



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101878305 A

(43) 申请公布日 2010. 11. 03

(21) 申请号 200880118455. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 11. 29

C12N 15/11 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/00 (2006. 01)

07023267. 3 2007. 11. 30 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 05. 28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/010167 2008. 11. 29

(87) PCT申请的公布数据

W02009/068318 EN 2009. 06. 04

(71) 申请人 诺松制药股份公司

地址 德国柏林

(72) 发明人 W·普尔施克 F·雅罗施

D·尤尔伯格 S·克鲁斯曼

K·布赫纳 C·马什

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

权利要求书 8 页 说明书 97 页 序列表 125 页

附图 63 页

(54) 发明名称

结合 MCP-1 的核酸及其用途

(57) 摘要

本发明涉及能够结合 MCP-1 的核酸分子,由此该核酸分子用于作为用于治疗 and / 或预防慢性疾病或慢性病症的药剂使用,所述慢性疾病或慢性病症优选选自慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。

1. 能够结合 MCP-1 的核酸分子,由此该核酸分子用作用于治疗和 / 或预防慢性疾病或慢性病症的药剂,所述慢性疾病或慢性病症优选选自慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。

2. 能够结合 MCP-1 的核酸分子,由此该核酸分子用作用于诊断慢性疾病或慢性病症的诊断剂,所述慢性疾病或慢性病症优选选自慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。

3. 根据权利要求 1 或 2 的核酸分子,由此慢性呼吸道疾病选自肺炎、肺和胸膜炎症、胸膜炎、胸腔积液、狼疮肺炎、慢性弥漫性间质性肺疾病、肺栓塞、肺出血、肺萎缩综合征、肺高压和慢性阻塞性肺疾病及其组合。

4. 根据权利要求 3 的核酸分子,由此肺高压选自与左侧心脏病相关的肺高压、与肺病和 / 或低氧血症相关的肺高压、由于慢性血栓形成和 / 或栓塞疾病的肺高压、肺动脉高压,优选特发性肺动脉高压、胶原酶相关的肺动脉高压、家族性肺动脉高压、与其他疾病相关的肺动脉高压、和与静脉或毛细血管疾病相关的肺动脉高压。

5. 根据权利要求 3 的核酸分子,由此慢性阻塞性肺疾病是具有或没有肺血管牵涉的慢性阻塞性肺疾病。

6. 根据权利要求 3 或 5 的核酸分子,由此慢性阻塞性肺疾病选自慢性支气管炎和肺气肿。

7. 根据权利要求 1 或 2 中任一项的核酸分子,由此慢性肾疾病选自狼疮肾炎、膜性增生性肾小球肾炎、膜性肾小球肾炎、IgA 肾病、链球菌感染后肾小球肾炎、急进性肾小球肾炎、肾病综合征、局灶性节段性肾小球硬化症、糖尿病肾病、肾病综合征、和肾病综合征,优选狼疮肾炎。

8. 根据权利要求 1 或 2 的核酸分子,由此所述核酸选自 1A 型核酸、1B 型核酸、2 型核酸、3 型核酸、4 型核酸和具有根据 SEQ. ID. No. 87 至 115 中任一个的核酸序列的核酸。

9. 根据权利要求 8 的核酸分子,由此所述 2 型核酸以 5' - > 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2 和第三序列段盒 B1B,由此

第一序列段盒 B1A 和第三序列段盒 B1B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

第一序列段盒 B1A 包含选自 ACGCA、CGCA 和 GCA 的核苷酸序列,

第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CSUCCUCACCGUGCAAGUGAAGCCGYGGCUC,并且

第三序列段盒 B1B 包含选自 UGCGU、UGCG 和 UGC 的核苷酸序列。

10. 根据权利要求 9 的核酸分子,由此第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CGUCCUCACCGUGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC。

11. 根据权利要求 9 至 10 中任一项的核酸分子,由此

a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 ACGCA,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGCGU ;或者

b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CGCA,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGCG ;或者

c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GCA,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGC 或 UGCG。

