Nat. Acad Sci USA* 85:2444.

[0809] Pigeon C, Ilyin G, Coursaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loreal O (2001) A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 276(11):7811-7819

[0810] Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T (2005) Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 106(6):2196-2199

[0811] Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C (2003) Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 33(1):21-22

[0812] Smith & Waterman (1981), *Adv. Appl. Math.* 2:482

[0813] Valore EV, Ganz T (2008) Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells Mol Dis* 40(1):132-138

[0814] Weiss G (2008) Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta*

[0815] Weiss G, Goodnough LT (2005) Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 352(10):1011-1023

[0816] 在说明书、权利要求书、序列表和/或附图中公开的本发明的特征(分开地和/或其任意组合)可以用于以本发明的各种形式来实现本发明的材料。

[0001]

序列表

<110> NOXXON Pharma AG

<120> 结合海帕西啉的核酸

<130> N 10082 PCT

<150> EP 10 000 635.2

<151> January 22, 2010

<160> 212

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> 肽

<222> (1)..(25)

<400> 1

Asp	Thr	His	Phe	Pro	Ile	Cys	Ile	Phe	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	His	Arg
1				5					10					15	

Ser	Lys	Cys	Gly	Met	Cys	Cys	Lys	Thr
			20					25

<210> 2

<211> 25

<212> PRT

<213> 猕猴(Macaca mulatta)

<220>

<221> 肽

<222> (1)..(25)

<400> 2

Asp	Thr	His	Phe	Pro	Ile	Cys	Ile	Phe	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	His	Arg
1				5					10					15	

Ser	Lys	Cys	Gly	Met	Cys	Cys	Lys	Thr
			20					25

<210> 3

<211> 25

<212> PRT

<213> 食蟹猕猴(Macaca fascicularis)

<220>

<221> 肽

<222> (1)..(25)

<400> 3

Asp	Thr	His	Phe	Pro	Ile	Cys	Ile	Phe	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	His	Arg
1				5					10					15	

Ser	Lys	Cys	Gly	Met	Cys	Cys	Lys	Thr
			20					25

<210> 4

[0002]

<211> 25
<212> PRT
<213> 欧洲野猪(*Sus scrofa*)

<220>
<221> 肽
<222> (1)..(25)

<400> 4

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys Arg Lys
1 5 10 15

Ala Ile Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
20 25

<210> 5
<211> 25
<212> PRT
<213> 小家鼠(*Mus musculus*)

<220>
<221> 肽
<222> (1)..(25)

<400> 5

Asp Thr Asn Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Lys Cys Cys Asn Asn
1 5 10 15

Ser Gln Cys Gly Ile Cys Cys Lys Thr
20 25

<210> 6
<211> 25
<212> PRT
<213> 褐家鼠(*Rattus norvegicus*)

<220>
<221> 肽
<222> (1)..(25)

<400> 6

Asp Thr Asn Phe Pro Ile Cys Leu Phe Cys Cys Lys Cys Cys Lys Asn
1 5 10 15

Ser Ser Cys Gly Leu Cys Cys Ile Thr
20 25

<210> 7
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人(*Homo sapiens*)

<220>
<221> 肽
<222> (1)..(25)

<400> 7

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg
1 5 10 15

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr

[0003]

[0004]

<210>	12	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	12	
	gc <u>a</u> uucg <u>u</u> aa ag <u>u</u> agaggg <u>a</u> cc <u>a</u> guc <u>c</u> gg cgugauagug ccgagugc	48
<210>	13	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	13	
	gcacucg <u>u</u> aa ag <u>u</u> agaggg <u>a</u> cc <u>a</u> guc <u>c</u> gg cgugauagug ccg <u>g</u> gugc	48
<210>	14	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	14	
	gcacucg <u>u</u> aa ag <u>u</u> agaggg <u>a</u> cc <u>a</u> guc <u>c</u> gg cgugauagug ccgagugc	48
<210>	15	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	15	
	gcacucg <u>u</u> aa ag <u>u</u> agaggg <u>a</u> cu <u>c</u> aguc <u>c</u> gg cgugauagug ccgagugc	48
<210>	16	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0005]

<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	16	
	gcacucguaa aguagaggga uacaguccgg cgugauagug acgagugc	48
<210>	17	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	17	
	cguguguaaa guagaggcag gaaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210>	18	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	18	
	cgcguguaaa guagaggcag gaaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210>	19	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	19	
	cguguguaaa guagaggcag gaaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210>	20	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	20	
	cguguguaaa guagaggaca auugucggcg uguauagucc acacg	45

[0006]

<210>	21	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	21	
	gcuguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acagc	45
<210>	22	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	22	
	cguguguaaa guagaggaca auagucggcg ugagagugcc acacg	45
<210>	23	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	23	
	cgugaaaagu agaaacuugu cgaaagcaag uagcgugaua gugccacg	48
<210>	24	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	24	
	cgugcuggeg ugauagugcu ccagguucug gaaaaaguag agagcacg	48
<210>	25	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		

[0007]

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 25

cgugcgaagg agugauaagu guuucugacu uucuuccaga cucccacg

48

<210> 26

<211> 46

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 26

cacucguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgagug

46

<210> 27

<211> 46

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 27

cgcgcguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgcgcg

46

<210> 28

<211> 44

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 28

gcgcguaaag uagagggacc caguccggcg ugauagugcc gcgc

44

<210> 29

<211> 48

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> L-RNA

<400> 29

[0008]

gcacucguua aguagaggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 30
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 30
gcacucguua aguagaggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 31
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 31
gcauucguua aguagaggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 32
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 32
gcacucguua aguagaggga ccuaguccgg cgugauagug ccgggugc 48

<210> 33
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 33
gcacucguua aguagaggga ccuaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 34
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

[0009]

<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	34	
	gcacucguaa aguagaggga cucaguccgg cgugauagug ccgagugc	48
<210>	35	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	35	
	gcacucguaa aguagaggga uacaguccgg cgugauagug acgagugc	48
<210>	36	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	36	
	cguguguaaa guagaggcag guaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210>	37	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	37	
	cgcguguaaa guagaggcag guaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210>	38	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	

[0010]

<400> 38 cguguguuaa guagaggcag gcaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210> 39 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 39 cguguguuaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acacg	45
<210> 40 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 40 gcuguguuaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acacg	45
<210> 41 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 41 cguguguuaa guagaggaca auagucggcg ugagagugcc acacg	45
<210> 42 <211> 48 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 42 cgugaaaaau agaaacuugu cgaaagcaag uagcgugaua gugccacg	48
<210> 43 <211> 48 <212> RNA <213> 人工的	

[0011]

<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	43	
	cgugcuggcg ugauagugcu ccagguucug gauaaaguag agagcacg	48
<210>	44	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	44	
	cgugcgaagg agugauaagu guuucugacu uucuccaga cucccacg	48
<210>	45	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	45	
	cacucguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgagug	46
<210>	46	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	46	
	cgcgcguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgcgcg	46
<210>	47	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	

[0012]

<400> 47	
gcgcguaaag uagagggacc caguccggcg ugauagugcc gcgc	44
<210> 48	
<211> 48	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> L-RNA	
<400> 48	
gcacucguaa aguagaggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc	48
<210> 49	
<211> 44	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> D-RNA	
<400> 49	
aggcguaaag uagaggggcu gagcccggcg uguuagugcc gccu	44
<210> 50	
<211> 44	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> D-RNA	
<400> 50	
aggcguaaag uagagggacg uaguccggcg ugauagugcc gccu	44
<210> 51	
<211> 48	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> D-RNA	
<400> 51	
cguguguaaa guagaggcag auaaucugcg gaguguuagu uccacacg	48
<210> 52	
<211> 48	
<212> RNA	

[0013]

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 52

cgugaaaagu agaaacuugu cgaaagcaag cagcgugaua gugccacg

48

<210> 53

<211> 48

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 53

cgugaaaagu ugaaaauugu uggaaucaag cagggaauua gugccacg

48

<210> 54

<211> 49

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 54

agcgugucgu augggauaag uaaauagagg guuggaggaa gggugcgcu

49

<210> 55

<211> 50

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 55

agcgugucgu augggauuaa guaaauagagg aguuggaggaa agggcaugcu

50

<210> 56

<211> 49

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

[0014]

<223>	D-RNA	
<400>	56	
	agugugucgu augggauaag uaaaugaggg guuggaggaa ggauugcgcu	49
<210>	57	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	57	
	agugugucgu augggauaag uaaaugaggg guuggaggaa gggaugcu	49
<210>	58	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	58	
	agcugccgg augggauaag uaaaugaggg guuggaggaa gggugcgcu	49
<210>	59	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	59	
	agcugccgu augggauaag uaaaugaggg guuggaggaa ggguacgu	49
<210>	60	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	60	
	agcgccgcu augggagaag uaaaugaggg guuggaggaa gggcgcgcu	49
<210>	61	
<211>	48	

[0015]

<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	61	
	aggcucggac agccggggga caccauauac agacuacgau acgggccu	48
<210>	62	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	62	
	aggcucggac ggcggggga caccauauac agacuacgau acgggccu	48
<210>	63	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	63	
	aggcccggac agccggggga caccauauac agacuacgau acgggccu	48
<210>	64	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	64	
	aggcuugggc ggcggggga caccauauac agacuacgau acgagccu	48
<210>	65	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		

[0016]

