



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0111704
(43) 공개일자 2014년09월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/115 (2010.01) A61K 31/7088 (2006.01)
A61P 25/06 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7022328
- (22) 출원일자(국제) 2013년01월10일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2014년08월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2013/000055
- (87) 국제공개번호 WO 2013/104539
국제공개일자 2013년07월18일
- (30) 우선권주장
12000105.2 2012년01월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2012/000089 2012년01월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (71) 출원인
녹손 파르마 아게
독일 베를린, 디-10589, 막스-도른-스트라세 .8-10
- (72) 발명자
술첸, 시모네
독일, 베를린 12489, 호프만스트라세 7
푸르슈케, 베르네르
독일, 베를린 13359, 브리체네르 스트라세 30
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
김순웅

전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) 발명의 명칭 CGRP에 특이적으로 결합하는 핵산

(57) 요약

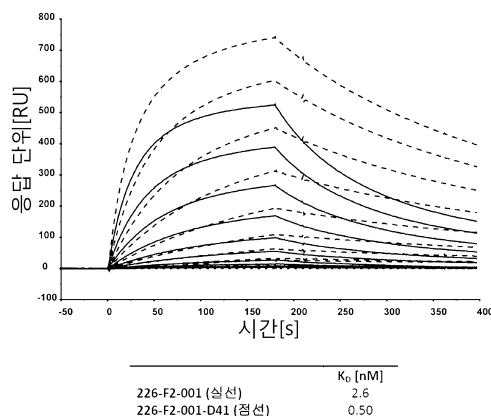
본 발명은 CGRP에 결합할 수 있는 핵산 분자에 관한 것으로, 상기 핵산 분자는 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치를 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는 5' HWn₁n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Yn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂Rn₁₃ADn₁₄n₁₅ARn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 99]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

여기서 H, W, Y, G, A, U, M, B, K, R, D 및 C는 리보뉴클레오타이드이며,

n₁은 R 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 K 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 M 또는 dC, n₆은 B 또는 dU, n₇은 N 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 N 또는 dC, n₁₀은 R 또는 dG, n₁₁은 V 또는 dA, n₁₂는 K 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 R 또는 dG, n₁₇은 Y 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 B 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며,

dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드이다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

자로쉬, 플로리안

독일, 베를린 13469, 두스테르하우스스트라쎄 42

호홀릭, 카이

독일, 베를린 10317, 카스켈스트라쎄 53

마쉬, 크리스티안

독일, 베를린 13509, 에른스트스트라쎄 27

클루스만, 스벤

독일, 베를린 10585, 트라슬트스트라쎄 1

특허청구의 범위

청구항 1

CGRP에 결합할 수 있는 핵산 분자로서, 상기 핵산 분자는 뉴클레오타이드의 중양 스트레치를 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 중양 스트레치는

5' HWn₁n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Yn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂Rn₁₃ADn₁₄n₁₅ARn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 99]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

여기서 H, W, Y, G, A, U, M, B, K, R, D, C는 리보뉴클레오타이드이고, 및

n₁은 R 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 K 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 M 또는 dC, n₆은 B 또는 dU, n₇은 N 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 N 또는 dC, n₁₀은 R 또는 dG, n₁₁은 V 또는 dA, n₁₂는 K 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 R 또는 dG, n₁₇은 Y 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 B 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며, 및

dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드의 중양 스트레치는

5' CUn₁n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Bn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂An₁₃ADn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 100]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

여기서 C, U, Y, G, A, M, B, Y, H, K, D, R 및 V는 리보뉴클레오타이드이고, 및

n₁은 G 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 G 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 M 또는 dC, n₆은 B 또는 dU, n₇은 D 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 H 또는 dC, n₁₀은 R 또는 dG, n₁₁은 V 또는 dA, n₁₂는 K 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 G 또는 dG, n₁₇은 Y 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 C 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며, 및

dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 3

제 1 항 및 제 2 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드의 중양 스트레치는

5' CUn₁n₂CGGAn₃An₄UAn₅n₆Cn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Gn₁₂An₁₃AAAn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 101]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

여기서 C, U, Y, G, A, H 및 R은 리보뉴클레오타이드이고, 및

n₁은 G 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 G 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 C 또는 dC, n₆은 U 또는 dU, n₇은 R 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 H 또는 dC, n₁₀은 G 또는 dG, n₁₁은 R 또는 dA, n₁₂는 U 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 G 또는 dG, n₁₇은 C 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 C 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며, 및

dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는

5' CUn₁n₂CGGAn₃An₄UAn₅n₆Cn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Gn₁₂An₁₃AAAn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 102]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

여기서 C, U, G, A는 리보뉴클레오타이드이고, 및

n₁은 G 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 G 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 C 또는 dC, n₆은 U 또는 dU, n₇은 G 또는 dG, n₈은 U 또는 dT, n₉는 C 또는 dC, n₁₀은 G 또는 dG, n₁₁은 A 또는 dA, n₁₂는 U 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 G 또는 dG, n₁₇은 C 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 C 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며, 및

dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는

- (1) 5' CUdGUCGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 103],
- (2) 5' CUGdTCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 104],
- (3) 5' CUGUCGGdGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 105],
- (4) 5' CUGUCGGAGdCUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 106],
- (5) 5' CUGUCGGAGACUdCUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 107],
- (6) 5' CUGUCGGAGACUACUCdGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 108],
- (7) 5' CUGUCGGAGACUACUCGdTCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 109],
- (8) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUdCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 110],
- (9) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCdGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 111],
- (10) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGdAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 112],
- (11) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdTAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 113],
- (12) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUdGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 114]
- (13) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAdAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 115]
- (14) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAdTAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 116],
- (15) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGdGUCCCCUCC 3' [서열 번호 117],
- (16) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUdCCCCCUCC 3' [서열 번호 118],
- (17) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCUCC 3' [서열 번호 119],
- (18) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCdCUCC 3' [서열 번호 120],

- (19) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCUdCC 3' [서열 번호 121],
 (20) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCUCdC 3' [서열 번호 122],
 (21) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCudCC 3' [서열 번호 123],
 (22) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCCUCC 3' [서열 번호 130],
 (23) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCCUCC 3' [서열 번호 131],
 (24) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCCUCC 3' [서열 번호 132],
 (25) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCudCC 3' [서열 번호 133],
 (26) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCudCC 3' [서열 번호 134],
 (27) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCudCC 3' [서열 번호 90]으로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하며,
 여기서 C, U, G, A는 리보뉴클레오티드이고, 및
 dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCCUCC 3' [서열 번호 119] 또는 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCudCC 3' [서열 번호 123] 또는 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCCUCC 3' [서열 번호 131]의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 7

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 리보뉴클레오티드 및 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 이루어지는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 8

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 2'-데옥시뉴클레오티드로 이루어지는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 5' → 3' 방향으로 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치를 포함하고,

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 4개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하고, 및

상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 4개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하고, 바람직하게

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하고, 및

상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산

분자.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5개의 뉴클레오티드를 포함하고, 및

상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5개의 뉴클레오티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 11

제 9 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' $Z_1Z_2Z_3SZ_4WZ_5$ 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' $Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}$ 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고,

여기서 S, W, V, B 및 K는 리보뉴클레오티드이고, 및

Z_1 은 S 또는 존재하지 않고, Z_2 는 V 또는 존재하지 않고, Z_3 은 B 또는 존재하지 않고, Z_4 는 V 또는 dG, Z_5 는 G 또는 dG, Z_6 은 Y 또는 dC, Z_7 은 W 또는 dA, Z_8 은 B 또는 dC, Z_9 는 S 또는 dG, Z_{10} 은 S 또는 dG 또는 존재하지 않고, Z_{11} 은 B 또는 존재하지 않고, Z_{12} 는 K 또는 존재하지 않으며, 및

dG, dC 및 dA는 2'-데옥시리보뉴클레오티드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

- a) Z_1 은 S, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 K;
- b) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 K;
- c) Z_1 은 S, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않고;
- d) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않고;
- e) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않고;
- f) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고;
- g) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고;
- h) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 존재하지 않고, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고;
- i) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 존재하지 않고, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고; 또는
- j) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 존재하지 않고, Z_{10} 은 존재하지 않고, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 13

제 9 항, 제 11 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CACCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GGCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGCU 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GUCAUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCAUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAUGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 14

제 9 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCZ₄UZ₅ 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' Z₆Z₇Z₈Z₉Z₁₀ 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

여기서 C, G, A 및 U는 리보뉴클레오타이드이며, 및

Z₄는 G 또는 dG, Z₅는 G 또는 dG, Z₆은 C 또는 dC, Z₇은 A 또는 dA, Z₈은 C 또는 dC, Z₉는 G 또는 dG, Z₁₀은 G 또는 dG이며,

dC, dG 및 dA는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 15

제 9 항 내지 제 12 항 및 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서,

a) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

b) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCdGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

c) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUdG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

d) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' dCACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

e) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CdACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

f) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAdCGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는

g) 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드

드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACdGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 또는

h) 상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGdG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고,

바람직하게, 상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 16

제 9 항 내지 제 12 항 및 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서,

a) 상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 또는

b) 상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GGGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACCC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 또는

c) 상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAGGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 17

제 9 항, 제 11 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' UACG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 또는

상기 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCAG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CUGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 18

제 1 항 내지 제 4 항 및 제 8 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26 및 서열 번호 88로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26 및 서열 번호 88로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자에 대해 적어도 85%의 동일성을 갖는 핵산 분자, 또는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26 및 서열 번호 88로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자에 대해 상동인 핵산 분자를 포함하며, 상기 상동성은 적어도 85%인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 19

제 1 항 내지 제 7 항 및 제 9 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078

로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자에 대해 적어도 85%의 동일성을 갖는 핵산 분자, 또는 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자에 대해 상동인 핵산 분자를 포함하며, 상기 상동성은 적어도 85%인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자의 뉴클레오티드, 또는 상기 핵산 분자를 형성하는 뉴클레오티드는 L-뉴클레오티드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 21

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 L-핵산 분자인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 22

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 CGRP와 결합할 수 있는 적어도 하나의 결합 모이어티(moiety)를 포함하며, 이러한 결합 모이어티는 L-뉴클레오티드로 이루어지는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 23

제 1 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산은 CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 24

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 변형기(modification group)를 포함하며, 유기체로부터의 상기 변형기를 포함하는 상기 핵산 분자의 배설율(excretion rate)은 상기 변형기를 포함하지 않는 핵산에 비해 감소되는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 25

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 변형기를 포함하며, 상기 변형기를 포함하는 상기 핵산 분자는 상기 변형기를 포함하지 않는 핵산 분자에 비해 유기체에서의 증가된 체류 시간을 갖는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 26

제 24 항 및 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 변형기는 생분해성 및 비생분해성 변형으로 이루어진 군에서 선택되며, 바람직하게, 상기 변형기는 폴리에틸렌 글리콜, 선형 폴리에틸렌 글리콜, 분기된 폴리에틸렌 글리콜, 히드록시에틸 전분, 펩타이드, 단백질, 다당류, 스테롤, 폴리옥시프로필렌, 폴리옥시아미데이트 및 폴리(2-히드록시에틸)-L-글루타민으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 27

제 26 항에 있어서,

상기 변형기는 폴리에틸렌 글리콜이고, 바람직하게는 선형 폴리에틸렌 글리콜 또는 분기된 폴리에틸렌 글리콜로 이루어지며, 상기 폴리에틸렌 글리콜의 분자량은 약 20,000 내지 약 120,000 Da, 더욱 바람직하게는 약 30,000 내지 약 80,000 Da, 그리고 가장 바람직하게는 약 40,000 Da인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 28

제 26 항에 있어서,

상기 변형기는 히드록시에틸 전분이며, 바람직하게 상기 히드록시에틸 전분의 분자량은 약 50 내지 약 1000 kDa, 더욱 바람직하게는 약 100 내지 약 700 kDa, 그리고 가장 바람직하게는 200 내지 500 kDa인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 29

제 24 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 변형기는 링커(linker)를 통해 상기 핵산 분자에 결합되며, 바람직하게 상기 링커는 생분해성 링커인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 30

제 24 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 변형기는 상기 핵산 분자의 5'-말단 뉴클레오타이드 및/또는 3'-말단 뉴클레오타이드, 및/또는 상기 핵산 분자의 상기 5'-말단 뉴클레오타이드와 상기 핵산 분자의 상기 3'-말단 뉴클레오타이드 사이의 상기 핵산 분자의 뉴클레오타이드에 결합되는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 31

제 24 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 유기체는 동물의 몸 또는 인체, 바람직하게는 인체인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 32

질환의 치료 및 예방을 위한 방법에서 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자.

청구항 33

제 32 항에 있어서,

상기 질환은 편두통, 상이한 형태의 두통, 급성 통증, 만성 통증, 모르핀계 진통제에 대한 내성, 골관절염, 혈관 형성, 자가 면역 질환, 종양 성장 및 염증 질환으로 이루어진 군에서 선택되며, 바람직하게 상기 급성 통증 및 만성 통증은 염증성 및/또는 신경병증성 기원인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 34

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자 및 선택적으로 추가 성분을 포함하는 약학적 조성물로서, 상기 추가 성분은 약학적으로 허용 가능한 부형제, 약학적으로 허용 가능한 담체 및 약학적으로 활성인 제제(agent)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 35

제 34 항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 핵산 분자 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 36

약제의 제조를 위한 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자의 용도.

청구항 37

제 36 항에 있어서,

상기 약제는 인간 의학에서의 사용 또는 수의학에서의 사용을 위한 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 38

진단 수단의 제조를 위한 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자의 용도.

청구항 39

제 36 항에 있어서,

상기 약제는 편두통, 상이한 형태의 두통, 급성 통증, 만성 통증, 모르핀계 진통제에 대한 내성, 골관절염, 혈관 형성, 자가 면역 질환, 종양 성장 및 염증 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 것이며, 바람직하게 상기 급성 통증 및 만성 통증은 염증성 및/또는 신경병증성 기원인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 40

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자 및 CGRP를 포함하는 복합체로서, 바람직하게 상기 복합체는 결정성 복합체인 것을 특징으로 하는 복합체.

청구항 41

CGRP의 검출을 위한 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자의 용도.

청구항 42

CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제의 스크리닝을 위한 방법으로서, 상기 방법은

- CGRP에 의해 매개되는 활성의 후보 길항제를 제공하는 단계,
- 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자를 제공하는 단계,
- CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제의 존재 하에 신호를 제공하는 테스트 시스템을 제공하는 단계, 및
- CGRP에 의해 매개되는 활성의 상기 후보 길항제가 CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제인지 여부를 결정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 43

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자 및 적어도 지시 리플릿 또는 반응 용기를 포함하는 CGRP의 검출을 위한 키트.

청구항 44

샘플에서 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산의 검출을 위한 방법으로서, 상기 방법은

- a) 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자의 제 1 부분에 대해 적어도 부분적으로 상보적인 캡처 프로브 및 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자의 제 2 부분에 대해 적어도 부분적으로 상보적인 검출 프로브, 또는 대안적으로, 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자의 제 2 부분에 대해 적어도 부분적으로 상보적인 캡처 프로브 및 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자의 제 1 부분에 대해 적어도 부분적으로 상보적인 검출 프로브를 제공하는 단계;
- b) 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자를 포함하거나, 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자를 포함하는 것으로 추정되는 샘플에 상기 캡처 프로브 및 상기 검출 프로브를 별도로 또는 함께 첨가하는 단계;
- c) 상기 캡처 프로브 및 상기 검출 프로브가 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자 또는 이의 일부와 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 반응하도록 하는 단계;
- d) 상기 캡처 프로브가 단계 a)에서 제공된 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 상기 핵산 분자에 혼성화되는지 여부를 선택적으로 검출하는 단계; 및
- e) 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 상기 핵산 분자 및 상기 캡처 프로브 및 상기 검출 프로브로 이루어진, 단계 c)에서 형성된 복합체를 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 45

제 44 항에 있어서,

상기 검출 프로브는 검출 수단을 포함하며, 및/또는 상기 캡처 프로브는 지지체, 바람직하게 고체 지지체에 고정화되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 46

제 44 항 또는 제 45 항에 있어서,

단계 e)에서 상기 복합체의 일부인 검출 프로브만 검출되도록, 단계 c)에서 형성된 상기 복합체의 일부가 아닌 검출 프로브를 반응에서 제거하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 47

제 44 항 내지 제 46 항 중 어느 한 항에 있어서,

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에서 정의된 핵산 분자 또는 이의 일부의 존재 하에, 그리고 상기 핵산 분자 또는 이의 일부의 부재 하에 상기 캡처 프로브 및 검출 프로브가 혼성화될 때, 단계 e)는 상기 검출 수단에 의해 생성된 신호를 비교하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 48

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CGRP는 인간의 CGRP, 생쥐의 CGRP, 쥐의 CGRP, 또는 히말라야 원숭이의 CGRP이며, 바람직하게 CGRP는 인간의 CGRP인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 49

제 1 항 내지 제 32 항 및 제 48 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CGRP는 α -CGRP 또는 β -CGRP, 바람직하게 인간의 α -CGRP, 인간의 β -CGRP 또는 쥐의 α -CGRP인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 50

제 1 항 내지 제 32 항 및 제 48 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의, K_D 로 표현되는, 인간의 α -CGRP에 대한 결합 친화도를 갖는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 51

제 1 항 내지 제 32 항 및 제 48 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 α -CGRP에 대한 결합 친화도를 갖는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 52

제 1 항 내지 제 32 항 및 제 48 항 내지 제 51 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, K_D 로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 갖는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 53

제 1 항 내지 제 32 항 및 제 48 항 내지 제 52 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 갖는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 54

제 1 항 내지 제 32 항 및 제 48 항 내지 제 53항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의, K_D로 표현되는, 인간의 α-CGRP에 대한 결합 친화도를 가지며, 상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 가지며, 및/또는

상기 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 α-CGRP에 대한 결합 친화도를 가지며, 상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 갖는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 칼시토닌 유전자 관련 펩타이드(calcitonin gene-related peptide, CGRP)에 결합할 수 있는 핵산 분자, 약제, 진단 시약 및 검출 시약 각각의 제조를 위한 이의 용도, 상기 핵산 분자를 포함하는 조성물, 상기 핵산 분자를 포함하는 복합체, 상기 핵산 분자를 사용하여 CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제의 스크리닝 방법 및 상기 핵산 분자의 검출을 위한 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 알파-CGRP는 칼시토닌 유전자 전사(transcript)의 선택적 접합(alternative splicing)에 의해 생성되는 37-아미노산 신경펩타이드(37-amino acid neuropeptide)이다(Amara, Jonas et al. 1982). CGRP는 대부분 말초 및 중추 신경계에서 발현된다(van Rossum, Hanisch et al. 1997). CGRP에 대한 다양한 기능이 기술되었지만, 이의 가장 잘 알려진 생체 내에서의 작용은 경막 혈관 확장(dural vasodilatation) 및 통각의 전달(transmission of nociception)이다(Edvinsson and Ho 2010). 인간의 CGRP에 대한 구조는 1H-NMR에 의해 부분적으로 확인되었다. 펩타이드는 잘 정의된 알파-나선(잔기 8 및 18)으로 이어지는 정의된 아미노-말단 이황화 결합 루프(잔기 2 내지 7)를 포함한다. 펩타이드의 C-말단 부분은 명확하게 정의된 구조를 가지고 있지 않다(Breeze, Harvey et al. 1991).

[0003] 베타-CGRP는 알파-CGRP와 높은 상동성(homology)을 갖는 펩타이드이지만(인간의 알파 및 베타 CGRP는 37개의 아미노산 중 단지 3 개의 아미노산만이 다르다, 즉 아미노산의 95%가 동일하다), 별개의 유전자에 의해 전사된다. 두 펩타이드 모두는 별개의 해부학적 위치에서 발현되지만, 유사한 생물학적 작용을 보여준다(Edvinsson and Ho 2010). 인간의 알파-CGRP에 대한 서열 상동성(sequence homology)을 보여주는 다른 펩타이드로는 인간의 아밀린(인간의 알파-CGRP에 대해 37개의 아미노산 중 15개(41%) 동일), 칼시토닌(37개 중 7개(19%) 동일), 아드레노메둘린(37개 중 7개(19%) 동일) 및 인터메딘(37개 중 7개(19%) 동일)이 있다(도 8a 참조).

[0004] CGRP에 대한 세포 수용체(cellular receptor)는 G-단백질 연결 수용체 칼시토닌 같은 수용체(CLR) 및 수용체 활성 조절 단백질 1(RAMP1)이라 불리는 소형 막관통 단백질(transmembrane protein)의 이형이량체이다. CLR과 이형이량체를 형성하고, 펩타이드의 칼시토닌 족의 다른 구성원에 대한 선택성을 결정할 수 있는 두 개의 다른 RAMP, 즉 RAMP2 및 RAMP3가 복제되었다. 예를 들어, CLR 및 RAMP2는 아드레노메둘린에 대한 선택적 수용체를 형성한다(McLatchie, Fraser et al. 1998). 구조 데이터는 CLR과 RAMP1이 CGRP에 대한 결합 포켓(binding pocket)을 함께 형성하며, 임상적으로 효과적인 CGRP 수용체 길항제는 이러한 결합 홈(binding cleft)을 차단하는 것을 확인했다(Raddant and Russo 2011). 그 수용체에 결합하는 CGRP는 세포내 cAMP 농도를 증가시킨다.

[0005] CGRP에 대한 다양한 기능이 기술되었지만, 이의 가장 잘 알려진 생체 내에서의 작용은 경막 혈관 확장 및 통각의 전달이다(Edvinsson and Ho 2010). 사실, CGRP는 통각 신경 섬유(nociceptive nerve fibre)에 대한 표지(marker)로서 널리 사용된다.

- [0006] 서방 국가들에서, 성인 인구의 약 10%는 여성에게서 더욱 높은 발병률을 갖는 편두통에 의해 영향을 받는다. 편두통(Migraine)은 메스꺼움(nausea)이나 구토(vomiting), 또는 광선 공포증(photophobia)이나 고성 공포증(phonophobia)과 관련된 집중 반복되는 두통(intensive recurring headache)을 특징으로 갖는 심신을 약화시키는 질병이다. 약 15%의 환자에게서, 두통은 일반적으로 시작적인 신경학적 증상이 선행된다. 이러한 유형의 편두통은 전조(aura)를 갖는 편두통으로 정의된다(Goadsby 2003).
- [0007] 현재의 치료 옵션은 표준 진통제(standard analgesics)(주로, 아세틸살리실산, 파라세타몰, 이부프로펜 및 COX-2 억제제와 같은 비스테로이드성 소염제(NSAID)) 및 두 종류의 편두통 전용 진통제, 즉 혈관 수축 맥각 알칼로이드 유도체(예를 들어, 디하이드로에르고타민) 및 트립탄, 5-HT_{1B/1D} 수용체 작용제(예를 들어, 수마트립탄)를 포함한다. 이들 약물은 많은 환자에 대해서 매우 효과적이지만, 모든 편두통 환자가 현재 사용 가능한 약물로 충분히 치료될 수 있는 것은 아니기 때문에, 새로운 치료 옵션에 대한 필요성을 강조한다(Monteith and Goadsby 2011).
- [0008] 몇 가지 증거는 편두통 병리학에서의 CGRP의 중심적인 역할을 제안한다. 뇌 혈관의 혈관 확장은 편두통에서의 두통 통증의 전개에 대한 중요한 메커니즘으로 간주된다. CGRP는 강력한 혈관 확장제로 알려져 있으며, 삼차 신경절(trigeminal ganglion)의 자극이 삼차 신경 말단으로부터의 CGRP 방출 및 이후의 혈관 평활근에 상주하는 CGRP 수용체를 통해 매개되는 혈관 확장을 야기하는 것으로 나타났다(Limmroth, Katsarava et al. 2001). 또한, 다른 연구에서는 확인할 수 없었지만(Tvedskov, Lipka et al. 2005), 편두통 발작 중인 환자의 혈장 CGRP 농도가 상승했다(Goadsby, Edvinsson et al. 1990; Gallai, Sarchielli et al. 1995; Juhasz, Zsombok et al. 2003). 소아 편두통에서, CGRP의 두부를 벗어난 소스(extracerebral source)가 제시되었다(Tfelt-Hansen and Ashina 2010). 현재까지, CGRP의 주입은 편두통과 같은 두통을 편두통 환자에게서는 유발하지만, 건강한 개인에게서는 유발하지 않으며, 이는 CGRP 편두통 환자에 대한 증가된 민감도를 암시한다(Lassen, Haderslev et al. 2002). 또한, CGRP가 군발성 두통, 발작성 편두통, 경추성 두통 및 투석성 두통과 같이 편두통과는 다른 두통에 관여한다는 증거가 있다(Frese, Schilgen et al. 2005; Alessandri, Massanti et al. 2006; Tfelt-Hansen and Le 2009; Summ, Andreou et al. 2010). 예를 들어, 혈장 CGRP 농도가 진통제 치료 후에 정상화되는 군발성 두통 발작 중에 상승된다(Goadsby and Edvinsson 1994; Tfelt-Hansen and Le 2009).
- [0009] CGRP가 편두통의 병리 생리학에 기여하는 혈관 확장 이외의 다른 메커니즘에 관련되어 있다는 증거가 늘어나고 있다. 신경성 염증은 감각적 신경 활성화로 인한 멸균형(sterile type) 염증이며, 혈관 확장, 혈장 단백질 혈관외유출 및 상주하는 비만 세포로부터의 전염증성 매개인자(proinflammatory mediator)의 방출과 같은 특징을 갖는다. 삼차 신경 말단으로부터의 CGRP의 혈관 주위 방출은 경막 거주 비만 세포 및 위성 신경교 세포를 자극하여 이러한 염증성 이벤트를 촉발시킬 수 있다(Ottosson and Edvinsson 1997; Raddant and Russo 2011). 또한, CGRP는 편두통 관련 광선 공포증 및 고성 공포증 동안 관찰되는 감각 입력에 대한 민감도를 증가시키는 통각의 시냅스 전달(synaptic transmission)에 직접 영향을 미칠 수 있다(Ho, Edvinsson et al. 2010).
- [0010] 디하이드로에르고타민 또는 수마트립탄과 같은 편두통 치료제의 투여가 CGRP 농도를 감소시킬 수 있다는 관찰에 의해 편두통에서의 CGRP의 중요성이 강조된다(Limmroth, Katsarava et al. 2001; Stepien, Jagustyn et al. 2003). 펩타이드 단편 CGRP(8-37)는 이의 수용체를 차단함으로써 CGRP의 기능에 길항한다. CGRP(8-37)는 다양한 편두통 및 통증 모델에서 성공적으로 사용되었지만, 낮은 생체 안정성으로 인해 이의 용도가 제한된다. 몇 가지의 비-펩타이드성 소분자 CGRP 수용체 길항제가 개발되었다. 정맥 주사용으로 만들어진 CGRP 수용체 길항제인 올세게판트(BIBN4096BS)는 편두통의 급성 발작 치료에 효과적이었다(Olesen, Diener et al. 2004). 이러한 조짐이 좋은 결과에도 불구하고, 경구적 이용 가능성의 부족으로 인해 그 개발은 아마도 중단된 것 같다. 올세게판트의 후속 화합물인 경구적으로 이용 가능한 BI-44370 TA는 최근에 급성 편두통에 대한 단계 II 임상 시험에서 용량 의존적 효능을 보여주었다(Diener, Barbanti et al. 2011). 텔카게판트(MK-0974)는 편두통의 잠재적 치료를 위해 개발된 경구 이용 가능한 CGRP 수용체 길항제이다. 텔카게판트(MK-0974)는 급성 편두통에 대한 단계 III 임상 시험에서 효능을 보였지만(Ho, Ferrari et al. 2008; Connor, Shapiro et al. 2009), 예방 임상 시험에서의 간 독성 징후때문에 짐작컨대 그 개발이 최근에 중단되었다(Raddant and Russo 2011). 현재, 단계 II 임상 시험에서 편두통의 잠재적 경구 캡슐 치료를 위해 BMS-927711이 개발되고 있다. 항-CGRP 단일 클론 항체는 신경성 혈관 확장을 효과적으로 억제했다(Tan, Brown et al. 1995; Zeller, Poulsen et al. 2008). CGRP를 표적으로 하는 두 개의 단일 클론 항체가 현재 개발되고 있다. 두 개의 단일 클론 항체는 현재 두통의 잠재적 치료를 위한 단계 I 임상 시험 중이다. 그러나, 이의 잠재적 면역원성(immunogenicity)때문에, 이들 및 다른 항체는 편두통의 장기 치료를 위한 실행 가능한 옵션이 되지 않을 수도 있다.

- [0011] 본질적으로, CGRP 농도/활성을 낮추는 것을 통한 치료적 개입에 대한 시도가 편두통의 잠재적 치료로서의 CGRP 길항 작용의 개념을 뒷받침하는 많은 결과를 낳았지만, 충분한 효능 또는 충분한 안전성 프로필을 갖는 화합물로 이어지지는 않았다.
- [0012] 쥐(rat)의 CGRP 및, 더욱 낮은 친화도를 갖는, 인간의 CGRP를 결합하는 스피에겔머(Spiegelmer)는 이전에 설명되었다(Vater, Jarosch et al. 2003). 동물 모델에서, 이들 스피에겔머는 CGRP유도 혈관 확장을 효과적으로 억제하고(Edvinsson, Nilsson et al. 2007; Juhl, Edvinsson et al. 2007), 전기 자극 후의 경막 동맥 혈류의 증가를 방지하고(Denekas, Trolitzsch et al. 2006), 유해열에 대한 변형 관련 과민증을 없앴다(Mogil, Miermeister et al. 2005).
- [0013] 아밀린 또는 섬(Islet) 아밀로이드 폴리펩타이드(IAPP)는 인간의 α -CGRP와 41%의 아미노산 잔기가 동일한 37-아미노산 펩타이드 호르몬이다. 아밀린은 랑게르한스 섬의 β -세포로부터 인슐린과 함께 분비된다. 아밀린은 위 배출(gastric emptying) 감소, 소화 분비 억제 및 그 결과로 초래된 음식 섭취의 감소로 혈당 농도 제어에 기여한다. 또한, 아밀린은 중추 신경계와의 상호작용을 통해 명백하게 만족감 및 갈증을 야기시킨다(Field, Chaudhri et al. 2010). 이에 따르면, 아밀린의 주입은 쥐의 음식 섭취량을 감소시킨다(Lutz, Del Prete et al. 1994; Morley, Flood et al. 1994). 이러한 식욕 감퇴 효과로 인해, 아밀린의 억제는 음식 섭취 증가 및 비만으로 이어질 수 있다(Lutz 2006). 그 결과, 아밀린에 대한 CGRP 결합 스피에겔머의 교차 반응(cross-reactivity)은 편두통의 잠재적 치료에 대한 주요 장애물이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 본 발명의 기본적인 과제는, 편두통, 급성 및 만성 통증, 또는 모르핀계 진통제에 대한 내성과 같은 질환(disease) 및 질병(condition)의 예방 및/또는 치료에 적합한 수단으로서, 아밀린, 바람직하게 인간 이말린과 상호작용을 하지 않고, 인간의 CGRP, 바람직하게 인간의 알파-CGRP에 특이적으로 결합하여, CGRP, 바람직하게 인간 알파-CGRP에 의해 매개되는 활성을 길항하는 수단을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명의 이들 및 다른 기본적인 과제는 첨부된 독립항들의 주제에 의해 해결된다. 바람직한 실시형태가 종속항들로부터 선택될 수 있다.
- [0016] 본 발명의 기본적인 과제는 제 1 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 1 양태에서 CGRP에 결합할 수 있는 핵산 분자에 의해 해결되며, 상기 핵산 분자는 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치를 포함하고, 상기 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는
- [0017] 5' HWn₁n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Yn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂Rn₁₃ADn₁₄n₁₅ARn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 99]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,
- [0018] 여기서 H, W, Y, G, A, U, M, B, K, R, D, C는 리보뉴클레오타이드이고, 및
- [0019] n₁은 R 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃는 K 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 M 또는 dC, n₆은 B 또는 dU, n₇은 N 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉은 N 또는 dC, n₁₀은 R 또는 dG, n₁₁은 V 또는 dA, n₁₂는 K 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 R 또는 dG, n₁₇은 Y 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 B 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며,
- [0020] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2' 데옥시리보뉴클레오타이드이다.
- [0021] 제 1 양태의 제 1 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 2 실시형태에서, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는
- [0022] 5' CUn₁n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Bn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂An₁₃ADn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 100]의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,
- [0023] 여기서 C, U, Y, G, A, M, B, Y, H, K, D, R 및 V는 리보뉴클레오타이드이고,

- [0024] n_1 은 G 또는 dG, n_2 는 U 또는 dT, n_3 은 G 또는 dG, n_4 는 C 또는 dC, n_5 는 M 또는 dC, n_6 은 B 또는 dU, n_7 은 D 또는 dG, n_8 은 Y 또는 dT, n_9 는 H 또는 dC, n_{10} 은 R 또는 dG, n_{11} 은 V 또는 dA, n_{12} 는 K 또는 dT 또는 dU, n_{13} 은 G 또는 dG, n_{14} 는 A 또는 dA, n_{15} 는 U 또는 dT, n_{16} 은 G 또는 dG, n_{17} 은 Y 또는 dC, n_{18} 은 C 또는 dC, n_{19} 는 C 또는 dC, n_{20} 은 C 또는 dC, n_{21} 은 C 또는 dC이며,
- [0025] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0026] 제 1 양태의 제 1 및 제 2 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 3 실시형태에서, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는
- [0027] 5' CU n_1n_2 CGGAn $_3$ An $_4$ UAn $_5n_6$ Cn $_7n_8n_9n_{10}n_{11}$ Gn $_12$ An $_13$ AAAn $_4n_{15}$ AGn $_16$ Un $_17$ Cn $_18n_{19}$ Un $_{20}n_{21}$ 3' [서열 번호 101]의 뉴클레오티드 서열을 포함하고,
- [0028] 여기서 C, U, Y, G, A, H 및 R은 리보뉴클레오티드이고,
- [0029] n_1 은 G 또는 dG, n_2 는 U 또는 dT, n_3 은 G 또는 dG, n_4 는 C 또는 dC, n_5 는 C 또는 dC, n_6 은 U 또는 dU, n_7 은 R 또는 dG, n_8 은 Y 또는 dT, n_9 는 H 또는 dC, n_{10} 은 G 또는 dG, n_{11} 은 R 또는 dA, n_{12} 는 U 또는 dT 또는 dU, n_{13} 은 G 또는 dG, n_{14} 는 A 또는 dA, n_{15} 는 U 또는 dT, n_{16} 은 G 또는 dG, n_{17} 은 C 또는 dC, n_{18} 은 C 또는 dC, n_{19} 는 C 또는 dC, n_{20} 은 C 또는 dC, n_{21} 은 C 또는 dC이며,
- [0030] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0031] 제 1 양태의 제 1, 제 2 및 제 3 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 4 실시형태에서, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는
- [0032] 5' CU n_1n_2 CGGAn $_3$ An $_4$ UAn $_5n_6$ Cn $_7n_8n_9n_{10}n_{11}$ Gn $_12$ An $_13$ AAAn $_4n_{15}$ AGn $_16$ Un $_17$ Cn $_18n_{19}$ Un $_{20}n_{21}$ 3' [서열 번호 102]의 뉴클레오티드 서열을 포함하고,
- [0033] 여기서 C, U, G, A는 리보뉴클레오티드이고,
- [0034] n_1 은 G 또는 dG, n_2 는 U 또는 dT, n_3 은 G 또는 dG, n_4 는 C 또는 dC, n_5 는 C 또는 dC, n_6 은 U 또는 dU, n_7 은 G 또는 dG, n_8 은 U 또는 dT, n_9 는 C 또는 dC, n_{10} 은 G 또는 dG, n_{11} 은 A 또는 dA, n_{12} 는 U 또는 dT 또는 dU, n_{13} 은 G 또는 dG, n_{14} 는 A 또는 dA, n_{15} 는 U 또는 dT, n_{16} 은 G 또는 dG, n_{17} 은 C 또는 dC, n_{18} 은 C 또는 dC, n_{19} 는 C 또는 dC, n_{20} 은 C 또는 dC, n_{21} 은 C 또는 dC이며,
- [0035] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0036] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3 및 제 4 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 5 실시형태에서, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는
- [0037] (1) 5' ddGU n_1n_2 CGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 103],
- [0038] (2) 5' UGddT n_1n_2 CGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 104],
- [0039] (3) 5' UGUCGGAddGACUACUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 105],
- [0040] (4) 5' UGUCGGAGAddCUACUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 106],
- [0041] (5) 5' UGUCGGAGACUAddCUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 107],
- [0042] (6) 5' UGUCGGAGACUACUCddGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 108],
- [0043] (7) 5' UGUCGGAGACUACUCGddT n_1n_2 CGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 109],
- [0044] (8) 5' UGUCGGAGACUACUCGUddCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 110],
- [0045] (9) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCddGAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 111],
- [0046] (10) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCddAAAGUAGAAAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 112],

- [0047] (11) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGdTAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 113],
- [0048] (12) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAdGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 114]
- [0049] (13) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAdAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 115]
- [0050] (14) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAdTAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 116],
- [0051] (15) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGdGUCCCCUCC 3' [서열 번호 117],
- [0052] (16) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUdCCCCCUCC 3' [서열 번호 118],
- [0053] (17) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 119],
- [0054] (18) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCdCUCC 3' [서열 번호 120],
- [0055] (19) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCdC 3' [서열 번호 121],
- [0056] (20) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCdC 3' [서열 번호 122],
- [0057] (21) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUdC 3' [서열 번호 123],
- [0058] (22) 5' UGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 130],
- [0059] (23) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 131],
- [0060] (24) 5' UGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 132],
- [0061] (25) 5' UGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUdC 3' [서열 번호 133],
- [0062] (26) 5' UGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUdC 3' [서열 번호 134],
- [0063] (27) 5' UGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUdC 3' [서열 번호 90]으로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하고,
- [0064] 여기서 C, U, G, A는 리보뉴클레오티드이고,
- [0065] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0066] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4 및 제 5 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 6 실시형태에서, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 119] 또는 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUdC 3' [서열 번호 123] 또는 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 131]의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0067] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3 및 제 4 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 7 실시형태에서, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 리보뉴클레오티드 및 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 구성된다.
- [0068] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3 및 제 4 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 8 실시형태에서, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 구성된다.
- [0069] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7 및 제 8 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 9 실시형태에서, 핵산 분자는 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오티드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치를 5' → 3' 방향으로 포함하고,
- [0070] 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 4개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하고,
- [0071] 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 4개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하고,
- [0072] 바람직하게, 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 4개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 4개 내지 7개의 뉴클레오티드를 포함한다.
- [0073] 제 1 양태의 제 9 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 10 실시형태에서,
- [0074] 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5개의 뉴클레오티드를 포함하고,
- [0075] 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5개의 뉴클레오티드를 포함한다.