12. 根据权利要求 9 至 11 中任一项的核酸分子,由此

第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GCA。

13. 根据权利要求 9 至 12 中任一项的并且优选权利要求 12 的核酸分子,由此

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGCG。

14. 根据权利要求 9 至 13 中任一项的分子,由此所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 37、SEQ. ID. No 116、SEQ. ID. No 117 和 SEQ. ID. No 278 的核酸序列。

15. 根据权利要求 8 的核酸分子,由此所述 3 型核酸以 5' - > 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2A、第三序列段盒 B3、第四序列段盒 B2B、第五序列段盒 B4、第六序列段盒 B5A、第七序列段盒 B6、第八序列段盒 B5B 和第九序列段盒 B1B,由此

第一序列段盒 B1A 和第九序列段盒 B1B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

第二序列段盒 B2A 和第四盒 B2B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

第六序列段盒 B5A 和第八盒 B5B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

第一序列段盒 B1A 包含选自 GURCUGC、GKSYGC、KBBSC 和 BNGC 的核苷酸序列,

第二序列段盒 B2A 包含核苷酸序列 GKMGU,

第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 KRRAR,

第四序列段盒 B2B 包含核苷酸序列 ACKMC,

第五序列段盒 B4 包含选自 CURYGA、CUWAUGA、CWRMGACW 和 UGCCAGUG 的核苷酸序列,

第六序列段盒 B5A 包含选自 GGY 和 CWGC 的核苷酸序列,

第七序列段盒 B6 包含选自 YAGA、CKAAU 和 CCUUUAU 的核苷酸序列,

第八序列段盒 B5B 包含选自 GCYR 和 GCWG 的核苷酸序列,并且

第九序列段盒 B1B 包含选自 GCAGCAC、GCRSMC、GSVVM 和 GCNV 的核苷酸序列。

16. 根据权利要求 15 的核酸分子,由此

第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GAGAA 或 UAAAA。

17. 根据权利要求 15 或 16 的核酸分子,由此

第五序列段盒 B4 包含核苷酸序列 CAGCGACU 或 CAACGACU。

18. 根据权利要求 15 至 17 中任一项的核酸分子,由此

第五序列段盒 B4 包含核苷酸序列 CAGCGACU,并且盒 B3 包含核苷酸序列 UAAAA。

19. 根据权利要求 15 至 17 中任一项的核酸分子,由此

第五序列段盒 B4 包含核苷酸序列 CAACGACU,并且第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GAGAA。

20. 根据权利要求 15 至 19 中任一项的核酸分子,由此

第七序列段盒 B6 包含核苷酸序列 UAGA。

21. 根据权利要求 15 至 20 中任一项的核酸分子,由此

a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GURCUGC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCAGCAC ;或者

b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GKSYGC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCRSMC ;或者

c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 KBBSC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GSVVM ;或者

d) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 BNGC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCNV。

22. 根据权利要求 21 的核酸分子,由此

a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GUGCUGC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCAGCAC ;或者

b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GUGC GC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCGCAC ;或者

c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 KKSSC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GSSMM ;或者

d) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 SNGC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCNS。

23. 根据权利要求 22 的核酸分子,由此

第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GGGC,

并且

第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCCC。

24. 根据权利要求 15 至 23 中任一项的核酸分子,由此第二序列段盒 B2A 包含核苷酸序列 GKMGU,并且第四序列段盒 B2B 包含核苷酸序列 ACKMC。

25. 根据权利要求 24 的核酸分子,由此第二序列段盒 B2A 包含核苷酸序列 GUAGU,并且第四序列段盒 B2B 包含核苷酸序列 ACUAC。

26. 根据权利要求 15 至 25 中任一项的核酸分子,由此

a) 第六序列段盒 B5A 包含核苷酸序列 GGY,

并且

第八序列段盒 B5B 包含核苷酸序列 GCYR ;或者

b) 第六序列段盒 B5A 包含核苷酸序列 CWGC,

并且

第八序列段盒 B5B 包含核苷酸序列 GCWG。

27. 根据权利要求 26 的核酸分子,由此

第六序列段盒 B5A 包含核苷酸序列 GGC,

并且

第八序列段盒 B5B 包含核苷酸序列 GCCG。

28. 根据权利要求 15 至 27 优选 26 至 27 中任一项的核酸分子,由此第六序列段盒 B5A 与第八序列段盒 B5B 的核苷酸 GCY 杂交。

29. 根据权利要求 15 至 18 和 20 至 28 中任一项的核酸分子,由此所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 56 的核酸序列。