<221> misc_feature <223> D-RNA	
<400> 65 agacuugggc agccggggga caccuuuuac agacuacgau acgagucii	48
<210> 66 <211> 49 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> D-RNA	
<400> 66 cgggcgccau agaccguuau uaagcacugu aacuaaccga cgcgcgccg	49
<210> 67 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> D-RNA	
<400> 67 cgggcgccau agaccguuua cuacaüaacü accgaaccgu gcccg	45
<210> 68 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> D-RNA	
<400> 68 cgggcgcua cgaaccacacü aaaaccagug cauagaccgc gcccg	45
<210> 69 <211> 41 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> D-RNA	
<400> 69 cgggcgcua cgaaccguca cgaagaccacü agaccgcgc g	41
<210> 70	

[0017]

<211>	41	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	70	
	cgagcgcaac cgaaccucua cccagacaua gaccgcgccc g	41
<210>	71	
<211>	47	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	71	
	gcacucguaa aguagaggsa ccaguccggc gugauagugc cgagugc	47
<210>	72	
<211>	43	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	72	
	guguguaaag uagaggacaa uuugcgcggu gauagugcca cac	43
<210>	73	
<211>	43	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	73	
	gcguguaaag uagaggacaa uuugcgcggu gauagugcca cgc	43
<210>	74	
<211>	43	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0018]

<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	74	
	gcgcguaaag uagaggacaa uuugcggcgu gauagugccg cgc	43
<210>	75	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	75	
	cguguguaaa guagaggaca uuugcggcgu ugauagugcc acaac	44
<210>	76	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	76	
	gcgcguuaaa guagaggaca uuugcggcgu ugauagugcc acggc	45
<210>	77	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	77	
	gcccguuaaa guagaggaca uuugcggcgu ugauagugcc accgc	45
<210>	78	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	78	
	gcugcguuaa guagaggaca uuugcggcgu ugauagugcc gcagc	45

[0019]

<210>	79	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	79	
	gcuggguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc ccagc	45
<210>	80	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	80	
	gcggcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gccgc	45
<210>	81	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	81	
	gcgcgcguau gggaauaagu aaauaggagc uggaggaaag gcgcgc	46
<210>	82	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	82	
	gcgcgcguau gggaauaagu aaugaggagu uggaggaaag cgcgc	45
<210>	83	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0020]

<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	83	
	ggcgcguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg cgcc	44
<210>	84	
<211>	43	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	84	
	ggcgcguaug ggauuaagua aüaggaguu ggaggaaggc gcc	43
<210>	85	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	85	
	ggugucguau gggaüaaguü aaugaggag uggaggaag ggcäuc	46
<210>	86	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	86	
	ggugucguau gggaüaagua aaugaggagu uggaggaagg gcauc	45
<210>	87	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	87	
	gcgccguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc	44

[0021]

<210>	88	
<211>	43	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	88	
	gcgccguaug ggauaaguaa augaggaguu ggagggaagg cgc	43
<210>	89	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	89	
	gcgccguau gggauuaagu aaugaggag uggagggaag gcgcc	46
<210>	90	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	90	
	gcgccguau gggauaagua aaugaggagu uggagggaagg gcgcc	45
<210>	91	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	91	
	gcgcucguau gggauuaagu aaugaggag uggagggaag gcgcc	46
<210>	92	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0022]

<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	92	45
ggcgcgcguau gggauaagua aaugaggagu uggagggaagg gcgcC		
<210>	93	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	93	46
ggcucggaca gccgggggac accauauaca gacuacgaua cggggcC		
<210>	94	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	94	44
gcucggacag ccgggggaca ccauauacag acuacgauac gggcC		
<210>	95	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	95	42
cucggacagc cggggggacac cauauacaga cuacgauacg ggC		
<210>	96	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	96	44
gcccgacag ccgggggaca ccauauacag acuacgauac gggcC		

[0023]

<210>	97	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	97	
	ggccgggacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac ggc	44
<210>	98	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	98	
	gcggagacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauau ccgu	44
<210>	99	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	99	
	aggcugacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauag gccu	44
<210>	100	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	100	
	ggccugacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauaa ggc	44
<210>	101	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	

[0024]

<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	101	
	gcgcggacag cggggggacac ccuuuacag acucgauac gcgc	41
<210>	102	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	102	
	ggcggacagc cggggggacac cauauacaga cuacgauacg gc	42
<210>	103	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	103	
	ggcggacagc cggggggacac cauauacaga cuacgauacg cc	42
<210>	104	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	104	
	ggcggacagc cggggggacac cauauacaga cuacgauagg cc	42
<210>	105	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	D-RNA	
<400>	105	
	gcgcggacagc cggggggacac cauauacaga cuacgauagc gc	42

[0025]

<210>	106	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	106	
ggccggacag ccggaggaca ccuaauacag acuacgauac ggcc		44
<210>	107	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	107	
ggccggacag ccggcggaça ccuaauacag acuacgauac ggcc		44
<210>	108	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	D-RNA	
<400>	108	
ggccggacag ccgggaggac accauauaca gacuacgaua cggcc		45
<210>	109	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	109	
uccagguucu gga		13
<210>	110	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0026]

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 110
aggcguaaag uagaggggcu gagcccgcg uguuagugcc gccu 44

<210> 111
<211> 44
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 111
aggcguaaag uagagggcac uaguccggcg uguuagugcc gccu 44

<210> 112
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 112
cguguguaaa guagaggcag auaaücügcg gagüguuagü uccacacg 48

<210> 113
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 113
cgugaaaagü agaaatuuüü cgaaagcaag cagcgugaua gügccacg 48

<210> 114
<211> 48
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 114
cgugaaaagü ügaaauuüü üggaaucaag cagggaüaua gügccacg 48

[0027]

<210>	115	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	115	
agcgugucgu augggauaag uaaaugagga guuggaggaa gggugcgcu		49
<210>	116	
<211>	50	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	116	
agcgugucgu augggauuaa guaaugagg aguuggagga agggcaugcu		50
<210>	117	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	117	
agugugucgu augggauaag uaaaugagg guuggaggaa ggaugcgcu		49
<210>	118	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	118	
agugugucgu augggauaag uaaaugagga guuggaggaa aggcaugcu		49
<210>	119	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0028]

<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	119	
	agcgugccgg augggauaag uaaaugagga guuggaggaa gggugcgcu	49
<210>	120	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	120	
	agcgugccgu augggauaag uaaaugagga guaggaggaa gggguacgu	49
<210>	121	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	121	
	agcgcgccgu augggagaag uaaaugagga guuggaggaa gggcgcgcu	49
<210>	122	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	122	
	aggcucggac agccggggga caccuauuac agacuacgau acgggccu	48
<210>	123	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	123	
	aggcucggac gccggggga caccuauuac agacuacuu acgggccu	48

[0029]

<210>	124	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	124	
	aggcccgga agccgggga caccuauac agacuacua acgggcu	48
<210>	125	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	125	
	aggcuuggc ggccgggga caccuauac agacuacua acgagcu	48
<210>	126	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	126	
	agacuuggc agccgggga caccuauac agacuacga acgagcu	48
<210>	127	
<211>	49	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	127	
	cgggcgccau agaccguua uaagcacugu aacuaccga ccggcccg	49
<210>	128	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		

[0030]

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> L-RNA

<400> 128

cgggcgccau agaccguuaa cuacauaacu accgaaccgu gcccg

45

<210> 129

<211> 45

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> L-RNA

<400> 129

cgggcgcuac cgaaccacau aaaaccagug cauagaccgc gcccg

45

<210> 130

<211> 41

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> L-RNA

<400> 130

cgggcgcuac cgaaccguca cgaagaccu agaccgcgc g

41

<210> 131

<211> 41

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> L-RNA

<400> 131

cgagcgcaac cgaaccucua cccagacaua gaccgcgcc g

41

<210> 132

<211> 47

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc_feature

<223> L-RNA

<400> 132

[0031]

gcacucguaa aguaaggga ccaguccgc gugaugugc cgagugc 47

<210> 133
<211> 43
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 133 43
guguguaag uagaggaca uugucggcg gauagugcca cac

<210> 134
<211> 43
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 134 43
gcguguaag uagaggaca uugucggcg gauagugcca cgc

<210> 135
<211> 43
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 135 43
gcgcguaaag uagaggaca uugucggcg gauagugccg cgc

<210> 136
<211> 44
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<220>
<221> misc_feature
<223> L-RNA

<400> 136 44
cguguguaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acac

<210> 137
<211> 45
<212> RNA
<213> 人工的

[0032]

<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	137	
	gccguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acggc	45
<210>	138	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	138	
	gccguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc accgc	45
<210>	139	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	139	
	gcugcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gcagc	45
<210>	140	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	140	
	gcuggguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc ccagc	45
<210>	141	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	

[0033]

<400> 141 gcggcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gccgc	45
<210> 142 <211> 46 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 142 gcgcgcguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcgcgc	46
<210> 143 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 143 gcgcgcguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgcgc	45
<210> 144 <211> 44 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 144 ggcgcguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg cgcc	44
<210> 145 <211> 43 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 145 ggcgcguaug ggauaagua augaggaguu ggaggaaggc gcc	43
<210> 146 <211> 46 <212> RNA <213> 人工的	

[0034]

<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	146	
	ggugucguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag ggauc	46
<210>	147	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	147	
	ggugucguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcauc	45
<210>	148	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	148	
	gcgccguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc	44
<210>	149	
<211>	43	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	149	
	gcgccguaug ggauaagua auggaggauu ggaggaagg gcgc	43
<210>	150	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	

[0035]