- [0076] 제 1 양태의 제 9 및 제 10 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 11 실시형태에서, 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' $Z_1Z_2Z_3SZ_4WZ_5$ 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' $Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}$ 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,
- [0077] 여기서 S, W, V, B 및 K는 리보뉴클레오타이드이고,
- [0078] Z_1 은 S 또는 존재하지 않고, Z_2 는 V 또는 존재하지 않고, Z_3 은 B 또는 존재하지 않고, Z_4 는 V 또는 dG, Z_5 는 G 또는 dG, Z_6 은 Y 또는 dC, Z_7 은 W 또는 dA, Z_8 은 B 또는 dC, Z_9 는 S 또는 dG, Z_{10} 은 S 또는 dG 또는 존재하지 않고, Z_{11} 은 B 또는 존재하지 않고, Z_{12} 는 K 또는 존재하지 않고, 및
- [0079] dG, dC 및 dA 2'-데옥시리보뉴클레오타이드이다.
- [0080] 제 1 양태의 제 11 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 12 실시형태에서,
- [0081] a) Z_1 은 S, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 K이며;
- [0082] b) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 K이며;
- [0083] c) Z_1 은 S, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않거나;
- [0084] d) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않거나;
- [0085] e) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않거나;
- [0086] f) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않거나;
- [0087] g) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않거나;
- [0088] h) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 존재하지 않고, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않거나;
- [0089] i) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 존재하지 않고, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않거나; 또는
- [0090] j) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 존재하지 않고, Z_{10} 은 존재하지 않고, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않는다.
- [0091] 제 1 양태의 제 9, 제 11 및 제 12 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 13 실시형태에서,
- [0092] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CACCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0093] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GGCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGUC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0094] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GUCAUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0095] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCAUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAUGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0096] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0097] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

- [0098] 제 1 양태의 제 9, 제 10, 제 11 및 제 12 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 14 실시형태에서,
- [0099] 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCZ₄UZ₅ 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' Z₆Z₇Z₈Z₉Z₁₀ 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0100] C, G, A 및 U는 리보뉴클레오티드이며,
- [0101] Z₄는 G 또는 dG, Z₅는 G 또는 dG, Z₆는 C 또는 dC, Z₇는 A 또는 dA, Z₈는 C 또는 dC, Z₉는 G 또는 dG, Z₁₀은 G 또는 dG이며,
- [0102] dC, dG 및 dA는 2'-디옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0103] 제 1 양태의 제 9, 제 10, 제 11, 제 12 및 제 14 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 15 실시형태에서,
- [0104] a) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0105] b) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCdGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0106] c) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUdG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0107] d) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' dCACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0108] e) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CdACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0109] f) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAdCGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0110] g) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACdGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0111] h) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGdG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고;
- [0112] 바람직하게, 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0113] 제 1 양태의 제 9, 제 10, 제 11, 제 12 및 제 14 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 16 실시형태에서,
- [0114] a) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0115] b) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GGGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACCC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0116] c) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAGGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0117] 제 1 양태의 제 9, 제 11 및 제 12 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 17 실시형태에서,
- [0118] 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0119] 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' UACG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0120] 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCAG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단

스트레치는 5' CUGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

- [0121] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16 및 제 17 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 18 실시형태에서, 핵산 분자는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26 및 서열 번호 88로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26 및 서열 번호 88로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자에 대해 적어도 85%의 동일성을 갖는 핵산 분자, 또는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26 및 서열 번호 88로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자와 상동인 핵산 분자를 포함하며, 상기 상동성은 적어도 85%이다.
- [0122] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16 및 제 17 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 19 실시형태에서, 핵산 분자는 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자에 대해 적어도 85%의 동일성을 갖는 핵산 분자, 또는 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078로 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자와 상동인 핵산 분자를 포함하며, 상기 상동성은 적어도 85%이다.
- [0123] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19 및 제 20 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 20 실시형태에서, 핵산 분자의 뉴클레오티드 또는 핵산 분자를 형성하는 뉴클레오티드는 L-뉴클레오티드이다.
- [0124] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18 및 제 19 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 21 실시형태에서, 핵산 분자는 L-핵산 분자이다.
- [0125] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20 및 제 21 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 22 실시형태에서, 핵산 분자는 CGRP를 결합시킬 수 있는 적어도 하나의 결합 모이어티를 포함하며, 이러한 결합 모이어티는 L-뉴클레오티드로 구성된다.
- [0126] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21 및 제 22 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 23 실시형태에서, 핵산은 CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제이다.
- [0127] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22 및 제 23 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 24 실시형태에서, 핵산 분자는 변형기를 포함하며, 유기체로부터의 변형기를 포함하는 핵산 분자의 배설율(excretion rate)은 변형기를 포함하지 않는 핵산에 비해 감소된다.
- [0128] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22 및 제 23 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 25 실시형태에서, 핵산 분자는 변형기를 포함하며, 변형기를 포함하는 핵산 분자는 변형기를 포함하지 않는 핵산에 비해 유기체에서의 체류 시간이 증가된다.
- [0129] 제 1 양태의 제 24 및 제 25 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 26 실시형태에서, 변형기는 생분해성 및 비-생분해성 변형으로 이루어진 군에서 선택되며, 바람직하게, 변형기는 폴리에틸렌 글리콜, 선형 폴리에틸렌 글리콜, 분기된 폴리에틸렌 글리콜, 히드록시에틸 전분, 펩타이드, 단백질, 다당류, 스테롤, 폴리옥시프로필렌, 폴리옥시아미데이트 및 폴리(2-히드록시에틸)-L-글루타민으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0130] 제 1 양태의 제 26 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 27 실시형태에서, 변형기는 바람직하게 선형 폴리에틸렌 글리콜 또는 분기된 폴리에틸렌 글리콜로 이루어지는 폴리에틸렌 글리콜이며, 폴리에틸렌 글리콜의 분자량은 바람직하게 약 20,000 내지 약 120,000 Da, 보다 바람직하게는 약 30,000 내지 약 80,000 Da, 그

리고 가장 바람직하게는 약 40,000 Da이다.

- [0131] 제 1 양태의 제 26 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 28 실시형태에서, 변형기는 히드록시에틸 전분이며, 히드록시에틸 전분의 분자량은 바람직하게 약 50 내지 약 1,000 kDa, 보다 바람직하게 약 100 내지 약 700 kDa, 그리고 가장 바람직하게는 200 내지 500 kDa이다.
- [0132] 제 1 양태의 제 24, 제 25, 제 26, 제 27 및 제 28 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 29 실시형태에서, 변형기는 링커를 통해 핵산 분자에 결합되며, 바람직하게 상기 링커는 생분해성 링커이다.
- [0133] 제 1 양태의 제 24, 제 25, 제 26, 제 27 및 제 28 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 30 실시형태에서, 변형기는 핵산 분자의 5'-말단 뉴클레오티드 및/또는 3'-말단 뉴클레오티드에 및/또는 핵산 분자의 5'-말단 뉴클레오티드와 핵산 분자의 3'-말단 뉴클레오티드 사이의 핵산 분자의 뉴클레오티드에 결합된다.
- [0134] 제 1 양태의 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29 및 제 30 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 31 실시형태에서, 유기체는 동물의 몸 또는 인체, 바람직하게는 인체이다.
- [0135] 본 발명의 기본적인 과제는, 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 방법에서 사용하기 위한, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자에 의해, 제 2 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 2 양태에서 해결된다.
- [0136] 제 2 양태의 제 1 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 2 실시형태에서, 질환은 편두통, 다른 형태의 두통, 급성 통증, 만성 통증, 모르핀 계 진통제에 대한 내성, 골관절염, 혈관 형성, 자가 면역 질환, 종양의 성장 및 염증성 질환으로 이루어진 군에서 선택되며, 바람직하게 급성 통증 및 만성 통증은 염증성 및/또는 신경병증성 기원의 통증이다.
- [0137] 본 발명의 기본적인 과제는, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자 및 선택적으로 추가 성분을 포함하는 약학적 조성물에 의해, 제 3 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 3 양태에서 해결되며, 상기 추가 성분은 약학적으로 허용 가능한 부형제, 약학적으로 허용 가능한 담체 및 약학적 활성제로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0138] 제 3 양태의 제 1 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 3 양태의 제 2 실시형태에서, 약학적 조성물은 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다.
- [0139] 본 발명의 기본적인 과제는, 약제의 제조를 위한 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자의 사용에 의해, 제 4 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 4 양태에서 해결된다.
- [0140] 제 4 양태의 제 1 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 4 양태의 제 2 실시형태에서, 약제는 인간 의학에서의 사용 또는 수의학에서의 사용을 위한 것이다.
- [0141] 제 4 양태의 제 1 및 제 2 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 4 양태의 제 3 실시형태에서, 약제는 편두통, 다른 형태의 두통, 급성 통증, 만성 통증, 모르핀 계 진통제에 대한 내성, 골관절염, 혈관 형성, 자가 면역 질환, 종양의 성장 및 염증성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 것이며, 바람직하게 급성 통증 및 만성 통증은 염증성 및/또는 신경병증성 기원의 통증이다.
- [0142] 본 발명의 기본적인 과제는, 진단 수단의 제조를 위한, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자의 사용에 의해, 제 5 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 5 양태에서 해결된다.
- [0143] 본 발명의 기본적인 과제는, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자 및 CGRP를 포함하는 복합체에 의해,

제 6 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 6 양태에서 해결된다.

- [0144] 본 발명의 기본적인 과제는, CGRP의 검출을 위한, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자의 사용에 의해, 제 7 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 7 양태에서 해결된다.
- [0145] 본 발명의 기본적인 과제는,
- [0146] - CGRP에 의해 매개되는 활성의 후보 길항제를 제공하는 단계,
- [0147] - 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자를 제공하는 단계,
- [0148] - CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제의 존재 하에 신호를 제공하는 테스트 시스템을 제공하는 단계, 및
- [0149] - CGRP에 의해 매개되는 활성의 후보 길항제가 CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제인지 여부를 결정하는 단계를 포함하는 CGRP에 의해 매개되는 활성의 길항제의 스크리닝을 위한 방법에 의해, 제 8 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 8 양태에서 해결된다.
- [0150] 본 발명의 기본적인 과제는, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태에 따른 핵산 분자 및 적어도 지시 리플릿 또는 반응 용기를 포함하는 CGRP의 검출을 위한 키트에 의해, 제 9 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 9 양태에서 해결된다.
- [0151] 본 발명의 기본적인 과제는, 샘플에서 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자의 검출을 위한 방법에 의해, 제 10 양태의 제 1 실시형태이기도 한 제 10 양태에서 해결되며, 상기 방법은
- [0152] a) 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자의 제 1 부분에 적어도 부분적으로 상보적인 캡처 프로브 및 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자의 제 2 부분에 적어도 부분적으로 상보적인 검출 프로브, 또는 대안적으로, 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자의 제 1 부분에 적어도 부분적으로 상보적인 검출 프로브를 제공하는 단계;
- [0153] b) 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자를 포함하는 또는 핵산 분자를 포함하는 것으로 추정되는 샘플에 캡처 프로브 및 검출 프로브를 별도로 또는 함께 추가하는 단계;
- [0154] c) 상기 캡처 프로브 및 검출 프로브가 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자 또는 이의 일부와 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 반응하도록 하는 단계;
- [0155] d) 상기 캡처 프로브가 단계 (a)에서 제공되는 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자에 혼성화되는지 여부를 선

택적으로 검출하는 단계; 및

- [0156] e) 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 핵산 분자, 캡처 프로브 및 검출 프로브로 이루어지는, 단계 (c)에서 형성되는 복합체를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0157] 제 10 양태의 제 1 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 10 양태의 제 2 실시형태에서, 상기 검출 프로브는 검출 수단을 포함하며 및/또는 상기 캡처 프로브는 지지체, 바람직하게는 고체 지지체에 고정화된다.
- [0158] 제 10 양태의 제 1 및 제 2 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 10 양태의 제 3 실시형태에서, 단계 (c)에서 형성되는 복합체의 일부가 아닌 검출 프로브는, 단계 (e)에서 상기 복합체의 일부인 검출 프로브만 검출되도록, 반응에서 제거된다.
- [0159] 제 10 양태의 제 1, 제 2 및 제 3 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 10 양태의 제 4 실시형태에서, 단계 (e)는 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30, 제 31 및 제 32 실시형태의 일 실시형태의 핵산 분자 또는 이의 일부의 존재 하에 및 상기 핵산 분자 또는 이의 일부의 부재 하에 캡처 프로브 및 검출 프로브가 혼성화될 때 상기 검출 수단에 의해 생성되는 신호를 비교하는 단계를 포함한다.
- [0160] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30 및 제 31 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 2 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 32 실시형태에서, CGRP는 인간의 CGRP, 생쥐의 CGRP, 쥐의 CGRP 또는 마카카 물라타(*macaca mulatta*)의 CGRP, 바람직하게는 인간의 CGRP이다.
- [0161] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30, 제 31 및 제 32 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1 및 제 2 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 3 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 33 실시형태에서, CGRP는 α -CGRP 또는 β -CGRP, 바람직하게는 인간의 α -CGRP, 인간의 β -CGRP 또는 쥐의 α -CGRP이다.
- [0162] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30, 제 31, 제 32 및 제 33 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1, 제 2 및 제 3 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 4 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 34 실시형태에서, 핵산 분자는, 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100pM 이하의, K_D 로서 표현되는, 인간의 α -CGRP에 대한 결합 친화도를 갖는다.
- [0163] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30, 제 31, 제 32, 제 33 및 제 34 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1, 제 2, 제 3 및 제 4 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 5 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 35 실시형태에서, 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100pM 이하의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 α -CGRP에 대한 결합 친화도를 갖는다.
- [0164] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30, 제 31, 제 32, 제 33, 제 34 및 제 35 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4 및 제 5 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 6 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 36 실시형태에서, 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, K_D 로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 갖는다.
- [0165] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29,

제 30, 제 31, 제 32, 제 33, 제 34, 제 35 및 제 36 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5 및 제 6 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 7 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 37 실시형태에서, 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 갖는다.

[0166] 제 1 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10, 제 11, 제 12, 제 13, 제 14, 제 15, 제 16, 제 17, 제 18, 제 19, 제 20, 제 21, 제 22, 제 23, 제 24, 제 25, 제 26, 제 27, 제 28, 제 29, 제 30, 제 31, 제 32, 제 33, 제 34, 제 35, 제 36 및 제 37 실시형태의 일 실시형태이기도 하고, 제 2 양태의 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, 제 5, 제 6 및 제 7 실시형태의 일 실시형태이기도 한 제 2 양태의 제 8 실시형태이기도 한 제 1 양태의 제 38 실시형태에서,

[0167] 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의, K_D로 표현되는, 인간의 α -CGRP에 대한 결합 친화도를 가지며, 상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, K_D로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 가지며, 및/또는

[0168] 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100pM 이하의, IC₅₀으로 표현되는, 인간의 α -CGRP에 대한 결합 친화도를 가지며, 상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의, IC₅₀로 표현되는, 인간의 아밀린에 대한 결합 친화도를 갖는다.

[0169] 어떠한 이론에 의해 제한되기를 원하는 것은 아니나, 본 발명자들은 놀랍게도 본 발명에 따른 핵산 분자가 CGRP에 특이적으로 그리고 매우 높은 친화도를 가지고 결합함으로써, 아밀린에 대한 교차 반응(cross-reacting) 없이 이의 CGRP 수용체에 대한 CGRP의 결합을 억제시킨다는 것을 알아냈다. 따라서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 편두통 및 다른 질환을 포함하여, 통증 관련 장애와 같은, CGRP 관련 장애 및 질환의 치료에 사용될 수 있는 잠재력을 가진다. 또한, 본 발명자들은 본 발명에 따른 핵산 분자가 CGRP 수용체와 CGRP의 상호작용을 차단하기에 적합하다는 것을 알아냈다. 이러한 점에 있어서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 CGRP의 길항제 및/또는 CGRP-CGRP 수용체 시스템의 길항제이다.

[0170] CGRP에 대한 길항제는 본 발명에 따른 핵산 분자와 같이 CGRP에 결합하는 분자이며, 실시예 5에서 설명한 바와 같이 체외 분석에서 CGRP 수용체에 대해 CGRP에 의해 매개되는 활성을 길항한다. 본 발명에 따른 CGRP에 의해 매개되는 하나의 활성은 실시예 5에서 설명된 바와 같이 인간의 신경아세포종 세포에서의 cAMP 생산의 유도이다.

[0171] 본 발명에 따른 핵산 분자, 또는 본 발명에 따른 핵산 분자를 포함하는 조성물, 바람직하게는 약학적 조성물을 사용하여 치료 또는 예방될 수 있는 다양한 질환, 질병 및 장애에 관해서, 이러한 질환, 질병 및 장애는 특히 본 출원의 도입부에 기재되고 제시된 것들을 포함하여, 본원에 기재되어 있는 것들이라는 것을 인정해야 한다. 이러한 점에 있어서, 명세서의 각 구절 및 명세서의 도입부는 상기 질환, 질병 및 장애에 대해 각각 예방 및 치료를 위한 본 발명의 핵산 분자의 적합성을 교시하는 본 개시의 주요 부분을 형성한다.

[0172] 본원에서 본원 바와 같이, CGRP라는 용어는 포유류의 CGRP를 포함하여 모든 CGRP를 의미하지만, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게, 상기 포유류의 CGRP는 인간의 CGRP, 원숭이의 CGRP, 쥐의 CGRP, 생쥐의 CGRP, 돼지의 CGRP, 양의 CGRP, 개의 CGRP로 이루어진 군에서 선택된다. 더욱 바람직하게, 상기 CGRP는 인간의 CGRP이다. 본원에서 본원 바와 같이, CGRP라는 용어는 α -CGRP 및 β -CGRP를 의미한다. 바람직하게, α -CGRP는 인간의 α -CGRP, 원숭이의 α -CGRP, 쥐의 α -CGRP, 생쥐의 α -CGRP, 돼지의 α -CGRP, 양의 α -CGRP, 개의 α -CGRP로 이루어진 군에서 선택된다. 더욱 바람직하게, α -CGRP는 인간의 α -CGRP이다.

[0173] 서열 정렬(도 8b 참조)은 다음의 α -CGRP와 동일한 인간의 α -CGRP의 아미노산의 비율을 보여준다:

[0174]	마카카 몰라타(붉은털 원숭이)	100%
[0175]	라투스 노르베기쿠스(쥐)	89 %
[0176]	무스 무스쿨루스(생쥐)	89 %
[0177]	수스 스크로파(돼지)	86 %
[0178]	오비스 아리에스(양)	89 %
[0179]	카니스 파밀리아리스(개)	92 %

- [0180] 본원에서 본원 바와 같이, CGRP 수용체라는 용어는 신호 변환 이벤트를 유도하여 세포에 CGRP 신호를 전달하는 모든 세포 표면 단백질을 의미한다. CGRP 수용체는 포유류의 CGRP 수용체를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게, 포유류의 CGRP 수용체는 인간의 CGRP 수용체, 원숭이의 CGRP 수용체, 쥐의 CGRP 수용체, 생쥐의 CGRP 수용체, 돼지의 CGRP 수용체, 양의 CGRP 수용체, 개의 CGRP 수용체로 이루어진 군에서 선택된다. 더욱 바람직하게, CGRP 수용체는 인간의 CGRP 수용체이다.
- [0181] 또한, CGRP-CGRP 수용체 축의 생리학적 영향이 CGRP의 높은 혈장 농도와 관련된다면, 본 발명에 따른 핵산 분자가 바람직하다.
- [0182] CGRP와 아밀린 사이의 높은 서열 상동성의 결과로서(도 9의 정렬 참조), 이전에 확인된 CGRP 결합 스피에켈머(WO2003/04372 참조)는 아밀린에 대한 교차 반응성을 나타냈다(실시예 7, 도 10). 따라서, 본 발명은 인간의 CGRP에 높은 친화도로 결합하는 핵산 분자를 생성함으로써, CGRP의 효과, 특히 이의 수용체에 대한 CGRP의 효과를 억제하고 길항하는 것이 가능하고, 인간의 CGRP에 대한 결합 면에서는 매우 특이적이지만 인간 아밀린에 대한 교차 반응성을 나타내지는 않는다는 놀라운 결과에 기초한다.
- [0183] 본 발명에 따른 핵산이 핵산 분자라는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 점에 있어서, 핵산 및 핵산 분자라는 용어는, 달리 지시하지 않으면, 본원에서 동의어로 사용된다. 또한, 이러한 핵산(들)은, 바람직하게, 본 발명에 따른 핵산 분자(들), 본 발명에 따른 핵산(들), 본 발명의 핵산(들), 또는 본 발명의 핵산 분자(들)로서 본원에서 또한 언급된다.
- [0184] 본원에서 기재되는 바와 같이, 본 발명에 따른 핵산의 특징은 단독으로 또는 조합으로 핵산이 본원 본 발명의 모든 양태에서 실현될 수 있다.
- [0185] 본원에서 더욱 상세히 설명되는 바와 같이, 본 발명자들은 CGRP에 특이적으로 결합하는 다수의 다양한 CGRP 결합 핵산 분자를 확인했으며, 상기 핵산 분자는 개시된 바와 같이 본원에서 또한 언급되는 뉴클레오타이드의 스트레치 측면에서 특징지어질 수 있다(실시예 1 참조).
- [0186] 본 발명의 CGRP 결합 핵산 분자는 세 개의 상이한 뉴클레오타이드 스트레치, 즉 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치를 포함한다. 일반적으로, 본 발명의 CGRP 결합 핵산 분자는 5'-말단 및 3'-말단에 뉴클레오타이드의 말단 스트레치, 즉 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치(뉴클레오타이드의 5'-말단 스트레치 및 뉴클레오타이드의 3'-말단 스트레치라고도 함) 중 각각 하나씩을 포함한다. 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 원칙적으로 이의 염기 상보성으로 인해 서로 혼성화할 수 있으며, 혼성화 시에 이중 가닥 구조가 형성된다. 그러나, 이러한 혼성화가 생리학적 및/또는 비-생리학적 조건 하의 분자에서 반드시 실현되는 것은 아니다. 본 발명의 CGRP 결합 핵산 분자의 뉴클레오타이드의 세 가지 스트레치, 즉 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' → 3' 방향, 즉 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치-뉴클레오타이드의 중앙 스트레치-뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치의 순으로 서로 정렬된다. 대안적으로, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치가 5' → 3' 방향으로 서로 정렬된다.
- [0187] 본 발명에 따른 핵산의 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치의 길이는 바람직하게 40이다.
- [0188] 본 발명에 따른 핵산의 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치의 길이는 4개의 뉴클레오타이드와 7개의 뉴클레오타이드 사이이며, 바람직하게는 5개의 뉴클레오타이드와 7개의 뉴클레오타이드 사이, 더욱 바람직하게는 5개의 뉴클레오타이드이다.
- [0189] 본 발명에 따른 핵산의 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치의 길이는 4개의 뉴클레오타이드와 7개의 뉴클레오타이드 사이이며, 바람직하게는 5개의 뉴클레오타이드와 7개의 뉴클레오타이드 사이, 더욱 바람직하게는 5개의 뉴클레오타이드이다.
- [0190] 본 발명의 상이한 CGRP 결합 핵산 분자 간의 정의된 박스(box) 또는 스트레치의 서열에서의 차이는 CGRP에 대한 결합 친화도에 영향을 미친다. 본 발명의 상이한 CGRP 결합 핵산 분자의 결합 분석에 따르면, 중앙 스트레치 및 이를 형성하는 뉴클레오타이드는 개별적이며, 보다 바람직하게는 전체가 CGRP에 대한 CGRP 결합 핵산 분자의 결합에 필수적이다.
- [0191] 달리 지시하지 않으면, "스트레치" 및 "뉴클레오타이드의 스트레치"라는 용어는 본원에서 동의어로 사용된다.
- [0192] 바람직한 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산은 단일 핵산 분자이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 단일 핵산

분자는 다수의 단일 핵산 분자 또는 다수의 단일 핵산 분자 종으로서 존재한다.

- [0193] 본 발명에 따른 핵산 분자는, 바람직하게 인산디에스테르 결합을 통해, 바람직하게 서로 공유 결합되는 뉴클레오타이드로 구성된다 것을 본 기술분야의 숙련자는 인정할 것이다.
- [0194] 본 발명에 따른 핵산은, 원칙적으로, 서로 혼성화할 수 있는 2개 이상의 스트레치 또는 이들의 부분(들)을 포함한다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 혼성화 시, 이중 가닥 구조가 형성된다. 이러한 혼성화는, 특히 체외 및/또는 생체 내 조건에서 발생하거나 발생하지 않을 수 있다는 것을 본 기술분야의 숙련자는 인정할 것이다. 또한, 이러한 혼성화의 경우에서, 혼성화는 적어도 염기쌍의 규칙에 따라, 두 개의 스트레치의 전체 길이에 걸쳐 발생하며, 따라서, 이러한 혼성화 및 이중 가닥 구조의 형성은, 원칙적으로, 발생할 수 있다. 본원에서 바람직하게 사용된 바와 같이, 이중 가닥 구조는 핵산 분자의 일부, 또는 두 개 이상의 개별 가닥 또는 핵산 분자의 단일 가닥의 두 개의 공간적으로 분리된 스트레치에 의해 형성된 구조이며, 바람직하게 왓슨-크릭 염기쌍 규칙(Watson-Crick base pairing rule)에 따르는 염기쌍인 적어도 하나, 바람직하게는 두 개 이상의 염기쌍이 존재한다. 후그스틴(Hoogsteen) 염기쌍과 같은 다른 염기쌍이 이러한 이중 가닥 구조에 존재하거나 이러한 이중 가닥 구조를 형성할 수 있다는 것을 본 기술분야의 숙련자는 또한 알 것이다. 두 개의 스트레치가 혼성화하는 특징이 이러한 혼성화가 시험관 내에서 및/또는 생체 내에서 실제로 발생하는지 여부에 관계없이, 이러한 혼성화가 두 개의 스트레치의 염기 상보성으로 인해 발생하는 것이 가정된다는 것을 바람직하게 나타낸다는 것이 또한 인정될 것이다. 본 발명과 관련하여, 이러한 스트레치는 상기에 정의된 바와 같이, 실시형태에서, 혼성화할 수 있는 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치이다.
- [0195] 바람직한 실시형태에서, 본원에 본원 바와 같은 배열이라는 용어는 본원에 개시된 본 발명의 핵산과 관련해서 본원에 기재되는 구조적 또는 기능적 특징 또는 요소의 순서 또는 서열을 의미한다.
- [0196] 본 발명에 따른 핵산은 CGRP에 결합할 수 있다는 것을 본 기술분야의 숙련자는 인정할 것이다. 어떠한 이론에 의해 제한되기를 원하는 것은 아니나, 본 발명자들은 뉴클레오타이드의 일차 서열의 오리엔테이션 및 폴딩 패턴에 의해 초래되는, 본 발명의 핵산 분자의 요소 또는 삼차원 구조적 특성의 조합으로부터, CGRP 결합이 발생한다고 가정하며, 바람직하게, 이러한 특성 또는 요소는 CGRP 결합 핵산 분자의 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치이다. 개별적인 특성 또는 요소는 다양하고 상이한 개별 서열에 의해 형성될 수 있으며, 그 차이의 정도는 이러한 요소 또는 특성이 CGRP에 대한 본 발명의 핵산 분자의 결합을 매개하기 위해 형성해야 하는 3차원 구조에 따라 달라진다는 것은 명백하다. 청구된 핵산의 전체 결합 특성은 각각 다양한 요소 및 특성의 상호작용의 결과이며, 궁극적으로 이의 표적, 즉 CGRP와 청구된 핵산의 상호작용을 야기한다. 다시 어떠한 이론에 의해 제한되기를 원하는 것은 아니나, CGRP 결합 핵산에 대한 특성인 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치가 청구된 핵산 분자와 CGRP의 결합을 매개하기 위해 중요하다. 따라서, 본 발명에 따른 핵산은 CGRP와의 상호작용에 적합하다. 또한, 본 발명에 따른 핵산은 CGRP에 대한 길항제임을 본 기술분야의 숙련자는 인정할 것이다. 이로 인해, 본 발명에 따른 핵산은 CGRP와 관련되거나 CGRP에 의해 야기되는 질환 또는 질병 각각의 치료 및 예방에 적합하다. 이러한 질환 및 질병은, 해당 CGRP가 상기 질환 및 질병과 각각 관여되거나 관련된다는 것을 확립하는 종래 기술로부터 선택될 수 있으며, 이 종래 기술은 본 발명에 따른 핵산의 치료적 사용에 대한 과학적 근거를 제공하는 참고로 본원에 포함된다.
- [0197] 발명에 따른 핵산 분자는 본원에 개시된 특정 뉴클레오타이드 서열과 본질적으로 상동인 핵산 분자를 또한 포함할 수 있다. 실질적으로 상동이라는 용어는 상동성(homology)이 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 그리고 가장 바람직하게는 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 것과 같이 이해될 것이다.
- [0198] 본 발명에 따른 핵산 분자에 존재하는 상동 뉴클레오타이드의 실제 비율은 핵산에 존재하는 뉴클레오타이드의 총수에 따라 달라질 것이다. 비율 변경은 핵산 분자에 존재하는 뉴클레오타이드의 총수에 근거하여 계산될 수 있다.
- [0199] 두 개의 핵산 분자 간의 상동성은 본 기술분야의 숙련자에게 알려진 바와 같이 결정될 수 있다. 보다 구체적으로, 설계된 프로그램 매개변수를 근거로, 참조 서열에 대하여 테스트 서열(들)에 대한 퍼센트 서열 상동성을 계산하기 위해 서열 비교 알고리즘이 사용될 수 있다. 테스트 서열은 바람직하게, 상동이라고 말하는 또는 상이한 핵산 분자와 상동인지, 상동이라면, 어느 정도까지 상동인지 여부를 테스트하는 핵산 분자 또는 서열이며, 이러한 상이한 핵산 분자는 참조 서열로서 또한 언급된다. 일 실시형태에서, 참조 서열은 본원에 기재된 바와 같은 핵산 분자이며, 바람직하게는 서열 번호 2, 서열 번호 7, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26, 서열 번호 88, 서열 번호 33, 서열 번호 45, 서열 번호 47, 서열 번호 54, 서열 번호 124 및 서열 번호 078 중 어느 하나에 따른 서열

을 갖는 핵산 분자이다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은, 예를 들어, Smith & Waterman의 로컬 상동성 알고리즘(Smith & Waterman, 1981), Needleman & Wunsch의 상동성 정렬 알고리즘(Needleman & Wunsch, 1970), Pearson & Lipman의 유사성 방법에 대한 검색(Pearson & Lipman, 1988), 이들 알고리즘의 컴퓨터 구현(GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), 또는 육안 검사에 의해 수행될 수 있다.

[0200] 퍼센트 서열 동일성을 결정하기 위해 적합한 알고리즘의 일 예는 기본 로컬 정렬 검색 도구(local alignment search tool, "LAST")에서 본원 알고리즘이다, 예를 들어, Altschul et al(Altschul et al. 1990 and Altschul et al, 1997) 참조. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립생명공학정보센터(National Center for Biotechnology Information, "NCBI")를 통해 공적으로 사용 가능하다. NCBI로부터 이용 가능한 소프트웨어, 예를 들어(뉴클레오타이드 서열에 대한) BLASTN 및 (아미노산 서열에 대한) BLASTP를 사용하여 서열 동일성을 결정하는 과정에서 본원 디폴트 매개변수는 McGinnis et al(McGinnis et al., 2004)에서 기술된다.