30. 根据权利要求 15 至 17 和 19 至 28 中任一项的核酸分子,由此所述核酸包含选自根据 SEQ. ID. No 57 至 61、SEQ. ID. No 67 至 71 和 SEQ. ID. No 73 的核酸序列的核酸序列。

31. 根据权利要求 8 的核酸分子,由此所述 4 型核酸以 5' - > 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2、第三序列段盒 B1B,由此

第一序列段盒 B1A 和第三序列段盒 B1B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

第一序列段盒 B1A 包含选自 AGCGUGDU、GCGCGAG、CSKSUU、GUGUU 和 UGUU 的核苷酸序列;

第二序列段盒 B2 包含选自 AGNDRDGBKGGURGYARGUAAAG、AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG 和 CAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAGA 的核苷酸序列,并且

第三序列段盒 B1B 包含选自 GNCASGCU、CUCGCGUC、GRSMMSG、GRCAC 和 GGCA 的核苷酸序列。

32. 根据权利要求 31 的核酸分子,由此

a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GUGUU,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GRCAC;

b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GCGCGAG,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CUCGCGUC;或者

c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CSKSUU,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GRSMMSG,或者

d) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 UGUU,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GGCA,或者

e) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCGUGDU,

并且

第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GNCASGCU。

33. 根据权利要求 32 的核酸分子,由此第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CSKSUU,并且第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GRSMMSG。

34. 根据权利要求 33 的核酸分子,由此第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CCGCUU,并且第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GGGCGG。

35. 根据权利要求 31 至 34 中任一项的核酸分子,由此

第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG。

36. 根据权利要求 31 至 35 中任一项的核酸分子,由此所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 80 和 SEQ. ID. No 81 的核酸序列。

37. 根据权利要求 8 的核酸分子, 由此所述 1A 型核酸以 5' -> 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2、第三序列段盒 B3、第四序列段盒 B4、第五序列段盒 B5、第六序列段盒 B6 和第七序列段盒 B1B, 由此

第一序列段盒 B1A 和第七序列段盒 B1B 任选地相互杂交, 由此在杂交后形成双链结构,
第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCRUG,
第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCCGGW,
第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GUR,
第四序列段盒 B4 包含核苷酸序列 RYA,
第五序列段盒 B5 包含核苷酸序列 GGGGGRCGCGAYC,
第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 UGCAUAAUG 或 URYAWUUG, 并且
第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CRYGCU。

38. 根据权利要求 37 的核酸分子, 由此

第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCGUG。

39. 根据权利要求 37 或 38 的核酸分子, 由此

第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCCGGU。

40. 根据权利要求 37 至 39 中任一项的核酸分子, 由此

第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GUG。

41. 根据权利要求 37 至 40 中任一项的核酸分子, 由此

第四序列段盒 B4 包含核苷酸序列 GUA。

42. 根据权利要求 37 至 41 中任一项的核酸分子, 由此

第五序列段盒 B5 包含核苷酸序列 GGGGGGCGCGACC。

43. 根据权利要求 37 至 42 中任一项的核酸分子, 由此

第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 UACAUUUG。

44. 根据权利要求 37 至 43 中任一项的核酸分子, 由此

第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CACGCU。

45. 根据权利要求 37 至 44 中任一项的核酸分子, 由此所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 21 的核酸序列。

46. 根据权利要求 8 的核酸分子, 由此所述 1B 型核酸以 5' -> 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2、第三序列段盒 B3、第四序列段盒 B4、第五序列段盒 B5、第六序列段盒 B6 和第七序列段盒 B1B, 由此

第一序列段盒 B1A 和第七序列段盒 B1B 任选地相互杂交, 由此在杂交后形成双链结构,
第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGYRUG,
第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCAGCU 或 CCAGY,
第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GUG,
第四序列段盒 B4 包含核苷酸序列 AUG,
第五序列段盒 B5 包含核苷酸序列 GGGGGGCGCGACC
第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 CAUUUUA 或 CAUUUA, 并且
第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CAYRCU。