<400> 150 ggcgccguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag ggcgcc	46
<210> 151 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 151 ggcgccguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg ggcgcc	45
<210> 152 <211> 46 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 152 ggcgucguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag ggcgcc	46
<210> 153 <211> 45 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 153 ggcgucguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg ggcgcc	45
<210> 154 <211> 46 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 合成的	
<220> <221> misc_feature <223> L-RNA	
<400> 154 ggcucggaca gccgggggac accauuaca gacUacgaua cgggcc	46
<210> 155 <211> 44 <212> RNA	

[0036]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	155	
	gucggacag ccgggggaca ccauuuacag acuacgauac gggc	44
<210>	156	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	156	
	cucggacagc ccgggggacac cauuuacaga cuacgauacg gg	42
<210>	157	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	157	
	gacaaauaguc	10
<210>	158	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	158	
	gcccggacag ccggggggaca ccauuuacag acuacgauac gggc	44
<210>	159	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	

[0037]

<223>	L-RNA	
<400>	159	
	ggcgggacag ccgggggaca ccauuuacag acuacgauac ggc	44
<210>	160	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc. feature	
<223>	L-RNA	
<400>	160	
	ggggagacag ccgggggaca ccauuuacag acuacgauau ccg	44
<210>	161	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc. feature	
<223>	L-RNA	
<400>	161	
	aggcugacag ccgggggaca ccauuuacag acuacgauag gcc	44
<210>	162	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc. feature	
<223>	L-RNA	
<400>	162	
	ggccugacag ccgggggaca ccauuuacag acuacgauaa gcc	44
<210>	163	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc. feature	
<223>	L-RNA	
<400>	163	
	ggcgggacag ccgggggaca ccauuuacag acuacgauac gcgc	44
<210>	164	
<211>	42	

[0038]

<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	164	
	gcgcgacagc cgggggacac caua <u>u</u> acaga cuacgauacg gc	42
<210>	165	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	165	
	ggcgcgacagc cgggggacac caua <u>u</u> acaga cuacgauacg cc	42
<210>	166	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	166	
	ggcgcgacagc cgggggacac caua <u>u</u> acaga cuacgauagg cc	42
<210>	167	
<211>	42	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	167	
	gcgcgacagc cgggggacac caua <u>u</u> acaga cuacgauagc gc	42
<210>	168	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		

[0039]

<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	168	
	ggccggacag ccggaggaca ccauauacag acuacgauac ggec	44
<210>	169	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	169	
	ggccggacag ccggcggaca ccauauacag acuacgauac ggec	44
<210>	170	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	170	
	ggccggacag ccgggaggac accauauaca gacuacgaua cggcc	45
<210>	171	
<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	171	
	gcuguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acagc	45
<210>	172	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	172	
	gcacucguaa aguagaggga ccaguccgg cgugauagug ccgagugc	48
<210>	173	

[0040]

<211>	45	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	173	
	gcuguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acagc	45
<210>	174	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	174	
	ggccggacag ccgggggaca ccauauacag acuacgauac ggcc	44
<210>	175	
<211>	46	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	175	
	gcgcgcguuu gggauuaagu aaugaggag uuggaggaag gcgcgc	46
<210>	176	
<211>	44	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	176	
	gcgccguaug ggaauaagua aaugaggagu uggagggaagg gcgc	44
<210>	177	
<211>	11	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0041]

<220>			
<221>	misc_feature		
<223>	L-RNA		
<400>	177		11
	ccauacggcg c		
<210>	178		
<211>	13		
<212>	RNA		
<213>	人工的		
<220>			
<223>	合成的		
<220>			
<221>	misc_feature		
<223>	L-RNA		
<400>	178		13
	gcgccuucc ucc		
<210>	179		
<211>	46		
<212>	RNA		
<213>	人工的		
<220>			
<223>	合成的		
<220>			
<221>	misc_feature		
<223>	L-RNA		
<400>	179		46
	gcgcgcguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcgcgc		
<210>	180		
<211>	44		
<212>	RNA		
<213>	人工的		
<220>			
<223>	合成的		
<220>			
<221>	misc_feature		
<223>	L-RNA		
<400>	180		44
	gcgccguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc		
<210>	181		
<211>	44		
<212>	RNA		
<213>	人工的		
<220>			
<223>	合成的		
<220>			
<221>	misc_feature		
<223>	L-RNA		
<400>	181		44
	ggccggacag ccgggggaca ccauaaacag acuaagauac ggcc		

[0042]

<210>	182	
<211>	34	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	182	
	rkaugggaku aaguaaauga ggrguwggag gaar	34
<210>	183	
<211>	33	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	183	
	rkaugggaka aguaaaugag grguwggag aar	33
<210>	184	
<211>	34	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	184	
	guaugggauu aaguaaauga ggaguuaggag gaag	34
<210>	185	
<211>	34	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	185	
	grcrgccggv ggacaccaua uacagacuac kaua	34
<210>	186	
<211>	35	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0043]

<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	186	
	grrggccgga rggacaccau auacagacua ckaau	35
<210>	187	
<211>	34	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	187	
	gacagccggg ggacaccaua uacagacuaa gaa	34
<210>	188	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	188	
	waaaguwgar	10
<210>	189	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	189	
	rgmgugwkag ukc	13
<210>	190	
<211>	11	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc feature	
<223>	L-RNA	
<400>	190	
	gggcugagcc c	11

[0044]

<210>	191	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	191	
	gcagauaauc ugc	13
<210>	192	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	192	
	ggaccaguc	10
<210>	193	
<211>	11	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	193	
	ggaccaguc c	11
<210>	194	
<211>	11	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	194	
	ggaccuaguc c	11
<210>	195	
<211>	11	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	

[0045]

<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	195	
	ggacucaguc c	11
<210>	196	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	196	
	gcagguaauc ugc	13
<210>	197	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	197	
	gcaggcaauc ugc	13
<210>	198	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	198	
	gacaauguc	10
<210>	199	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	199	
	uaaaguagag	10

[0046]

<210>	200	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	200	
aaaaguagaa		10
<210>	201	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	201	
aaaaguugaa		10
<210>	202	
<211>	12	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	202	
gggaauuagu gc		12
<210>	203	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<220>		
<221>	misc_feature	
<223>	L-RNA	
<400>	203	
ggcgugauag ugc		13
<210>	204	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		

[0047]

<223> 合成的

<220>

<221> misc feature

<223> L-RNA

<400> 204

ggaguguuag uuc

13

<210> 205

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc feature

<223> L-RNA

<400> 205

ggcgugagag ugc

13

<210> 206

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc feature

<223> L-RNA

<400> 206

agcgugauag ugc

13

<210> 207

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc feature

<223> L-RNA

<400> 207

ggcguguuag ugc

13

<210> 208

<211> 11

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> misc feature

<223> L RNA

<400> 208

[0048]

ggacbyaguc c	11
<210> 209	
<211> 11	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> L-RNA	
<400> 209	
ggauacaguc c	11
<210> 210	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> L-RNA	
<400> 210	
gcaggvaaguc ugc	13
<210> 211	
<211> 10	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> L-RNA	
<400> 211	
gacaauwguc	10
<210> 212	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 合成的	
<220>	
<221> misc_feature	
<223> L-RNA	
<400> 212	
acuugucgaa agcaagyu	18

A型结合海帕西啉的核酸

名称	序列: 5'-3'	C (APM)
223-C5-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	14.6nM
223-B5-001	GCACUUG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	-
223-A5-001	GCAUUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	-
223-A3-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CUA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	-
223-F5-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CUA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	=
223-G4-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--UCA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	=
223-A4-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAU--ACA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGAGUGC	-
229-C2-001	CGUGUG <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG--GUAU--CUGCGGAGUGUAGUUC'CACACG	-
229-B4-001	C <u>CGUGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG--GUAU--CUGCGGAGUGUAGUUC'CACACG	-
229-E2-001	C <u>CGUGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG--GUAU--CUGCGGAGUGUAGUUC'CACACG	-
229-B1-001	C <u>CGUGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC--AAU--GUCCGGCGUGAUAGUGC'CACACG	+
229-G1-001	C <u>CGUGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC--AAU--GUCCGGCGUGAGAGUGC'CACACG	=
229-C4-001	C <u>CGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> ACUUGUC'GAAAGCAAGUAGCGUGAUAGUGC'CACG	-
238-A1-001	AGGCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGG--UGA---GCCCGGCGUGAUAGUGC'CGCCU	-
238-E2-001	AGGCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--GUA---GUCCGGCGUGAUAGUGC'CGCCU	-
237-A7-001	C <u>CGUGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG--AUAU--CUGCGGAGUGUAGUUC'CACACG	-
236-G2-001	C <u>CGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> ACUUGUC'GAAAGCAAGC'AGCGUGAUAGUGC'CACG	-

可相互杂交的末端核苷酸 (粗体)

可相互杂交的核苷酸 (加有下划线的)

可形成环结构的核苷酸 (斜体)

盒A + [盒B]: 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 分别与参考分子 223-C5-001 或 229-G1-001 相对抗的竞争性结合测定法的结果