[0201] 본 발명에 따른 핵산 분자는 본원에 개시된 및 이의 뉴클레오타이드 서열에 의해 정의된 본 발명의 핵산 분자(들)에 대하여 어느 정도의 동일성을 갖는 핵산을 또한 포함할 수 있다. 보다 바람직하게, 본 발명은 이의 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 일부에 의해 정의되는 본 발명의 핵산 분자에 대하여 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90% 그리고 가장 바람직하게는 95%, 96 %, 97 %, 98 % 또는 99% 이상의 동일성을 갖는 이들 핵산 분자를 또한 포함한다.

[0202] 본 발명의 핵산 또는 본 발명에 따른 핵산 분자라는 용어는, 예를 들어, 본 발명에 따른 핵산의 대사 산물 또는 유도체, 바람직하게 어느 정도까지는 핵산 분자 또는 상기 일부가 CGRP에 결합할 수 있는, 또는 CGRP에 대한 결합에 관여하는 것과 같은, 본원에 개시된 핵산 서열 또는 이의 일부를 포함하는 핵산 분자를 또한 포함할 수 있다. 이러한 핵산 분자는 예를 들어, 절단(truncation)에 의해 본원에 개시된 핵산 분자로부터 유도될 수 있다. 절단은 본원에 개시된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자의 말단 중 하나 또는 모두에 관련될 수 있다. 또한, 절단은 뉴클레오타이드의 내부 서열과 관련될 수 있다, 즉, 5' 말단 뉴클레오타이드와 3' 말단 뉴클레오타이드 사이의 뉴클레오타이드(들) 중 하나 또는 몇 개와 관련될 수 있다. 또한, 절단은 본원에 개시된 본 발명의 핵산 분자의 서열로부터 단일 뉴클레오타이드와 같은 작은 삭제체를 포함할 수 있다. 또한, 절단은 본 발명의 핵산 분자의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 스트레치와 관련될 수 있으며, 뉴클레오타이드의 스트레치는 하나의 뉴클레오타이드 길이만큼 작을 수 있다. 본 발명에 따른 핵산 분자의 결합은 일상적인 실험을 사용하여 본 기술분야의 숙련자에 의해 또는 본원에 기재된 바와 같은, 바람직하게는 실시예 부분에서 본원에 개시된 바와 같은 방법을 사용하거나 채택하여 결정될 수 있다.

[0203] 본 발명에 따른 핵산 분자는 D-핵산 분자 또는 L-핵산 분자일 수 있다. 바람직하게, 본 발명에 따른 핵산 분자는 L-핵산 분자이며, 보다 바람직하게, 본 발명에 따른 핵산 분자는 스피에켈머이다.

[0204] 일 실시형태에서, 핵산 서열(들)에 관하여 이들의 전체로 본원에 기재된 각각의 및 모든 핵산 분자는 특정 표시된 뉴클레오타이드 서열(들)에 제한된다. 즉, "포함하는(comprising)" 또는 "포함하다(comprise)"라는 용어는 포함하는 또는 구성하는 이라는 의미로 이러한 실시형태에서 해석되어야 한다.

[0205] 본 발명에 따른 핵산은 보다 긴 핵산의 일부이며, 보다 긴 핵산은 여러 개의 부분을 포함하며, 적어도 하나의 이러한 부분은 본 발명에 따른 핵산 또는 이의 일부인 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 긴 핵산의 다른 부분(들)은 하나 또는 여러 개의 D-핵산(들) 또는 L-핵산(들)일 수 있다. 임의의 조합이 본 발명과 관련하여 사용될 수 있다. 이러한 긴 핵산의 다른 부분(들)은 결합과는 상이한, 바람직하게는 CGRP에 대한 결합과는 상이한 기능을 나타낼 수 있다. 하나의 가능한 기능은 다른 분자와의 상호작용을 허용하는 것이며, 이러한 다른 분자는 바람직하게 예를 들어, 고정화, 가교, 검출 또는 증폭 등을 위해, CGRP와 상이하다. 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산은 본 발명의 핵산 중 몇 개를, 각각 또는 결합된 부분으로서, 포함한다. 본 발명의 핵산 몇 개를 포함하는 이러한 핵산은 보다 긴 핵산이라는 용어에 의해 또한 포함된다.

[0206] 본원에서 사용되는 L-핵산은 L-뉴클레오타이드로 이루어진, 바람직하게는 완전히 L-뉴클레오타이드로 이루어진 핵산 또는 핵산 분자이다.

[0207] 본원에서 사용되는 D-핵산은 D-뉴클레오타이드로 이루어진, 바람직하게는 완전히 D-뉴클레오타이드로 이루어진 핵산 또는 핵산 분자이다.

[0208] 핵산 및 핵산 분자라는 용어는, 명시적으로 달리 지시하지 않으면, 본원에서 동일한 의미로 사용된다.

- [0209] 또한, 달리 지시하지 않으면, 모든 뉴클레오타이드 서열은 5' → 3' 방향으로 본원에 명시된다.
- [0210] 바람직하게 본원에서 사용된 바와 같이, 모든 뉴클레오타이드의 위치는 서열, 스트레치 또는 이러한 뉴클레오타이드를 포함하는 서브스트레치의 5' 말단에 대해 결정되거나 언급된다. 따라서, 제 2 뉴클레오타이드는 서열, 스트레치 및 서브스트레치 각각의 5' 말단으로부터 카운트되는 제 2 뉴클레오타이드이다. 또한, 이에 따라서, 끝에서 두 번째의 뉴클레오타이드는 서열, 스트레치 및 서브스트레치 각각의 3' 말단으로부터 카운트되는 제 2 뉴클레오타이드이다.
- [0211] 본 발명의 핵산 분자가 D-핵산, L-핵산, 또는 예를 들어, 랜덤 조합 또는 적어도 하나의 L-뉴클레오타이드 및 적어도 하나의 D-핵산으로 이루어지는 스트레치의 정의된 서열인 조합을 갖는 둘의 조합으로 이루어지는지 여부와 관계없이, 핵산은 데옥시리보뉴클레오타이드(들), 리보뉴클레오타이드(들) 또는 이들의 조합으로 이루어질 수 있다.
- [0212] 또한, 핵산 분자는 리보뉴클레오타이드와 2' 데옥시리보뉴클레오타이드 양자로 구성된다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 2' 데옥시리보뉴클레오타이드 및 리보뉴클레오타이드는 도 11a, 도 11b 및 도 12에 도시된다. 본 발명에 따른 핵산 분자의 서열에서 리보뉴클레오타이드와 2' 데옥시리보뉴클레오타이드를 구별하기 위해, 다음의 참조 코드가 본원에서 사용된다.
- [0213] 본 발명에 따른 핵산 분자는 주로 2' 데옥시리보뉴클레오타이드로 이루어지며, dG는 2' 데옥시-구아노신-5'-일인산염이고, dC는 2' 데옥시-시티딘-5'-일인산염이고, dA는 2' 데옥시-아데노신-5'-일인산염이고, dT는 2' 데옥시-티미딘-5'-일인산염이며, dU는 2' 데옥시-우리딘-5'-일인산염이다.
- [0214] 본 발명에 따른 핵산 분자는 주로 리보뉴클레오타이드로 이루어지며, G는 구아노신-5'-일인산염이고, C는 시티딘-5'-일인산염이고, A는 아데노신-5'-일인산염이고이며, U는 우리딘-5'-일인산염이다.
- [0215] L-핵산 분자로서 본 발명의 핵산 분자를 설계하는 것이 여러 가지 이유로 유리하다. L-핵산 분자는 자연적으로 발생하는 핵산의 거울상 이성질체이다. 그러나, D-핵산 분자는 뉴클레아제의 광범위한 존재로 인해 수용액 및 특히 생물학적 시스템 또는 생물학적 샘플에서 매우 안정하지 않다. 자연적으로 발생하는 뉴클레아제, 특히 동물 세포로부터의 뉴클레아제는 L-핵산을 분해할 수 없다. 이 때문에, L-핵산 분자의 생물학적 반감기는 동물 및 인체를 포함하여, 이러한 시스템에서 상당히 증가된다. L-핵산 분자의 분해성 부족으로 인해, 뉴클레아제 분해 생성물이 생성되지 않고, 따라서 이로부터 일어나는 부작용이 동물 및 인체를 포함하여, 이러한 시스템에서 관찰되지 않는다. 이러한 양태는 사실상 L-핵산 분자를, CGRP의 존재를 포함하는 질환 및 장애의 치료에 사용되거나 CGRP에 의해 매개되는 모든 다른 화합물과 구별한다. 왓슨 크릭(Watson Crick) 염기쌍과 다른 메커니즘을 통해 표적 분자에 특이적으로 결합하는 L-핵산 분자, 또는 일부 또는 전부가 L-뉴클레오타이드로 구성되는 앵타머, 특히 이 앵타머의 일부가 표적 분자에 대한 앵타머의 결합에 관여하는 앵타머는 스피에겔머라고도 불린다. 이와 같은 앵타머 및 스피에겔머는 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있으며, 그 중에서도, '앵타머 핸드북'(eds. Klussmann, 2006)에 개시되어 있다..
- [0216] 또한, 본 발명의 핵산 분자는, D-핵산, L-핵산 또는 D,L-핵산으로 존재하는지, 또는 DNA인지 RNA인지 여부와 관계없이, 단일 가닥 또는 이중 가닥 핵산으로 존재할 수 있다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 일반적으로, 본 발명의 핵산 분자는, 일차 서열로 인해 정의된 이차 구조를 나타내는 단일 가닥 핵산 분자이며, 따라서 삼차 구조를 또한 형성할 수 있다. 그러나, 본 발명의 핵산 분자는 서로 상보적 또는 부분적으로 상보적인 두 개의 가닥이 서로 혼성화된다는 의미에서 또한 이중 가닥일 수 있다.
- [0217] 본 발명의 핵산 분자는 변형될 수 있다. 이러한 변형은 핵산 분자의 단일 뉴클레오타이드와 관련될 수 있으며, 본 기술분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다. 이러한 변형에 대한 예들은, 그 중에서도, Venkatesan et al.(Venkatesan, Kim et al. 2003) 및 Kusser(Kusser 2000)에 의해 설명된다. 이러한 변형은 핵산 분자가 구성되어 있는 각각의 뉴클레오타이드 모두 중 하나, 몇 개의 2' 위치에서의 H 원자, F 원자 또는 O-CH₃ 작용기 또는 NH₂-작용기일 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 핵산 분자는 적어도 하나의 LNA 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 LNA 뉴클레오타이드로 구성된다.
- [0218] 일 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 분절(multipartite) 핵산 분자일 수 있다. 본원에서 사용된 분절 핵산 분자는 적어도 두 개의 분리된 핵산 가닥으로 구성되는 핵산 분자이다. 이들 적어도 두 개의 핵산 가닥은 기능 단위(functional unit)를 형성하며, 기능 단위는 표적 분자에 대한 리간드이며, 바람직하게는, CGRP의 경우에서, 표적 분자에 대한 길항제이다. 상기 적어도 두 개의 핵산 가닥은 적어도 두 개의 가닥을 생성하기 위해 본 발명의 핵산 분자를 분열시키거나, 본 발명의 전장 핵산 분자의 제 1 부분에 대응하는 하나의 핵산

분자 및 본 발명의 전장 핵산 분자의 다른 일부에 대응하는 다른 핵산 분자를 합성함으로써 본 발명의 핵산 분자 중 어느 하나로부터 유도될 수 있다. 전장 핵산 분자를 형성하는 부분의 개수에 따라, 필요한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 부분의 해당 개수가 합성될 것이다. 분열 방법 및 합성 방법 모두는, 위에 예시된 바와 같이 두 개 이상의 가닥이 있는 분절 핵산 분자를 생성하기 위해 적용될 수 있다는 것을 인식해야 한다. 즉, 상기 적어도 두 개의 분리된 핵산 가닥은 일반적으로 상보적이고 서로 혼성화하는 두 개의 가닥과 다르지만, 상기 적어도 두 개의 분리된 핵산 가닥 사이에 어느 정도의 상보성이 존재할 수 있으며, 이러한 상보성은 상기 분리된 가닥의 혼성화를 야기할 수 있다.

[0219] 마지막으로, 본 발명에 따른 핵산 분자에 대해 완전히 닫힌, 즉 원형 구조가 구현되며, 즉 본 발명에 따른 핵산 분자가 일 실시형태에서, 바람직하게 공유 결합을 통해 닫혀 있으며, 보다 바람직하게는 이러한 공유 결합은 본원에 개시된 바와 같은 핵산 서열 또는 이들의 유도체의 5' 말단 및 3' 말단 사이에서 이루어진다는 것이 또한 본 발명의 범위 내에 있다.

[0220] 본 발명에 따른 핵산 분자의 결합 상수를 결정하는 가능성은 본원의 실시예 4에서 설명되는 방법의 사용이며, 이는 본 발명에 따른 핵산이 유리한 K_D 값 범위를 나타낸다는 상기 결과를 확인한다. 각각의 핵산 분자 및 본 경우에서는 CGRP인 표적 사이의 결합의 세기를 표현하기 위한 적절한 단위는 소위 K_D 값이며, 이의 결정을 위한 방법 또한 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다.

[0221] 바람직하게, 본 발명에 따른 핵산에 의해 도시된 K_D 값은 1 μM 이하이다. 약 1 μM 의 K_D 값은 표적에 대한 핵산의 비-특이적 결합에 대한 특성이라고 한다. 본 기술분야의 숙련자에게 의해 인식되는 바와 같이, 본 발명에 따른 핵산 분자의 다양한 실시형태와 같은 일군의 화합물의 K_D 값은 특정 범위 내에 있다. 전술한 약 1 μM 의 K_D 는 K_D 값에 대한 바람직한 상한(upper limit)이다. 본 발명의 핵산 분자 중 하나와 같이 표적 결합 핵산의 K_D 에 대한 하한은 약 10 피코몰 정도일 수 있으며, 더 높을 수 있다. CGRP에 결합하는 본 발명의 각각의 핵산 분자의 K_D 값은 바람직하게 이 범위 내에 있다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. K_D 값의 바람직한 범위는 이 범위 내의 제 1 숫자 및 이 범위 내의 제 2 숫자를 선택함으로써 정의될 수 있다. 바람직한 K_D 상한값은 250 nM 및 100 nM이며, 바람직한 K_D 하한값은 50 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM 및 10 pM이다. 더욱 바람직한 K_D 상한값은 10 nM이며, 더욱 바람직한 K_D 하한값은 100 pM이다.

[0222] 바람직하게 CGRP는 인간의 알파-CGRP이며, 핵산 분자는, 10 nM 이하, 바람직하게는 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의 K_D 로 표현되는 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도를 가진다.

[0223] 실시예 7에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 핵산 분자에 대해서는, 어떠한 인간 아밀린에 대한 결합도 표면 플라즈몬 공명 측정에 의해 검출될 수 없었다. 바람직하게 본 발명에 따른 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게는 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의 K_D 로 표현되는 인간 아밀린에 대한 결합 친화도를 가진다.

[0224] 또한, 본 발명에 따른 핵산 분자의 결합 특성 외에도, 본 발명에 따른 핵산 분자는 본 경우에서는 CGRP인 각 표적 분자의 기능을 억제한다. CGRP의 기능 억제(예를 들어, 전술한 바와 같은 각 수용체의 자극)는 CGRP에 대한 본 발명에 따른 핵산 분자의 결합에 의해 및 CGRP와 본 발명에 따른 핵산 분자의 복합체 형성에 의해 달성된다. CGRP와 핵산 분자의 이러한 복합체는, 정상적으로 CGRP 즉, 본 발명의 핵산 분자를 갖는 복합체에는 존재하지 않는 CGRP에 의해 자극되는 수용체를 자극할 수 없다. 따라서, 본 발명에 따른 핵산 분자에 의한 수용체 기능의 억제는, CGRP에 의해 자극될 수는 있지만 본 발명에 따른 핵산 분자에 의해 CGRP에 의한 수용체의 자극을 방지하는 것으로 인해 초래되는 각각의 수용체로부터 독립적이다.

[0225] 본 발명에 따른 핵산 분자의 억제 상수를 결정하는 가능성은, 본 발명에 따른 핵산 분자가 치료 요법에서 상기 핵산 분자의 사용을 허용하는 유리한 억제 상수를 나타낸다는 상기 결과를 확인하는 실시예 5에서 설명된 바와 같은 방법의 사용이다. 본 경우에서는 CGRP인 표적과 각각의 수용체와의 상호작용에 대한 각각의 핵산 분자의 억제 효과의 세기를 표현하기 위한 적절한 단위는 소위 반 최고치 억제 농도(IC_{50})이며, 이의 결정을 위한 방법은 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다.

[0226] 바람직하게, 본 발명에 따른 핵산에 의해 도시된 IC_{50} 값은 1 μM 이하이다. 약 1 μM 의 IC_{50} 값은 표적 기능의 비 특이적 억제, 바람직하게 본 발명의 핵산 분자에 의해, 표적에 의한 표적 수용체의 활성의 억제에 대한

특성이라고 한다. 본 기술분야의 숙련자에 의해 인식되는 바와 같이, 본 발명에 따른 핵산 분자의 다양한 실시 형태와 같은 일군의 화합물의 IC_{50} 값은 특정 범위 내에 있다. 전술한 약 1 μ m의 IC_{50} 은 IC_{50} 값에 대한 바람직한 상한이다. 표적 결합 핵산 분자의 IC_{50} 에 대한 하한은 약 10 피코몰 정도일 수 있으며, 더 높을 수 있다. CGRP에 결합하는 각각의 핵산 분자의 IC_{50} 값은 바람직하게 이 범위 내에 있다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 바람직한 범위는 이 범위 내의 제 1 숫자 및 이 범위 내의 제 2 숫자를 선택함으로써 정의될 수 있다. 바람직한 IC_{50} 상한값은 250 nM 및 100 nM이며, 바람직한 IC_{50} 하한값은 50 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM 및 10 pM이다. 더욱 바람직한 IC_{50} 상한값은 5 nM이며, 더욱 바람직한 IC_{50} 하한값은 100 pM이다.

[0227] 바람직한 실시형태에서, CGRP는 인간의 알파-CGRP이며, 핵산 분자는, 10 nM 이하, 바람직하게는 1 nM 이하, 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의 IC_{50} 로 표현되는 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도를 가진다.

[0228] 실시예 7에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 핵산 분자에 대해서는, 인간 아밀린에 대해 $IC_{50} > 1000$ nM 및 쥐 아밀린에 대해 $IC_{50} > 100$ nM이 측정되었다. 바람직한 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게는 500 nM 이상, 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의 IC_{50} 로 표현되는 인간 아밀린에 대한 결합 친화도를 가진다.

[0229] 바람직하게 핵산 분자는 10 nM 이하, 바람직하게는 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의 K_D 로 표현되는 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도를 가지며, 상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게는 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의 K_D 로 표현되는 인간 아밀린에 대한 결합 친화도를 가지며, 및/또는 핵산 분자는, 10 nM 이하, 바람직하게는 1 nM 이하, 그리고 더욱 바람직하게는 100 pM 이하의 IC_{50} 로 표현되는 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도를 가지며, 상기 핵산 분자는 100 nM 이상, 바람직하게는 500 nM 이상, 그리고 더욱 바람직하게는 1000 nM 이상의 IC_{50} 로 표현되는 인간 아밀린에 대한 결합 친화도를 가진다.

[0230] 본 발명에 따른 핵산 분자는, 본 경우에는 CGRP인 표적 분자에 여전히 결합될 수 있는 한 임의의 길이를 가질 수 있다. 본 발명에 따른 핵산의 바람직한 길이가 있다는 것을 본 기술분야의 숙련자는 인식할 것이다. 일반적으로, 길이는 15와 120 뉴클레오타이드 사이이다. 15와 120 사이의 임의의 정수는 본 발명에 따른 핵산에 대한 가능한 길이이다. 본 발명에 따른 핵산의 길이에 대한 더욱 바람직한 범위는 약 20 내지 100 뉴클레오타이드, 약 20 내지 80 뉴클레오타이드, 약 20 내지 60 뉴클레오타이드, 약 20 내지 52 뉴클레오타이드 및 약 48 내지 54 뉴클레오타이드의 길이이다.

[0231] 핵산 분자는, 바람직하게 고분자량 모이어티(moiety) 및/또는 바람직하게, 그 중에서도, 동물의 몸, 바람직하게 인체에서의 체류 시간에 관해서 핵산의 특성을 변형할 수 있도록 하는 모이어티를 포함한다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 변형의 특히 바람직한 실시형태는 본 발명에 따른 핵산 분자의 PEG화(PEGylation) 및 HES화(HESylation)이다. 본원에서 본원 바와 같이, PEG는 폴리(에틸렌글리콜)을 의미하고 HES는 히드록시에틸 전분을 의미한다. 본원에서 바람직하게 본원 바와 같이, PEG화는 본 발명에 따른 핵산의 변형이며, 이러한 변형은 본 발명에 따른 핵산에 부착되는 PEG 모이어티로 이루어진다. 본원에서 바람직하게 본원 바와 같이, HES화는 본 발명에 따른 핵산의 변형이며, 이러한 변형은 본 발명에 따른 핵산에 부착되는 PEG 모이어티로 이루어진다. 이들 변형뿐만 아니라 이러한 변형을 사용하여 핵산을 변형시키는 과정은 유럽 특허 출원 제 EP 1,306,382호에 개시되어 있으며, 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0232] PEG가 이러한 고분자량의 모이어티인 경우, 분자량은 바람직하게는 약 20,000 내지 120,000 Da, 더욱 바람직하게는 약 30,000 내지 80,000 Da, 그리고 가장 바람직하게는 약 40,000 Da이다. HES가 이러한 고분자량의 모이어티인 경우, 분자량은 바람직하게는 약 50 내지 1,000 kDa, 더욱 바람직하게는 약 100 내지 700 Da, 그리고 가장 바람직하게는 200 내지 500 kDa이다. HES는 0.1 내지 1.5, 더욱 바람직하게는 1 내지 1.5의 몰 치환을 나타내며, 대략 0.1 내지 1.5, 바람직하게는 대략 3 내지 10의 C2/C6 비로서 표현되는 치환 등급(substitution grade)을 나타낸다. HES 변형의 과정은 예를 들어, 독일 특허 출원 제 DE 1 2004 006 249.8호에 개시되어 있으며, 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0233] 변형은, 원칙적으로, 본 발명의 핵산 분자의 모든 위치에서 이루어질 수 있다. 바람직하게, 이러한 변형은 5'-말단 뉴클레오타이드, 3'-말단 뉴클레오타이드 및/또는 핵산 분자의 5' 뉴클레오타이드와 3' 뉴클레오타이드 사이의 모든 뉴클레오타이드에 이루어진다.

- [0234] 변형 및 바람직하게는 PEG 및/또는 HES 모이어티는 직접 또는 간접적으로, 바람직하게는 링커를 통해 간접적으로 본 발명의 핵산 분자에 부착될 수 있다는 것이 본 발명의 범위 내에 있다. 본 발명에 따른 핵산 분자는 하나 이상의 변형, 바람직하게는 하나 이상의 PEG 및/또는 HES 모이어티를 포함한다는 것이 또한 본 발명의 범주에 있다. 일 실시형태에서, 개개의 링커 분자는 본 발명에 따른 핵산 분자에 하나 이상의 PEG 모이어티 또는 HES 모이어티를 부착시킨다. 본 발명과 관련하여 사용된 링커는 그 자체가 선형 또는 분기일 수 있다. 이러한 종류의 링커는 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있으며, 또한 국제 특허 출원 제 W02005/074993호 및 제 W02003/035665호에 개시되어 있다.
- [0235] 바람직한 실시형태에서, 링커는 생분해성 링커이다. 생분해성 링커는 본 발명에 따른 핵산으로부터의 변형의 방출로 인해, 그 중에서도, 동물의 몸, 바람직하게 인체에서의 체류 시간에 관해서 본 발명에 따른 핵산의 특성을 변형할 수 있도록 한다. 생분해성 링커의 사용은 본 발명에 따른 핵산의 체류 시간의 보다 나은 제어를 허용할 수 있다. 이러한 생분해성 링커의 바람직한 실시형태는 국제 특허 출원 제 W02006/052790호, 제 W02008/034122호, 제 W02004/092191호 및 제 W02005/099768호에 기재된 바와 같은 생분해성 링커이지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0236] 변형 또는 변형기는 생분해성 변형이며, 상기 생분해성 변형은 직접적 또는 간접적으로, 바람직하게는 링커를 통해 본 발명의 핵산 분자에 부착될 수 있다. 생분해성 변형은 본 발명에 따른 핵산으로부터의 변형의 방출 또는 분해로 인해, 그 중에서도, 동물의 몸, 바람직하게 인체에서의 체류 시간에 관해서 본 발명에 따른 핵산의 특성을 변형할 수 있도록 한다. 생분해성 변형의 사용은 본 발명에 따른 핵산의 체류 시간의 보다 나은 제어를 허용할 수 있다. 이러한 생분해성 변형의 바람직한 실시형태는 국제 특허 출원 제 W02002/065963호, 제 W02003/070823호, 제 W02004/113394 호 및 제 W02000/41647호, 바람직하게는 제 W02000/41647호의 18페이지, 4 내지 24 라인에 기재된 바와 같은 생분해성이지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0237] 전술한 바와 같은 변형 이외에, 다른 변형이 본 발명에 따른 핵산의 특성을 변형하기 위해 사용될 수 있으며, 이러한 다른 변형은 단백질, 콜레스테롤과 같은 지질 및 아밀라아제, 텍스트란 등과 같은 당 사슬로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [0238] 어떠한 이론에 의해 제한되기를 원하는 것은 아니나, 고분자 및 더욱 바람직하게는 본원에 기재된 하나 이상의 고분자와 같은, 바람직하게는 생리학적으로 허용 가능한, 고분자량의 모이어티를 사용하여 본 발명에 따른 핵산 분자를 변형함으로써, 본 발명의 변형된 핵산 분자가 투여되는 동물 또는 인간의 몸으로부터 본 발명의 변형된 핵산 분자의 배설 운동(excretion kinetic)이 변화된다. 보다 구체적으로, 본 발명의 이와 같이 변형된 핵산 분자의 증가된 분자량으로 인해 및 L 형태, 즉 L-핵산 분자일 때 특히 신진 대사에 적용되지 않는 본 발명의 핵산 분자로 인해, 동물의 몸으로부터, 바람직하게는 포유류의 몸, 더욱 바람직하게는 인체로부터의 배설이 감소한다. 일반적으로, 배설은 신장을 통해 발생하기 때문에, 본 발명자들은 이와 같이 변형된 핵산 분자의 사구체 여과 속도는, 동물의 몸에서의 변형된 핵산 분자의 체류 시간의 증가시키는 이러한 종류의 고분자량 변형을 갖지 않는 핵산 분자에 비해 상당히 감소된다고 가정한다. 이와 관련하여, 이러한 고분자량 변형에도 불구하고, 본 발명에 따른 핵산 분자의 특이성은 해로운 방식으로 영향 받지 않는다. 이러한 점에 있어서, 본 발명에 따른 핵산 분자는, 그 중에서도, 정상적으로는 약학적으로 활성인 화합물로부터 기대될 수 없는, 지속적 방출(sustained release)을 제공하는 약학적 제형이 본 발명에 따른 핵산 분자의 지속적 방출을 제공하기 위해 반드시 필요하지는 않다는 놀라운 특성을 갖는다. 오히려, 지속적 방출 제형으로부터 이미 방출된 것처럼, 그 변형으로 인해, 고분자량의 모이어티를 포함하는 그 변형된 형태에서 본 발명에 따른 핵산 분자는 그것이 작용할 때의 지속적 방출 제형처럼 사용될 수 있다. 이러한 점에 있어서, 본원에 개시된 바와 같은 본 발명에 따른 핵산 분자의 변형(들) 및 이와 같이 변형된 본 발명에 따른 핵산 분자 및 이를 포함하는 임의의 조성은 별개의, 바람직하게는 제어된 약물 동력학 및 이의 생물학적 분배를 제공할 수 있다. 또한, 이는 동물 및 인간의 몸의 순환에서의 체류 시간 및 이러한 동물 및 인간의 조직에 대한 분포를 포함한다. 이러한 변형은 또한 특허 출원 제 W02003/035665호에 개시되어 있다.
- [0239] 그러나, 본 발명에 따른 핵산 분자는 임의의 변형 및 특히 PEG화 또는 HES화와 같은 고분자량 변형을 포함하지 않는다는 것이 본 발명의 범주에 있다. 이러한 실시형태는, 본 발명에 따른 핵산이 몸에 있는 모든 표적 기관 또는 조직에 대해 우선 분배를 보여주는 경우, 또는 몸에 대한 투여 후 몸으로부터 본 발명에 따른 핵산의 빠른 제거가 요구되는 경우에 특히 바람직하다. 몸에 있는 모든 표적 기관 또는 표적 조직에 대한 우선적 분배 프로필을 갖는 본원에 개시된 바와 같은 본 발명에 따른 핵산 분자는 핵산 분자의 전신에 영향을 주는 농도를 낮게 유지하면서 표적 조직에서의 효과적인 국부 농도의 확립을 허용할 것이다. 이는 경제적인 관점으로부터의 이익뿐만 아니라 핵산 제제에 대한 다른 조직의 불필요한 노출을 감소시킴으로써 부작용의 잠재적 위험을 감소시키

는 낮은 투여량의 사용을 허용할 것이다. 특히, 본 발명에 따른 핵산 분자 또는 이를 포함하는 약제를 사용하는 생체 내 이미징 또는 특정 치료 투약 요구 사항의 경우에, 투여 후 몸으로부터 본 발명에 따른 핵산 분자의 빠른 제거가 요구될 수 있다.

[0240] 본 발명에 따른 핵산 분자 및/또는 본 발명에 따른 길항제는 약제 또는 약학적 조성물의 생성 또는 제조에 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 이러한 약제 또는 약학적 조성물은 본 발명의 핵산 분자와 함께 적어도 하나의 추가적인 약학적 활성 화합물을 선택적으로 포함하며, 본 발명의 핵산 분자는 바람직하게 약학적 활성 화합물 자체로서의 역할을 한다. 이러한 약제는 바람직한 실시형태에서 적어도 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 이러한 담체는 예를 들어, 물, 완충액, PBS, 포도당 용액, 바람직하게는 5% 포도당, 염분 평형액, 구연산염, 전분, 당, 젤라틴 또는 다른 허용 가능한 담체 물질일 수 있다. 이러한 담체는 일반적으로 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다. 본 발명의 약제의 또는 본 발명의 약제와 관련된 모든 실시형태, 용도, 양태는 또한 본 발명의 약학적 조성물에 적용 가능하며, 그 반대의 경우도 마찬가지라는 것을 본 기술분야의 숙련자는 인식할 것이다.

[0241] 본 발명의 또는 본 발명에 따라 제조된 핵산 분자, 약학적 조성물 및 약제에 의한 징후, 질환 및 질병에 대한 치료 및/또는 예방은 각각의 발병 기전에서의 CGRP의 직접적 또는 간접적 관여에서 기인한다.

[0242] 편두통 및 다른 두통 징후에 대해 관련되거나, 편두통 및 다른 두통 징후에 관여하고 있는 경로에서의 CGRP의 관여를 근거로 하면, 본 발명의 핵산 분자, 하나 이상의 핵산 분자를 포함하는 본 발명의 약학적 조성물 및 하나 이상의 핵산 분자를 포함하는 본 발명의 약제가 상기 질환, 장애 및 병적 상태의 치료 및/또는 예방에 유용하다는 것은 명백하다.

[0243] 본 발명의 핵산 분자, 하나 이상의 핵산 분자를 포함하는 본 발명의 약학적 조성물 및 하나 이상의 핵산 분자를 포함하는 본 발명의 약제의 용도는 전술한 바와 같은 편두통 및 다른 두통 징후에서의 잠재적 치료 개입에 제한되지 않는다. 그밖에, 이들은 CGRP의 병태 생리학적 관여가 설명된 질환 및/또는 장애 및/또는 병적 상태에 적용 가능하다. 따라서, 이러한 질환 및/또는 장애 및/또는 병적 상태는 편두통, 다른 형태의 두통, 급성 통증, 만성 통증, 모르핀계 진통제에 대한 내성, 골관절염, 혈관 형성, 종양 성장, 자가 면역 질환 및/또는 염증 질환을 포함하지만, 이에 제한되지는 않으며, 바람직하게는 상기 급성 통증 및 만성 통증은 염증성 및/또는 신경병증성 기원이다.

[0244] 물론, 본 발명에 따른 CGRP 결합 핵산 분자가 CGRP와 상호작용하거나 CGRP에 결합하기 때문에, 본 기술분야의 숙련자는 본 발명에 따른 CGRP 결합 핵산 분자가 인간 및 동물에 대한 본원에 기재된 바와 같은 질환의 치료, 예방 및/또는 진단을 위해 쉽게 사용될 수 있다는 것을 일반적으로 이해할 것이다. 이와 관련하여, 일 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는, 이러한 질환, 장애 및 질병의 기초를 이루고 있는 작용의 모드에 관계없이, 본원에 기재된 모든 질환, 장애 또는 질병의 치료 및 예방을 위해 사용될 수 있다는 것을 인정할 것이다.

[0245] 불필요한 반복을 피하기 위해, CGRP-CGRP 수용체 축의 관여로 인해, 이와 관련하여 기술된 바와 같이, 상기 축은 청구된 치료, 예방 및 진단 효과가 달성되도록 본 발명에 따른 핵산 분자에 의해 해결될 수 있다는 것을 인정해야 한다. 또한, 환자의 질환, 장애 및 질병의 특이성 및 이와 관련하여 기술된 치료 요법의 세부 사항은 본 발명의 바람직한 실시형태의 대상이 될 수 있다는 것을 인정해야 한다.

[0246] **급성 및 만성 통증.** CGRP는 통각 신경 섬유에 의해 크게 발현된다. CGRP가 급성 및 만성 통증의 전개 및 영구화에 관여한다는 증거가 축적되고 있다. 염증은 급성 및 만성 통증 감각에 대한 강력한 촉발제일 수 있다. 만성 체장염 통증은 가장 어려운 증상이다. 그것은 후근 신경절(dorsal root ganglion)에서 CGRP의 상향 조절(upregulation)을 차례로 유도하는 체장에서의 NGF의 증가된 발현에 의해 촉진된다(Winston, He et al. 2005; Wick, Hoge et al. 2006; Liu, Shenoy et al. 2011). CGRP(8-37)의 척추 강내 투여(Intrathecal administration)는 이 메커니즘을 길항하여 통각 과민증(hyperalgesia)을 감소시킬 수 있다(Liu, Shenoy et al. 2011). 골관절염의 동물 모델에서, 척추 강내 CGRP(8-37) 및 올세게판트는 신경 세포의 활성을 크게 억제시켰으며, 뒷다리 움츠림 반사(hindlimb withdrawal reflex)의 임계값을 증가시켰다(McDougall 2006; Adwanikar, Ji et al. 2007). CGRP가 결핍된 생쥐는 관절 염증의 실험적 유도 후의 통각 과민증을 입증하는 데 실패했다(Zhang and McDougall 2006). 또한, CGRP는 자발통(spontaneous pain)과 함께 골관절염 턱 관절의 관절 낭액에서 높은 농도로 발견되었다(Kopp 2001). 깊은 조직 염증의 모델에서, 정맥내 CGRP(8-37)는 혈장 분출을 차단하고, 머리 및 뒷다리의 기계적 이질통을 모두 없앴다(Ambalavanar, Moritani et al. 2006).