47. 根据权利要求 46 的核酸分子, 由此

第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCGUG。

48. 根据权利要求 46 或 47 的核酸分子,由此

第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCAGU。

49. 根据权利要求 46 至 48 中任一项的核酸分子,由此

第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 CAUUUA。

50. 根据权利要求 46 至 49 中任一项的核酸分子,由此

第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CACGCU。

51. 根据权利要求 46 至 50 中任一项的核酸分子,由此所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 28 和 SEQ. ID. No 27 的核酸序列。

52. 根据权利要求 1 至 51 中任一项的核酸分子,由此所述 MCP-1 选自猴 MCP-1、马 MCP-1、兔 MCP-1、牛 MCP-1、犬 MCP-1、猪 MCP-1 和人 MCP-1。

53. 根据权利要求 1 至 52 中任一项的核酸分子,由此所述核酸能够结合人 MCP-1。

54. 根据权利要求 1 至 53 中任一项的,优选权利要求 53 的核酸分子,由此所述 MCP-1 具有根据 SEQ. ID. No. 1 的氨基酸序列。

55. 根据权利要求 1 至 54 中任一项的核酸分子,由此所述核酸包含修饰物,由此所述修饰物优选为高分子量部分和 / 或由此所述修饰物优选允许改变根据权利要求 1 至 54 中任一项的核酸在动物或人体内,优选人体内的停留时间方面的特征。

56. 根据权利要求 55 的核酸分子,由此所述修饰物选自 HES 部分、PEG 部分、生物可降解修饰及其组合。

57. 根据权利要求 56 的核酸分子,由此所述修饰物是由直链或分支的 PEG 组成的 PEG 部分,由此所述 PEG 部分的分子量优选为大约 20,000 至 120,000Da,更优选大约 30,000 至 80,000Da,和最优选大约 40,000Da。

58. 根据权利要求 56 的核酸分子,由此所述修饰物是 HES 部分,由此优选地,所述 HES 部分的分子量为大约 10,000 至 200,000Da,更优选大约 30,000 至 170,000Da,和最优选大约 150,000Da。

59. 根据权利要求 55 至 58 中任一项的核酸分子,由此所述修饰物经由连接体偶联至所述核酸,由此所述连接体是连接体或生物可降解连接体。

60. 根据权利要求 55 至 59 中任一项的核酸分子,由此所述修饰物在所述核酸的 5'-末端核苷酸和 / 或所述核酸的 3'-末端核苷酸处偶联至所述核酸,和 / 或偶联至在所述核酸的所述 5'-末端核苷酸和所述 3'-末端核苷酸之间的核苷酸。

61. 根据权利要求 1 至 60 中任一项的核酸分子,由此所述核酸的核苷酸或形成所述核酸的核苷酸是 L-核苷酸。

62. 根据权利要求 1 至 61 中任一项的核酸分子,由此所述核酸是 L-核酸。

63. 根据权利要求 1 至 61 中任一项的核酸分子,由此能够结合 MCP-1 的所述核酸的所述部分由 L-核苷酸组成。

64. 药物组合物,其包含权利要求 1 至 63 中任一项限定的核酸分子和任选地另外的组成成分,由此所述另外的组成成分选自药学上可接受的赋形剂、药学上可接受的载体和药学活性试剂,并且由此所述药物组合物用于治疗 and / 或预防慢性疾病或慢性病。

65. 根据权利要求 64 的药物组合物,其中所述药物组合物包含如权利要求 1 至 63 中任

一项中限定的核酸分子和药学上可接受的载体。

66. 根据权利要求 64 和 65 中任一项的药物组合物,其中所述慢性疾病或慢性病症如前述权利要求中任一项中限定的。

67. 根据权利要求 64 至 66 中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物包含第二种药理学活性试剂,由此此类第二种药理学活性试剂是免疫抑制剂。

68. 根据权利要求 67 的药物组合物,其中所述免疫抑制剂作为分开的剂量单位包含在所述药物组合物中。

69. 根据权利要求 67 至 68 中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物比包含免疫抑制剂作为单一疗法的药物组合物包含更少的免疫抑制剂。