+: 比 223-C5-001 更好的结合亲和力

=: 与 223-C5-001 类似的结合亲和力

-: 比 223-C5-001 更弱的结合亲和力

APM: 适体

图 1

A型结合海帕西啉的核酸

名称	序列: 5'-3'	C (APM)
223-C5-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA----GUCCGGCGUGAUAGUGCGAGUGC	
229-D1-001	CGUGCU <u>GGCGUGAUAGUGC</u> UCCAGGUUCUGGA <u>UAAAGUAGAGAGC</u> CAG	=
229-E1-001	CGUGCGAAGGAGUGAUAGUGUUCUGACUUUCUCCAGACUCCACG	n.b.
236-D1-001	CGUG <u>AAAAGUUGAA</u> AUUUGUUGGAAUCAAGCAGG- <u>GAUAGUGGC</u> CAG	-

可相互杂交的末端核苷酸 (粗体)

可相互杂交的核苷酸 (加有下划线的)

可形成环结构的核苷酸 (斜体)

盒A + [盒B]: 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子223-C5-001相对抗的竞争性结合测定法的结果

=: 与223-C5-001类似的结合亲和力

—: 比223-C5-001更弱的结合亲和力

n. b.: 未观察到结合

APM: 适体

图 2

A型结合海帕西啉的核酸：
223-C5-001的衍生物

名称	序列：5'-3'	C (APM)
223-C5-001	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGCGAGUGC	
223-C5-002	CACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGCGAGUG	-
223-C5-006	CGCGCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGCGCGCG	=
223-C5-007	GC ~~CGCG~~ <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGCGCGCG	-
223-C5-008	GCACUCG <u>UAAAGUAGAG</u> GGA---CCA---GUCCGGCGUGAUAGUGCGAGUGC	-

可相互杂交的末端核苷酸（粗体）

可相互杂交的核苷酸（加有下划线的）

可形成环结构的核苷酸（斜体）

盒A + [盒B]: 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子223-C5-001相对抗的竞争性结合测定法的结果

=: 与223-C5-001类似的结合亲和力

-: 比223-C5-001更弱的结合亲和力

APM: 适体

图 3

**A型结合海帕西啉的核酸：
229-B1-001的衍生物**

		C (APM)	C (SPM)
229-B1-001	CGUGUG <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACACG	13 nM	
229-B1-002	<u>GCUGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACACG	16 nM	41 nM
229-B1-003	GUGUG <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACAC	-	
229-B1-004	<u>GCGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACGC	-	
229-B1-005	<u>GCGCG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCGCGC	-	
229-B1-006	CGUGUG <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACAC	-	
229-B1-007	<u>GCCGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACGGC		+
229-B1-008	<u>GCGGUG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCACCGC		12 nM
229-B1-009	<u>GCUGCG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCGCGC		=
229-B1-010	<u>GCUGGG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCCGCGC		+
229-B1-011	<u>GCGGCG</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GAC---AAUU---GUCGGCGUGAUAGUGCCGCGC		+

可相互杂交的末端核苷酸 (粗体)

可相互杂交的核苷酸 (加有下划线的)

可形成环结构的核苷酸 (斜体)

盒A + [盒B]: 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子229-B1-001相对抗的竞争性结合测定法的结果

=: 分别与229-B1-001 (C (APM)) 或229-B1-002 (C (SPM))

类似的结合亲和力

-: 分别比229-B1-001 (C (APM)) 或229-B1-002 (C (SPM))

更弱的结合亲和力

+: 分别相比于229-B1-001 (C (APM)) 或229-B1-002

(C (SPM)) 而言经改善的结合亲和力

APM: 适体

SPM: 镜像异构适体

图 4

B型结合海帕西啉的核酸

名称	序列: 5'-3'	C (APM)	Biacore
238-D2-001	AGCGUGUC <u>GUAUGGGAU</u> -AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGUGCGCU</u>	+	
238-D4-001	AGCGUGUC <u>GUAUGGGAUUA</u> AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCAUGCU</u>	+	0.51 nM
238-H1-001	AGUGUGUC <u>GUAUGGGAU</u> -AAGUAAAUGAGGGUUGGAGGAAG <u>GAUGCGCU</u>	+	
238-A2-001	AGUGUGUC <u>AUAUGGGAU</u> -AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCAUGCU</u>	+	
238-G2-001	AGCGUGCC <u>GGAUGGGAU</u> -AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGUGCGCU</u>	+	
238-G4-001	AGCGUGCC <u>GUAUGGGAU</u> -AAGUAAAUGAGGAGUAGGAGGAAG <u>GGUACGCU</u>	-	-/n.b.
238-G3-001	AGCGCGCC <u>GUAUGGGAG</u> -AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCGCGCU</u>	+	

可相互杂交的末端核苷酸（粗体）

中央序列段 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子 229-B1-001 相对抗的竞争性结合测定法的结果

Biacore: 镜像异构适体与经固定的海帕西啉结合的Biacore测量的结果

+: 比229-B1-001更好的结合亲和力

-: 比229-B1-001更弱的结合亲和力

APM: 适体

n. b.: 未观察到结合

图 5

**B型结合海帕西啉的核酸：
238-D4-001的衍生物**

名称	序列: 5'-3'	C (APM)	C (SPM)	Biacore
238-D4-001	AGCGUGUC <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> GGCAUGCU	4.2 nM	3 nM	0.51 nM
238-D4-002	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> <u>GGCGGC</u>		3.9 nM	0.59 nM
238-D4-003	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAU</u> - AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCGGC</u>		-	
238-D4-004	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> <u>GGCGGC</u>		=	
238-D4-005	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAU</u> - AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCGGC</u>		-	
238-D4-006	<u>GGUGUC</u> <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> <u>GGCAUC</u>		5.3 nM	0.48 nM
238-D4-007	<u>GGUGUC</u> <u>GUAUGGGAU</u> - AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCAUC</u>			-
238-D4-008	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> <u>GGCGGC</u>		2.6 nM	0.48 nM
238-D4-009	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAU</u> - AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCGGC</u>		-	-
238-D4-010	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> <u>GGCGGC</u>			-
238-D4-011	<u>GGCGGC</u> <u>GUAUGGGAU</u> - AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCGGC</u>		5.5 nM	-
238-D4-012	<u>GGCGUC</u> <u>GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG</u> <u>GGCGGC</u>		=	=
238-D4-013	<u>GGCGUC</u> <u>GUAUGGGAU</u> - AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG <u>GGCGGC</u>		-	

可相互杂交的末端核苷酸 (粗体)

中央序列段 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子238-D4-001相对抗的竞争性结合测定法的结果

Biacore: 镜像异构适体与经固定的海帕西啉结合的Biacore测量的结果

=: 与238-D4-001类似的结合亲和力

-: 比238-D4-001更弱的结合亲和力

APM: 适体

SPM: 镜像异构适体

图 6

C型结合海帕西啉的核酸

名称	序列: 5'-3'	C (APM)	Biacore
238-C4-001	AGGCUCG <u>GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA</u> CGGGCCU	+	0.89 nM
238-E3-001	AGGCUCG <u>GACGGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUA</u> CGGGCCU	+	
238-F2-001	AGGCCCG <u>GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUA</u> CGGGCCU	+	
238-A4-001	AGGCUUG <u>GGCGGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACUAUA</u> CGAGCCU	+	
238-E1-001	AGACUUG <u>GGCAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA</u> CGAGUCU	+	

可相互杂交的末端核苷酸（粗体）

中央序列段 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子 229-B1-001 相对抗的竞争性结合测定法的结果

Biacore: 镜像异构适体与经固定的海帕西啉结合的Biacore测量的结果

+: 比229-B1-001更好的结合亲和力

APM: 适体

图 7

结合海帕西啉的核酸：
238-C4-001的衍生物

名称	序列: 5'-3'	C (APM)	C (SPM)	Biacore
238-C4-001	AGGCUCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGCCU</u>	3,3 nM		0.89 nM
238-C4-002	GGCUCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGCC</u>	2,9 nM		0.91 nM
238-C4-003	GCUCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGC</u>	-		
238-C4-004	CUCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGG</u>	-		
238-C4-005	GC <u>CCG</u> <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGC</u>	-		
238-C4-006	GG <u>CCG</u> <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGC</u>	3,6 nM	4,8 nM	0.91 nM
238-C4-007	GGCGA <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>UCCGU</u>	-		
238-C4-008	AG <u>CCU</u> <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>GGCCU</u>	-		
238-C4-009	GG <u>CCU</u> <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>AGCCU</u>	-		
238-C4-010	GGCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGC</u>	-		
238-C4-011	GGCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGC</u>	-		
238-C4-012	GGCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGCC</u>	-		
238-C4-013	GGCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>GGCC</u>	-		
238-C4-014	GGCG <u>GACAGCCGGG</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>GGCC</u>	-		
238-C4-024	GG <u>CCG</u> <u>GACAGCCGGA</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGC</u>		11 nM	2.8 nM
238-C4-025	GG <u>CCG</u> <u>GACAGCCGGC</u> - GGACACCAUAUACAGACUACGAUA <u>CGGGC</u>		17 nM	-
238-C4-062	GG <u>CCG</u> <u>GACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUA</u> <u>CGGGC</u>		-	-

可相互杂交的末端核苷酸（粗体）

中央序列段 可主要包含海帕西啉结合性基序的核苷酸

nt.: 核苷酸

可变的位置

C: 与参考分子238-C4-001相对抗的竞争性结合测定法的结果

Biacore: 镜像异构适体与经固定的海帕西啉结合的Biacore测量的结果

=: 分别与238-C4-001 (C (APM)) 或 238-C4-006 (C (SPM))

类似的结合亲和力

-: 分别比238-C4-001 (C (APM)) 或 238-C4-006 (C (SPM))