[0247] 상승된 CGRP 발현이 신경성 동통의 모델에서 관찰된다(Zheng, Wang et al. 2008; Nitzan-Luques, Devor et al.

2011). CGRP(8-37)는 척추 반절단 또는 척추 신경 횡절단에 의해 도출된 기계적 및 열적 이질통을 없애는 과정에서 효과적이다(Bennett, Chastain et al. 2000; Lee and Kim 2007). 마찬가지로, CGRP(8-37) 및 올세게판트는 일부분의 소좌골 신경 결찰 후 열적 통각 과민증을 효과적으로 약화시켰다(Ma and Quirion 2006). 당뇨병성 신경병증성 통증의 모델에서, 정맥내 CGRP(8-37)는 STZ 유도 당뇨병을 가진 생쥐의 통각 과민 활성을 상당히 약화시켰다(Gabra and Sirois 2004). 또한, CGRP는 대상 포진에 의해 야기되는 신경 손상의 결과로 생각되는 포진 후 신경통에 관여한다(Hou, Barr et al. 2011).

[0248] 요통증은 천장 관절에서 기인하는 것으로 알려져 있다. 인체 조직의 조직학적 연구는 CGRP가 천골 및 장골의 연골의 표층(superficial layer)에 존재한다는 것을 보여주었다(Szadek, Hoogland et al. 2010). 따라서, CGRP 발현이 쥐의 보조 유도 요통증 시 쥐 후근 신경절에서 증가되었다(Lee, Kim et al. 2009).

[0249] 암의 통증에서의 CGRP의 관여에 대한 증거는 CGRP 양성 섬유 및 CGRP 방출과 함께 증가된 종양 신경 분포가 통각 과민증과 관련된다는 것을 보여주는 연구에 의해 제공된다(Wacnik, Baker et al. 2005; Schweizerhof, Stosser et al. 2009). CGRP(8-37)의 종양 내 주사는 종양 관련 통각 과민증을 부분적으로 차단한다(Wacnik, Baker et al. 2005).

[0250] 통증은 과민성 대장 증후군의 특징적인 증상이다. 만성적 비염증성 모델에서, CGRP 수용체의 결장의 과민증 차단은 결장의 과민증을 감소시켰다. 이는 과민성 대장 증후군에서 복통에 대한 잠재적 치료로서의 CGRP 길항 작용을 시사한다(Bourdu, Dapoigny et al. 2005).

[0251] 편두통, 다른 형태의 두통, 급성 및 만성 통증에서의 치료 개입의 경우에서, 본 발명의 또는 본 발명에 따라 제조된 핵산 분자, 약학적 조성물 및 약제는 NSAID, 맥각 알칼로이드 유도체(예를 들어, 다이하이드로에르고타민) 및 트립탄, 5-HT_{1B/1D} 수용체 작용제(예를 들어, 수마트립탄)와 같은 확립된 아나게네시스와의 병용 요법에서 사용될 수 있다.

[0252] **모르핀계 진통제에 대한 내성.** 모르핀계 약물에 대한 장시간 노출은 이의 임상 사용을 제한하는, 진통 효과의 점진적 감소로 이어진다. CGRP는 모르핀계 진통제에 대한 이러한 내성을 매개하는 과정에 관여할 것으로 추측되고 있다. 쥐에게서, 만성 척추 강내 모르핀 치료는 이의 항침해수용(antinociceptive) 효과에 대한 내성으로 이어지고, 쥐 척추 후각에서 상향 조절 CGRP를 유도한다. 차례로, 이들 신경 말단에서 방출된 CGRP는 모르핀 유도 통각 상실증(algesia)에 대한 내성의 전개에 기여한다. 동물 모델에서, 올세게판트(olcegepant) 또는 CGRP(8-37)를 사용한 척추 강내 치료는 이들의 후속 효과를 차단함으로써, 만성적으로 사용된 모르핀의 진통제 특성의 지속으로 이어진다. 따라서, CGRP 길항제는 아편을 기반으로 한 치료법에서 보조제로서 잠재적으로 사용될 수 있다(Powell, Ma et al. 2000; Wang, Ma et al. 2009).

[0253] **골관절염.** 고통스러운 골관절염(OA)을 앓고 있는 환자의 골관절은 대조군(control)에 비해 CGRP 양성 신경의 세 배 높은 밀도를 가졌으며, 류마티스 관절염으로부터의 활막 조직의 조직학 OA 환자는 OA에서 CGRP 양성 신경 섬유의 상당히 높은 밀도를 보여주었다(Saxler, Loer et al. 2007; Dirmeier, Capellino et al. 2008). 따라서, 관절을 자극하는 CGRP 양성 섬유의 비율이 OA의 동물 모델에서 크게 증가되었다(Ferreira-Gomes, Adaes et al. 2010). 일시적인 수용체 전위 양이온 채널 서브 집단 V 멤버 1 길항제(transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 antagonist)의 진통 효과는 OA 모델에서 척추의 CGRP 농도의 감소와 관련되었다(Puttfarcken, Han et al. 2010). 통각에서의 이의 역할 이외에, CGRP가 직접 뼈의 대사에 또한 관여될 수도 있다. CGRP 시그널링은 조골 세포 증식 및 분화를 자극하고, RANKL 유도 파골 세포 및 골 흡수를 억제함으로써 골 질량(bone mass)을 유지한다(Han, Zhang et al. 2010; Wang, Shi et al. 2010).

[0254] **종양 혈관 형성 및 성장.** CGRP가 결핍된 생쥐의 경우, 이식 폐암 세포의 종양 성장 및 종양 관련 혈관 형성이 현저하게 감소된다. CGRP(8-37) 또는 탈 신경(denervation)은, wt 생쥐의 경우에서, 암 세포 성장을 억제했다. 이들 결과는 CGRP가 종양 관련 혈관 형성 및 종양 성장을 촉진시킨다는 것을 나타낸다. 혈관 형성의 CGRP 의존 강화에 관련된 후속 분자는 VEGF라는 표시가 있다(Toda, Suzuki et al. 2008). 인간의 경우, 소형 세포 암종, 전립선 암, 유방암 및 갑상선 암을 포함하여 특정 암으로부터의 혈장 및 종양 모두에서 높은 CGRP 발현이 확인되었다. 전립선 암에서, 혈청 CGRP는 중증 질환과 관련이 있다. RAMP1 mRNA 발현이 양성 및 악성 갈색 세포종, 콘(conn)의 선종 및 체장암에서 검출되었다(Hay, Walker et al. 2011).

[0255] **허혈에 의한 혈관 형성.** 허혈은 보상 메커니즘으로서 혈관 형성을 유도한다. CGRP 농도가 쥐의 뒷다리 허혈 조직에서 증가되었고, CGRP의 아테노 바이러스 과발현은 허혈성 뒷다리에서 모세 혈관의 밀도를 증가시켰다(Zheng, Li et al. 2010). CGRP 결핍 생쥐는, 실험적 뒷다리 허혈 후에 손상된 혈류 회복 및 모세관 밀도를 감

소를 나타냈다. 미니 삼투성 펌프(mini osmotic pump)를 통한 CGRP(8-37)의 피하 주입이 혈관 형성을 지연시켰다(Mishima, Ito et al. 2011).

- [0256] **염증.** CGRP가 염증 과정에 직접적으로 영향을 미친다는 증거가 있다. CGRP는 골관절염의 동물 모델에서 상향 조절된다(Nohr, Schafer et al. 1999; Chen, Willcockson et al. 2008). 다발성 경화증의 모델에서, CGRP는 병원성 T 세포 반응을 촉진한다는 것을 보여주었다(Mikami, Watanabe et al. 2012). 또한, 제 2 형 당뇨병의 동물 모델에서 CGRP 농도의 증가가 관찰되었다(Gram, Hansen et al. 2005; Tanaka, Shimaya et al. 2011). 건선의 생쥐 모델에서, CGRP(8-37)에 의한 CGRP의 억제 또는 탈 신경은 CD4+ 세포 수 및 표피층을 크게 감소시켰다(Ostrowski, Belkadi et al. 2011). 또한, CGRP가 인간 피부 미세 혈관 내피 세포에 의한 케모카인 생산을 억제하고(Huang, Stohl et al. 2011), 아토피 피부염 환자에서 T 세포에 의한 사이토카인 생산을 조절한다는 것을 보여주는 연구에 의해 피부 염증에서의 CGRP의 역할이 시사된다.
- [0257] **불안.** CGRP의 주입은 쥐의 불안과 같은 반응을 불러일으키며, 이는 CGRP 길항 작용이 불안 감소를 위한 임상적으로 유용한 전략일 수 있다는 것을 시사한다(Sink, Walker et al. 2011).
- [0258] **신경 퇴행성 질환.** 최근의 연구는 척추와 구근의 근위축증(SBMA)의 발병에 중요한 안드로겐 수용체의 돌연변이가 CGRP 발현 증가와 관련이 있으며, CGRP의 발현 억제가 임상 증상을 감소시킨다는 것을 보여주었다(Minamiyama, Katsuno et al. 2012).
- [0259] CGRP의 병원성 역할(pathogenic role)은 낭포성 섬유증(Xie, Fisher et al. 2011), 비만 세포증(Maintz, Wardelmann et al. 2011), 다낭성 난소 증후군(PCOS)(Zhang, Gong et al. 2012), 비-미란성 역류 질환(Xu, Li et al. 2012)을 포함하여 다양한 다른 질환에서 시사되었다.
- [0260] 또 다른 실시형태에서, 약제는 추가적인 약학적 활성제를 포함한다. 이러한 추가적인 약학적 활성 화합물은, 그 중에서도, 편두통, 급성 및 만성 통증의 치료 및/또는 예방을 위한 화합물이지만, 이에 제한되지 않으며, 상기 화합물은 트립탄, NSAID, 아편, N형 전압 게이트 칼슘 채널 차단제(Ziconotide), 항우울제 및 항경련제로 이루어진 군에서 선택된다. 본 발명에 따른 핵산 분자에 의해 본 발명에 따라 다루어질 수 있는 다양한 표시가 주어진다. 본 기술분야의 숙련자는 이해할 것이며, 상기 추가적인 약학적 활성제(들)은 원칙적으로 이러한 질환의 치료 및/또는 예방에 적합한 임의의 어느 하나일 수 있다. 본 발명에 따른 핵산 분자는, 특히 약제로서 존재하거나 본원 경우, 바람직하게 트립탄, NSAID, 아편, N형 전압 게이트 칼슘 채널 차단제(지코노타이드), 항우울제 및 항경련제 약물이거나, 트립탄, NSAID, 아편, N형 전압 게이트 칼슘 채널 차단제(지코노타이드), 항우울제 및 항경련제 약물과 결합될 것이다.
- [0261] 본 발명의 약제는, 원칙적으로, 상기 질환의 치료를 위한 약제의 사용과 관련되어 개시된 질환 중 어느 하나를 예방하기 위해 대안적으로 또는 추가적으로 사용된다는 것이 본 발명의 범주 내에 있다. 따라서, 각각의 질환에 대한 각각의 마커는 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다. 바람직하게 각각의 마커는 CGRP이다.
- [0262] 본 발명의 약제의 일 실시형태에서, 이러한 약제는 본원에 개시된 질환 중 어느 하나를 위한 다른 치료, 특히 본 발명의 약제가 사용될 치료와 관련하여 사용하기 위한 것이다.
- [0263] "병용 요법"(또는 "공동 요법")은 본 발명의 약제 및 적어도 제 2 약제 또는 추가적인 약학적 활성제의 투여를 포함하며, 상기 제 2 약제 또는 추가적인 약학적 활성제는 이들 치료제, 즉, 본 발명의 약제 및 상기 제 2 약제 또는 추가적인 활성제의 공동 작용으로부터의 유리한 효과를 제공하도록 의도된 특정 치료 요법의 일부이다. 상기 조합의 바람직한 효과는 치료제의 조합으로 인한 약동학적 또는 약역학적 공동 작용을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 이들 치료제의 병용 투여는 일반적으로 정의된 시간 기간(선택된 병용에 따라 보통 분, 시간, 일 또는 주)에 걸쳐 수행된다.
- [0264] "병용 요법"은 별도의 단일 치료 요법의 일부로서 이들 치료제 중 2 개 이상의 투여를 포함하는 것으로 의도되지만, 일반적으로는 포함하지 않는다. "병용 요법"은 이들 치료제의 투여를 순차적으로 즉, 각각의 치료제가 상이한 시간에 투여될 뿐만 아니라, 이들 치료제 또는 적어도 2개의 치료제가 실질적으로 동시에 투여되도록 의도된다. 실질적으로 동시 투여는 예를 들어, 각 치료제의 고정 비율을 갖는 단일 캡슐 또는 각각의 치료제에 대한 복수의 단일 캡슐을 대상에 투여함으로써 달성될 수 있으며, 상기 복수의 단일 캡슐은, 상기 복수의 단일 캡슐이 동시에 투여되는 것처럼 치료 효과가 얻어지도록 동일한 시간에 또는 적시에 투여된다.
- [0265] 각 치료제의 순차적 또는 실질적 동시 투여는 국소 경로, 구강 경로, 정맥 경로, 근육 내 경로 및 점막 조직을 통한 직접 흡수를 포함하여 적절한 경로에 의해 수행될 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 치료제는 동일한 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 조합의 제 1 치료제는 주사로 투여되고 조합의 다른 치

료제는 국소적으로 투여될 수 있다.

- [0266] 대안적으로, 예를 들어, 모든 치료제는 국소적으로 투여될 수 있으며, 또는 모든 치료제는 주사에 의해 투여될 수 있다. 또한, "병용 요법"은 다른 생리학적 또는 약학적 유효 성분과의 추가 조합으로 전술한 바와 같은 치료제의 투여를 수용할 수 있다. 병용 요법이 비-약물 치료를 더 포함하는 경우, 치료제의 병용과 비 약물 치료의 공동 작용으로부터의 바람직한 효과가 달성되는 한, 상기 비-약물 치료는 임의의 적절한 시점에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우에, 비-약물 치료가 일시적으로 치료제의 투여와 분리될 때, 아마도 몇 일 또는 몇 주까지 바람직한 효과는 여전히 달성된다.
- [0267] 위에서 일반적인 용어로 설명된 바와 같이, 본 발명에 따른 약제는 원칙적으로, 본 기술분야의 숙련자에게 공지된 모든 형태로 투여될 수 있다. 투여의 바람직한 경로는 바람직하게는 주사에 의해, 더욱 바람직하게는 비경구 투여에 의한 전신 투여이다. 대안적으로, 약제는 국부적으로 투여될 수 있다. 투여의 다른 경로로는 효능을 보장하면서, 최소의 침습인 투여 경로로 주어지는 선호도에 따라 근육 내, 복강 내, 피하, 입을 통한, 비강 내, 기관 내, 또는 폐 경로를 포함한다.
- [0268] 비경구 투여는 일반적으로 피하, 근육 또는 정맥 주사 및 주입에 사용된다. 또한, 비경구 투여를 위한 한 가지 방법은, 본 기술분야의 숙련자에게 알려진, 일정 레벨의 복용량이 유지되는 것을 보장하는, 서방성 또는 지속적 방출 시스템을 사용한다.
- [0269] 또한, 본 발명의 바람직한 약제는 본 기술분야의 숙련자에게 알려진 경피 피부 패치의 형태를 사용하여 적합한 비강내 비히클, 흡입제의 국소 사용을 통해, 또는 경피 경로를 통해 비강내 형태로 투여될 수 있다. 경피 전달 시스템의 형태로 투여되기 위해, 바람직하게, 복용량 투여는 투여 요법 내내 간헐적이기보다는 연속적인 것이다. 다른 바람직한 국소 제형은 크림, 연고, 로션, 에어로졸, 스프레이 및 겔을 포함한다.
- [0270] 본 발명의 방법에 호의적으로 반응할 대상은 인간 및 인간 환자를 포함하여, 일반적으로 의료 및 수의학 대상을 포함한다. 본 발명의 방법 및 수단이 유용한 다른 대상 중에는 고양이, 개, 큰 동물, 닭과 같은 조류 등이다.
- [0271] 본 발명의 약제는 일반적으로 약학적으로 허용 가능한 매체에 용해 또는 분산된 본 발명의 핵산 분자를 포함하여 치료의 유효 성분(들)의 효과적인 양을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 약학적으로 허용 가능한 매체 또는 담체는 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 향균 및 항진균제, 등장 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 약학적 활성 물질을 위한 이러한 매체 및 물질의 사용은 본 기술분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다. 보조 유효 성분이 본 발명의 약제에 또한 통합될 수 있다.
- [0272] 다른 양태에서, 본 발명은 약학적 조성물에 관한 것이다. 이러한 약학적 조성물은 본 발명에 따른 적어도 하나의 핵산 분자 및 바람직하게는 약학적으로 허용 가능한 바인더를 포함한다. 이러한 바인더는 본 기술 분야에서 본원 및/또는 공지된 임의의 바인더일 수 있다. 보다 구체적으로, 이러한 바인더는 본원에 개시된 약제의 제조와 관련하여 논의된 바와 같은 임의의 바인더이지만, 이에 제한되지는 않는다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 약학적 조성물은 추가적인 약학적 활성제를 포함한다.
- [0273] 본 발명의 약제 및 약학적 조성물의 제조는 본 개시 내용을 고려하면 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다. 일반적으로, 이러한 조성물은 액체 용액이나 현탁액과 같은 주사용; 주입 전에 액체에서 용액 또는 현탁액으로 하기에 적합한 고체 형태; 경구 투여를 위한 정제 또는 다른 고체; 시간 제한 방출 캡슐; 또는 안약, 크림, 로션, 연고, 흡입제 증을 포함하여 현재 사용되고 있는 모든 다른 형태로 제조될 수 있다. 또한, 수술 분야에서 특정 부위를 치료하는 외과 의사, 의사 또는 의료 종사자에 의한 식염수 기반 세척과 같은 멸균 제형의 사용은 특히 유용하다. 또한, 본 발명의 조성물은 마이크로 장치, 마이크로 입자 또는 스폰지를 통해 전달될 수 있다.
- [0274] 제형에 따라, 본 발명의 약제는 투약 제형과 호환할 수 있는 방식으로, 그리고 약학적으로 효과적인 양으로 투여될 것이다. 제형은 전술한 주사 가능한 용액의 유형과 같이, 다양한 투여 형태로 쉽게 투여되지만, 약물 방출 캡슐 등이 또한 사용될 수 있다.
- [0275] 또한, 본 발명의 약제는 시간 제한 방출 및 지속적 방출 정제 또는 캡슐, 환제, 분말, 과립, 엘릭서, 탱크, 현탁액, 시럽 및 에멀전과 같은 경구 투약 형태로 투여될 수 있다. 좌약은 지방산 에멀전 또는 현탁액으로부터 유리하게 제조된다.
- [0276] 본 발명의 약학적 조성물 또는 약제는 멸균될 수 있으며, 방부제, 안정화제, 습윤제, 또는 유화제와 같은 보조제, 용액 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충액을 포함할 수 있다. 또한, 이들은 다른 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수도 있다. 조성물은 종래의 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제조되며, 일반적으로 약

0.1% 내지 75%, 바람직하게는 약 1% 내지 50%의 활성 성분을 포함한다.

- [0277] 액체, 특히 주사용 조성물이, 예를 들어 용해, 분산 등에 의해 제조될 수 있다. 활성 화합물은 예를 들어, 물, 생리 식염수, 수성 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등과 같은 약학적으로 순수한 용매에 용해되거나 혼합됨으로써, 주사 가능한 용액 또는 현탁액을 형성한다. 또한, 주입 전에 액체에 용해하기에 적합한 고체 형태가 제형화될 수 있다.
- [0278] 또한, 본 발명의 약제 및 핵산 분자는 각각 소형 단층 소포, 대형 단층 소포 및 다층 소포와 같은 리포좀 운반 시스템의 형태로 투여될 수 있다. 리포좀은 콜레스테롤, 스테아릴아민 또는 포스파티딜콜린을 포함하는 다양한 인지질로부터 형성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 지질 성분의 필름은 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있는 약물을 캡슐화하는 형태 지질층에 약물의 수용액으로 수화된다. 예를 들어, 핵산 분자는 본 기술분야의 숙련자에게 공지된 방법을 사용하여 구성되는 친유성 화합물 또는 비-면역성의 고분자 화합물을 포함하는 복합체로서 제공될 수 있다. 따라서, 리포좀은 세포 사멸을 내부적으로 매개하기 위해 세포독성 물질을 표적으로 하고 포함하기 위해 이들의 표면에서 이러한 핵산 분자를 함유할 수 있다. 핵산 관련 복합체의 일 예는 미국 특허 제 6,011,020호에서 제공된다.
- [0279] 또한, 본 발명의 약제 및 핵산 분자는 각각 표적 가능한 약물 전달체로서 가용성 폴리머와 결합될 수 있다. 이러한 중합체는 폴리비닐피롤리돈, 피란 공중합체, 폴리히드록시프로필-메타크릴아미드-페놀, 폴리히드록시에틸 아스파라미드페놀, 또는 팔미토일 잔류물로 대체된 폴리에틸렌옥사이드폴리리신을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 약제 및 핵산 분자는 각각 약물, 예를 들어, 폴리락트산, 폴리에프실론 카프로락톤, 폴리히드록시부티르산, 폴리오르토에스테르, 폴리아세탈, 폴리디히드로피란, 폴리시나아노아클리레이트 및 히드로겔의 가교 또는 양친매성 블록 공중합체의 제어된 방출을 달성하는 과정에서 유용한 생분해성 고분자의 부류와 결합될 수 있다.
- [0280] 또한, 원하는 경우, 투여되는 약학적 조성물 및 약제는 각각 소량의 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 그리고 예를 들어, 초산나트륨 및 트리에탄올 아민 올레산염과 같은 다른 물질과 같은 비 독성 보조 물질을 포함할 수 있다.
- [0281] 본 발명의 핵산 분자 및 약제 각각을 이용하는 투여 요법은 환자의 유형, 종, 나이, 체중, 성별 및 의학적 상태; 치료할 질병의 중증도; 투여 경로; 환자의 신장 및 간 기능; 및 본원 특정 애플타머 또는 이의 염을 포함하여 다양한 인자에 따라 선택된다. 일반적으로 숙련된 의사 또는 수의사는 질병의 진행을 예방, 대응, 또는 저지하기 위해 필요한 약물의 효과적인 양을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다.
- [0282] 본 발명에 따른 핵산 분자의 효과적인 혈장 농도는 본원에 개시된 질환 중 어느 하나의 치료에서 바람직하게 500 fM 내지 200 μ M, 바람직하게 1 nM 내지 20 μ M, 더욱 바람직하게 5 nM 내지 20 μ M, 그리고 가장 바람직하게 50 nM 내지 20 μ M의 범위이다.
- [0283] 본 발명의 핵산 분자 및 약제 각각은 바람직하게, 매일, 2일 또는 3일, 매주, 2주에 1회, 매월 또는 3달에 한번 투여량으로 투여될 수 있다.
- [0284] 본원에 기재된 바와 같은 본 발명의 약제는 본원에 개시된 약학적 조성물, 바람직하게 본 발명의 약학적 조성물을 구성한다.
- [0285] 다른 양태에서, 본 발명은 이러한 치료를 필요로 하는 대상의 치료를 위한 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 약학적으로 활성인 양의 본 발명에 따른 핵산 분자의 투여를 포함한다. 일 실시형태에서, 대상은 질환으로 고생하거나 그러한 질환이 발병될 위험이 있으며, 상기 질환은 본원에 개시된 질환 중 어느 하나, 특히 약제의 제조를 위해 본 발명에 따른 핵산 분자 중 어느 하나의 사용과 관련하여 개시된 질환 중 어느 하나이다.
- [0286] 본원에서 바람직하게 사용된 바와 같이, 진단, 진단제, 또는 진단 수단은 CGRP, 바람직하게 본원에 기재된 CGRP, 더욱 바람직하게는 본원에 기재된 다양한 장애 및 질환과 관련되어 본원에 기재된 CGRP를 직접 또는 간접적으로 검출하기에 적합하다. 진단은 본원에 기재된, 각각의 장애 및 질환 중 어느 하나의 검출 및/또는 후속 조치(follow-up)에 적합하다. 이러한 검출은 CGRP에 대한 본 발명에 따른 핵산의 결합을 통해 가능하다. 이러한 결합은 직접 또는 간접적으로 검출될 수 있다. 각각의 방법 및 수단은 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다. 그 중에서도, 본 발명에 따른 핵산 분자는 본 발명에 따른 핵산 분자, 특히 CGRP에 결합된 핵산 분자의 검출을 허용하는 표지를 포함할 수 있다. 바람직하게, 이러한 표지는 방사성 표지, 효소 표지 및 형광 표지로 이루어진 군에서 선택된다. 원칙적으로, 항체를 위해 개발된 모든 공지된 분석법은 본 발명에 따른 핵산 분자에 대해 채택될 수 있으며, 표적 결합 항체는 본 발명의 표적 결합 핵산 분자에 의해 치환된다. 표지되지 않은 표적 결합 항체를 사용한 항체 분석법에서, 검출은 바람직하게 방사성 표지, 효소 표지 및 형광 표지로 변형되어

이의 Fc-단편에서 표적 결합 항체에 결합하는 이차 항체에 의해 수행된다. 핵산, 바람직하게는 본 발명에 따른 핵산 분자의 경우, 핵산은 이러한 표지를 사용하여 변형되며, 바람직하게, 이러한 표지는 비오틴, Cy-3 및 Cy-5로 이루어진 군에서 선택되며, 이러한 표지는 이러한 표지에 의해 검출되는 항체, 예를 들어 안티비오틴 항체, 안티-Cy3 항체 또는 안티-Cy5 항체에 의해 검출되며, 또는 표지가 비오틴 인 경우에는, 표지는 비오틴에 자연적으로 결합하는 스트렙타비딘 또는 아비딘에 의해 검출된다. 차례로, 이러한 항체, 스트렙타비딘 또는 아비딘은, 검출을 허용하는 신호를 제공하는 각각의 표지, 예를 들어, 방사성 표지, 효소 표지 또는 형광 표지(이차 항체와 유사)를 사용하여 바람직하게 변형된다.

[0287] 또 다른 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 제 2 검출 수단에 의해 검출 또는 분석되며, 상기 검출 수단은 분자 비콘(beacon)이다. 분자 비콘의 방법론은 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있고, Mairal et al.에 의해 검토되었다(Mairal et al., 2008).

[0288] 본 발명에 따른 핵산 분자를 사용한 CGRP의 검출은 특히, 본원에서 정의된 바와 같은 CGRP의 검출을 허용할 것이라는 것이 인식될 것이다.

[0289] CGRP의 검출과 관련하여, 본 발명의 바람직한 방법은

[0290] (a) CGRP의 존재 여부를 테스트할 샘플을 제공하는 단계,

[0291] (b) 본 발명에 따른 핵산 분자를 제공하는 단계,

[0292] (c) 바람직하게 반응 용기에서 핵산과 샘플을 반응시키는 단계를 포함하며,

[0293] 단계 (a)가 단계 (b) 이전에 수행되거나, 단계 (b)가 단계 (a) 이전에 수행될 수 있다.

[0294] 바람직한 실시형태에서, 핵산 분자와 샘플의 반응을 검출하는 단계 d)가 추가로 제공된다. 바람직하게, 단계 b)의 핵산 분자는 표면에 고정화된다. 상기 표면은 반응관과 같은 반응 용기의 표면, 플레이트의 웰, 또는 예를 들어, 비드와 같이, 이러한 반응 용기에 포함되는 디바이스의 표면일 수 있다. 표면에 대한 핵산 분자의 고정화는 비공유 결합 또는 공유 결합을 포함하여 본 기술분야의 숙련자에게 공지된 임의의 수단에 의해 이루어질 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게, 상기 결합은 표면과 핵산 분자 사이의 공유 화학 결합을 통해 확립된다. 그러나, 본 발명의 핵산 분자는 표면에 간접적으로 고정화될 수 있으며, 이러한 간접 고정화는 추가 성분 또는 한 쌍의 상호작용 파트너의 사용을 포함한다는 것 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 바람직하게, 이러한 추가 성분은 상호작용 파트너로도 또한 언급되는, 고정화되는 핵산과 특이적으로 상호작용함으로써 표면에 대한 핵산 분자의 부착을 매개하는 화합물이다. 바람직하게, 상기 상호작용 파트너는 핵산, 폴리펩타이드, 단백질 및 항체로 이루어진 군에서 선택된다. 바람직하게, 상기 상호작용 파트너는 항체, 더욱 바람직하게는 단일 클론 항체이다. 대안적으로, 상기 상호작용 파트너는 핵산, 바람직하게 기능성 핵산이다. 더욱 바람직하게, 이러한 기능성 핵산은 앵커, 스피에켈머, 및 적어도 부분적으로 핵산에 상보적인 핵산으로 이루어진 군에서 선택된다. 다른 대안적 실시형태에서, 표면에 대한 핵산의 결합은 분절(multi-partite) 상호작용 파트너에 의해 매개된다. 바람직하게, 이러한 분절 상호작용 파트너는 한 쌍의 상호작용 파트너 또는 제 1 멤버 및 제 2 멤버로 이루어진 상호작용 파트너이며, 상기 제 1 멤버는 핵산 분자에 포함되거나 핵산 분자에 부착되며, 상기 제 2 멤버는 표면에 부착되거나 표면에 포함된다. 바람직하게, 상기 분절 상호작용 파트너는 비오틴과 아비딘, 비오틴과 스트렙타비딘 및 비오틴과 뉴트라비딘을 포함하는 상호작용 파트너 쌍으로 이루어진 군에서 선택된다. 바람직하게, 상호작용 파트너의 쌍의 제 1 멤버는 비오틴이다.

[0295] 이러한 방법의 바람직한 결과는 본 발명의 핵산 분자와 CGRP의 고정화된 복합체의 형성이며, 더욱 바람직하게, 상기 복합체가 검출된다. 상기 복합체로부터 CGRP 모이어티가 검출되는 것이 일 실시형태 내에 있다.

[0296] 이러한 요구 사항에 따른 각각의 검출 수단은, 예를 들어, CGRP의 해당 부분/부분들에 대해 특이적인 임의의 검출 수단이다. 특히 바람직한 검출 수단은 핵산, 폴리펩타이드, 단백질 및 항체로 이루어진 군에서 선택되는 검출 수단이며, 그 생성은 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다.

[0297] 또한, 일 실시형태에서, CGRP의 검출을 위한 본 발명의 방법은 샘플이 바람직하게 단계 c)를 수행하기 위해 사용된 반응 용기로부터 제거되는 단계를 포함한다.

[0298] 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 표면, 바람직하게 위에서 정의된 바와 같은 표면에 CGRP의 상호작용 파트너를 고정화하는 단계를 또한 포함하며, 상기 상호작용 파트너는 본원에서와 같이, 바람직하게 각각의 방법과 관련하여 상기과 같이 정의되며, 더욱 바람직하게, 이의 다양한 실시형태에서, 핵산, 폴리펩타이드, 단백질 및 항체를 포함한다. 본 실시형태에서, 특히 바람직한 검출 수단은 본 발명에 따른 핵산 분자이며, 이러한 핵

산은 바람직하게 표지화되거나 표지화되지 않을 수 있다. 핵산 분자가 표지화되는 이러한 경우에, 핵산 분자는 직접 또는 간접적으로 검출될 수 있다. 또한, 이러한 검출은 바람직하게, 핵산, 폴리펩타이드, 단백질로 이루어진 군에서 또한 선택되는 제 2 검출 수단의 사용을 포함할 수 있다. 바람직하게, 이러한 검출 수단은 본 발명에 따른 핵산 분자에 대해 특이적이다. 더욱 바람직한 실시형태에서, 상기 제 2 검출 수단은 분자 비콘이다. 바람직한 실시형태에서, 핵산 분자 또는 제 2 검출 수단 또는 양자 모두는 검출 표지를 포함할 수 있다. 바람직하게, 검출 표지는 비오틴, 브로모디옥시우리딘(bromo-deoxyuridine) 표지, 디그옥시제닌 표지, 형광 표지, UV 표지, 방사능 표지(radio-label) 및 킬레이터 분자로 이루어진 군에서 선택된다. 대안적으로, 제 2 검출 수단은, 바람직하게, 핵산 분자에 함유되는, 핵산 분자에 포함되는, 또는 핵산 분자에 의해 부착되는 검출 표지와 상호작용한다. 특히 바람직한 조합은 다음과 같다:

- [0299] 검출 표지는 비오틴이고, 제 2 검출 수단은 비오틴에 대항하는 항체, 또는
- [0300] 검출 표지는 비오틴이고, 제 2 검출 수단은 아비딘 또는 아비딘 함유 분자, 또는
- [0301] 검출 표지는 비오틴이고, 제 2 검출 수단은 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 함유 분자, 또는
- [0302] 검출 표지는 비오틴이고, 제 2 검출 수단은 뉴트라비딘 또는 뉴트라비딘 함유 분자, 또는
- [0303] 검출 표지는 브로모디옥시우리딘이고, 제 2 검출 수단은 브로모디옥시우리딘에 대항하는 항체, 또는
- [0304] 검출 표지는 디그옥시제닌이고, 제 2 검출 수단은 디그옥시제닌에 대항하는 항체, 또는
- [0305] 검출 표지는 킬레이터이고, 제 2 검출 수단은 방사성 핵종이며, 상기 검출 표지는 핵산 분자에 부착되는 것이 바람직하다. 이러한 종류의 조합은 핵산이 표면에 부착되는 실시형태에 또한 적용할 수 있다는 것이 인식될 것이다. 이러한 실시형태에서, 검출 표지는 상호작용 파트너에 부착되는 것이 바람직하다.
- [0306] 마지막으로, 제 2 검출 수단은 제 3 검출 수단을 사용하여 검출되며, 바람직하게 제 3 검출 수단은 효소, 더욱 바람직하게 제 2 검출 수단의 검출에 대해 효소 반응 보여주는 효소이며, 또는 제 3 검출 수단은 방사선, 더욱 바람직하게 방사성 핵종에 의해 방출된 방사선을 검출하기 위한 수단이다. 바람직하게, 제 3 검출 수단은 제 2 검출 수단을 특이적으로 검출하고 및/또는 제 2 검출 수단과 상호작용하고 있다.
- [0307] 또한, CGRP와 상호작용 파트너 사이에 형성되는 복합체에 바람직하게 첨가되는 본 발명에 따른 핵산 분자 및 표면에 고정화되고 있는 CGRP의 상호작용 파트너를 가진 실시형태에서, 샘플은 반응으로부터, 더욱 바람직하게 단계 c) 및/또는 단계 d)가 수행되는 반응 용기로부터 제거될 수 있다.
- [0308] 일 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 형광 모이어티를 포함하며, 상기 형광 모이어티의 형광은 핵산과 CGRP 및 핵산과 무-CGRP 간의 복합체 형성 시 다르다.
- [0309] 또 다른 실시형태에서, 상기 핵산 분자는 본 발명에 따른 핵산 분자의 유도체이며, 상기 핵산의 유도체는 아데노신을 대체하는 아데노신의 적어도 하나의 형광 유도체를 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 아데노신의 형광 유도체는 에테노아데노신(ethenoadenosin)이다.
- [0310] 또 다른 실시형태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자의 유도체 및 CGRP로 이루어진 복합체는 형광성을 이용하여 검출된다.
- [0311] 상기 방법의 일 실시형태에서, 신호는 단계 (c) 또는 단계 (d)에서 생성되며, 바람직하게 상기 신호는 샘플의 CGRP 농도와 관련이 있다.
- [0312] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법의 일부인 분석은 96-웰 플레이트에서 수행될 수 있으며, 여기서 성분은 상술한 바와 같은 반응 용기에서 고정되고, 웰은 반응 용기의 역할을 한다.
- [0313] 또한, 본 발명의 핵산 분자는 신약 개발을 위한 출발 물질로 더 사용될 수 있다. 기본적으로, 두 개의 가능한 접근 방법이 있다. 하나의 접근 방법은 화합물 라이브러리의 스크리닝이며, 이러한 화합물 라이브러리는 바람직하게 저분자량 화합물 라이브러리이다. 일 실시형태에서, 상기 스크리닝은 고속 대량 스크리닝(high throughput screening)이다. 바람직하게, 고속 대량 스크리닝은 표적 기반 분석에서 화합물의 빠르고, 효율적인 시행 착오 평가이다. 최고의 경우에서, 분석은 비색 측정(colorimetric measurement)에 의해 수행된다. 이와 관련해서 본원 라이브러리는 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다.
- [0314] 본 기술분야의 숙련자에게 알려진 경쟁적 분석을 사용하는 것에 의한 것과 같은, 화합물 라이브러리의 스크린의 경우에서, 적절한 CGRP 유사체, CGRP 작용제 또는 CGRP 길항제가 식별될 수 있다. 이러한 경쟁적 분석은 다음

과 같이 설정될 수 있다. 본 발명의 핵산 분자, 바람직하게 표적 결합 L-핵산인 스피에겔머는 고체상에 결합된다. CGRP 유사체를 식별하기 위해, 표지된 CGRP가 분석에 첨가될 수 있다. 잠재적인 유사체는 각각의 표지에 의해 얻은 신호에서의 감소를 동반하는 스피에겔머에 결합하는 CGRP 분자와 경쟁한다. 작용제 또는 길항제에 대한 스크리닝은 본 기술분야의 숙련자에게 알려진 세포 배양 분석의 사용을 포함할 수 있다.

[0315] 본 발명에 따른 키트는, 바람직하게 CGRP의 검출을 위해, 적어도 하나 이상의 핵산 분자를 포함할 수 있다. 또한, 상기 키트는 적어도 하나 이상의 양성 대조 또는 음성 대조를 포함할 수 있다. 예를 들어, 양성 대조는 CGRP, 특히 본 발명의 핵산 분자가 선택되거나, 바람직하게, 액체 형태로 결합하는 CGRP일 수 있다. 음성 대조는, 예를 들어 CGRP와 유사한 생물 물리학적 특성의 관점에서 정의되지만, 본 발명의 핵산 분자에 의해 인식되지 않는 펩타이드일 수 있다. 또한, 상기 키트는 하나 이상의 버퍼를 포함할 수 있다. 다양한 성분이 건조 또는 동결 건조된 형태로 또는 액체에 용해되어 키트에 포함될 수 있다. 상기 키트는, 키트의 하나 이상의 성분을 순차적으로 포함할 수 있는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 상기 키트는 키트를 사용하는 방법 및 이의 다양한 성분들에 대한 정보를 사용자에게 제공하는 지시(instruction) 또는 지시 리플릿을 포함한다.

[0316] 본 발명에 따른 핵산 분자의 약학적 및 바이오 분석적 결정은 인체 및 비-인체의 여러 체액, 조직 및 기관에서 이의 약동학 및 바이오 역학적 프로파일의 평가를 위한 기초이다. 이러한 목적을 위해, 본원에 개시되거나 본 기술분야의 숙련자에게 공지된 검출 방법 중 어느 하나가 사용될 수 있다. 본 발명의 다른 양태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자의 검출을 위한 샌드위치 혼성화 분석법(sandwich hybridisation assay)이 제공된다. 상기 검출 분석법에서, 캡처 프로브 및 검출 프로브가 사용된다. 상기 캡처 프로브는 본 발명에 따른 핵산 분자의 제 1 부분에, 상기 검출 프로브는 제 2 부분에 대해 상보적이다. 캡처 프로브는 표면 또는 매트릭스에 고정화된다. 바람직하게, 검출 프로브는 본원에서 전술한 바와 같이 검출될 수 있는 마커 분자 또는 표지를 갖는다.

[0317] 본 발명에 따른 핵산 분자의 검출은 다음과 같이 수행될 수 있다: 본 발명에 따른 핵산 분자는 이의 말단 중 하나는 캡처 프로브와 혼성화하고, 다른 말단은 검출 프로브와 혼성화한다. 이후, 결합하지 않은 검출 프로브는, 예를 들어 한 번 이상의 세척 단계에 의해 제거된다. 바람직하게, 표지 또는 마커 분자를 갖는 결합된 검출 프로브의 양은 그 후에, 예를 들어, 본원에 참고로 포함되는 제 WO/2008/052774호에서 보다 상세히 설명되는 바와 같이 측정될 수 있다.

[0318] 바람직하게 본원에서 본원 바와 같이, 치료라는 용어는, 바람직한 실시형태에서, 추가적으로 또는 대안적으로 예방 및/또는 후속 조치를 포함한다.

[0319] 바람직하게 본원에서 본원 바와 같이, 질환 및 장애라는 용어는, 달리 지시되지 않는 한, 동일한 의미로 사용된다.

[0320] 본원에서 본원 바와 같이, 포함하다 라는 용어는 바람직하게 상기 용어에 의해 기재되거나 이어지는 주제를 제한하지 않는다.

[0321] 다양한 서열 번호: 본 발명에 따른 핵산 분자의 화학적 성질, 이들의 실제 서열 및 내부 참조 번호가 다음 표에 요약된다.

표 1

서열 번호	내부 참조번호		서열	
001	212-G1-001	L-RNA	CGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCCACG	
002	226-F2-001	L-RNA	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCCACGG	
003	212-F1-001	L-RNA	CGUGCUGUUGGAGACUACUUGUUAAGUAGAUUAGGUCCCCUCCACG	
004	224-B2-001	L-RNA	GCGUGCUGUCGGAGACUACGCUUCGCGUAGAGAUAGGUCCCCUCCACGC	
005	224-E1-001	L-RNA	GCAGCUGUCGGAGACUACCGUCGGUGAGAAAAGGUCCCCUCCUUCG	
006	226-A2-002	L-RNA	CGUGAUUUCGGAGACUACUCGUGGAGUAGAAAAGGUCCCCUCCACG	
007	226-A3-001	L-RNA	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCCACGG	
008	226-G2-002	L-RNA	CGUGCAGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAAAGGUCCCUUCCACG	
009	226-C2-002	L-RNA	CGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGAGUGGAGAUAGGUCCCCUCCACG	
010	226-E1-002	L-RNA	CGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGAGUAGAGAUAGGUCCCCUCCUACG	
011	226-F1-001	L-RNA	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGAGUAGAUUAGGUCCCCUCCACGG	
012	226-C3-001	L-RNA	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGAGUAGAAAAGGUCCCCUCCACGG	
013	231-A1-001	L-RNA	GUCAUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAAAGGUCCCCUCCACGGC	

014	231-G2-001	L-RNA	GCCAUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGAUCUUUUUUUCCCAUGGC	
015	231-C1-001	L-RNA	GCCGUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGGUUUUUUUUCCACGGC	
016	231-C2-001	L-RNA	GCCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGUAGAAUAGGUUUUUUUUCCACGGC	
서열 번호	내부 참조번호			서열
017	231-D1-001	L-RNA		GCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGUUG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGGC
018	231-F1-001	L-RNA		GCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGCCG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGGC
019	231-E1-001	L-RNA		CCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGUCG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGGG
020	231-B3-001	L-RNA		CACCGUGCUGUCG GAUACUACUGCC GAGUAGAAUAGG UUUUUUUUUCCACGG UG
021	231-A2-001	L-RNA		GGCCGUGCUGUCG GAGACUACUCGCC GAGUAGAAUAGG UUUUUUUUUCCACGG CU
022	231-A2-001	L-RNA		CCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGUAG GGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGGG
023	231-H2-001	L-RNA		GCCGUGUUGUCGG AGACUACUUUUUCCAG GGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGGC
024	226-F2-003	L-RNA		GCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAUAGGUC CCCUUUUUUCCACGC
025	226-F2-004	L-RNA		GGGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAUAGGUC CCCUUUUUUCCACCC
026	226-F2-005	L-RNA		GCCUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAUAGGUC CCCUUUUUUCCACGC
027	226-F2-001-D03	L-RNA/ <u>L-DNA</u>		CC <u>dG</u> UGCUGUCGG AGACUACUCGUCG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGG
028	226-F2-001-D05	L-RNA/ <u>L-DNA</u>		CCGU <u>dG</u> CUGUCGG AGACUACUCGUCG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGG
029	226-F2-001-D08	L-RNA/ <u>L-DNA</u>		CCGUGC <u>dG</u> UCGG AGACUACUCGUCG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGG
서열 번호	내부 참조번호			서열
030	226-F2-001-D09	L-RNA/ <u>L-DNA</u>		CCGUGC <u>dT</u> CGG AGACUACUCGUCG AGUAGAAUAGGU CCCUUUUUUCCACGG

031	226-F2-001-D14	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA dGACUACUCGUCG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
032	226-F2-001-D16	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GAdCUACUCGUCG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
033	226-F2-001-D19	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUAAdCUCGUCG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
034	226-F2-001-D22	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCdGUCG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
035	226-F2-001-D23	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGdTCG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
036	226-F2-001-D24	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUdCG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
037	226-F2-001-D25	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCdG AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
038	226-F2-001-D26	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGd AGUAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
039	226-F2-001-D28	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GdTAGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
040	226-F2-001-D30	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAdGAAAUAGGU CCCCUCCCACGG
041	226-F2-001-D33	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAdAUAGGU CCCCUCCCACGG
042	226-F2-001-D34	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAAdTAGGU CCCCUCCCACGG
043	226-F2-001-D37	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGdGU CCCCUCCCACGG
044	226-F2-001-D39	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUd CCCCUCCCACGG
서열 번호	내부 참조번호		서열
045	226-F2-001-D41	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CdCCUCCCACGG
046	226-F2-001-D42	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCdCUCCCACGG

047	226-F2-001-D44	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCU <u>d</u> CCCACGG
048	226-F2-001-D45	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCU <u>d</u> CCACGG
049	226-F2-001-D46	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCC <u>d</u> CACGG
050	226-F2-001-D47	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCCC <u>d</u> ACGG
051	226-F2-001-D48	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCCC <u>d</u> CAGG
052	226-F2-001-D49	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCCC <u>d</u> GG
053	226-F2-001-D50	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCCCAG <u>d</u> G
054	226-F2-001-D41/D44	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC C <u>d</u> CCU <u>d</u> CCCACGG
055	212-G1-001	D-RNA	CGUGCUGUCGGAG ACUACUCGUCGAG UAGAAAUAGGUCC CCUCCCACG
056	226-F2-001	D-RNA	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCCCACGG
057	212-F1-001	D-RNA	CGUGCUGUUGGAG ACUACUUGUUAAG UAGAUUAGGUUC CCUCCCACG
058	224-B2-001	D-RNA	GCGUGCUGUCGGA GACUACGCUUCGC GUAGAGAUAGGUC CCCUCCCCACGC
059	224-E1-001	D-RNA	GCAGCUGUCGGAG ACUCACCGUCGGU GAGAAAUAGGUCC CCUCCCUGC
서열 번호	내부 참조번호		서열
060	226-A2-002	D-RNA	CGUGAUUACGGAG ACUACUCGUGGAG UAGAAAUAGGUCC CCUCCCACG
061	226-A3-001	D-RNA	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCAUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCCCACGG
062	226-G2-002	D-RNA	CGUGCAGUCGGAG ACUACUCAUCGAG UAGAAAUAGGUCC CUUCCCACG

063	226-C2-002	D-RNA	CGUGCUGUCGGAG ACUACUCGUAGAG UGGAGAUAGGUCC CCUCCCACG
064	226-E1-002	D-RNA	CGUGCUGUCGGAG ACUACUCGUAGAG UAGAGAUAGGUCC CCUCCUACG
065	226-F1-001	D-RNA	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUAGA GUAGAUAGGUCC CCUCCCACGG
066	226-C3-001	D-RNA	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUAGA GUAGAAUAGGUCC CCUCCCACGG
067	231-A1-001	D-RNA	GUCAUGCUGUCGG AGACUACUCAUCG AGUAGAAUAGGU CCCUCCCACGGC
068	231-G2-001	D-RNA	GCCAUGCUGUCGG AGACUACUCAUCG AGUAGAAUAGAU CCCUCCCACGGC
069	231-C1-001	D-RNA	GCCGUGCUGUCGG AGACUACUCAUCG AGUAGAAUAGGU CCCUCCCACGGC
070	231-C2-001	D-RNA	GCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGUUG AGUAGAAUAGGU CCCUCCCACGGC
071	231-D1-001	D-RNA	GCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGUUG AGUAGAAUAGGU CCCGUCCCACGGC
072	231-F1-001	D-RNA	GCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGCCG AGUAGAAUAGGU CCCUCCCACGGC
073	231-E1-001	D-RNA	CCCGUGCUGUCGG AGACUACUCGUCG AGUAGAAUAGGU CCCUCCCACGGG
074	231-B3-001	D-RNA	CACCGUGCUGUCG GAUACUACUCGCC GAGUAGAAUAGG UCCCUCCCACGG UG
075	231-A2-001	D-RNA	GGCCGUGCUGUCG GAGACUACUCGCC GAGUAGAAUAGG UCCCUCCCACGG CU
서열 번호	내부 참조번호	서열	
076	231-E2-001	D- RN A	CCCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGGGUAGAAUAGGUCCCUCCCACGGG
077	231-H2-001	D- RN A	GCCGUGUUGUCGGAGACUACCCACAGGGUAGAAUAGGUCCCUCCCACGGC

078	226-F2-001-D41-40kDa-PEG, NOX-L41	L-RN A/ <u>L-DNA</u>	40kDa-PEG- CCGUGCUGUCGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCC <u>dCC</u> UCCACGG	
079	226-F2-003	D-RN A	GCGUGCUGUCGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCCACGC	
080	226-F2-004	D-RN A	GGGUGCUGUCGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCCACCC	
081	226-F2-005	D-RN A	GCCUGCUGUCGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCCAGGC	
082	인간 알파-CGRP, h-α GRP, 마카카 물라타의 알파 CGRP	L-peptide	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF	
083	인간 베타-CGRP	L-peptide	ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKS NFVPTNVGSKAF	
084	인간 아밀린, h-아밀린	L-peptide	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGA ILSSTNVGSNTY	
085	인간 칼시토닌	L-peptide	CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTFPQTA IGVGAP	
086	인간 아드레노메들	L-peptide	YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKLAHQIYQFTDKDKDNVAPRSKISPQGY	
087	인간 인터메딘	L-peptide	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNL SHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY	
서열 번호	내부 참조번호			서열
088	226-F2-001-5' -40kDa-PEG	L-RNA/ <u>L-DNA</u>		40kDa-PEG- CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA GUAGAAAUAGGUC CCCUCCACGG
089	쥐의 알파-CGRP, r-α GRP, 생쥐의 CGRP	L-peptide		SCNTATCVTHRLA GLLSRSGGVVKN FVPTNVGSEAF
090		L-RNA/ <u>L-DNA</u>		CUGUCGAGACUA C <u>dUCGUCGAGdUA</u> GAAAUAGGUCC <u>dCC</u>
091	미니돼지의 알파-CGRP	L-peptide		SCNTATCVTHRLA GLLSRSGGMVKS NFVPTDVGSEAF
092	양의 알파-CGRP	L-peptide		SCNTATCVTHRLA GLLSRSGGVVKS NFVPTNVGSQAF

093	개의 알파-CGRP	L-peptide	SCNTATCVTHRLA GLLSRSGGVVKNN FVPTNVGSEAF
094	r-아밀린	L-peptide	KCNTATCATQRLA NFLVRSSNNFGAI LSPTNVGSNTY
095		L-RNA	HWRUYGGAKACUM MBYNNRVKKRGA DAUARRUYCCBUC C
096		L-RNA	CUGUYGGAGACUM MUBDYHRVKKAGA DAUAGGUYCCCUC C
097		L-RNA	CUGUCGGAGACUA CUCRYHGRGUAGA AAUAGGUCCCCUC C
098		L-RNA	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGUCCCCUC C
서열 번호		서열	
099	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	HW _{n1} n ₂ YGGAn ₃ An ₄ UMn ₅ n ₆ Yn ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ Kn ₁₂ Rn ₁₃ ADn ₁₄ n ₁₅ ARn ₁₆ Un ₁₇ Cn ₁₈ n ₁₉ Un ₂₀ n ₂₁ n ₁ 은 R 또는 <u>dG</u> , n ₂ 는 U 또는 <u>dT</u> , n ₃ 은 K 또는 <u>dG</u> , n ₄ 는 C 또는 <u>dC</u> , n ₅ 는 M 또는 <u>dC</u> , n ₆ 은 B 또는 <u>dU</u> , n ₇ 은 N 또는 <u>dG</u> , n ₈ 은 Y 또는 <u>dT</u> , n ₉ 는 N 또는 <u>dC</u> , n ₁₀ 은 R 또는 <u>dG</u> , n ₁₁ 은 V 또는 <u>dA</u> , n ₁₂ 는 K 또는 <u>dT</u> 또는 <u>dU</u> , n ₁₃ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₁₄ 는 A 또는 <u>dA</u> , n ₁₅ 는 U 또는 <u>dT</u> , n ₁₆ 은 R 또는 <u>dG</u> , n ₁₇ 은 Y 또는 <u>dC</u> , n ₁₈ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₁₉ 는 B 또는 <u>dC</u> , n ₂₀ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₂₁ 은 C 또는 <u>dC</u>	
100	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CU _{n1} n ₂ YGGAn ₃ An ₄ UMn ₅ n ₆ Bn ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ Kn ₁₂ An ₁₃ ADn ₁₄ n ₁₅ AGn ₁₆ Un ₁₇ Cn ₁₈ n ₁₉ Un ₂₀ n ₂₁ n ₁ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₂ 는 U 또는 <u>dT</u> , n ₃ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₄ 는 C 또는 <u>dC</u> , n ₅ 는 M 또는 <u>dC</u> , n ₆ 은 B 또는 <u>dU</u> , n ₇ 은 D 또는 <u>dG</u> , n ₈ 은 Y 또는 <u>dT</u> , n ₉ 는 H 또는 <u>dC</u> , n ₁₀ 은 R 또는 <u>dG</u> , n ₁₁ 은 V 또는 <u>dA</u> , n ₁₂ 는 K 또는 <u>dT</u> 또는 <u>dU</u> , n ₁₃ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₁₄ 는 A 또는 <u>dA</u> , n ₁₅ 는 U 또는 <u>dT</u> , n ₁₆ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₁₇ 은 Y 또는 <u>dC</u> , n ₁₈ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₁₉ 는 C 또는 <u>dC</u> , n ₂₀ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₂₁ 은 C 또는 <u>dC</u>	
101	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CU _{n1} n ₂ CGGAn ₃ An ₄ UAn ₅ n ₆ Cn ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ Gn ₁₂ An ₁₃ AAAn ₁₄ n ₁₅ AGn ₁₆ Un ₁₇ Cn ₁₈ n ₁₉ Un ₂₀ n ₂₁ n ₁ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₂ 은 U 또는 <u>dT</u> , n ₃ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₄ 는 C 또는 <u>dC</u> , n ₅ 는 C 또는 <u>dC</u> , n ₆ 은 U 또는 <u>dU</u> , n ₇ 은 R 또는 <u>dG</u> , n ₈ 은 Y 또는 <u>dT</u> , n ₉ 는 H 또는 <u>dC</u> , n ₁₀ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₁₁ 은 R 또는 <u>dA</u> , n ₁₂ 는 U 또는 <u>dT</u> 또는 <u>dU</u> , n ₁₃ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₁₄ 는 A 또는 <u>dA</u> , n ₁₅ 는 U 또는 <u>dT</u> , n ₁₆ 은 G 또는 <u>dG</u> , n ₁₇ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₁₈ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₁₉ 는 C 또는 <u>dC</u> , n ₂₀ 은 C 또는 <u>dC</u> , n ₂₁ 은 C 또는 <u>dC</u>	
서열 번호		서열	
102	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CU _{n1} n ₂ CGGAn ₃ An ₄ UAn ₅ n ₆ Cn ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ Gn ₁₂ An ₁₃ AAAn ₁₄ n ₁₅ AGn ₁₆ Un ₁₇ Cn ₁₈ n ₁₉ Un ₂₀ n ₂₁ n ₁ is G or <u>dG</u> , n ₂ is U or <u>dT</u> , n ₃ is G or <u>dG</u> , n ₄ is C or <u>dC</u> , n ₅ is C or <u>dC</u> , n ₆ is U or <u>dU</u> , n ₇ is G or <u>dG</u> , n ₈ is U or <u>dT</u> , n ₉ is C or <u>dC</u> , n ₁₀ is G or <u>dG</u> , n ₁₁ is A or <u>dA</u> , n ₁₂ is U or <u>dT</u> or <u>dU</u> , n ₁₃ is G or <u>dG</u> , n ₁₄ is A or <u>dA</u> , n ₁₅ is U or <u>dT</u> , n ₁₆ is G or <u>dG</u> , n ₁₇ is C or <u>dC</u> , n ₁₈ is C or <u>dC</u> , n ₁₉ is C or <u>dC</u> , n ₂₀ is C or <u>dC</u> , n ₂₁ is C or <u>dC</u>	
103	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CU <u>dG</u> UCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
104	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUG <u>dT</u> CGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
105	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGG <u>dG</u> ACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
106	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAG <u>dC</u> UACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	

107	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA <u>dC</u> UCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
108	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUC <u>dG</u> UCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
109	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCG <u>dT</u> CGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
110	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCG <u>dC</u> GAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
111	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCGUC <u>dG</u> AGUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
112	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCGUC <u>dA</u> GUAGAAAUAGGUCCCCUCC	
113	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCGUCGAG <u>dT</u> AGAAAUAGGUCCCCUCC	
114	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGU <u>dG</u> AAAUAGGUCCCCUCC	
115	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAA <u>dA</u> UAGGUCCCCUCC	
서열 번호	내부 참조번호		서열
116		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AA <u>dT</u> AGGUCCCCU CC
117		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAG <u>dG</u> UCCCCU CC
118		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGU <u>dC</u> CCCU CC
119		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGUCC <u>dC</u> CU CC
120		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGUCCC <u>dC</u> U CC
121		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGUCCCC <u>d</u> CC
122		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGUCCCC <u>dC</u>
123		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAGUAGA AAUAGGUCC <u>dC</u> CU <u>dCC</u>
124	226-F2-001-D41- dU20	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUAC <u>dU</u> CGUCG AGUAGAAAUAGGU CC <u>dC</u> UCCCACGG
125	226-F2-001-D41- dU28	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA G <u>dU</u> AGAAAUAGGU CC <u>dC</u> UCCCACGG
126	226-F2-001-D41- dU20-28	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUAC <u>dU</u> CGUCG AG <u>dU</u> AGAAAUAGG UCC <u>dC</u> UCCCACG G
127	226-F2-001- D41/D44-dU20	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUAC <u>dU</u> CGUCG AGUAGAAAUAGGU CC <u>dC</u> CU <u>dC</u> CCACG G

128	226-F2-001-D41/D44-dU28	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUACUCGUCGA G <u>d</u> UAGAAAUAGGU CC <u>d</u> CCU <u>d</u> CCCACG G
129	226-F2-001-D41/D44-dU20-28	L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CCGUGCUGUCGGA GACUAC <u>d</u> UCGUCG AG <u>d</u> UAGAAAUAGG UCC <u>d</u> CCU <u>d</u> CCCAC GG
서열 번호	내부 참조번호		서열
130		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA C <u>d</u> UCGUCGAGUAG AAAUAGGUCC <u>d</u> CC UCC
131		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAG <u>d</u> UAG AAAUAGGUCC <u>d</u> CC UCC
132		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA C <u>d</u> UCGUCGAG <u>d</u> UA GAAAUAGGUCC <u>d</u> C CUCC
133		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA C <u>d</u> UCGUCGAGUAG AAAUAGGUCC <u>d</u> CC U <u>d</u> CC
134		L-RNA/ <u>L-DNA</u>	CUGUCGGAGACUA CUCGUCGAG <u>d</u> UAG AAAUAGGUCC <u>d</u> CC U <u>d</u> CC
135		L-RNA	5' -40kDa-PEG- GGACUGAUGGCGC GGUCCUAUACGC CGAUAGGGUGAGG GGA

도면의 간단한 설명

[0323]

추가적인 특징, 실시형태 및 이점이 선택될 수 있는 도면, 실시예 및 서열 목록을 사용하여 본 발명을 더 설명한다, 여기서:

도 1a 및 도 1b는 본 발명의 CGRP 결합 핵산 분자의 서열의 정렬 및 경쟁 결합 분석법에서의 인간 알파-CGRP에 대한 상대적인 활성을 보여준다;

도 2는 서로 다른 제 1 말단 스트레치 및 제 2 말단 스트레치를 갖는 CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 유도체를 보여준다.

도 3a 내지 도 3d는 표면 플라즈몬 공명 측정법에 의해 결정된, 인간 알파-CGRP에 대한 상대적인 결합 활성 및 K_D 값을 포함하여 CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 유도체를 보여준다.

도 4는 고정화된 인간 알파-CGRP에 대한 CGRP 결합 스피에겔머 226-F2-001 및 226-F2-001-D41의 비아코어 (biacore) 측정에 의한 동력학적 평가(kinetic evaluation)를 보여주는 다이어그램이며, 스피에겔머 226-F2-001 및 226-F2-001-D44에 대한 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.8, 3.9, 1.95 및 0 nM의 데이터는 응답 단위로 표시된다.

도 5는 고정화된 인간 알파-CGRP에 대한 CGRP 결합 스피에겔머 226-F2-001 및 226-F2-001-D44의 비아코어 측정에 의한 동력학적 평가를 보여주는 다이어그램이며, 스피에겔머 226-F2-001 및 226-F2-001-D44의 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.8, 3.9, 1.95 및 0 nM에 대한 데이터는 응답 단위로 표시된다.

도 6은 고정화된 인간 알파-CGRP에 대한 CGRP 결합 스피에겔머 226-F2-001-D41 및 226-F2-001-D41/44의 비아코

어 측정에 의한 동력학적 평가를 보여주는 다이어그램이며, 스피에겔머 226-F2-001-D41 및 226-F2-001-D41/44의 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.8, 3.9, 1.95 및 0 nM에 대한 데이터는 응답 단위로 표시된다.

도 7a는 CGRP 결합 스피에겔머 212-G1-001(블랙 다이아몬드) 및 226-F2-001(블랙 원)에 의한 인간 알파 CGRP 유도 cAMP 생산의 억제력을 보여주는 다이어그램이고, 여기서 a) 웰 당 cAMP의 생성량은 각 데이터 세트의 가장 큰 값으로 표준화되어서 스피에겔머 농도에 대한 퍼센트 활성으로 도시되었고, b) cAMP 생산이 50% 까지 억제되는 스피에겔머 농도(IC₅₀)는 Prism5 소프트웨어를 사용하여 비선형 회귀법(4개의 매개변수 피트(fit))으로 계산되었으며, c) 212-G1-001 및 226-F2-001에 대한 IC₅₀ 값은 각각 8.7 nM 및 3.5 nM이었다.

도 7b는 CGRP 결합 스피에겔머 226-F2-001-5' 40kDa-PEG(블랙 원) 및 NOX-L41(또한, 226-F2-001-D41-5' 40kDa-PEG라고도 함, 블랙 사각형)에 의한 인간 CGRP 유도 cAMP 생산의 억제력을 보여주는 다이어그램이고, 여기서 a) 웰 당 cAMP의 생성량은 각 데이터 세트의 가장 큰 값으로 표준화되어서 스피에겔머 농도에 대한 퍼센트 활성으로 도시되었고, b) cAMP 생산이 50% 까지 억제되는 스피에겔머 농도(IC₅₀)는 Prism5 소프트웨어를 사용하여 비선형 회귀법(4개의 매개변수 피트)으로 계산되었으며, c) 226-F2-001-5' 40kDa-PEG 및 NOX-L41에 대한 IC₅₀ 값은 각각 3.8 nM 및 0.39 nM이었다.

도 8a는 인간 알파-CGRP, 인간 베타-CGRP, 인간 아밀린, 인간 칼시토닌, 인간 아드레노메둘린 및 인간 인터메딘의 아미노산 서열 정렬을 보여준다.

도 8b는 인간, 히말라야 원숭이, 쥐, 생쥐, 미니돼지, 양 및 개의 알파-CGRP의 아미노산 서열 정렬을 보여준다.

도 9는 인간 및 쥐의 CGRP 및 인간 및 쥐의 아밀린의 아미노산 서열 정렬을 보여준다. 인간 CGRO 수용체를 사용하여 체외 분석에 의해 결정된 IC₅₀ 값 및 CGRP 결합 스피에겔머 NOX-L41(또한, 226-F2-001-D41-5' 40kDa-PEG라고도 함) 및 226-F2-001-D41에 대한 동력학적 비아코어 측정에 의해 결정된 해리 상수 K_D.

도 10은 CGRP 결합 스피에겔머 NOX-L41(또한, 226-F2-001-D41-5' 40kDa-PEG라고도 함, 블랙 사각형) 및 아밀린 결합 제어 스피에겔머(블랙 삼각형)에 의한 인간 아밀린 유도 cAMP 생산의 억제력을 보여주는 다이어그램이며, 웰 당 cAMP의 생성량은 각 데이터 세트의 가장 큰 값으로 표준화되어서 스피에겔머 농도에 대한 퍼센트 활성으로 도시되었다.

도 11a 및 도 11b는 본 발명에 따른 핵산 분자를 구성하는 2' 테옥시리보뉴클레오타이드를 보여준다.

도 12 는 본 발명에 따른 핵산 분자를 구성하는 리보뉴클레오타이드를 보여준다.

도 13은 고정화된 인간 CGRP에 대한 CGRP 결합 스피에겔머 226-F2-001-D41, 226-F2-001-D41-dU20 및 226-F2-001-D41-dU28의 비아코어 측정에 의한 동력학적 평가를 보여주는 다이어그램이며, 스피에겔머 226-F2-001-D41, 226-F2-001-D41-dU20 및 226-F2-001-D41-dU28의 500-250-125-62.5-31.3-15.6-7.8(2x)-3.9-1.95-0.98-0.48-0 nM에 대한 데이터는 응답 단위로 표시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실시예 1: CGRP에 특이적으로 결합할 수 있는 핵산 분자

여러 개의 CGRP 결합 핵산 분자 및 이의 유도체가 확인되었다: 이의 뉴클레오타이드 서열을 도 1 내지 도 3에 나타내었다. 인간의 알파-CGRP에 대한 CGRP 결합 핵산 분자의 결합 친화도 및 인간의 알파-CGRP와 CGRP 수용체의 상호작용에 관한 이들의 길항 기능은,

a) 앵타머, 즉 비교 경쟁 풀-다운(pull-down) 분석법(실시예 3)을 사용하는 D-핵산 분자,

b) 스피에겔머, 즉 표면 플라즈몬 공명 측정법(실시예 4)에 의한, 그리고 인간의 CGRP 수용체를 발현하는 세포를 사용하는 체외 분석법(실시예 5)에 의한 L-핵산으로 특징지어졌다.

스피에겔머 및 앵타머는 실시예 2에 기재된 바와 같이 합성하였다.

그와 같이 생성된 핵산 분자는 약간 상이한 서열을 나타내며, 서열은 서열 집단(sequence family)으로 요약하거나 그룹화할 수 있다.

리보뉴클레오타이드 서열 모티프(motif)의 정의를 위해, 여러 가지 뉴클레오타이드에 대해 IUPAC 약어를 사용한다:

- [0331] S 강함 G 또는 C;
- [0332] W 약함 A 또는 U;
- [0333] R 퓨린 G 또는 A;
- [0334] Y 피리미딘 C 또는 U;
- [0335] K 케토 G 또는 U;
- [0336] M 이미노 A 또는 C;
- [0337] B A 아님 C 또는 U 또는 G;
- [0338] D C 아님 A 또는 G 또는 U;
- [0339] H G 아님 A 또는 C 또는 U;
- [0340] V U 아님 A 또는 C 또는 G;
- [0341] N 모두 A 또는 G 또는 C 또는 U.
- [0342] 2'-데옥시리보뉴클레오타이드와 리보뉴클레오타이드의 차별화를 위해, 다음과 같은 약어를 사용한다:
- [0343] 2'-데옥시리보뉴클레오타이드에 대해서: dG, dC, dT, dA 및 dU(도 11a 및 도 11b 참조).
- [0344] 리보뉴클레오타이드에 대해서: G, C, T, U(도 12 참조).
- [0345] 달리 지시되지 않으면, 모든 핵산 서열 또는 스트레치의 서열은 각각 5' → 3' 방향으로 표시한다.
- [0346] 도 1 내지 도 3에 도시된 바와 같이, CGRP 결합 핵산 분자는 잠재적인 CGRP 결합 모티프를 정의하는 뉴클레오타이드의 하나의 중앙 스트레치를 포함하며, 도 1(도 1a 및 도 1b)은 서열 집단의 상이한 서열을 나타내며, 도 2 및 도 3은 핵산 분자 226-F2-001의 유도체를 나타낸다.
- [0347] 일반적으로, CGRP 결합 핵산 분자는 5'-말단 및 3'-말단에 뉴클레오타이드의 말단 스트레치, 즉, 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치를 포함한다. 상기 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 서로 혼성화할 수 있으며, 혼성화 시에, 이중 가닥 구조를 형성한다. 그러나 이러한 혼성화가 생체 내 및/또는 체외에서 반드시 분자에 주어지는 것은 아니다.
- [0348] CGRP 결합 핵산 분자의 뉴클레오타이드의 세 가지 스트레치, 즉 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' → 3' 방향, 즉 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치-뉴클레오타이드의 중앙 스트레치-뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치 순으로 서로 배열한다. 그러나, 대안적으로, 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' → 3' 방향, 즉 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치-뉴클레오타이드의 중앙 스트레치-뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치 순으로 서로 배열한다.
- [0349] 정의된 스트레치의 서열은 CGRP, 바람직하게 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도에 영향을 미치는 CGRP 결합 핵산 분자들 사이에서 서로 다를 수 있다. 상이한 CGRP 결합 핵산 분자의 결합 분석에 따르면, 다음에 기재된 바와 같이 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치 및 이의 뉴클레오타이드 서열은 개별적으로 그리고 더욱 바람직하게는 전부가 CGRP, 바람직하게 인간의 알파-CGRP에 대한 결합을 위해 필수적이다.
- [0350] 도 1a 및 도 1b에 도시된 바와 같이 본 발명에 따른 CGRP 결합 핵산 분자는 리보뉴클레오타이드로 구성된다. CGRP 결합 핵산 분자 212-G1-001은 인간의 알파-CGRP에 대해 5.12nM의 K_D (플라즈몬 공명 측정에 의해 결정, 실시예 4 참조)를 갖는 결합 친화도를 갖는다. CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001, 212-F1-001, 224-B2-001, 224-E1-001, 226-A2-002, 226-A3-001, 226-G2-002, 226-G1-002, 226-C2-002, 226-E1-002, 226-F1-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-G2-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-D1-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-B3-001, 231-A2-001, 231-E2-001 및 231-H2-001을 CGRP 결합 핵산 212-G1-001에 대한 비교 경쟁 풀-다운 분석법으로 인간의 알파-CGRP에 결합하는 이들의 능력에 대해 테스트하였다(실시예 3, 도 1a 및 도 1b 참조).
- [0351] CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001, 226-A3-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-A2-001 및 231-E2-001은 212-G1-001보다 더 나은 결합 친화도를 보였다. CGRP 결합 핵산 분자 212-F1-001, 224-B2-001, 224-E1-001 및 226-F1-001은 212-G1-001과 유사한 결합 친화도를 보였다.