更弱的结合亲和力

n. b.: 无结合 APM: 适体 SPM: 镜像异构适体

图 8

其他结合海帕西啉的核酸

名称	序列: 5'-3'	C (APM)	Biacore
237-A5-001	CGGGCGCCAUAGA-CCGUUAUUAAGCACUGUAACUACCGAACCGCGCCCG	-	2.81 nM
237-C5-001	CGGGCGCCAUAGA-CCGUUAACUACA----UAACUACCGAACCGUGCCCG	-	16.9 nM
236-F2-001	CGGGCGCUACCGAACCCACUAAAACCAGUGCAUAG-----ACCGCGCCCG	-	25.4 nM
236-G4-001	CGGGCGCUACCGAACCGUCACGAAGAC CAUAG ACCGCGCC-G	-	25.1 nM
236-E3-001	CGAGCGCAACCGAACCCUCUACCCAGAC AUAG ACCGCGCCCG	-	39.1nM

C:与参考分子229-G1-001相对抗的竞争性结合测定法的结果
(与223-C5-001类似的结合亲和力)

Biacore : 镜像异构适体与经固定的海帕西啉结合的Biacore测量的结果
-: 比229-G1-001更弱的结合亲和力 (与223-C5-001类似的结合亲和力)

APM: 适体

图 9

结合海帕西啶的镜像异构适体的特异性

名称	人海帕西啶-25		食蟹猴海帕西啶-25		狢海帕西啶-25		小鼠海帕西啶-25	
	Biacore	竞争性 Pull-down	Biacore	竞争性 Pull-down	Biacore	竞争性 Pull-down	Biacore	竞争性 Pull-down
223-C5-001	2.70 nM							
229-B1-002	1.47 nM	22 nM		17 nM			n.b.	n.b.
238-C4-006	0.89 nM	2.3 nM		4.2 nM		n.b.	n.b.	n.b.
238-D4-001	0.51 nM	1.8 nM		2 nM			n.b.	
238-D4-008	0.48 nM	1.7 nM		2 nM		7.7 nM	n.b.	

图 10

n.b.: 无结合

镜像异构适体与海帕西啶-22和海帕西啶-20的结合

名称	人海帕西啶-25		人海帕西啶-22		人海帕西啶-20	
	Biacore	竞争性 Pull-down	Biacore	竞争性 Pull-down	Biacore	竞争性 Pull-down
223-C5-001	2.70 nM		n.d.		3.33 nM	
229-B1-002	1.47 nM	22 nM	n.d.	19.2 nM	1.80 nM	16.2 nM
238-C4-006	0.89 nM	2.3 nM	n.d.	2.2 nM	0.92 nM	2.3 nM
238-D4-001	0.51 nM	1.8 nM	n.d.	1.2 nM	0.55 nM	1 nM
238-D4-008	0.48 nM	1.7 nM	n.d.		0.50 nM	1.7 nM

图 11

PEG化的镜像异构适体与海帕西啶的结合

名称	Biacore	竞争性 Pull-down
223-C5-001-5'-PEG	4.44 nM	
229-B1-002-5'-PEG	1.92 nM	11 nM
238-C4-006-5'-PEG	0.76 nM	2.8 nM
238-D4-002-5'-PEG	0.53 nM	3.1 nM
238-D4-008-5'-PEG	0.64 nM	1.6 nM

图 12

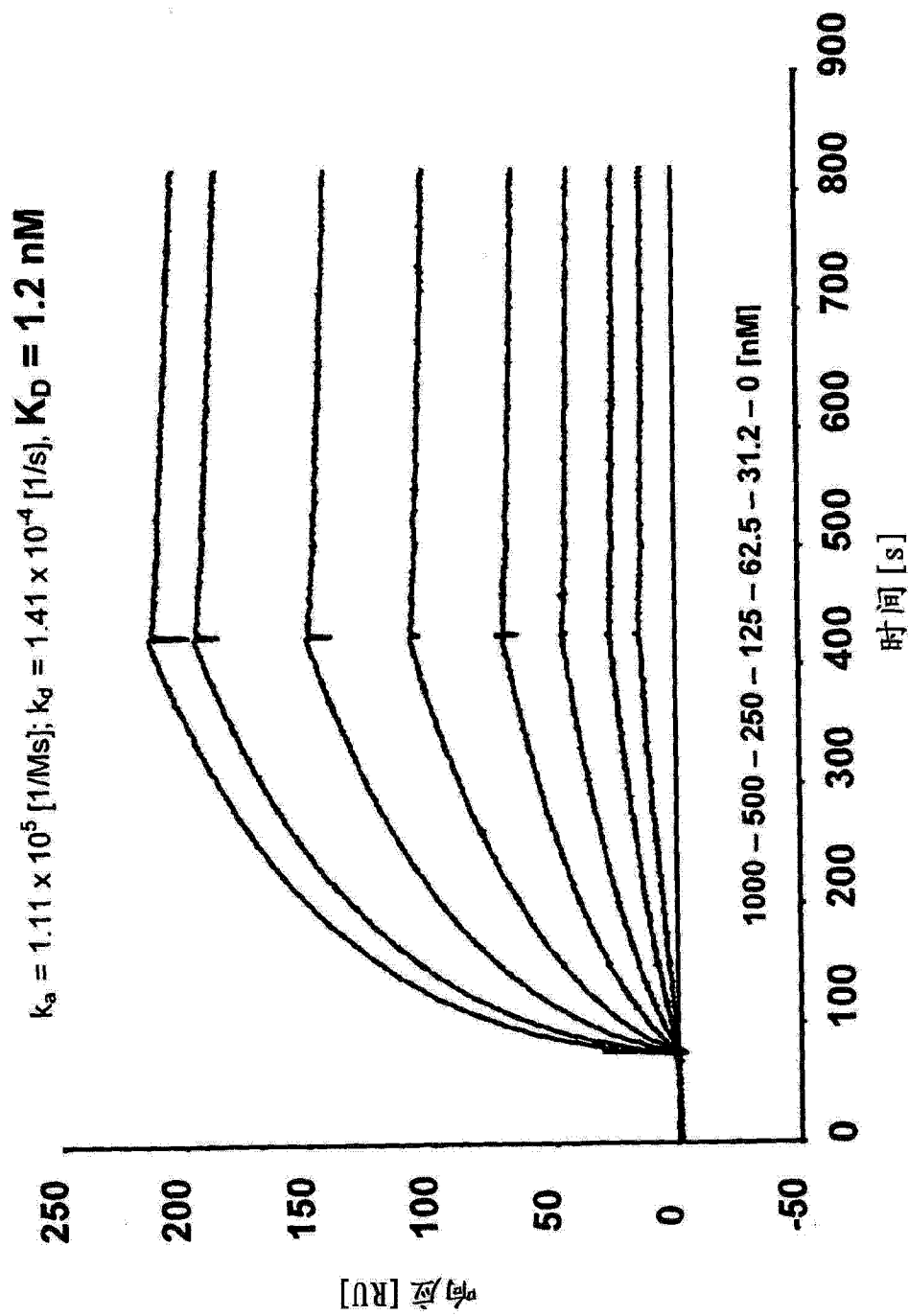


图 13

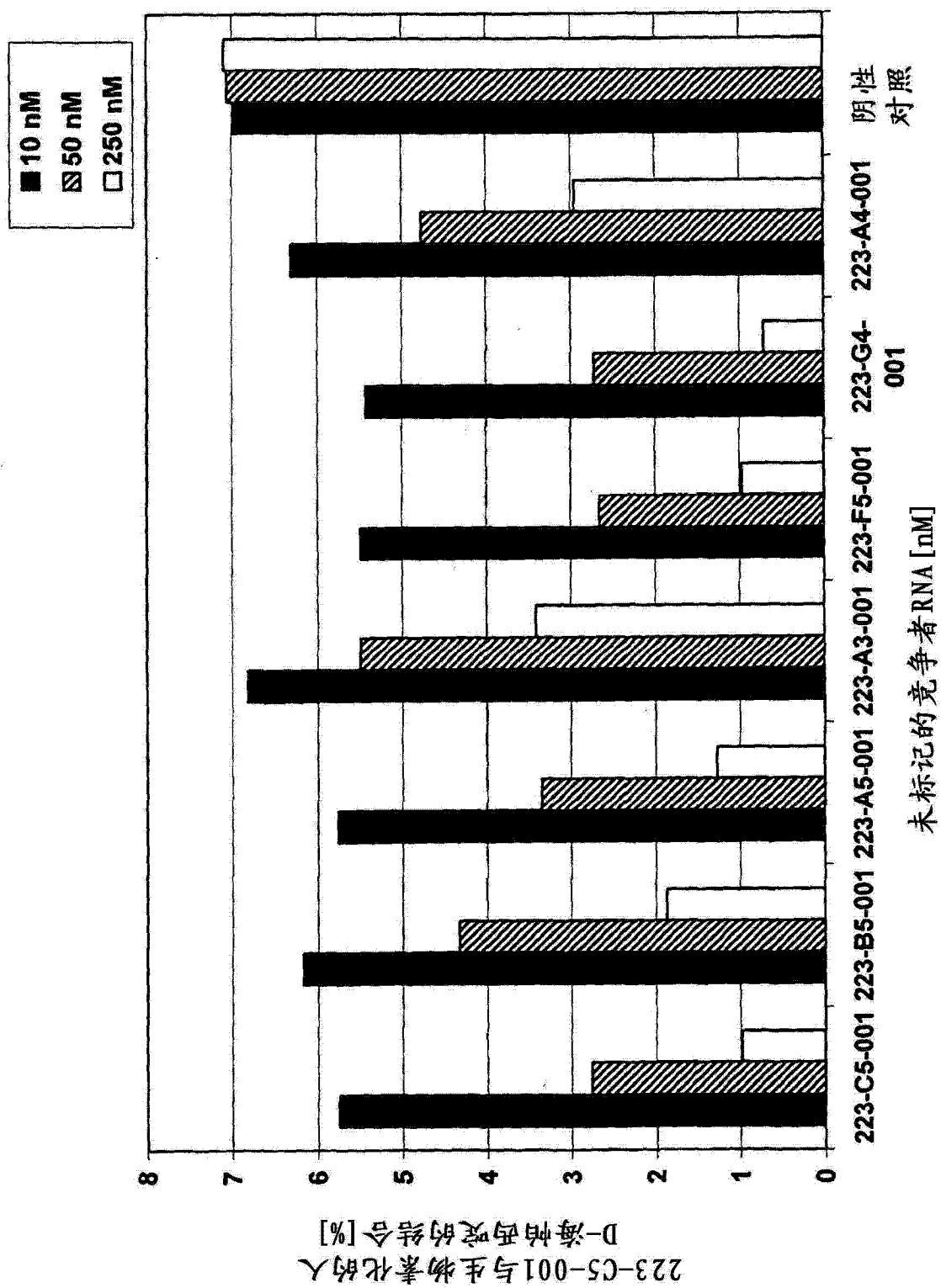


图 14

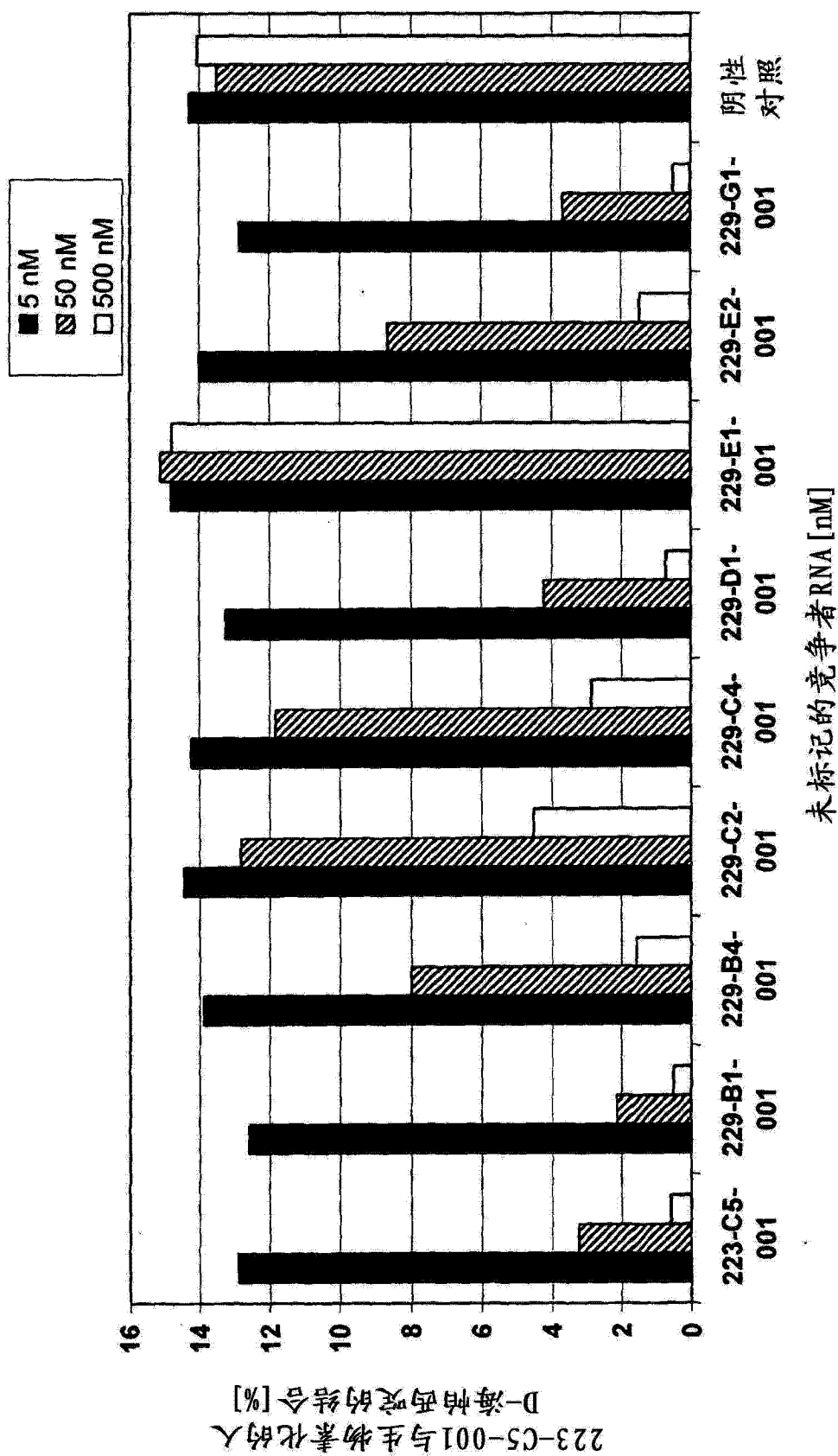


图 15

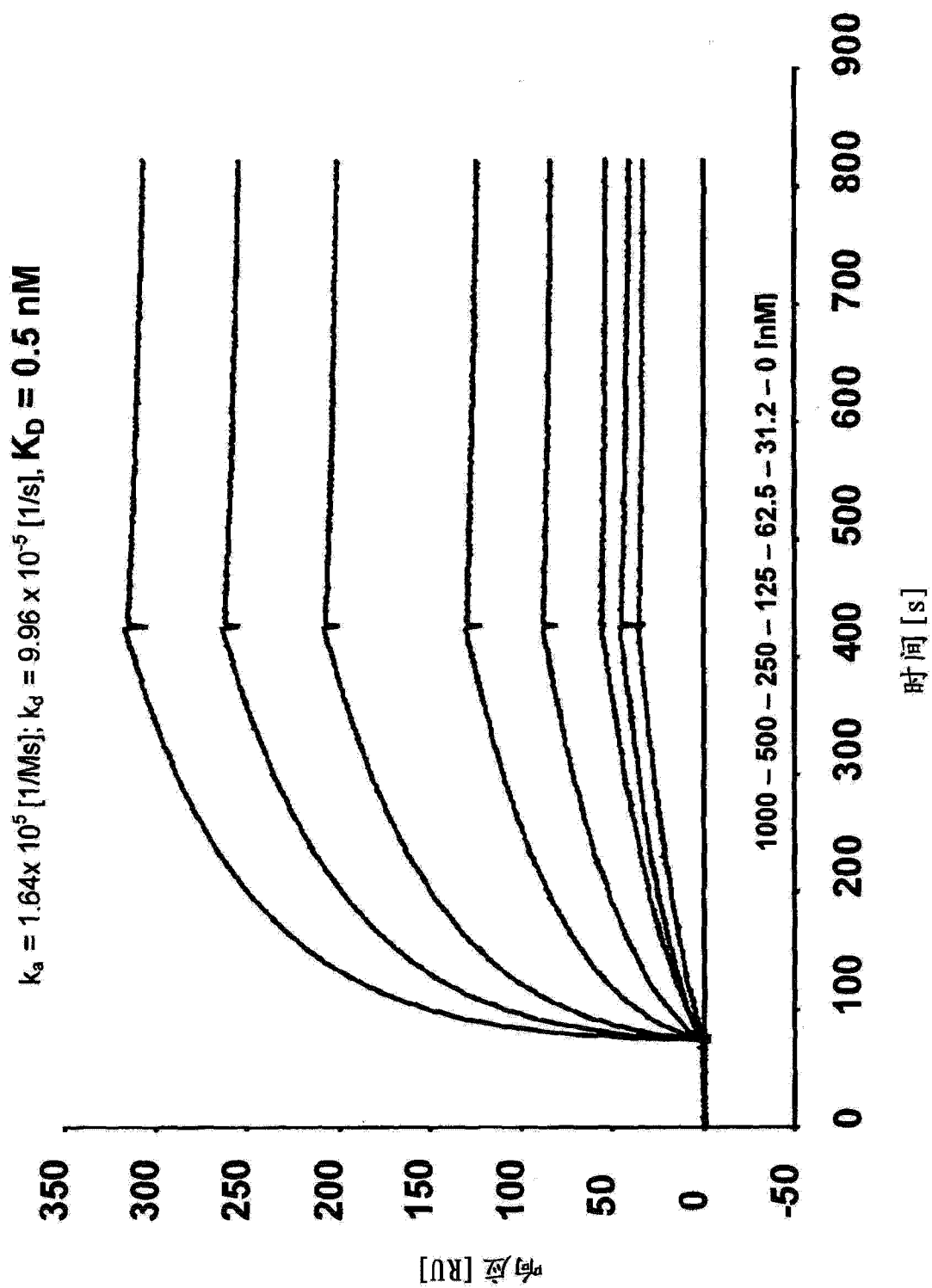


图 16

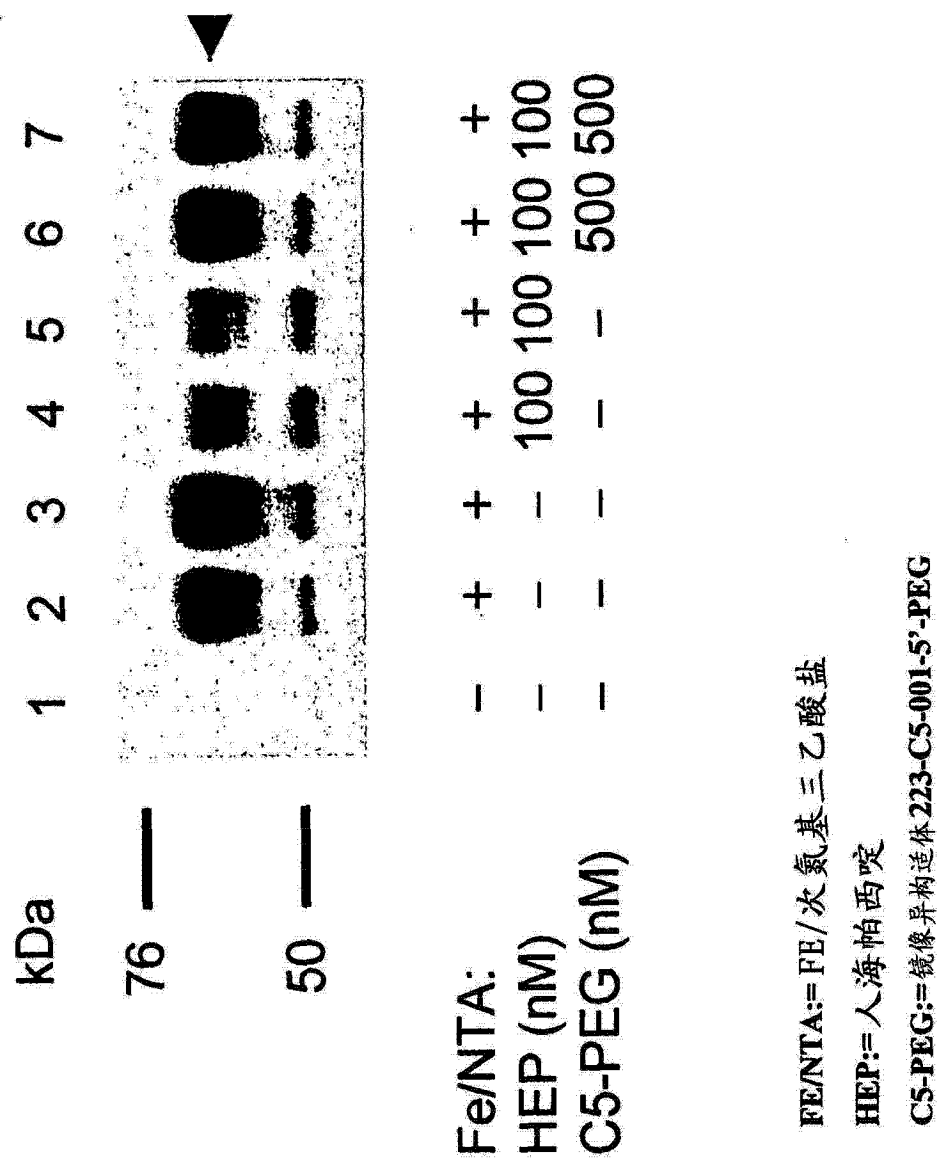