CGRP 결합 핵산 분자 226-A2-002, 226-G2-002, 226-C2-002, 226-E1-002, 231-G2-001, 231-D1-001, 231-B3-001 및 231-H2-001은 212-G1-001보다 약한 결합 친화도를 보였다(도 1a 및 도 1b).

- [0352] CGRP 결합 핵산 분자 212-G1-001, 226-F2-001, 212-F1-001, 224-B2-001, 224-E1-001, 226-A2-002, 226-A3-001, 226-G2-002, 226-C2-002, 226-E1-002, 226-F1-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-G2-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-D1-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-B3-001, 231-A2-001, 231-E2-001 및 231-H2-001은 리보뉴클레오티드로 이루어지며, 서열 5' HWRUYGGAKACUMMBYNYNRVKKRGADAUARRUYCCBUCC 3' [서열 번호 95]를 공유한다.
- [0353] CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001, 212-F1-001, 224-B2-001, 224-E1-001, 226-A3-001, 226-F1-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-A2-001 및 231-E2-001은 212-G1-001은 인간의 알파-CGRP에 대해 212-G1-001 과 유사하거나 또는 더 나은 결합 친화도를 보였으며, 서열 5' CUGUYGGAGACUMMBDYHRVKKAGADAUAGGUCCCUCC 3' [서열 번호 96]를 공유한다.
- [0354] CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001, 226-A3-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-A2-001 및 231-E2-001은 인간의 알파-CGRP에 대한 최고의 결합 친화도를 보였으며, 서열 5' CUGUCGGAGACUACUCRYHGRGUAGAAUAGGUCCCUCC 3' [서열 번호 97]를 공유하고, 서열 5' CUGUCGGAGACUACUCGUGAGUAGAAUAGGUCCCUCC 3' [서열 번호 98]는 이의 바람직한 실시형태이다.
- [0355] 본 발명자들은 놀랍게도, 뉴클레오티드의 제 1 및 제 2 말단 스트레치 및 뉴클레오티드의 중앙 스트레치의 서열 내에서 리보뉴클레오티드를 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 대체함으로써 인간의 알파-CGRP에 대한 CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 결합 친화도가 향상된다는 것을 발견하였다. 특히, CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001에서 최대 두 개의 리보뉴클레오티드를 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 대체하면, 플라즈몬 공명 측정법(프로토콜은 실시예 4 참조)에 의해 결정된 바와 같이 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도가 향상된다. 보다 상세하게, 발명자들은
- [0356] a) CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 뉴클레오티드의 중앙 스트레치의 3, 4, 9, 11, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 28, 29, 32, 34, 36, 37, 39 및 40 위치에서 하나의 리보뉴클레오티드를 하나의 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하면, CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 결합 친화도에 비해 인간의 CGRP에 대한 결합 친화도가 향상되고(도 3a, 도 3b, 도 3c 및 도 3d 참조; 스피에겔머 226-F2-001-D08, 226-F2-001-D09, 226-F2-001-D14, 226-F2-001-D16, 226-F2-001-D19, 226-F2-001-D22, 226-F2-001-D23, 226-F2-001-D24, 226-F2-001-D25, 226-F2-001-D26, 226-F2-001-D28, 226-F2-001-D30, 226-F2-001-D33, 226-F2-001-D34, 226-F2-001-D37, 226-F2-001-D39, 226-F2-001-D41, 226-F2-001-D42, 226-F2-001-D44, 226-F2-001-D45, 226-F2-001-dU-20 및 226-F2-001-dU-28);
- [0357] b) CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치의 3 또는 5 위치에서 하나의 리보뉴클레오티드를 하나의 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하면, CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 결합 친화도에 비해 인간의 CGRP에 대한 결합 친화도가 향상되고(도 3a 참조; 스피에겔머 226-F2-001-D03 및 226-F2-011-D05);
- [0358] c) CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치의 임의의 위치에서 하나의 리보뉴클레오티드를 하나의 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하면, CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 결합 친화도에 비해 인간의 CGRP에 대한 결합 친화도가 향상되고(도 3a 및 도 3c 참조; 스피에겔머 226-F2-001-D46, 226-F2-001-D47, 226-F2-001-D48, 226-F2-001-D49, 226-F2-001-D50);
- [0359] d) CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 뉴클레오티드의 중앙 스트레치의 36 및 39, 36 및 15, 또는 36 및 23 위치에서 두 개의 리보뉴클레오티드를 두 개의 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하면, CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 결합 친화도에 비해 인간의 CGRP에 대한 결합 친화도가 향상되고(도 3a, 도 3c 및 도 3d 참조; 스피에겔머 226-F2-001-D41/44, 226-F2-001-D41-dU-20 및 226-F2-001-D41-dU28);
- [0360] e) CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 뉴클레오티드의 중앙 스트레치의 36, 39 및 15 또는 36, 39 및 23 위치에서 3 개의 리보뉴클레오티드를 3 개의 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하면, CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001의 결합 친화도에 비해 인간의 CGRP에 대한 결합 친화도가 향상되는(도 3d 참조; 스피에겔머 226-F2-001-D41/D44-dU20, 226-F2-001-D41/D44-dU28) 것을 발견하였다.
- [0361] CGRP 결합 핵산 분자의 뉴클레오티드의 중앙 스트레치의 여러 위치에서 리보뉴클레오티드를 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하면 인간의 알파-CGRP에 대한 결합이 향상된다는 것을 보여주는 데이터를 기반으로 하면, 테스트

트된 모든 CGRP 결합 핵산 분자의 중앙 스트레치는 다음의 일반식

- [0362] 5' HW_{n1}n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Yn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂Rn₁₃ADn₁₄n₁₅ARn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 99]로 요약될 수 있으며,
- [0363] 여기서 H, W, Y, G, A, U, M, B, K, R, D 및 C는 리보뉴클레오티드이며,
- [0364] n₁은 R 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 K 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 M 또는 dC, n₆은 B 또는 dU, n₇은 N 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 N 또는 dC, n₁₀은 R 또는 dG, n₁₁은 V 또는 dA, n₁₂는 K 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 R 또는 dG, n₁₇은 Y 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 B 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며,
- [0365] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0366] 일반식 5' CUn₁n₂YGGAn₃An₄UMn₅n₆Bn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Kn₁₂An₁₃ADn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 100]는 CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001 및 인간의 알파-CGRP에 대해 212-G1-001과 유사한 또는 212-G1-001 보다 나은 결합 친화도를 보여주는 이들의 유도체 212-F1-001, 224-B2-001, 224-E1-001, 226-A3-001, 226-F1-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-A2-00 및 231-E2-001의 중앙 스트레치의 서열을 요약하며,
- [0367] C, U, Y, G, A, M, B, Y, H, K, D, R 및 V는 리보뉴클레오티드이며,
- [0368] n₁은 G 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 G 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 M 또는 dC, n₆은 B 또는 dU, n₇은 D 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 H 또는 dC, n₁₀은 R 또는 dG, n₁₁은 V 또는 dA, n₁₂는 K 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 G 또는 dG, n₁₇은 Y 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 C 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며,
- [0369] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0370] 일반식 5' CUn₁n₂CGGAn₃An₄UAn₅n₆Cn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Gn₁₂An₁₃AAAn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 101]는 CGRP에 대한 가장 좋은 결합 친화도를 갖는 CGRP 결합 핵산 분자(스피에겔머 226-F2-001 및 이들의 유도체 및 스피에겔머 226-A3-001, 226-C3-001, 231-A1-001, 231-C1-001, 231-C2-001, 231-F1-001, 231-E1-001, 231-A2-001 및 231-E2-001)의 중앙 스트레치의 서열을 요약하며,
- [0371] C, U, Y, G, A, H 및 R은 리보뉴클레오티드이며,
- [0372] n₁은 G 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 G 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 C 또는 dC, n₆은 U 또는 dU, n₇은 R 또는 dG, n₈은 Y 또는 dT, n₉는 H 또는 dC, n₁₀은 G 또는 dG, n₁₁은 R 또는 dA, n₁₂는 U 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 G 또는 dG, n₁₇은 C 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 C 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며,
- [0373] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이다.
- [0374] 뉴클레오티드의 중앙 스트레치의 여러 위치에서 리보뉴클레오티드를 2'-데옥시리보뉴클레오티드로 교체하는 것으로 인해, 226-F2-001에 비해 CGRP에 대한 결합이 향상된다는 것을 보여주는, CGRP 결합 핵산 226-F2-001 및 그 유도체의 뉴클레오티드의 중앙 스트레치는 다음의 일반식
- [0375] 5' CUn₁n₂CGGAn₃An₄UAn₅n₆Cn₇n₈n₉n₁₀n₁₁Gn₁₂An₁₃AAAn₁₄n₁₅AGn₁₆Un₁₇Cn₁₈n₁₉Un₂₀n₂₁ 3' [서열 번호 102]로 요약될 수 있으며,
- [0376] 여기서 C, U, G 및 A는 리보뉴클레오티드이며,
- [0377] n₁은 G 또는 dG, n₂는 U 또는 dT, n₃은 G 또는 dG, n₄는 C 또는 dC, n₅는 C 또는 dC, n₆은 U 또는 dU, n₇은 G 또는 dG, n₈은 U 또는 dT, n₉는 C 또는 dC, n₁₀은 G 또는 dG, n₁₁은 A 또는 dA, n₁₂는 U 또는 dT 또는 dU, n₁₃은 G 또는 dG, n₁₄는 A 또는 dA, n₁₅는 U 또는 dT, n₁₆은 G 또는 dG, n₁₇은 C 또는 dC, n₁₈은 C 또는 dC, n₁₉는 C 또는 dC, n₂₀은 C 또는 dC, n₂₁은 C 또는 dC이며,

- [0378] dG, dT, dC, dA 및 dU는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드이며,
- [0379] 바람직한 실시형태에서, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는 서열
- [0380] (1) 5' CUdGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 103],
- [0381] (2) 5' CUGdTCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 104],
- [0382] (3) 5' CUGUCGGAGdGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 105],
- [0383] (4) 5' CUGUCGGAGAGdCUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 106],
- [0384] (5) 5' CUGUCGGAGACUAdCUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 107],
- [0385] (6) 5' CUGUCGGAGACUACUCdGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 108],
- [0386] (7) 5' CUGUCGGAGACUACUCGdTCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 109],
- [0387] (8) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUdCGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 110],
- [0388] (9) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCdGAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 111],
- [0389] (10) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGdAGUAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 112],
- [0390] (11) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdTAGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 113],
- [0391] (12) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUdGAAAUAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 114],
- [0392] (13) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAdAAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 115],
- [0393] (14) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAdTAGGUCCCCUCC 3' [서열 번호 116],
- [0394] (15) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGdGUCCCCUCC 3' [서열 번호 117],
- [0395] (16) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUdCCCCCUCC 3' [서열 번호 118],
- [0396] (17) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 119],
- [0397] (18) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCdCUCC 3' [서열 번호 120],
- [0398] (19) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCdC 3' [서열 번호 121],
- [0399] (20) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCCCdC 3' [서열 번호 122],
- [0400] (21) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUdC 3' [서열 번호 123],
- [0401] (22) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 130],
- [0402] (23) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 131],
- [0403] (24) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' [서열 번호 132],
- [0404] (25) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCudC 3' [서열 번호 133],
- [0405] (26) 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCudC 3' [서열 번호 134],
- [0406] (27) 5' CUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCudC 3' [서열 번호 90]을 포함하고,
- [0407] 더욱 바람직한 실시형태에서, 뉴클레오타이드의 중앙 스트레치는 서열
- [0408] 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' (스피에겔머 226-F2-001-D41, [서열 번호 119] 참조), 또는
- [0409] 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCudC 3' (스피에겔머 226-F2-001-D41/44, [서열 번호 123] 참조), 또는
- [0410] 5' CUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCC 3' (스피에겔머 226-F2-001-D41-dU28, [서열 번호 131] 참조)를 포함한다.
- [0411] 본 발명의 CGRP 결합 핵산 분자의 제 1 및 제 2 말단 스트레치는 4개, 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드를 포함하며(도 1 내지 도 3), 상기 스트레치는 선택적으로 서로 혼성화하며, 혼성화 시에 이중 가닥 구조를 형성한

다. 이러한 이중 가닥 구조는 1개 내지 7개의 염기쌍으로 이루어질 수 있다. 그러나, 이러한 혼성화가 생체 내 및 체외에서 반드시 분자에 주어지는 것은 아니다.

- [0412] 테스트된 모든 CGRP 결합 핵산 분자의 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치 및 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치를 분석한 결과에 따르면, 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치에 대한 일반식은 5' $Z_1Z_2Z_3SZ_4WZ_5$ 3'이고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치에 대한 일반식은 5' $Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}Z_{11}Z_{12}$ 3'이며,
- [0413] Z_1 은 S 또는 존재하지 않고, Z_2 는 V 또는 존재하지 않고, Z_3 은 B 또는 존재하지 않고, Z_4 는 V 또는 dG, Z_5 는 G 또는 dG, Z_6 은 Y 또는 dC, Z_7 은 W 또는 dA, Z_8 은 B 또는 dC, Z_9 는 S 또는 dG, Z_{10} 은 S 또는 dG 또는 존재하지 않고, Z_{11} 은 B 또는 존재하지 않고, Z_{12} 는 K 또는 존재하지 않으며, 및
- [0414] S, W, V, B, Y 및 K는 리보뉴클레오티드이며, 및
- [0415] dG, dC 및 dA는 2'-데옥시리보뉴클레오티드이며,
- [0416] 바람직한 실시형태에서,
- [0417] a) Z_1 은 S, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 K이고,
- [0418] b) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 K이고,
- [0419] c) Z_1 은 S, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않고,
- [0420] d) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않고,
- [0421] e) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 B, Z_{12} 는 존재하지 않고,
- [0422] f) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 V, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고,
- [0423] g) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고,
- [0424] h) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 존재하지 않고, Z_{10} 은 S 또는 dG, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않고,
- [0425] i) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 B, Z_{10} 은 존재하지 않고, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않거나, 또는
- [0426] j) Z_1 은 존재하지 않고, Z_2 는 존재하지 않고, Z_3 은 존재하지 않고, Z_{10} 은 존재하지 않고, Z_{11} 은 존재하지 않고, Z_{12} 는 존재하지 않는다.
- [0427] 리보뉴클레오티드로 이루어진 제 1 및 제 2 말단 스트레치를 포함하는 CGRP 결합 핵산 분자는 다음과 같은 제 1 및 제 2 말단 스트레치의 조합을 포함한다:
- [0428] a) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' CACCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0429] b) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GGCCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGCU 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0430] c) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GUCAUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0431] d) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCAUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAUGGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는
- [0432] e) 뉴클레오티드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCGUG 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 뉴클레오티드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGC 3'의 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 또는

- [0433] f) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0434] g) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0435] h) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GGGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACCC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0436] i) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCCUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAGGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0437] j) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0438] k) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' UACG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0439] l) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' GCAG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CUGC 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0440] 리보뉴클레오타이드 및 2'-데옥시뉴클레오타이드로 이루어진 제 1 및 제 2 말단 스트레치를 포함하는 CGRP 결합 핵산 분자는 다음과 같은 제 1 및 제 2 말단 스트레치의 조합을 포함한다:
- [0441] 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCZ₄UZ₅ 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' Z₆Z₇Z₈Z₉Z₁₀ 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 또는
- [0442] 여기서 C, G, A 및 U는 리보뉴클레오타이드이고, 및
- [0443] Z₄는 G 또는 dG, Z₅는 G 또는 dG, Z₆은 C 또는 dC, Z₇은 A 또는 dA, Z₈은 C 또는 dC, Z₉는 G 또는 dG, Z₁₀은 G 또는 dG이며,
- [0444] dC, dG 및 dA는 2'-데옥시리보뉴클레오타이드이며,
- [0445] 바람직한 실시형태에서,
- [0446] a) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0447] b) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCdGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0448] c) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUdG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0449] d) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' dCACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0450] e) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CdACGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0451] f) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAdCGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0452] g) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CAdGG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 또는
- [0453] h) 뉴클레오타이드의 제 1 말단 스트레치는 5' CCGUG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 뉴클레오타이드의 제 2 말단 스트레치는 5' CACGdG 3'의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0454] K₀로 표현되는, 인간의 알파-CGRP에 대한 CGRP 결합 스피에겔머 212-G1-001, 226-F2-001, 226-F2-001-D41, 226-F2-001-D44, 226-F2-001-D41/D44 및 226-F2-001-D41-dU28의 결합 친화도는 플라즈몬 공명 측정법에 의해

결정하였다(실시예 4, 도 4, 도 5, 도 6 및 도 13):

- [0455] 212-G1-001: 5.12 nM의 K_D ,
- [0456] 226-F2-001: 2.62 nM의 K_D ,
- [0457] 226-F2-001-D41: 0.55 nM의 K_D ,
- [0458] 226-F2-001-D44: 0.52 nM의 K_D ,
- [0459] 226-F2-001-D41/D44: 0.2 nM의 K_D ,
- [0460] 226-F2-001-D41-dU28: 0.07 nM의 K_D ,
- [0461] 226-F2-001-D41-dU28: 0.21 nM의 K_D .
- [0462] CGRP 결합 분자 212-G1-001 및 226-F2-001은 뉴클레오티드의 동일한 중앙 스트레치를 공유한다(도 1a 참조). 친화도 측정에 의해 도식된 바와 같이(상기 참조), 4개의 뉴클레오티드(212-G1-001 참조) 대신에 5개의 뉴클레오티드(226-F2-001 참조)를 가진 제 1 및 제 2 말단 스트레치는 인간의 CCRP에 대한 결합 친화도의 상당한 향상으로 이어졌다.
- [0463] 또한, 상기 및 도 4, 도 5 및 도 6에 도식된 바와 같이, CGRP 결합 분자 226-F2-001에서 2'-테옥시리보뉴클레오티드(들)에 의한 하나의 리보뉴클레오티드(226-F2-001-D41 및 226-F2-001-D44 참조) 또는 두 개의 리보뉴클레오티드(들)(226-F2-001-D41/D44 참조)의 교체는 인간의 알파-CGRP에 대한 결합 친화도의 상당한 향상으로 이어졌다.
- [0464] 일반적으로, 스피에겔머는 생체 내에서의 이들의 사용을 위해 PEG 모이어티로 변형된다. CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001 및 226-F2-001-D41은 그 5'-말단에 아미노기를 포함하는 스피에겔머로서 합성되었다. 상기 아미노 변형 스피에겔머에 대해, CGRP 결합 스피에겔머 226-F2-001-5'-40kDa-PEG 및 226-F2-001-D41-40kDa-PEG(또한 NOX-L41라고도 함)로 이어지도록 40kDa PEG 모이어티가 결합된다. 스피에겔머의 합성 및 PEG화는 실시예 2에서 설명한다. CGRP 결합 핵산 분자 226-F2-001 및 226-F2-001-D41의 PEG 변형은 스피에겔머의 결합 및 기능의 영향이 없었다(아래 참조).
- [0465] CGRP 결합 분자 212-G1-001, 226-F2-001, 226-F2-001-5'-40kDa-PEG 및 226-F2-001-D41-5'-40kDa-PEG(또한 NOX-L41라고도 함)는 다음과 같은 IC_{50} 을 가지고 체외에서 이의 수용체에 대한 인간의 CGRP의 기능을 길항할 수 있다(실시예 5, 도 7a 및 도 7b):
- [0466] 212-G1-001: 8.7 nM의 IC_{50} ,
- [0467] 226-F2-001: 3.5 nM의 IC_{50} ,
- [0468] 226-F2-001-5' 40kDaPEG: 3.8 nM의 IC_{50} ,
- [0469] 226-F2-001-D41-5' 40kDa-PEG: 0.39 nM의 IC_{50} .
- [0470] 친화도 측정에 따라서(위 참조), 4개의 뉴클레오티드(212-G1-001 참조) 대신에 5개의 뉴클레오티드(226-F2-001 참조)를 가진 제 1 및 제 2 말단 스트레치는 인간의 알파-CGRP의 기능의 상당히 강한 억제제를 유도했다(도 7a).
- [0471] 또한, 상기 및 도 7b에 도식된 바와 같이, 2'-테옥시리보뉴클레오티드(226-F2-001-5' 40kDa-PEG 및 NOX-L41, 또한 226-F2-001-D41-5' 40kDa-PEG라고도 함)에 의한 하나의 리보뉴클레오티드의 교체는 인간의 알파-CGRP의 기능의 상당히 강한 억제제를 유도했다(도 7b 참조).
- [0472] **실시예 2: 앵타머 및 스피에겔머의 합성 및 유도체화**
- [0473] **소규모의 합성**
- [0474] 표준 엑소사이클릭 아민 보호기를 갖는 2'TBDMS RNA 및 DNA 포스포라미다이트 화학(Damha and Ogilvie, 1993)

을 사용하여 ABI 394 합성기(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 고체상 합성에 의해 앱타머(β -RNA 핵산 또는 β -DNA 변형 β -RNA 핵산) 및 스피에겔머(β -RNA 핵산 또는 β -DNA 변형 β -RNA 핵산)를 생성하였다. 올리고뉴클레오타이드의 RNA 부분에 대해, β - 및 β -구성에서 rA(N-Bz)-, rC(N-Ac)-, rG(N-ibu)- 및 rU- 포스포라미다이트를 사용하였으며, 반면에 DNA 부분에 대해서는 β - 및 β -구성에서 dA(N-Bz)-, dC(N-Ac)-, dG(N-ibu)-, dT 및 dU를 적용하였다. 모든 포스포라미다이트는 ChemGenes(Wilmington, MA)에서 구입하였다. 합성 및 탈 보호(deprotection)후, 앱타머 및 스피에겔머를 겔 전기영동에 의해 정제하였다.

[0475] **대규모의 합성 및 변형**

[0476] 스피에겔머를 표준 엑소사이클릭 아민 보호기를 갖는 2'TBDMS RNA 및 DNA 포스포라미다이트 화학(Damha and Ogilvie, 1993)을 사용하여 AktaPilot100 합성기(GE Healthcare, Freiburg)로 고체상 합성에 의해 생성하였다. β -rA(N-Bz)-, β -rC(N-Ac)-, β -rG(N-ibu)-, β -rU-, β -dA(N-Bz)-, β -dC(N-Ac)-, β -dG(N-ibu)- 및 β -dT- 포스포라미다이트는 ChemGenes(Wilmington, MA)에서 구입하였다. 5'-아미노-변형자(modifier)는 American International Chemicals Inc.(Framingham, MA, USA)에서 구입하였다. 변형되지 않은 또는 5'-아미노 변형 스피에겔머의 합성은 기공 크기 1000 Å(Link Technology, Glasgow, UK)의 β -riboA, β -riboC, β -riboG, β -riboU, β -2'deoxyA, β -2'deoxyC, β -2'deoxyG, 또는 β -2'deoxyT 변형된 CPG 상에서 개시하였다. RNA 및 DNA 포스포라미다이트(사이클 당 15분)의 결합을 위해, 아세토니트릴에서의 0.3 M 벤질티오테트라졸(CMS-Chemicals, Abingdon, UK) 및 아세토니트릴에서의 각각의 0.2M 포스포라미다이트 용액의 2 당량을 사용하였다. 산화-캐핑 사이클을 사용하였다. 또한, 올리고뉴클레오타이드 합성을 위한 표준 용액 및 시약은 Biosolve(Valkenswaard, NL)에서 구입하였다. 스피에겔머를 DMT-ON 합성하였다; 탈보호 후, 스피에겔머를 Source15RPC 배지(Amersham)를 사용하여 조제용 RP-HPLC(Wincott et al., 1995)를 통해 정제하였다. 5' DMT-작용기는 80% 아세트산(실온에서 30분)으로 제거하였다. 5' 아미노 변형 스피에겔머의 경우에, 5' MMT-작용기는 80% 아세트산(실온에서 90분)으로 제거하였다. 그 후, 2 M NaOAc 수용액을 첨가하였고, 5K 재생 셀룰로오스 멤브레인(Millipore, Bedford, MA)을 사용하여 접선 유동 여과법(tangential-flow filtration)으로 스피에겔머를 탈염시켰다.

[0477] **스피에겔머의 PEG화**

[0478] 생체 내에서 스피에겔머의 혈장 체류 시간을 연장하기 위해, 40 kDa의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티를 스피에겔머의 5'-말단에서 공유 결합시켰다.

[0479] PEG화(PEG화에 대한 방법의 기술적 상세 설명은 유럽 특허 출원 EP 1,306, 382 참조)를 위해, 정제된 5'-아미노 변형 스피에겔머를 H₂O(2.5 ml), DMF(5 ml) 및 완충액 A(5 ml; 구연산·H₂O[7 g], 붕산[3.54 g], 인산[2.26 ml] 및 1 M NaOH[343 ml]를 혼합하고, 최종 부피가 1L가 될 때까지 물을 첨가하여 제조, pH=8은 1M HCl로 조절하였다)의 혼합물에 용해시켰다.

[0480] 스피에겔머 용액의 pH는 1 M NaOH를 사용하여 8.4로 조절하였다. 이후, 75 내지 85%의 최대 수율에 도달할 때까지, 40 kDa PEG-NHS 에스테르(Jenkem Technology, Allen, TX, USA)를 0.25 당량의 6개의 부분으로 37 °C에서 매 30분마다 첨가하였다. 반응 혼합물의 pH를 PEG-NHS 에스테르를 첨가하는 동안 1M NaOH를 사용하여 8 내지 8.5로 유지하였다. 반응 혼합물을 4ml의 요소 용액(8 M) 및 4ml의 완충액 B(H₂O에서의 0.1 M 트리에틸암모늄아세테이트)와 혼합하여, 15분 동안 95 °C로 가열하였다. 이후, PEG화된 스피에겔머를 아세토니트릴 구배(gradient)(완충액 B; 완충액 C: 아세토니트릴에서의 0.1 M 트리에틸암모늄아세테이트)를 사용하여, 소스 15RPC 배지(Amersham)로 RP-HPLC에 의해 정제하였다. 초과 PEG는 5%의 완충액 C에서, PEG화된 스피에겔머는 10-15%의 완충액 C에서 용출하였다. (HPLC에 의해 평가된 바와 같이) >95%의 순도를 가진 생성물 일부를 40 ml의 3 M NaOAc와 결합시키고 혼합하였다. PEG화된 스피에겔머를 접선 유동 여과(5K 재생 셀룰로오스 멤브레인, Millipore, Bedford MA)에 의해 탈염시켰다.

[0481] **실시예 3: 경쟁적 폴-다운 결합 분석에 의한 β -알파-CGRP 결합 앱타머의 순위**

[0482] 폴-다운 결합 분석법을 상이한 테스트 앵타머의 집합의 비교 순위를 위해 사용하였다. 이를 위해, 비-표지된 앵타머를 바이오티닐화된 β -CGRP에 결합하기 위해 표지된 기준 앵타머와 경쟁시켜, β -CGRP에 대한 테스트 앵타머의 친화도에 따른 결합 신호를 감소시켰다. 기준 앵타머를 400000 - 800000 cpm/pmol의 비 방사능에 [γ - 32 P]-표지된 ATP(Hartmann Analytic, Braunschweig, Germany)를 사용하여 T4 폴리뉴클레오타이드 키나아제에 의해 5'-말단에 방사성 표지하였다(Invitrogen, Karlsruhe, Germany). 결합 반응은 360 μ l의 선택 완충액(pH 7.4의 Tris-HCl 20 mM; 150 mM NaCl; 5 mM의 KCl; 1 mM MgCl₂; 1 mM CaCl₂; 0.1% [w/vol]의 Tween-20; 10 μ g/ml의 HSA; 10 μ g/ml의 이스트 RNA)에서 10 - 20 nM의 일정량의 바이오티닐화된 β -CGRP와 함께 방사성 표지된 기준 앵타머 150 pM를 사용하여 2-4시간 동안 37 °C에서 수행하였다. 이들 조건은 뉴트라아비딘(NeutralAvidin) 아가로오스 또는 스트렙타비딘 울트라링크 플러스(Streptavidin Ultralink Plus)(둘 모두 Pierce Biotechnology, Rockford, USA에서 구입)에서 고정화 및 세척 후에 바이오티닐화된 β -CGRP에 대해 약 5-10%의 기준 앵타머의 결합을 유도했다. 경쟁을 위해, 결합 반응에 일정량의 표지된 기준 앵타머와 함께 비-표지된 테스트 앵타머를 5 nM, 50 nM 및 500 nM 첨가하였다. 결합의 경쟁, 고정화, 적절한 세척 및 신틸레이션 카운터(scintillation counter)를 사용하여 고정화된 방사능을 확인한 후에, 가장 좋은 활성을 보인 앵타머를 추가 앵타머 변종의 비교 분석을 위한 새로운 기준으로서 사용하였다. 결과를 도 1a 및 도 1b에 나타냈다.

[0483] 실시예 4: CGRP 및 관련 펩타이드에 대한 스피에겔머 결합의 비아코어 측정

[0484] 비아 코어 분석법 준비

[0485] 인간의 CGRP 및 관련 펩타이드를 0.4M EDC(H₂O에서의 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보다이미드, GE, BR-1000-50) 및 0.1M NHS(H₂O에서의 N-히드록시숙신이미드; GE, BR-1000-50)의 1:1 혼합물을 사용하여, 카르복시메틸화된(CM) 텍스트란 코팅된 센서 칩에 아민 커플링 절차에 의해 고정화하였다. 동일한 센서 칩에 대한 기준 유세포(reference flow cell)는 비오틴으로 차단하였다.

[0486] 일반 동력학적 평가

[0487] CGRP 결합 스피에겔머를 100 μ m의 스톱 농도(260 nm에서의 흡수 측정에 의해 정량화)로 물에 용해시키고, 수조 또는 온도조절 믹서에서 30초 동안 95 °C까지 가열하고, 얼음에서 급속 냉각하여 균일하게 용해된 용액을 확인하였다.

[0488] 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.8, 3.9, 1.95 및 0 nM의 농도 또는 러닝(running) 완충액으로 희석된 500-250-125-62.5-31.3-15.6-7.8(2x)-3.9-1.95-0.98-0.48-0 nM의 농도에서 일련의 스피에겔머 주입에 의해 동력학적 매개변수 및 해리 상수를 평가하였다. 모든 실험에서, 분석은 30 μ l/분의 유량으로 240초 내지 360초의 결합 시간 및 240초 내지 360초의 해리 시간을 정의하는 킨젝트 명령(Kinject command)을 사용하여 37 °C에서 수행하였다. 분석을 두 번 참조하였고, FC1을 (차단된) 표면 대조(각 스피에겔머 농도의 벌크 기여)로 사용하였으며, 분해물질이 없는 일련의 완충액 주입으로 완충액 자체의 벌크 기여를 확인하였다. 데이터 분석 및 해리 상수 K_D 의 계산은 변형된 랭뮤어 1:1 화학양론적 피팅 알고리즘을 사용하는 BIAevaluation 3.1.1 소프트웨어(BIACORE AB, Uppsala, Sweden)로 수행하였다.

[0489] 데이터 분석 및 해리 상수 K_D 의 계산은, 상수 RI를 갖는, 수정된 랭뮤어 1:1 화학양론적 피팅 알고리즘을 사용하는 BIAevaluation 3.1.1 소프트웨어(BIACORE AB, Uppsala, Sweden) 및 1×10^7 [RU/M*s]의 물질 운반 계수 k_t 를 갖는 물질 전달 평가로 수행하였다. 결과를 도 3a 내지 도 3d, 도 4 내지 도 6, 도 9 및 도 13에 나타냈다.

[0490] 실시예 5: 인간 신경아세포종 세포에서의 알파-CGRP 유도 cAMP 생산의 억제

[0491] CGRP 결합 스피에겔머의 생물학적 효능을 다음과 같이 분석하였다.

[0492] 인간의 신경아세포종 세포 SK-N-MC(ACC203, DSMZ, Braunschweig)를 평평한 바닥의 96-웰 플레이트(Greiner)에

웰 당 5 X 10e4 개의 세포를 접종하고, 37 °C, 5 % CO₂의 10 %의 열 비활성화 소 태아 혈청(FCS), 4 mM의 L-알라닌-L-글루타민(GLUTAMAX), 50 units/ml의 페니실린 및 50 µg/ml의 스트렙토마이신이 보충된 100 µl의 DMEM(1000 mg/L 포도당, 인비트로젠)에서 48시간 동안 배양하였다.

[0493] 자극 용액(Stimulation solution)(1nM의 인간 또는 L-알파 CGRP(Bachem) + 증가하는 스피에겔머의 농도)을 v-바닥의 0.2 ml 로우 프로파일(low profile) 96-웰 플레이트를 사용하여 1 mg/ml의 BSA 및 20 mM의 HEPES가 보충된 HBSS(Gibco)에서 3배 제조하고, 총 60분 동안 37 °C에서 배양하였다. 공시험값(Blank value)(L-아밀린 부재, 스피에겔머 부재) 및 대조값(control value)(1nM의 L-알파 CGRP, 스피에겔머 없음)을 3배로 포함하였다. 자극 20분 전에 1mM의 포스포디에스테라아제 억제제 3-이소부틸-1-메틸크산틴(IBMx, Sigma; HBSS/BSA/HEPES에 희석된 DMSO에서의 50 mM 스톱)을 세포 및 자극 용액에 첨가하였다.

[0494] 자극을 위해, 세포 배양 배지를 세포로부터 제거하고 100 µl의 전배양된 자극 용액으로 치환하였다. 세포를 37 °C, 5 % CO₂에서 30분 동안 자극하였다. 자극 용액의 제거 후, 50 µl/웰의 분석/용해 완충액(Applied Biosystems, Tropix cAMP-Screen™ System kit)을 첨가하여 37 °C에서 30분 동안 세포를 용해시켰다.