图 17A

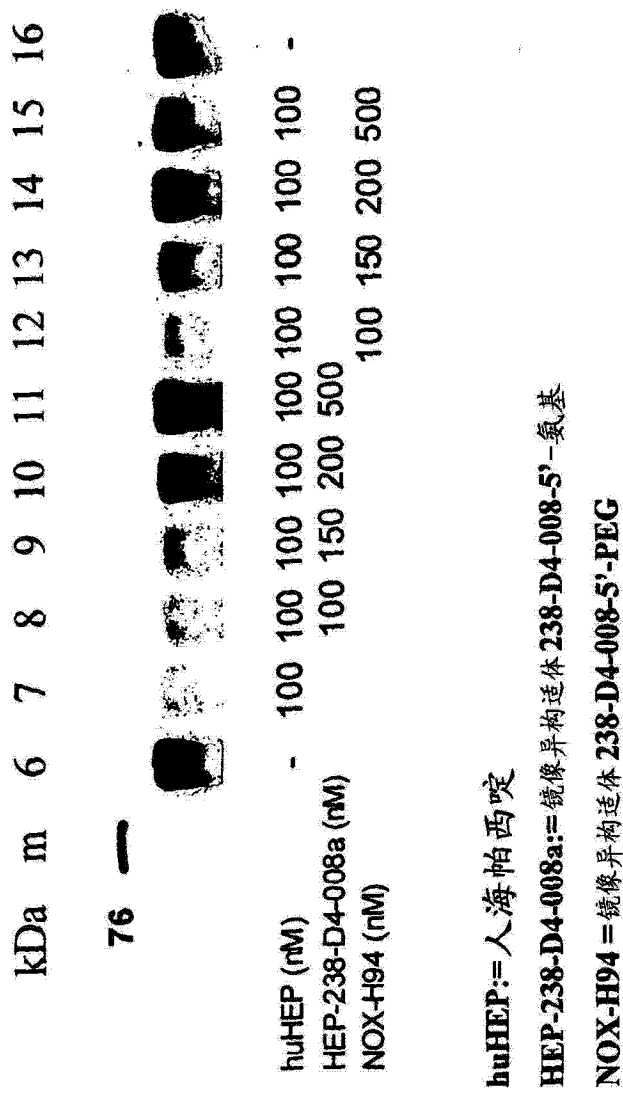


图 17B

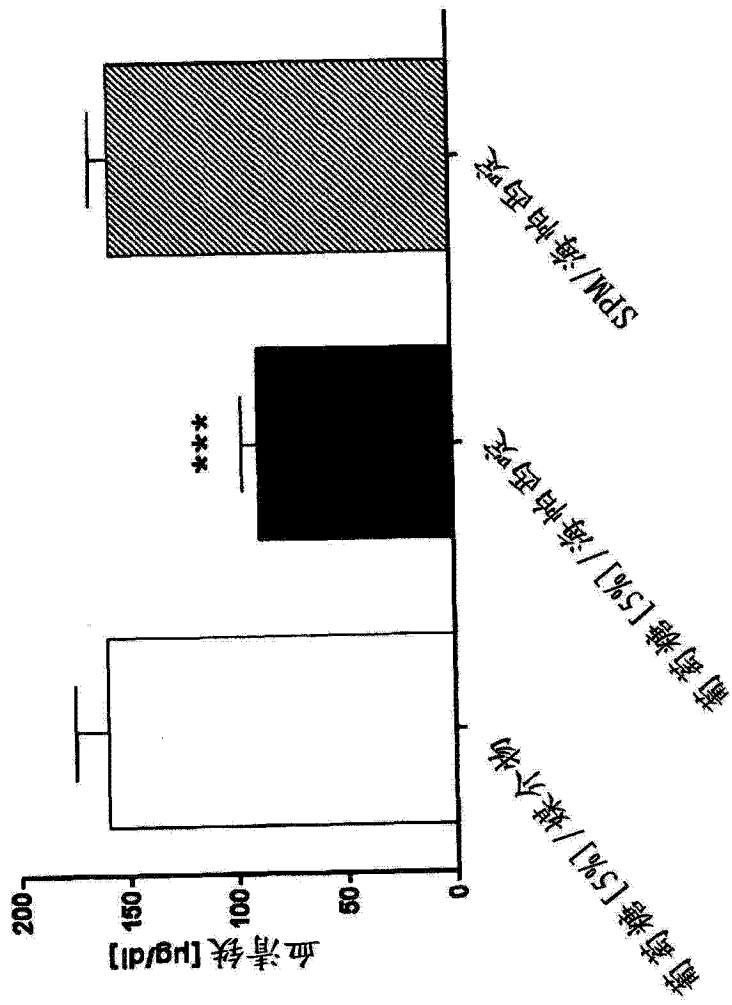


图 18

镜像异构适体 (SPM): 223-C5-001-5'-PEG

50 mg/kg 体重
平均值+SEM, n=6-7

Dunnett's 多重比较检验

***p < 0.001, 相比于对照而言

数据:
统计学:

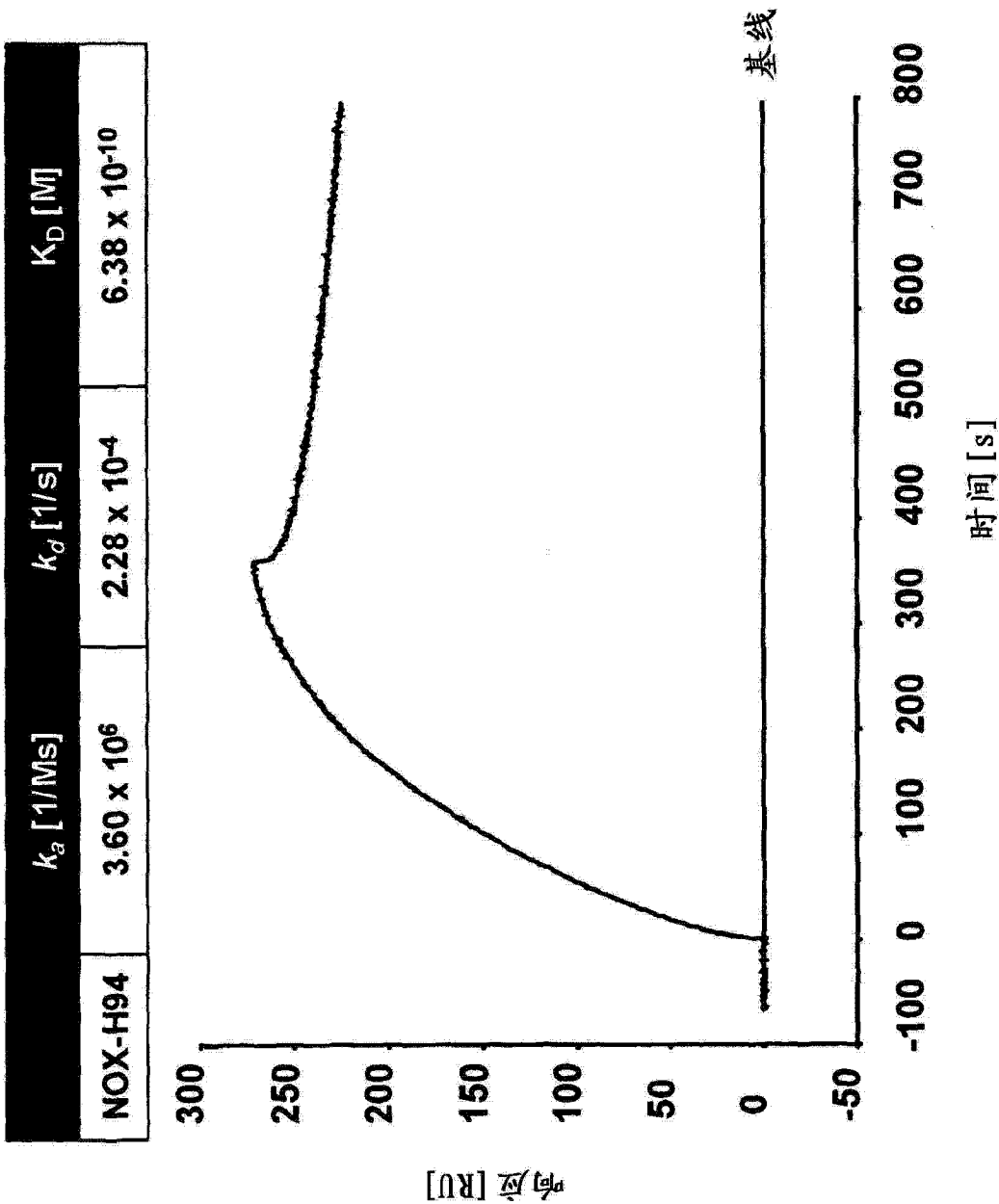


图 19

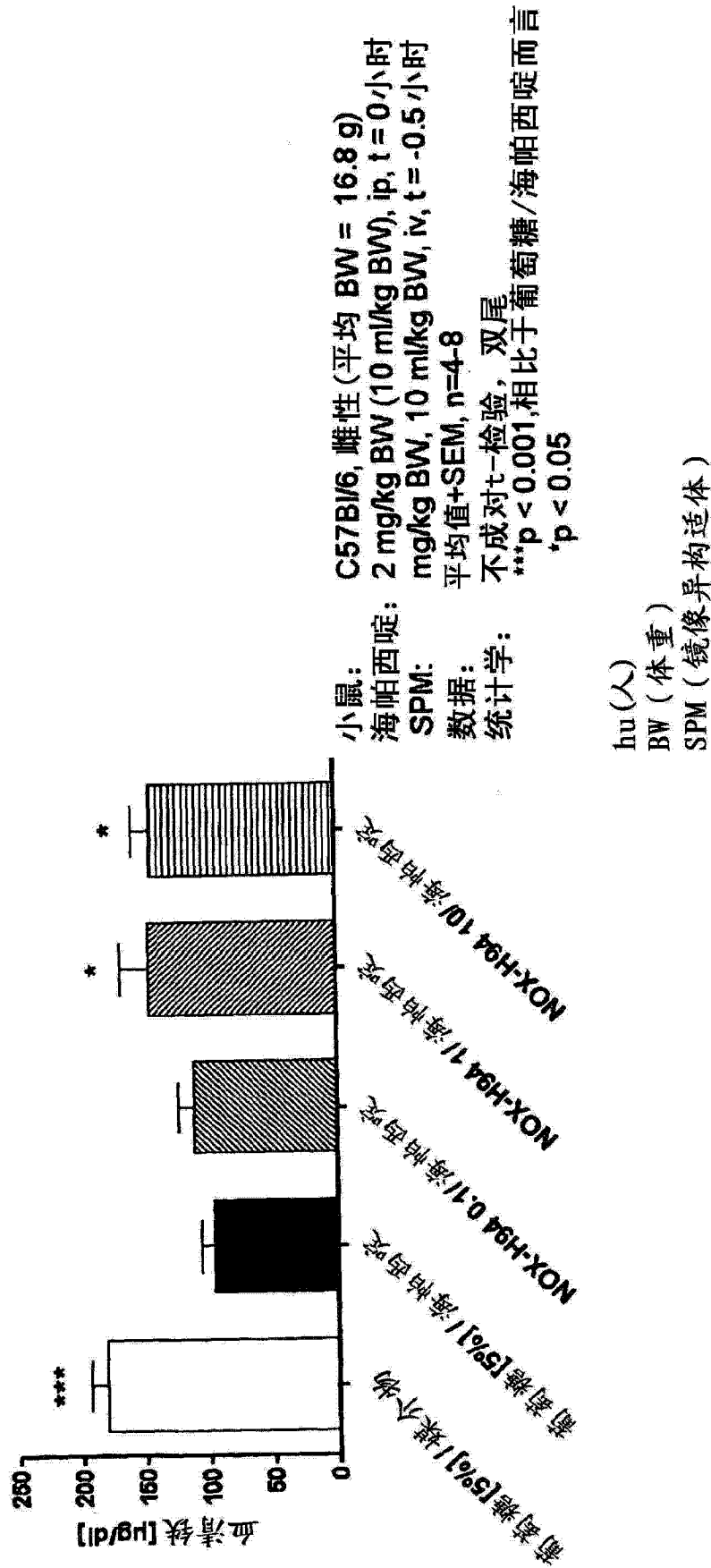


图 20

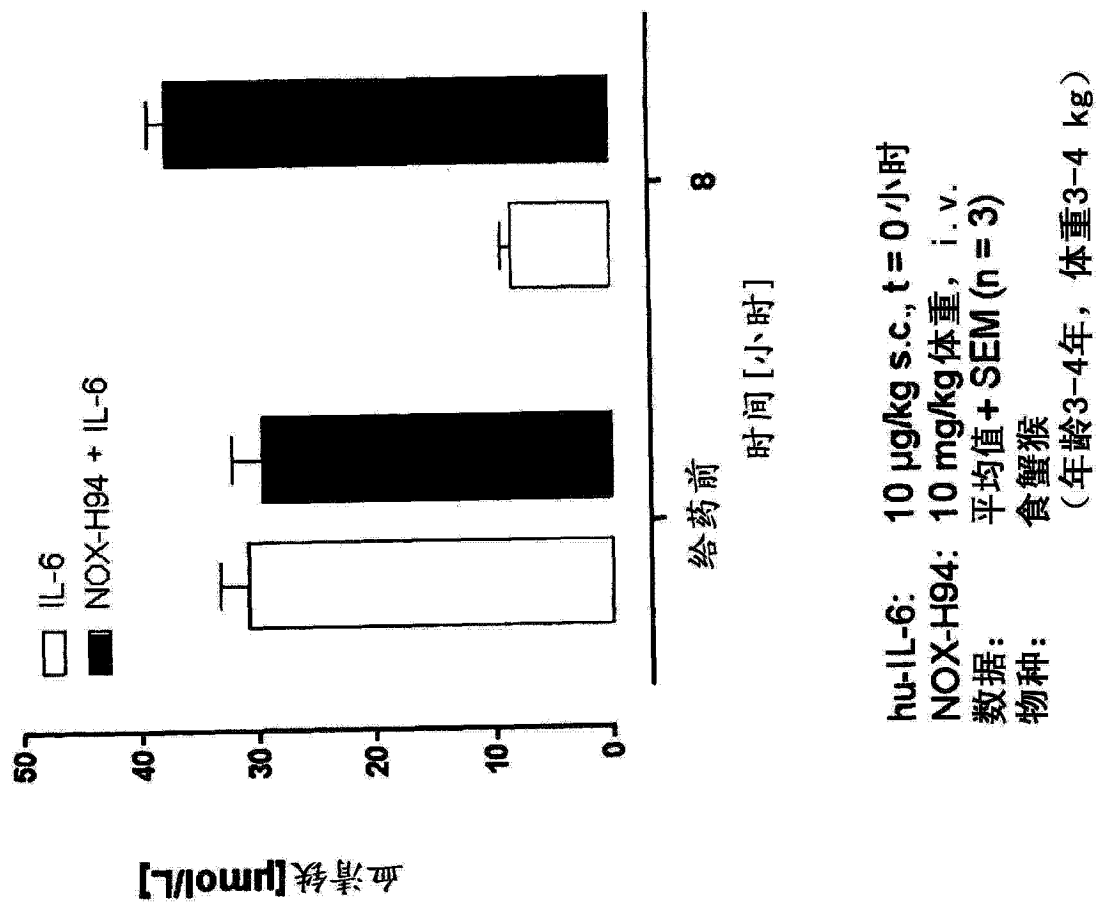


图 21