[0495] 이후, 제조 업체의 지침에 따라 Tropix cAMP-Screen™ ELISA System kit(Applied Biosystems)를 사용하여 웰 당 생성된 cAMP의 양을 측정하였다. 간단하게, 표준 곡선을 6 nmol 내지 0.6 pmol cAMP/well의 범위를 갖는 분석/용해 용액에서 준비하였다. 분석/용해 완충액에 희석된 세포 용해물을 염소 항-토끼 IgG(goat anti-rabbit IgG)로 미리 코팅된 마이크로 플레이트에 첨가하였다. cAMP 알칼리성 포스포타아제 콘주게이트 및 항-cAMP 항체를 샘플에 첨가하고 실온에서 60분 동안 배양하였다. 이후, 플레이트를 세척하고, 화학 발광 기질(chemiluminescent substrate)을 첨가하였다. 30분 후, 화학 발광을 FLUOstar OPTIMA 플레이트 리더 유닛(BMG Labtech)에서 측정하였다. cAMP-Screen™ ELISA 시스템은 경쟁적 면역 분석법 포맷이다. 따라서, 샘플 또는 표준 제조에서 광 신호 강도는 cAMP 농도에 반비례한다. 이 분석 시스템을 본원에 기재된 실시예 1 내지 실시예 7의 범위 내에서 스피에겔머를 테스트하기 위해 사용하였다. 결과를 도 7 및 도 8에 나타냈다. 생성된 cAMP의 양은 대조의 비율로 주어진다. 대조에 관하여 cAMP 생성의 50% 억제에 필요한 스피에겔머의 농도는 억제 상수 IC₅₀를 정의한다. 결과를 도 7a 및 도 7b에 나타냈다.

[0496] 실시예 6: 아밀린 유도 cAMP 생성의 억제

[0497] 인간 아밀린 또는 쥐 아밀린에 대한 CGRP 결합 스피에겔머의 교차 반응성을 다음과 같이 분석하였다.

[0498] 인간의 유방암 세포 MCF-7(ACC115, DSMZ, Braunschweig)을 평평한 바닥의 96-웰 플레이트(Greiner)에 웰 당 5 X 10e4개의 세포로 접종하고, 37 °C, 5 % CO₂의 10 %의 열 비활성화 소 태아 혈청(FCS), 4 mM의 L-알라닌-L-글루타민(GLUTAMAX), 50 units/ml의 페니실린 및 50 µg/ml의 스트렙토마이신이 보충된 100 µl의 DMEM(1000 mg/L 포도당, 인비트로젠)에서 24시간 동안 배양하였다.

[0499] 자극 용액(3nM 인간 또는 L-아밀린(Bachem) 플러스 증가하는 스피에겔머의 농도)을 v-바닥의 0.2 ml 로우 프로파일 96-웰 플레이트를 사용하여 1 mg/ml의 BSA 및 20 mM의 HEPES가 보충된 HBSS(Gibco)에서 3배 제조하고, 총 60분 동안 37 °C에서 배양하였다. 공시험값(Blank value)(L-아밀린 없음, 스피에겔머 없음) 및 대조값(control value)(1 nM의 L-아밀린, 스피에겔머 없음)을 3배로 포함하였다. 자극 20분 전에 1 mM의 포스포디에스테라아제 억제제 3-이소부틸-1-메틸크산틴(IBMx, Sigma; HBSS/BSA/HEPES에 희석된 DMSO에서의 50 mM 스톱)을 세포 및 자극 용액에 첨가하였다. 자극을 위해, 세포 배양 배지를 세포로부터 제거하고 100 µl의 전배양된 자극 용액으로 치환하였다. 세포를 37 °C, 5% CO₂에서 30분 동안 자극하였다. 자극 용액의 제거 후, 50 µl/웰의 용해 완충액(Applied Biosystems, Tropix cAMP-Screen™ System kit)을 첨가하여 37 °C에서 30분 동안 세포를 용해시켰다.

[0500] 간단히 상술한 바와 같이, 이후 제조 업체의 지침에 따라 Tropix cAMP-Screen™ ELISA System kit(Applied Biosystems)를 사용하여 웰 당 생성된 cAMP의 양을 측정하였다.

[0501] 이 분석 시스템을 본원에 기재된 실시예 7의 범위 내에서 스피에겔머를 테스트하기 위해 사용하였다. 결과를 도 10에 나타냈다. 생성된 cAMP의 양은 대조의 비율로 주어진다. 대조에 관하여 cAMP 생성의 50% 억제에 필요한 스피에겔머의 농도는 억제 상수 IC₅₀를 정의한다.

- [0502] **실시예 7: CGRP와 아밀린 사이에서의 CGRP 결합 스피에겔머 NOX-L41의 식별력**
- [0503] 도 9는 4개의 C-말단 아미드화 펩타이드인 인간의 알파-CGRP, 쥐 알파-CGRP, 인간 아밀린 및 쥐 아밀린의 배열을 나타낸다. 4개의 펩타이드 모두 보존 Cys2-Cys7 이황화 결합(conserved Cys2-Cys7 disulfide bridge)을 갖는다.
- [0504] 스피에겔머 NOX-L41(226-F2-001-D41-5' 40kDa-PEG라고도 함) 및 그 PEG화되지 않은 형태인 226-F2-001-D41은 이 밀접하게 관련된 펩타이드를 식별하여 인간 및 쥐의 알파-CGRP에 선택적으로 결합한다. NOX-L41은 0.39 nM의 IC₅₀로 인간의 알파-CGRP 유도 cAMP 생성을 억제한다(도 9). 반면에, 인간 아밀린에 의한 세포 활성화는 1 μm까지의 농도에서 NOX-L41에 의해 억제되지 않았다(도 10). 아밀린 결합 스피에겔머(서열: 5'-40kDa-PEG-GGACUGAUGGCGCGGUCCU AUUACGCCGAUAGGGUGAGGGGA, [서열 번호 135])는 인간 아밀린 유도 cAMP 생성을 억제한다(도 10). 동의 하에서, 인간 아밀린에 대한 226-F2-001-D41의 결합은 동력학적 비아 코어 측정(kinetic Biacore measurement)에 의해 전혀 검출되지 않았다(도 9). 인간의 CGRP에 대한 226-F2-001-D41의 친화도(K_D)는 0.55 nM이었다(도 9). 따라서, NOX-L41은 천 이상의 인자를 사용하여 인간의 알파-CGRP와 인간 아밀린을 식별한다. 쥐의 알파-CGRP와 인간 아밀린의 식별은 75 이상의 식별 인자에 대응하는 각각의 3.6 nM 및 283 nM의 IC₅₀로 덜 두드러진다(도 9).
- [0505] 억제 농도와 친화도의 관계로부터, 아미노산 잔기가 스피에겔머 결합에 관여될 수 있다는 것을 대략적으로 유추할 수 있다.
- [0506] 쥐 아밀린이 측정 가능한 IC₅₀로 NOX-L41에 의해 억제되는 동안 인간 아밀린의 억제는 검출되지 않았다(도 9 및 도 10). 쥐 아밀린과 인간 아밀린에는 단지 상이한 아미노산 잔기, 즉 아미노산 잔기 18 및 29가 존재한다. 인간 아밀린으로부터의 각각의 변화는 R18H 및 P29S이다. 따라서, R18 또는 P29 또는 양자 모두는 최소 결합 에피토프의 일부이다. P29의 경우, 펩타이드의 백본(backbone)에서 프롤린 유도 굴곡은 이웃 보존 잔류의 올바른 인식에 필요하다는 것이 또한 가능하다. 문헌에서, 핵산 앵타머는 바람직하게 아르기닌을 표적으로 삼는다는 것이 잘 알려져 있다. 또한, 일반적으로 앵타머에 의해 결합된 표적 분자의 에피토프는 전체 친화도에 기여하는 복수의 약한 접촉을 갖는 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 따라서, 그것은 또한 R18의 경우에, CGRP에 대해서보다 쥐의 아밀린에 대해서 더 약한 결합을 설명하는 결합 이벤트에 기여하는 인접 잔기와의 스피에겔머 결합에서 중심 역할을 한다.
- [0507] (참조문헌)
- [0508] 본원에 참조로 포함되어 있는 인용된 문서의 모든 서지 정보는, 달리 지시되지 않은 한, 다음과 같다.
- [0509] Adwanikar, H., G. Ji, et al. (2007). "Spinal CGRP1 receptors contribute to supraspinally organized pain behavior and pain-related sensitization of amygdala neurons." *Pain* 132(1-2): 53-66.
- [0510] Alessandri, M., L. Massanti, et al. (2006). "Plasma changes of calcitonin gene-related peptide and substance P in patients with dialysis headache." *Cephalalgia* 26(11): 1287-93.
- [0511] Altschul, S.F., Gish, W., et al. (1990). "Basic local alignment search tool." *J Mol Biol* 215(3):403-10.
- [0512] Altschul, S.F., Madden, T.L., et al. (1997). "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs." *Nucleic Acids Res* 25(17):3389-402.
- [0513] Amara, S. G., V. Jonas, et al. (1982). "Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products." *Nature* 298(5871): 240-4.
- [0514] Ambalavanar, R., M. Moritani, et al. (2006). "Deep tissue inflammation upregulates neuropeptides and evokes nociceptive behaviors which are modulated by a neuropeptide antagonist." *Pain* 120(1-2): 53-68.
- [0515] Antunez, C., M. J. Torres, et al. (2009). "Calcitonin gene-related peptide modulates interleukin-13 in circulating cutaneous lymphocyte-associated antigen-positive T cells in patients with atopic

dermatitis." *Br J Dermatol* 161(3): 547-53.

- [0516] Bennett, A. D., K. M. Chastain, et al. (2000). "Alleviation of mechanical and thermal allodynia by CGRP(8-37) in a rodent model of chronic central pain." *Pain* 86(1-2): 163-75.
- [0517] Bourdu, S., M. Dapoigny, et al. (2005). "Rectal instillation of butyrate provides a novel clinically relevant model of noninflammatory colonic hypersensitivity in rats." *Gastroenterology* 128(7): 1996-2008.
- [0518] Breeze, A. L., T. S. Harvey, et al. (1991). "Solution structure of human calcitonin gene-related peptide by 1H NMR and distance geometry with restrained molecular dynamics." *Biochemistry* 30(2): 575-82.
- [0519] Chen, Y., H. H. Willcockson, et al. (2008). "Increased expression of CGRP in sensory afferents of arthritic mice--effect of genetic deletion of the vanilloid receptor TRPV1." *Neuropeptides* 42(5-6): 551-6.
- [0520] Connor, K. M., R. E. Shapiro, et al. (2009). "Randomized, controlled trial of telcagepant for the acute treatment of migraine." *Neurology* 73(12): 970-7.
- [0521] Damha, M.J., Ogilvie, K.K., et al. (1993). "Oligoribonucleotide synthesis. The silyl-phosphoramidite method." *Methods Mol Biol* 20:81-114.
- [0522] Denekas, T., M. Troltzsch, et al. (2006). "Inhibition of stimulated meningeal blood flow by a calcitonin gene-related peptide binding mirror-image RNA oligonucleotide." *Br J Pharmacol* 148(4): 536-43.
- [0523] Diener, H. C., P. Barbanti, et al. (2011). "BI 44370 TA, an oral CGRP antagonist for the treatment of acute migraine attacks: results from a phase II study." *Cephalalgia* 31(5): 573-84.
- [0524] Dirmeier, M., S. Capellino, et al. (2008). "Lower density of synovial nerve fibres positive for calcitonin gene-related peptide relative to substance P in rheumatoid arthritis but not in osteoarthritis." *Rheumatology (Oxford)* 47(1): 36-40.
- [0525] Edvinsson, L. and T. W. Ho (2010). "CGRP receptor antagonism and migraine." *Neurotherapeutics* 7(2): 164-75.
- [0526] Edvinsson, L., E. Nilsson, et al. (2007). "Inhibitory effect of BIBN4096BS, CGRP(8-37), a CGRP antibody and an RNA-Spiegelmer on CGRP induced vasodilatation in the perfused and non-perfused rat middle cerebral artery." *Br J Pharmacol* 150(5): 633-40.
- [0527] Ferreira-Gomes, J., S. Adaes, et al. (2010). "Phenotypic alterations of neurons that innervate osteoarthritic joints in rats." *Arthritis Rheum* 62(12): 3677-85.
- [0528] Field, B. C., O. B. Chaudhri, et al. (2010). "Bowels control brain: gut hormones and obesity." *Nat Rev Endocrinol* 6(8): 444-53.
- [0529] Frese, A., M. Schilgen, et al. (2005). "Calcitonin gene-related peptide in cervicogenic headache." *Cephalalgia* 25(9): 700-3.
- [0530] Gabra, B. H. and P. Sirois (2004). "Pathways for the bradykinin B1 receptor-mediated diabetic hyperalgesia in mice." *Inflamm Res* 53(12): 653-7.
- [0531] Gallai, V., P. Sarchielli, et al. (1995). "Vasoactive peptide levels in the plasma of young migraine patients with and without aura assessed both interictally and ictally." *Cephalalgia* 15(5): 384-90.
- [0532] Goadsby, P. J. (2003). "Migraine: diagnosis and management." *Intern Med J* 33(9-10): 436-42.
- [0533] Goadsby, P. J. and L. Edvinsson (1994). "Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache. Neuropeptide changes and effects of acute attacks therapies." *Brain* 117 (Pt 3): 427-34.

- [0534] Goadsby, P. J., L. Edvinsson, et al. (1990). "Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache." *Ann Neurol* 28(2): 183-7.
- [0535] Gram, D. X., A. J. Hansen, et al. (2005). "Plasma calcitonin gene-related peptide is increased prior to obesity, and sensory nerve desensitization by capsaicin improves oral glucose tolerance in obese Zucker rats." *Eur J Endocrinol* 153(6): 963-9.
- [0536] Han, N., D. Y. Zhang, et al. (2010). "Calcitonin gene-related peptide induces proliferation and monocyte chemoattractant protein-1 expression via extracellular signal-regulated kinase activation in rat osteoblasts." *Chin Med J (Engl)* 123(13): 1748-53.
- [0537] Hay, D. L., C. S. Walker, et al. (2011). "Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in endocrine-related cancers: opportunities and challenges." *Endocr Relat Cancer* 18(1): C1-14.
- [0538] Ho, T. W., L. Edvinsson, et al. (2010). "CGRP and its receptors provide new insights into migraine pathophysiology." *Nat Rev Neurol* 6(10): 573-82.
- [0539] Ho, T. W., M. D. Ferrari, et al. (2008). "Efficacy and tolerability of MK-0974 (telcagepant), a new oral antagonist of calcitonin gene-related peptide receptor, compared with zolmitriptan for acute migraine: a randomised, placebo-controlled, parallel-treatment trial." *Lancet* 372(9656): 2115-23.
- [0540] Hou, Q., T. Barr, et al. (2011). "Keratinocyte expression of calcitonin gene-related peptide beta: implications for neuropathic and inflammatory pain mechanisms." *Pain* 152(9): 2036-51.
- [0541] Huang, J., L. L. Stohl, et al. (2011). "Calcitonin Gene-related Peptide Inhibits Chemokine Production by Human Dermal Microvascular Endothelial Cells." *Brain Behav Immun*.
- [0542] Juhasz, G., T. Zsombok, et al. (2003). "NO-induced migraine attack: strong increase in plasma calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentration and negative correlation with platelet serotonin release." *Pain* 106(3): 461-70.
- [0543] Juhl, L., L. Edvinsson, et al. (2007). "Effect of two novel CGRP-binding compounds in a closed cranial window rat model." *Eur J Pharmacol* 567(1-2): 117-24.
- [0544] Klussmann S. (2006). "The Aptamer Handbook - Functional Oligonucleotides and their Applications." Edited by S. Klussmann. WILEY-VCH, Weinheim, Germany, ISBN 3-527-31059-2
- [0545] Kopp, S. (2001). "Neuroendocrine, immune, and local responses related to temporomandibular disorders." *J Orofac Pain* 15(1): 9-28.
- [0546] Kusser, W. (2000). "Chemically modified nucleic acid aptamers for in vitro selections: evolving evolution." *J Biotechnol* 74(1): 27-38.
- [0547] Lassen, L. H., P. A. Haderslev, et al. (2002). "CGRP may play a causative role in migraine." *Cephalalgia* 22(1): 54-61.
- [0548] Lee, M., B. J. Kim, et al. (2009). "Complete Freund's adjuvant-induced intervertebral discitis as an animal model for discogenic low back pain." *Anesth Analg* 109(4): 1287-96.
- [0549] Lee, S. E. and J. H. Kim (2007). "Involvement of substance P and calcitonin gene-related peptide in development and maintenance of neuropathic pain from spinal nerve injury model of rat." *Neurosci Res* 58(3): 245-9.
- [0550] Limmroth, V., Z. Katsarava, et al. (2001). "An in vivo rat model to study calcitonin gene related peptide release following activation of the trigeminal vascular system." *Pain* 92(1-2): 101-6.
- [0551] Liu, L. S., M. Shenoy, et al. (2011). "Substance P and Calcitonin Gene Related Peptide Mediate Pain in Chronic Pancreatitis and Their Expression is Driven by Nerve Growth Factor." *JOP* 12(4): 389-94.
- [0552] Lutz, T. A. (2006). "Amylinergic control of food intake." *Physiol Behav* 89(4): 465-71.
- [0553] Lutz, T. A., E. Del Prete, et al. (1994). "Reduction of food intake in rats by intraperitoneal

injection of low doses of amylin." *Physiol Behav* 55(5): 891-5.

- [0554] Ma, W. and R. Quirion (2006). "Increased calcitonin gene-related peptide in neuroma and invading macrophages is involved in the up-regulation of interleukin-6 and thermal hyperalgesia in a rat model of mononeuropathy." *J Neurochem* 98(1): 180-92.
- [0555] Maintz, L., E. Wardelmann, et al. (2011). "Neuropeptide blood levels correlate with mast cell load in patients with mastocytosis." *Allergy*.
- [0556] Mairal T., Ozalp V.C., Lozano Sanchez P., et al. (2008). "Aptamers: molecular tools for analytical applications." *Anal Bioanal Chem* 390(4):989-1007
- [0557] McDougall, J. J. (2006). "Arthritis and pain. Neurogenic origin of joint pain." *Arthritis Res Ther* 8(6): 220.
- [0558] McGinnis, S., Madden, T.L. et al. (2004). "BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools." *Nucleic Acids Res* 32(Web Server issue):W20-5.
- [0559] McLatchie, L. M., N. J. Fraser, et al. (1998). "RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor." *Nature* 393(6683): 333-9.
- [0560] Mikami, N., K. Watanabe, et al. (2012). "Calcitonin gene-related peptide enhances experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting Th17-cell functions." *Int Immunol* 24(11): 681-91.
- [0561] Minamiyama, M., M. Katsuno, et al. (2012). "Naratriptan mitigates CGRP1-associated motor neuron degeneration caused by an expanded polyglutamine repeat tract." *Nat Med* 18(10): 1531-8.
- [0562] Mishima, T., Y. Ito, et al. (2011). "Calcitonin gene-related peptide facilitates revascularization during hindlimb ischemia in mice." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300(2): H431-9.
- [0563] Mogil, J. S., F. Miermeister, et al. (2005). "Variable sensitivity to noxious heat is mediated by differential expression of the CGRP gene." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(36): 12938-43.
- [0564] Monteith, T. S. and P. J. Goadsby (2011). "Acute migraine therapy: new drugs and new approaches." *Curr Treat Options Neurol* 13(1): 1-14.
- [0565] Morley, J. E., J. F. Flood, et al. (1994). "Modulation of food intake by peripherally administered amylin." *Am J Physiol* 267(1 Pt 2): R178-84.
- [0566] Needleman and 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.
- [0567] Nitzan-Luques, A., M. Devor, et al. (2011). "Genotype-selective phenotypic switch in primary afferent neurons contributes to neuropathic pain." *Pain* 152(10): 2413-26.
- [0568] Nohr, D., M. K. Schafer, et al. (1999). "Calcitonin gene-related peptide gene expression in collagen-induced arthritis is differentially regulated in primary afferents and motoneurons: influence of glucocorticoids." *Neuroscience* 93(2): 759-73.
- [0569] Olesen, J., H. C. Diener, et al. (2004). "Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN 4096 BS for the acute treatment of migraine." *N Engl J Med* 350(11): 1104-10.
- [0570] Ostrowski, S. M., A. Belkadi, et al. (2011). "Cutaneous Denervation of Psoriasiform Mouse Skin Improves Acanthosis and Inflammation in a Sensory Neuropeptide-Dependent Manner." *J Invest Dermatol*.
- [0571] Ottosson, A. and L. Edvinsson (1997). "Release of histamine from dural mast cells by substance P and calcitonin gene-related peptide." *Cephalalgia* 17(3): 166-74.
- [0572] Pearson and Lipman (1988). "Improved tools for biological sequence comparison." *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85: 2444
- [0573] Powell, K. J., W. Ma, et al. (2000). "Blockade and reversal of spinal morphine tolerance by peptide

and non-peptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonists." *Br J Pharmacol* 131(5): 875-84.

- [0574] Puttfarcken, P. S., P. Han, et al. (2010). "A-995662 [(R)-8-(4-methyl-5-(4-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-2-ylamino)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-ol], a novel, selective TRPV1 receptor antagonist, reduces spinal release of glutamate and CGRP in a rat knee joint pain model." *Pain* 150(2): 319-26.
- [0575] Raddant, A. C. and A. F. Russo (2011). "Calcitonin gene-related peptide in migraine: intersection of peripheral inflammation and central modulation." *Expert Rev Mol Med* 13: e36.
- [0576] Saxler, G., F. Loer, et al. (2007). "Localization of SP- and CGRP-immunopositive nerve fibers in the hip joint of patients with painful osteoarthritis and of patients with painless failed total hip arthroplasties." *Eur J Pain* 11(1): 67-74.
- [0577] Schweizerhof, M., S. Stosser, et al. (2009). "Hematopoietic colony-stimulating factors mediate tumor-nerve interactions and bone cancer pain." *Nat Med* 15(7): 802-7.
- [0578] Sink, K. S., D. L. Walker, et al. (2011). "Calcitonin gene-related Peptide in the bed nucleus of the stria terminalis produces an anxiety-like pattern of behavior and increases neural activation in anxiety-related structures." *J Neurosci* 31(5): 1802-10.
- [0579] Smith and Waterman (1981), *Adv. Appl. Math.* 2: 482
- [0580] Stepien, A., P. Jagustyn, et al. (2003). "[Suppressing effect of the serotonin 5HT1B/D receptor agonist rizatriptan on calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentration in migraine attacks]." *Neurol Neurochir Pol* 37(5): 1013-23.
- [0581] Summ, O., A. P. Andreou, et al. (2010). "A potential nitrenergic mechanism of action for indomethacin, but not of other COX inhibitors: relevance to indomethacin-sensitive headaches." *J Headache Pain* 11(6): 477-83.
- [0582] Szadek, K. M., P. V. Hoogland, et al. (2010). "Possible nociceptive structures in the sacroiliac joint cartilage: An immunohistochemical study." *Clin Anat* 23(2): 192-8.
- [0583] Tan, K. K., M. J. Brown, et al. (1995). "Calcitonin gene-related peptide as an endogenous vasodilator: immunoblockade studies in vivo with an anti-calcitonin gene-related peptide monoclonal antibody and its Fab' fragment." *Clin Sci (Lond)* 89(6): 565-73.
- [0584] Tanaka, H., A. Shimaya, et al. (2011). "Enhanced insulin secretion and sensitization in diabetic mice on chronic treatment with a transient receptor potential vanilloid 1 antagonist." *Life Sci*.
- [0585] Tfelt-Hansen, P. and H. Le (2009). "Calcitonin gene-related peptide in blood: is it increased in the external jugular vein during migraine and cluster headache A review." *J Headache Pain* 10(3): 137-43.
- [0586] Tfelt-Hansen, P. and M. Ashina (2010). "Extracranial source of increased CGRP in migraine children" *Cephalalgia* 30(3): 380-1.
- [0587] Toda, M., T. Suzuki, et al. (2008). "Neuronal system-dependent facilitation of tumor angiogenesis and tumor growth by calcitonin gene-related peptide." *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(36): 13550-5.
- [0588] Tvedskov, J. F., K. Lipka, et al. (2005). "No increase of calcitonin gene-related peptide in jugular blood during migraine." *Ann Neurol* 58(4): 561-8.
- [0589] van Rossum, D., U. K. Hanisch, et al. (1997). "Neuroanatomical localization, pharmacological characterization and functions of CGRP, related peptides and their receptors." *Neurosci Biobehav Rev* 21(5): 649-78.
- [0590] Vater, A., F. Jarosch, et al. (2003). "Short bioactive Spiegelmers to migraine-associated calcitonin gene-related peptide rapidly identified by a novel approach: tailored-SELEX." *Nucleic Acids Res* 31(21): e130.

- [0591] Venkatesan, N., S. J. Kim, et al. (2003). "Novel phosphoramidite building blocks in synthesis and applications toward modified oligonucleotides." *Curr Med Chem* 10(19): 1973-91.
- [0592] Wacnik, P. W., C. M. Baker, et al. (2005). "Tumor-induced mechanical hyperalgesia involves CGRP receptors and altered innervation and vascularization of DsRed2 fluorescent hindpaw tumors." *Pain* 115(1-2): 95-106.
- [0593] Wang, L., X. Shi, et al. (2010). "Calcitonin-gene-related peptide stimulates stromal cell osteogenic differentiation and inhibits RANKL induced NF-kappaB activation, osteoclastogenesis and bone resorption." *Bone* 46(5): 1369-79.
- [0594] Wang, Z., W. Ma, et al. (2009). "Cell-type specific activation of p38 and ERK mediates calcitonin gene-related peptide involvement in tolerance to morphine-induced analgesia." *FASEB J* 23(8): 2576-86.
- [0595] Wick, E. C., S. G. Hoge, et al. (2006). "Transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide, and substance P mediate nociception in acute pancreatitis." *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290(5): G959-69.
- [0596] Wincott, F., DiRenzo, A, et al. (1995). "Synthesis, deprotection, analysis and purification of RNA and ribozymes." *Nucleic Acids Res* 23(14):2677-84.
- [0597] Winston, J. H., Z. J. He, et al. (2005). "Molecular and behavioral changes in nociception in a novel rat model of chronic pancreatitis for the study of pain." *Pain* 117(1-2): 214-22.
- [0598] Xie, W., J. T. Fisher, et al. (2011). "CGRP induction in cystic fibrosis airways alters the submucosal gland progenitor cell niche in mice." *J Clin Invest* 121(8): 3144-58.
- [0599] Xu, X., Z. Li, et al. (2012). "High Expression of Calcitonin Gene-Related Peptide and Substance P in Esophageal Mucosa of Patients with Non-Erosive Reflux Disease." *Dig Dis Sci*.
- [0600] Zeller, J., K. T. Poulsen, et al. (2008). "CGRP function-blocking antibodies inhibit neurogenic vasodilatation without affecting heart rate or arterial blood pressure in the rat." *Br J Pharmacol* 155(7): 1093-103.
- [0601] Zhang, C. and J. J. McDougall (2006). "Stimulation of sensory neuropeptide release by nociceptin/orphanin FQ leads to hyperaemia in acutely inflamed rat knees." *Br J Pharmacol* 148(7): 938-46.
- [0602] Zhang, Z., F. Gong, et al. (2012). "Plasma level of calcitonin gene-related peptide in patients with polycystic ovary syndrome and its relationship to hormonal and metabolic parameters." *Peptides*.
- [0603] Zheng, L. F., R. Wang, et al. (2008). "Calcitonin gene-related peptide dynamics in rat dorsal root ganglia and spinal cord following different sciatic nerve injuries." *Brain Res* 1187: 20-32.
- [0604] Zheng, S., W. Li, et al. (2010). "Calcitonin gene-related peptide promotes angiogenesis via AMP-activated protein kinase." *Am J Physiol Cell Physiol* 299(6): C1485-92.
- [0605] 명세서, 청구범위, 서열 목록 및/또는 도면에 개시된 본 발명의 특징은 별도로 그리고 이들의 조합으로 다양한 형태로 본 발명을 실현하기 위한 자료일 수 있다.

도면

도면1a

Name	SEQ ID NO.	nt.	Sequence: 5'-3'	Comp (APM)
212-G1-001	001	48	CGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACG	=
226-F2-001	002	50	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	+
212-F1-001	003	48	CGUGCUGUUGGAGACUACUUGUUAAGUAGAUAGGUCCCCUCG CACG	=
224-B2-001	004	50	GCUGCUGUCGGAGACUACGCUUCGCGUAGAGAUAGGUCCCCUCG CACGC	=
224-E1-001	005	48	GCAGCUGUCGGAGACUACCGUCGGUAGAGAAUAGGUCCCCUCG CGC	=
226-A2-002	006	48	CGUGAUUACGGAGACUACUCGUGGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACG	--
26-A3-001	007	50	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	+
226-G2-002	008	48	CGUGCAGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACG	--
226-C2-002	009	48	CGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGAGUGGAGAUAGGUCCCCUCG CACG	--
226-E1-002	010	48	CGUGCUGUCGGAGACUACUCGAGUAGAGAUAGGUCCCCUCG UACG	--
226-F1-001	011	50	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUGAGUAGAUAGGUCCCCUCG CACGG	=
226-C3-001	012	50	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	+

nt.: 뉴클레오타이드의 개수; G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오타이드;

□로 테두리를 두른 뉴클레오타이드는 CGRP 결합 모티프에 해당;

Comp (APM): 표시된 서열의 분자는 212-G1-001을 기준으로 풀-다운 경쟁 결합 분석에서 앵타머(D-핵산)로 테스트;

+: 212-G1-001 보다 양호한 결합 친화도; =: 212-G1-001 과 유사한 결합 친화도; --: 212-G1-001 보다 훨씬 약한 결합 친화도

도면1b

Name	SEQ ID NO.	nt.	Sequence: 5'-3'	Comp (APM)
231-A1-001	013	52	GUCAUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGC	+
231-G2-001	014	52	GCCAUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGAUCCCCUCG CAUGGC	--
231-C1-001	015	52	GCCGUGCUGUCGGAGACUACUCAUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGC	+
231-C2-001	016	52	GCCGUGCUGUCGGAGACUACUGUUGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGC	+
231-D1-001	017	52	GCCGUGCUGUCGGAGACUACUGUUGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGC	--
231-F1-001	018	52	GCCGUGCUGUCGGAGACUACUCGCCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGC	+
231-E1-001	019	52	CCCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGG	+
231-B3-001	020	54	CACCGUGCUGUCGGAUACUACUCGCCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGUG	--
231-A2-001	021	54	GGCCGUGCUGUCGGAGACUACUCGCCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGCU	+
231-E2-001	022	52	CCCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUAGGGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGG	+
231-H2-001	023	52	GCCGUGUUGUCGGAGACUACCCCCAGGGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGGC	--

nt.: 뉴클레오타이드의 개수; G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오타이드;

□로 테두리를 두른 뉴클레오타이드는 CGRP 결합 모티프에 해당;

Comp (APM): 표시된 서열의 분자는 212-G1-001을 기준으로 풀-다운 경쟁 결합 분석에서 앵타머(D-핵산)로 테스트;

+: 212-G1-001 보다 양호한 결합 친화도; =: 212-G1-001 과 유사한 결합 친화도; --: 212-G1-001 보다 훨씬 약한 결합 친화도

도면2

Name	SEQ ID NO.	nt.	Sequence: 5'-3'	Comp (APM)
226-F2-001	002	50	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	=
226-F2-003	024	50	GCUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGC	+
226-F2-004	025	50	GGGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACCC	=
226-F2-005	026	50	GCCUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CAGGC	=

nt.: 뉴클레오타이드의 개수; G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오타이드;

□로 테두리를 두른 뉴클레오타이드는 CGRP 결합 모티프에 해당;

Comp (APM): 표시된 서열의 분자는 212-G1-001을 기준으로 풀-다운 경쟁 결합 분석에서 앵타머(D-핵산)로 테스트;

+: 212-G1-001 보다 양호한 결합 친화도; =: 212-G1-001 과 유사한 결합 친화도; --: 212-G1-001 보다 훨씬 약한 결합 친화도

도면3a

Derivatives of 226-F2-001				
Name	SEQ ID NO.	Sequence: 5' - 3'	x-fold improved binding affinity	Biacore (SPM) K _d [nM]
226-F2-001	002	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	1.0	2.6
226-F2-001-D03	027	CCdGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	4.06	0.64
226-F2-001-D05	028	CCGUGdCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	3.25	0.80
226-F2-001-D08	029	CCGUGCUGdGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	4.64	0.56
226-F2-001-D09	030	CCGUGCUGdTCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	3.38	0.77
226-F2-001-D14	031	CCGUGCUGUCGGAdGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	3.21	0.81
226-F2-001-D16	032	CCGUGCUGUCGGAGdCUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	1.78	1.46
226-F2-001-D19	033	CCGUGCUGUCGGAGACUAdCUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	8.39	0.31
226-F2-001-D22	034	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCdGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	2.11	1.60
226-F2-001-D23	035	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGdTCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	4.48	0.58

□로 테두리를 두른 뉴클레오티드는 CGRP 결합 모티프에 해당; SPM: 스피에겔머
 G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오티드;
 dG, dC, dU 및 dT 중 하나가 2'-데옥시리보뉴클레오티드;
x-폴드 향상된 결합 친화도: 공유적으로 고정화된 인간 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된, 226-F2-001에 대한 스피에겔머의 향상된 결합 친화도.
비아코어(SPM): 스피에겔머 해리 상수 K_d, 표시된 서열의 분자가 바이오틀화된 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 스피에겔머(L-핵산)로 테스트.

도면3b

Derivatives of 226-F2-001				
Name	SEQ ID NO.	Sequence: 5' - 3'	x-fold improved binding affinity	Biacore (SPM) K _d [nM]
226-F2-001-D24	036	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUGdCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	1.70	1.53
226-F2-001-D25	037	CCGUGdCUGUCGGAGACUACUCGUCdGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	1.50	1.73
226-F2-001-D26	038	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGdAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	5.65	0.46
226-F2-001-D28	039	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdTAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	3.21	0.81
226-F2-001-D30	040	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAdGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	1.63	1.60
226-F2-001-D33	041	CCGUGdCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACGG	2.30	1.13
226-F2-001-D34	042	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAAdTAGGUCCCCUCG CACGG	4.41	0.59
226-F2-001-D37	043	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGdGUCCCCUCG CACGG	4.06	0.64
226-F2-001-D39	044	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGdUCCCCUCG CACGG	1.87	1.39

□로 테두리를 두른 뉴클레오티드는 CGRP 결합 모티프에 해당; SPM: 스피에겔머
 G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오티드;
 dG, dC, dU 및 dT 중 하나가 2'-데옥시리보뉴클레오티드;
x-폴드 향상된 결합 친화도: 공유적으로 고정화된 인간 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된, 226-F2-001에 대한 스피에겔머의 향상된 결합 친화도.
비아코어(SPM): 스피에겔머 해리 상수 K_d, 표시된 서열의 분자가 바이오틀화된 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 스피에겔머(L-핵산)로 테스트.

도면3c

Derivatives of 226-F2-001				
Name	SEQ ID NO.	Sequence: 5' - 3'	x-fold improved binding affinity	Biacore (SPM) K _d [nM]
226-F2-001-D41	045	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCdCCUCG CACGG	5.2	0.50
226-F2-001-D42	046	CCGUGdCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCdCUCG CACGG	5.00	0.52
226-F2-001-D44	047	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUdCG CACGG	6.34	0.41
226-F2-001-D45	048	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCdG CACGG	5.00	0.52
226-F2-001-D46	049	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCdC CACGG	4.06	0.64
226-F2-001-D47	050	CCGUGdCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CdCACGG	3.77	0.69
226-F2-001-D48	051	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CAdCAG	4.64	0.56
226-F2-001-D49	052	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CAdAGG	4.00	0.65
226-F2-001-D50	053	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCCCUCG CACdG	3.17	0.82
226-F2-001-D41/D44	054	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGUAGAAUAGGUCCdCCUdC CACGG	13.00	0.20

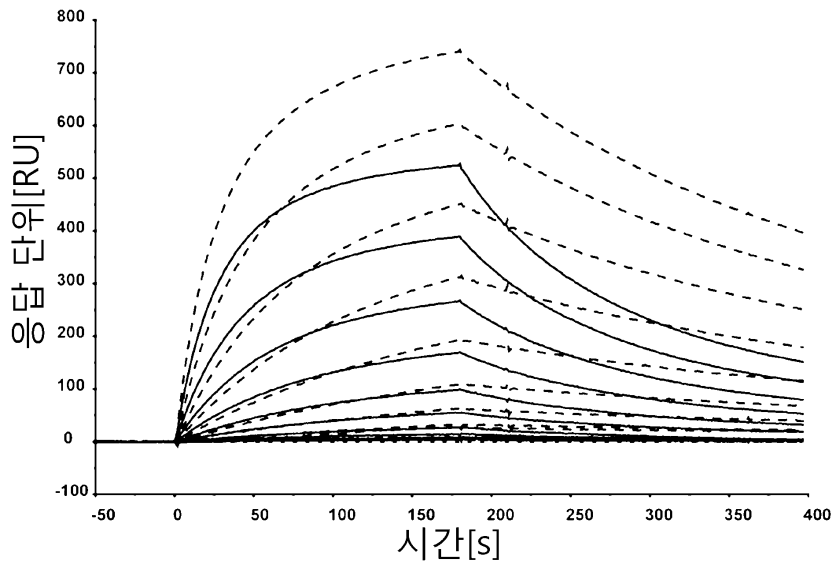
□로 테두리를 두른 뉴클레오티드는 CGRP 결합 모티프에 해당; SPM: 스피에겔머
 G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오티드;
 dG, dC, dU 및 dT 중 하나가 2'-데옥시리보뉴클레오티드;
x-폴드 향상된 결합 친화도: 공유적으로 고정화된 인간 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된, 226-F2-001에 대한 스피에겔머의 향상된 결합 친화도.
비아코어(SPM): 스피에겔머 해리 상수 K_d, 표시된 서열의 분자가 바이오틀화된 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 스피에겔머(L-핵산)로 테스트.

도면3d

Derivatives of 226-F2-001				
Name	SEQ ID NO.	Sequence: 5'-3'	x-fold improved binding affinity	Biacore (SPM) K_D [nM]
226-F2-001-D41-du20	126	CCGUGCUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUCdCACGG	37.14	0.07
226-F2-001-D41-du28	127	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCdCACGG	12.38	0.21
226-F2-001-D41-du20-28	128	CCGUGCUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUCdCACGG	4.19	0.62
226-F2-001-D41/D44-du20	129	CCGUGCUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGUAGAAAUAGGUCCdCCUdCCCACGG	6.34	0.41
226-F2-001-D41/D44-du28	130	CCGUGCUGUCGGAGACUACUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUdCCCACGG	7.03	0.37
226-F2-001-D41/D44-du20-28	131	CCGUGCUGUCGGAGACUACdUCGUCGAGdUAGAAAUAGGUCCdCCUdCCdCACGG	7.88	0.33

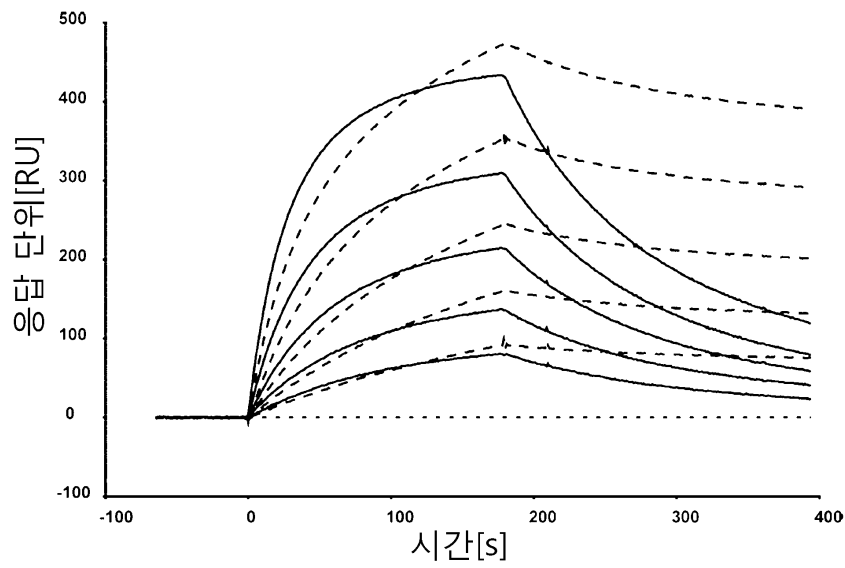
□로 테두리를 두른 뉴클레오타이드는 CGRP 결합 모티프에 해당; SPM: 스피에겔머
 G, C, U 및 A 중 하나가 리보뉴클레오타이드;
 dG, dC, dU 및 dT 중 하나가 2'-데옥시리보뉴클레오타이드;
 x-폴드 향상된 결합 친화도: 공유적으로 고정화된 인간 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된, 226-F2-001에 대한 스피에겔머의 향상된 결합 친화도.
 비아코어(SPM): 스피에겔머 해리 상수 K_D . 표시된 서열의 분자가 바이오티닐화된 L-CGRP에 대한 직접 결합을 사용하여 비아코어 상에서의 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 스피에겔머(L-핵산)로 테스트.

도면4



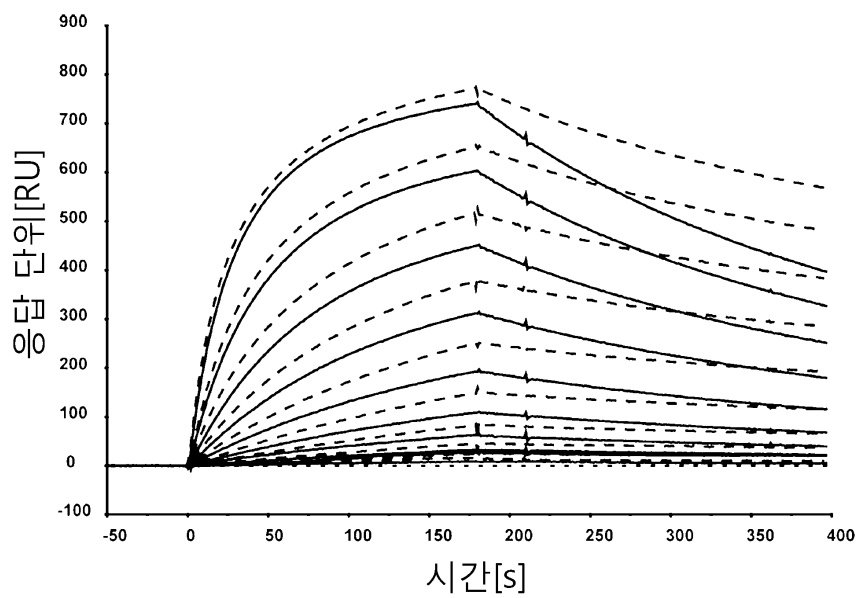
	K_D [nM]
226-F2-001 (실선)	2.6
226-F2-001-D41 (점선)	0.50

도면5



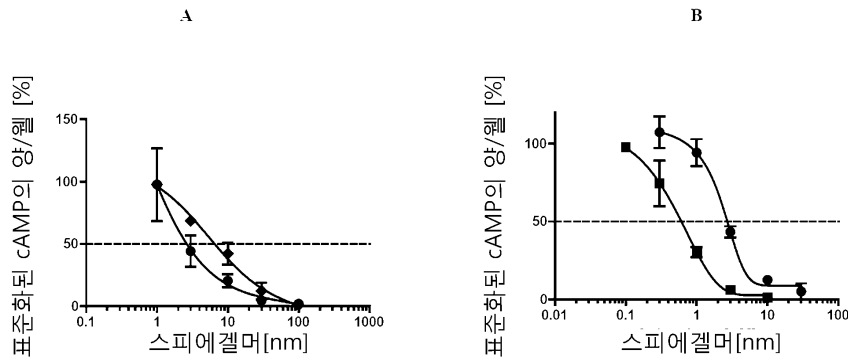
	K_D [nM]
226-F2-001 (실선)	2.6
226-F2-001-D44 (점선)	0.52

도면6



	K_D [nM]
226-F2-001-D41 (실선)	0.5
226-F2-001-D41/D44 (점선)	0.20

도면7



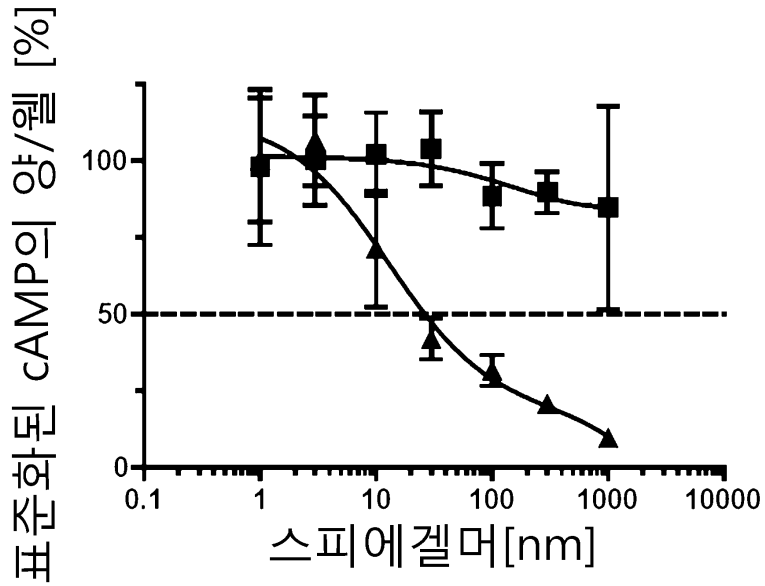
도면8

A	
인간 알파-CGRP:	AC-DTATCV THRLAGLLSR SGGVVKNNFV PTNVGSKAF [SEQ ID NO: 82]
인간 알파-CGRP:	AC-NTATCV THRLAGLLSR SGGMVKSNFV PTNVGSKAF [SEQ ID NO: 83]
인간 아밀린:	KC-NTATCA TQRLANFLVH SSNNFGAILS STNVGSNTY [SEQ ID NO: 84]
인간 칼시토닌:	-CGNLSTCM LGTYTQDFNK FHT----FP QTAIGVGAP [SEQ ID NO: 85]
인간 아드레노메둘린:	YRQSMNMFQGLRSFGC-RFGTCT VQKLAHQIYQ FTDKDKDNVA PRSKISPGGY [SEQ ID NO: 86]
인간 인터메딘:	TQAQLLRVGC-VLGTCC VQNLSHRLWQ LMGPAGRQDS APVDPSSPHSY [SEQ ID NO: 87]
B	
인간의 알파-CGRP:	ACDTATCV THRLAGLLSR SGGVVKNNFV PTNVGSKAF [SEQ ID NO: 82]
히말라야 원숭이의 알파-CGRP:	ACDTATCV THRLAGLLSR SGGVVKNNFV PTNVGSKAF [SEQ ID NO: 82]
쥐의 알파-CGRP:	SCNTATCV THRLAGLLSR SGGVVKDNFV PTNVGSEAF [SEQ ID NO: 89]
생쥐의 알파-CGRP:	SCNTATCV THRLAGLLSR SGGVVKDNFV PTNVGSEA [SEQ ID NO: 89]
미니 돼지의 알파-CGRP:	SCNTATCV THRLAGLLSR SGGMVKSNFV PTDVGSEAF [SEQ ID NO: 91]
양의 알파-CGRP:	SCNTATCV THRLAGLLSR SGGVVKSNFV PTNVGSQAF [SEQ ID NO: 92]
개의 알파-CGRP:	SCNTATCV THRLAGLLSR SGGVVKNNFV PTNVGSEAF [SEQ ID NO: 93]

도면9

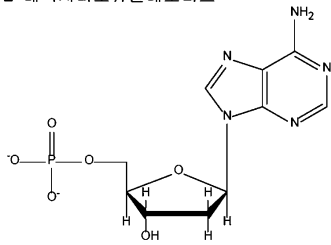
		IC ₅₀ (NOX-L41)	K ₀ (226-F2-001-D41)
h-αCGRP	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF [SEQ ID NO: 82]	0.39 nM	0.55 nM
r-αCGRP	SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSEAF [SEQ ID NO: 89]	3.6 nM	0.57 nM
r-아밀린	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNFGAILSPTNVGSNTY [SEQ ID NO: 94]	283 nM	데이터 없음
h-아밀린	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAILSSTNVGSNTY [SEQ ID NO: 84]	>1000 nM	결함 없음

도면10

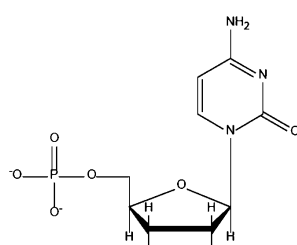


도면11a

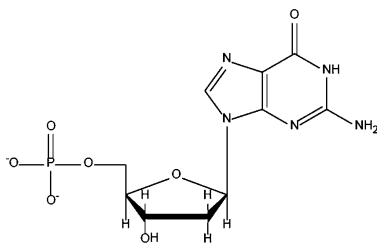
2'-데옥시리보뉴클레오타이드



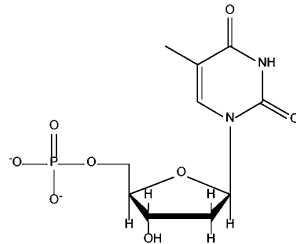
2'-데옥시-아데노신 5'-일인산염(약어, dA)



2'-데옥시-시티딘 5'-일인산염(약어, dC)



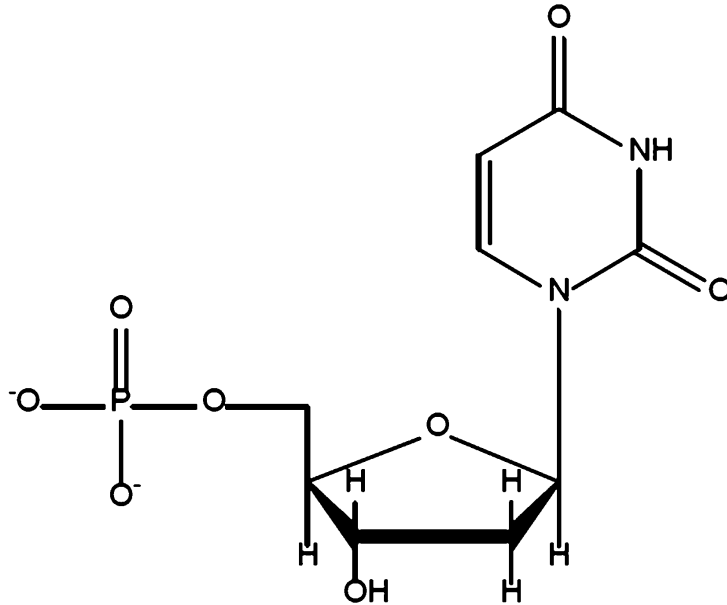
2'-데옥시-구아노신 5'-일인산염(약어, dG)



2'-데옥시-티미딘 5'-일인산염(약어, dT)

도면11b

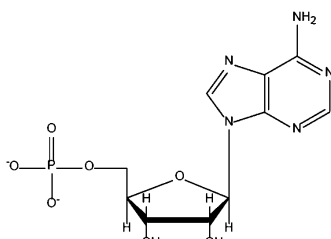
2'-데옥시리보뉴클레오티드



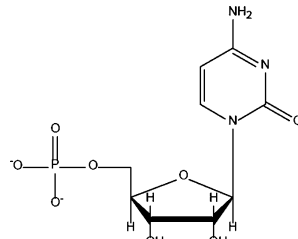
2'-데옥시 우리딘 5'-일인산염(약어, dU)

도면12

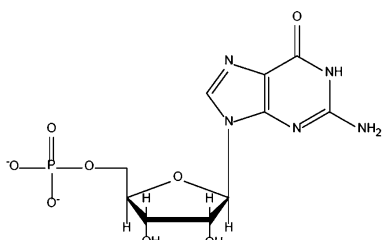
리보뉴클레오티드



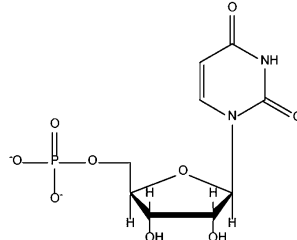
아데노신 5'-일인산염(약어, A)



시티딘 5'-일인산염(약어, C)

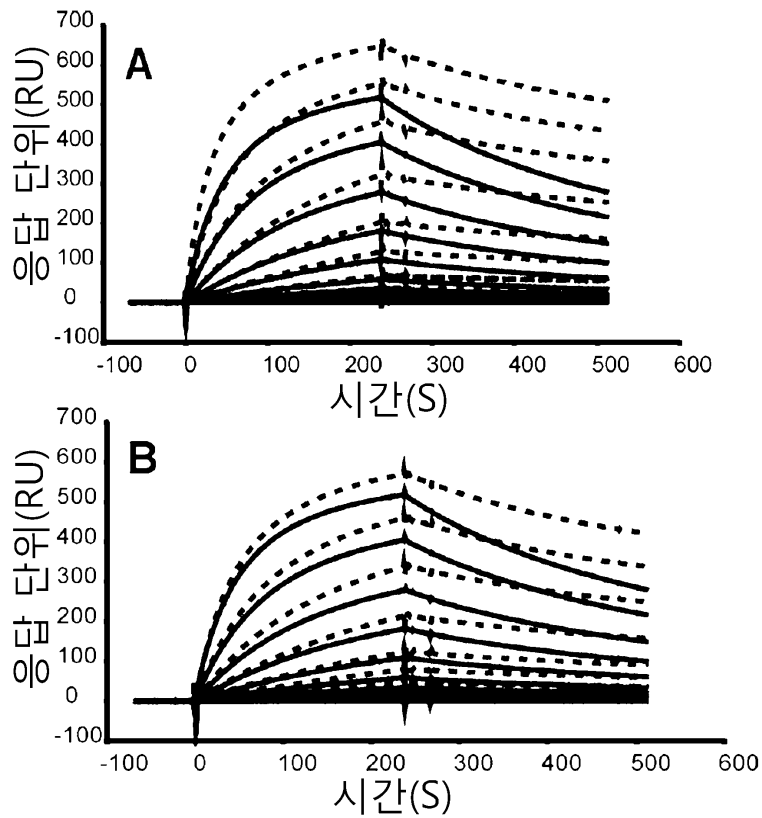


구아노신 5'-일인산염(약어, G)



우리딘 5'-일인산염(약어, U)

도면13



	K_D [nM]
226-F2-001-D41 (A and B 실선)	0.5
226-F2-001-D41-dU20 (A, 점선)	0.07
226-F2-001-D41-dU28 (B, 점선)	0.21

서열목록

- <110> NOXXON Pharma AG
- <120> Nucleic acids specifically binding CGRP
- <130> N 10097 PCT
- <140> PCT/EP2013/000055
- <141> 2013-01-10
- <150> EP 12 000 105.2
- <151> 2012-01-10
- <160> 135
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 48
- <212> RNA
- <213> Artificial Sequence

<220><223>	Synthetic		
<400>	1		
cgugcugucg	gagacuacuc	gucgaguaga aaauagguccc cucccacg	48
<210>	2		
<211>	50		
<212>	RNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Synthetic		
<400>	2		
ccgugcuguc	ggagacuacu	cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg	50
<210>	3		
<211>	48		
<212>	RNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Synthetic		
<400>	3		
cgugcuguug	gagacuacuu	guuaaguaga uauagguucc cucccacg	48
<210>	4		
<211>	50		
<212>	RNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Synthetic		
<400>	4		
gcgugcuguc	ggagacuacg	cuucgcguag agauaggucc ccucccacgc	50
<210>	5		
<211>	48		
<212>	RNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Synthetic		
<400>	5		
gcagcugucg	gagacucacc	gucggugaga aaauagguccc cucccugc	48
<210>	6		
<211>	48		

<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic	
<400>	6	
	cgugauaucg gagacuacuc guggaguaga aaauaggucc cuccacg	48
<210>	7	
<211>	50	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic	
<400>	7	
	ccgugcuguc ggagacuacu caucgaguag aaauaggucc ccuccacgg	50
<210>	8	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic	
<400>	8	
	cgugcagucg gagacuacuc aucgaguaga aaauaggucc uuccacg	48
<210>	9	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic	
<400>	9	
	cgugcugucg gagacuacuc guagagugga gauaggucc cuccacg	48
<210>	10	
<211>	48	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic	
<400>	10	
	cgugcugucg gagacuacuc guagaguaga gaaaggucc cuccuacg	48

<210> 11
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 11
 ccgugcuguc ggagacuacu cguagaguag auauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 12
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 12
 ccgugcuguc ggagacuacu cguagaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 13
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 13
 gucaugcugu cggagacuac ucaucgagua gaaauagguc ccuccccacg gc 52
 <210> 14
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 14
 gccaugcugu cggagacuac ucaucgagua gaaauagauc ccuccccaug gc 52
 <210> 15
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 15

gccgugcugu cggagacuac ucaucgagua gaaauagguc ccuuccacg gc	52
<210> 16	
<211> 52	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 16	
gccgugcugu cggagacuac ucguugagua gaaauagguc ccuuccacg gc	52
<210> 17	
<211> 52	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 17	
gccgugcugu cggagacuac ucguugagua gaaauagguc ccguccacg gc	52
<210> 18	
<211> 52	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 18	
gccgugcugu cggagacuac ucgccgagua gaaauagguc ccuuccacg gc	52
<210> 19	
<211> 52	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 19	
cccugucugu cggagacuac ucgucgagua gaaauagguc ccuuccacg gg	52
<210> 20	
<211> 54	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Synthetic

<400> 20

caccgugcug ucggauacua cucgccgagu agaaauaggu cccuccccac ggug 54

<210> 21

<211> 54

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 21

ggccgugcug ucggagacua cucgccgagu agaaauaggu cccuccccac ggcu 54

<210> 22

<211> 52

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

cccugucugu cggagacuac ucguagggua gaaauagguc cccuccccacg gg 52

<210> 23

<211> 52

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

gccguguugu cggagacuac ccccagggua gaaauagguc cccuccccacg gc 52

<210> 24

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

gcgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccuccccacgc 50

<210> 25

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

gggugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacc

50

<210> 26

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

gccugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccaggc

50

<210> 27

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 27

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 28

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (5)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 28

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 29

<211> 50

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 29
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 30
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 30
 ccgugcugtc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 31
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 31

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 32
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(15)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<220><221> misc_feature
 <222> (17)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 32

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 33
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(18)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<400> 33

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 34
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

<222> (1)..(21)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 34
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 35

 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(22)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (24)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 35
 ccgugcuguc ggagacuacu cgtcgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 36
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

 <222> (24)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 36
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 37
 <211> 50
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 37
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 38
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 38
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 39
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(27)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

 <400> 39
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgagtag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 40
 <211> 50
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (30)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 40
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 41
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

 <222> (33)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 41
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50
 <210> 42
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(33)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(50)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 42
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaataggucc ccucccacgg 50

 <210> 43
 <211> 50
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (37)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 43

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 44

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (39)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 44

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 45

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (41)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 45

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 46

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (42)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 46

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 47

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (44)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 47

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 48

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (45)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 48

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 49

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (46)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 49

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 50
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (47)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 50

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 51
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (48)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 51

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 52
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (49)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 52

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 53
 <211> 50

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (50)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 53

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 54
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (41)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (44)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 54

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 55
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)

<223> D-RNA
 <400> 55

cgugcugucg gagacuacuc gucgaguaga aaauagguccc cuccacg 48

<210> 56
 <211> 50

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> D-RNA
 <400> 56
 ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 57
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)
 <223> D-RNA
 <400> 57
 cgugcuguug gagacuacuu guuaaguaga uauagguucc cucccacg 48

<210> 58
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> D-RNA
 <400> 58
 gcgugcuguc ggagacuacg cuucgcguag agauaggucc ccucccacgc 50

<210> 59
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)
 <223> D-RNA
 <400> 59
 gcagcugucg gagacucacc gucggugaga aaauaggucc cuccucg 48
 <210> 60
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)
 <223> D-RNA
 <400> 60
 cgugauaucg gagacuacuc guggaguaga aaauaggucc cuccacg 48

 <210> 61
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> D-RNA
 <400> 61
 ccgugcuguc ggagacuacu caucgaguag aaauaggucc ccuccacgg 50
 <210> 62
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)
 <223> D-RNA
 <400> 62

cgugcagucg gagacuacuc aucgaguaga aauaggucac uucccacg 48

<210> 63
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)
 <223> D-RNA
 <400> 63

cgugcugucg gagacuacuc guagagugga gauaggucac cucccacg 48

<210> 64
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(48)
 <223> D-RNA
 <400> 64

cgugcugucg gagacuacuc guagaguaga gauaagucac cuccuacg 48

<210> 65
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> D-RNA
 <400> 65

ccgugcuguc ggagacuacu cguagaguag auauaggucac ccucccacgg 50

<210> 66
 <211> 50

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> D-RNA
 <400> 66
 ccgugcuguc ggagacuacu cguagaguag aaauaggucc ccucccacgg 50

<210> 67
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 67
 gucaugcugu cggagacuac ucaucgagua gaaauagguc ccucuccacg gc 52

<210> 68
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 68
 gccaugcugu cggagacuac ucaucgagua gaaauagauc ccucuccaug gc 52

<210> 69
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 69
 gccgugcugu cggagacuac ucaucgagua gaaauagguc ccuucccacg gc 52
 <210> 70
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 70
 gccgugcugu cggagacuac ucguugagua gaaauagguc ccuucccacg gc 52

 <210> 71
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 71
 gccgugcugu cggagacuac ucguugagua gaaauagguc ccgucccacg gc 52
 <210> 72
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 72

gccgugcugu cggagacuac ucgccgagua gaaauagguc cccucccacg gc 52

<210> 73
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 73

cccgugcugu cggagacuac ucgucgagua gaaauagguc cccucccacg gg 52

<210> 74
 <211> 54
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(54)
 <223> D-RNA
 <400> 74

caccgugcug ucggauacua cucgccgagu agaaauaggu cccucccac ggug 54

<210> 75
 <211> 54
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(54)
 <223> D-RNA
 <400> 75

ggccgugcug ucggagacua cucgccgagu agaaauaggu cccucccac ggcu 54

<210> 76
 <211> 52

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 76
 cccgugcugu cggagacuac ucguagggua gaaauagguc ccucuccacg gg 52

<210> 77
 <211> 52
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(52)
 <223> D-RNA
 <400> 77
 gccguguugu cggagacuac ccccagggua gaaauagguc ccucuccacg gc 52

<210> 78
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> L-RNA
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)
 <223> PEG attached
 <220><221> misc_feature

<222> (41)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 78

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg	50
<210> 79	
<211> 50	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(50)	
<223> D-RNA	
<400> 79	
gcgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgc	50
<210> 80	
<211> 50	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthtic	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(50)	
<223> D-RNA	
<400> 80	
gggugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccaccc	50
<210> 81	
<211> 50	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(50)	
<223> D-RNA	
<400> 81	
gccugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccaggc	50
<210> 82	
<211> 37	
<212> PRT	

<213> Homo sapiens

<400> 82

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 83

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 84

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu

1 5 10 15

Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr

35

<210> 85

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe

1	5	10	15
Asn	Lys	Phe	His
Thr	Phe	Pro	Gln
Thr	Ala	Ile	Gly
Val	Gly	Ala	Pro
20	25	30	

<210> 86

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys

1	5	10	15
Arg	Phe	Gly	Thr
Cys	Thr	Val	Gln
Lys	Leu	Ala	His
Gln	Ile	Tyr	Gln
20	25	30	

Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser

35	40	45
Pro	Gln	Gly
Tyr		

50

<210> 87

<211> 47

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln

1	5	10	15
Val	Gln	Asn	Leu
Ser	His	Arg	Leu
Trp	Gln	Leu	Met
Gly	Pro	Ala	Gly
20	25	30	

Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr

35	40	45
----	----	----

<210> 88

<211> 50

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> L-RNA
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)
 <223> PEG attached
 <400> 88

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 89
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 89

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1	5	10	15
Ser	Arg	Ser	Gly
Gly	Val	Val	Lys
Asp	Asn	Phe	Val
Pro	Thr	Asn	Val
20	25	30	
Gly	Ser	Glu	Ala
Phe			

35
 <210> 90
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220>

><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (39)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 90

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccucc 40

<210> 91
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa
 <400> 91
 Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asp Val
 20 25 30
 Gly Ser Glu Ala Phe

35
 <210> 92
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Sheep
 <400> 92
 Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15
 Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Gln Ala Phe

35

<210> 93
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Canis familiaris
 <400> 93

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Glu Ala Phe
 35

<210> 94
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 94

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> 95
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <400> 95

hwryggaka cummbynynr vkkradaua rruycbucc

40

<210> 96

<211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <400> 96
 cuguyggaga cummubdyhr vkkagadaua gguycuccc 40
 <210> 97
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <400> 97
 cugucggaga cuacucryhg rguagaaaua ggucuccc 40
 <210> 98
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <400> 98
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccc 40
 <210> 99
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)
 <223> n is R or dG

 <220><221> misc_feature
 <222> (4)
 <223> n is U or dT
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)
 <223> n is K or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)
 <223> n is M or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> n is B or dU
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)
 <223> n is N or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)
 <223> n is Y or dT
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (19)
 <223> n is N or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> n is R or dG

<220><221> misc_feature
 <222> (21)
 <223> n is V or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> n is K or dT or dU
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)
 <223> n is KG or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)
 <223> n is A or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)
 <223> n is A or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)
 <223> n is U or dT

 <220><221> misc_feature
 <222> (32)
 <223> n is R or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (34)
 <223> n is Y or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (37)
 <223> n is B or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (39)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature

<222> (40)

<223> n is C or dC

<400> 99

hwnnyggana numnynnnnn nknrnadnna rnuncnnunn

40

<210> 100

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is G ior dG

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is U or dT

<220><221> misc_feature

<222> (9)

<223> n is G or dG

<220><221> misc_feature

<222> (11)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (14)

<223> n is M or dC

<220><221>

> misc_feature

<222> (15)

<223> n is B or dU

<220><221> misc_feature

<222> (17)

<223> n is D or dG

<220><221> misc_feature
 <222> (18)
 <223> n is Y or dT
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)
 <223> n is H or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> n is R or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)
 <223> n is V or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> n is K or dT or dU
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (25)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)
 <223> n is A or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)
 <223> n is U or dT
 <220><221> misc_feature
 <222> (32)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (34)
 <223> n is Y or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature

<222> (37)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (39)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (40)

<223> n is C or dC

<400> 100

cunnyggana numnnbnnnn nknanadnna gnuncnnunn

40

<210> 101

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is G or dG

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is U or dT

<220><221> misc_feature

<222> (9)

<223> n is G or dG

<220><221> misc_feature

<222> (11)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (14)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> n is U or dU
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)
 <223> n is R or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)
 <223> n is Y or dT
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)
 <223> n is H or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> n is G or dG
 <220><
 221> misc_feature
 <222> (21)
 <223> n is R or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> n is U or dT or dU
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)
 <223> n is A or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)
 <223> n is U or dT
 <220><221> misc_feature
 <222> (32)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature

<222> (34)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<

222> (36)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (37)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (39)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (40)

<223> n is C or dC

<400> 101

cunncggana nuanncnnnn ngnanaanna gnuncnnunn

40

<210> 102

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L- nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is G or dG

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is U or dT

<220><221> misc_feature

<222> (9)

<223> n is G or dG

<220><221> misc_feature
 <222> (11)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> n is U or dU
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (18)
 <223> n is U or dT
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)
 <223> n is C or dC
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)
 <223> n is A or dA
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> n is U or dT or dU
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)
 <223> n is G or dG
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)
 <223> n is A or dA
 <220><221> misc_feature

<222> (29)

<223> n is U or dT

<220><221> misc_feature

<222> (32)

<223> n is G or dG

<220><221> misc_feature

<222> (34)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (36)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (37)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (39)

<223> n is C or dC

<220><221> misc_feature

<222> (40)

<223> n is C or dC

<400> 102

cunncggana nuanncnnnn ngnanaanna gnuncnnunn

40

<210>

103

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Syntehtic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 103
cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc 40

<210> 104
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(3)
<223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
<220><221> misc_feature
<222> (5)..(40)
<223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<400> 104
cugtcggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc 40

<210> 105
<211> 40
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(40)
<223> L-nucleic acid

<
220><221> misc_feature
<222> (9)
<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 105
cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc 40

<210> 106
<211> 40

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 106
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 107
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 107
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 108
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature

<222> (17)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 108

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaaua ggucgccucc 40

<210> 109
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(17)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(40)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide
 <400> 109

cugucggaga cuacucgtcg aguagaaaaua ggucgccucc 40

<210> 110
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 110
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaaua ggucgccucc 40

<210> 111
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 111

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 112
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)

 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 112

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 113
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(22)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<220>

<221> misc_feature
 <222> (24)..(40)
 <223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<400> 113

cugucggaga cuacucgucg agtagaaaaua ggucgccucc

40

<210> 114

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (25)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 114

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaaua ggucgccucc

40

<210> 115

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (28)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 115

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccucc

40

<210> 116

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(28)

<223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (30)..(40)

<223> Ribonucleotide rather than deoxyribonucleotide

<400> 116

cugucggaga cuacucgucg aguagaaata ggucuccucc

40

<210> 117

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (32)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 117

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccucc

40

<210> 118

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (34)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 118

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 119

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (36)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 119

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 120

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (37)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 120

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaaua ggucuccucc

40

<210> 121

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (39)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 121

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaaua ggucuccucc

40

<210> 122

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (40)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 122

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaaua ggucuccucc

40

<210> 123

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (39)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 123

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 124
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221>

misc_feature

<222> (1)..(50)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (41)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 124

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 125
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

<222> (1)..(50)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (28)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (41)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 125

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 126

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(50)

<223> L-nucleic acid

<220><221>

misc_feature

<222> (20)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (28)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (41)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 126

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 127

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

 <222> (1)..(50)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (41)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (44)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 127

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 128
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (41)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (44)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 128

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 129

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(50)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (20)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (28)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (41)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (44)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 129

ccgugcuguc ggagacuacu cgucgaguag aaauaggucc ccucccacgg

50

<210> 130

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> L-nucleic acid

<220><221> misc_feature

<222> (15)

<223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<400> 130
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccucc 40

<210> 131
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 131

cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccucc 40

<210> 132
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide

<220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 132
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 133
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (39)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 133
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucgccucc

40

<210> 134
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (36)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (39)
 <223> Deoxyribonucleotide rather than ribonucleotide
 <400> 134
 cugucggaga cuacucgucg aguagaaaua ggucuccucc

40

<210> 135
 <211> 41
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(41)
 <223> L-nucleic acid
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)
 <223> PEG attached
 <400> 135
 ggacugaugg cgcgguccua uuacgccgau agggugaggg g

41