70. 根据权利要求 67 至 69 中任一项的药物组合物,其中所述免疫抑制剂的剂量单位包含少于作为单一疗法使用时所述免疫抑制剂的剂量单位。

71. 根据权利要求 69 至 70 中任一项的药物组合物,其中根据权利要求 69 至 70 中任一项的免疫抑制剂的减少是至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%,优选至少 75%。

72. 根据权利要求 67 至 71 中任一项的药物组合物,其中所述免疫抑制剂选自环磷酰胺和麦考酚酸酯。

73. 根据权利要求 64 至 72 中任一项的,并且更具体而言权利要求 71 和 72 中任一项的药物组合物,其中所述慢性疾病是狼疮肾炎和 / 或肺炎。

74. 根据权利要求 64 至 66 中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物包含第二种药理学活性试剂,由此此类第二种药理学活性试剂是抗炎剂。

75. 根据权利要求 74 的药物组合物,其中所述抗炎剂作为分开的剂量单位包含在所述药物组合物中。

76. 根据权利要求 74 至 75 中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物比包含抗炎剂作为单一疗法的药物组合物包含更少的抗炎剂。

77. 根据权利要求 74 至 76 中任一项的药物组合物,其中所述抗炎剂的剂量单位包含少于作为单一疗法使用时所述免疫抑制剂的剂量单位。

78. 根据权利要求 76 至 77 中任一项的药物组合物,其中根据权利要求 76 至 77 中任一项的免疫抑制剂的减少是至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%,优选至少 75%。

79. 根据权利要求 74 至 78 中任一项的药物组合物,其中所述抗炎剂选自地塞米松和罗氟司特,优选地所述抗炎剂是地塞米松。

80. 根据权利要求 74 至 79 中任一项的,并且更具体而言权利要求 78 和 79 中任一项的药物组合物,其中所述慢性疾病是慢性呼吸道疾病和更优选地 COPD。

81. 如权利要求 1 至 63 中任一项限定的核酸分子,用于在用于治疗患有慢性疾病或慢性病症或处于发展慢性疾病或慢性病症的危险中的受试者的方法中,由此所述方法包括 - 给所述受试者施用药学活性量的核酸分子。

82. 根据权利要求 81 的核酸分子,其中所述慢性疾病或慢性病症如前述权利要求中任一项中限定的。

83. 根据权利要求 81 至 82 中任一项的核酸分子,其中所述方法进一步包括步骤

- 给所述受试者施用免疫抑制剂。

84. 根据权利要求 83 的核酸分子,其中在治疗过程中施用的免疫抑制剂的量小于作为单一疗法将施用于受试者的免疫抑制剂的量。

85. 根据权利要求 84 的核酸分子,其中所述免疫抑制剂的量减少至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%,优选至少 75%。

86. 根据权利要求 81 至 85 中任一项的核酸分子,其中所述免疫抑制剂选自环磷酰胺和麦考酚酸酯。

87. 根据权利要求 81 至 86 中任一项的,并且更具体而言权利要求 85 和 86 中任一项的核酸分子,其中所述慢性疾病是慢性肾疾病,优选狼疮肾炎和 / 或肺炎。

88. 根据权利要求 81 至 82 中任一项的核酸分子,其中所述方法进一步包括步骤
- 给所述受试者施用抗炎剂。

89. 根据权利要求 88 的核酸分子,其中在治疗过程中施用的抗炎剂的量小于作为单一疗法将施用于受试者的免疫抑制剂的量。

90. 根据权利要求 89 的核酸分子,其中所述免疫抑制剂的量减少至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%,优选至少 75%。

91. 根据权利要求 88 至 90 中任一项的核酸分子,其中所述抗炎剂选自地塞米松和罗氟司特,优选地是地塞米松。

92. 根据权利要求 88 至 91 中任一项,并且更具体而言权利要求 90 和 91 中任一项的核酸分子,其中所述慢性疾病是慢性呼吸道疾病,优选 COPD。

93. 如权利要求 1 至 63 中任一项中限定的核酸分子,在制备用于治疗和 / 或预防慢性疾病或慢性病症的药剂中的用途。

94. 根据权利要求 93 的用途,其中所述疾病或病症是如前述权利要求中任一项中限定的疾病或病症。

95. 根据权利要求 93 至 94 中任一项的用途,其中所述药剂用于人医学或用于兽医学。

96. 用于诊断慢性疾病或慢性病症的方法,所述方法包括下述步骤:

- 使来自受试者的样品与如与权利要求 1 至 63 中任一项中限定的核酸分子接触,所述受试者待测试是否患有慢性疾病或慢性病症或处于发展慢性疾病或慢性病症的危险中;和
- 检测是否形成包含 MCP-1 和所述核酸分子的复合物。

97. 根据权利要求 96 的方法,其中所述慢性疾病或慢性病症是如前述权利要求中任一项中限定的慢性疾病或慢性病症。

98. 如权利要求 1 至 63 中任一项中限定的核酸分子,在制备用于诊断如与如前述权利要求中任一项中限定的慢性疾病或慢性病症的诊断剂中的用途。

结合 MCP-1 的核酸及其用途

[0001] 本发明涉及结合 MCP-1 的核酸及其分别用于制备药剂 (medicament) 和诊断剂的用途。

[0002] 人 MCP-1 (单核细胞化学吸引蛋白 -1 (monocyte chemoattractant protein-1); 备选名称为 MCAF [单核细胞趋化和活化因子 (monocyte chemoattracting and activating factor)], CCL2、SMC-CF [平滑肌细胞集落刺激因子]、HC-11、LDCF、GDGF、TSG-8、SCYA2、A2; SwissProt 登录号为 P13500) 由三个研究组独立地表征 (Matsushima 1988; Rollins 1989; Yoshimura 1989)。它由 76 个氨基酸组成, 并且像所有趋化因子一样以肝素结合位点为特点。两个分子内二硫键赋予该分子以稳定的刚性结构。此外, MCP-1 在其氨基末端携带有焦谷氨酸。位于 Thr 71 处的是潜在的 O- 联糖基化位点。另外的 MCP 家族成员既存在于人中 (MCP-2、-3、-4) 也存在于小鼠中 (MCP-2、-3、-5)。人蛋白质与人 MCP-1 具有大约 70% 的同源性。

[0003] MCP-1 的结构已经通过 NMR (Handel 1996) 和 X- 射线 (Lubkowski 1997) 进行了解析。MCP-1 单体具有典型的趋化因子折叠, 其中氨基末端的半胱氨酸后面接着是在希腊钥匙基序 (Greek key motif) 中导致三个反平行 β - 折叠片的长环。该蛋白质终止于叠加在这三个 β 折叠片上的 α 螺旋 (PDB 数据登录号 1DOK)。

[0004] 尽管通常保持了来自不同哺乳动物物种的 MCP-1 形式的三维结构, 但氨基酸序列在进化过程中并未得到特别良好地保守。序列比对结果表明, 在前 76 个氨基酸中人和鼠 MCP-1 (也称为 JE) 之间的总体序列相似性为 55%。除了氨基酸序列, 鼠 MCP-1 与人 MCP-1 的区别在于分子大小 (鼠 MCP-1 有 125 个氨基酸) 和糖基化程度。鼠 MCP-1 含有 49- 氨基酸的羧基末端结构域, 该结构域在人 MCP-1 中不存在并且不是体外生物活性所必需的。人 MCP-1 与来自下面的 MCP-1 具有如下百分比的相同氨基酸:

[0005]	• 猕猴 (Macaca mulatta) MCP-1	97%
[0006]	• 欧洲野猪 (Sus scrofa) MCP-1	79%
[0007]	• 家马 (Equus caballus)	78%
[0008]	• 家犬 (Canis familiaris) MCP-1	76%
[0009]	• 穴兔 (Oryctolagus cuniculus) MCP-1	75%
[0010]	• 家牛 (Bos Taurus)	72%
[0011]	• 智人 (Homo sapiens) MCP-3	71%
[0012]	• 智人嗜酸性粒细胞趋化因子	64%
[0013]	• 智人 MCP-2	62%
[0014]	• 小家鼠 (Mus musculus) MCP-1	55%
[0015]	• 褐家鼠 (Rattus norvegicus) MCP-1	55%

[0016] 考虑到这种高程度的趋异性, 可能有必要产生啮齿动物 MCP-1 的拮抗剂用于在啮齿动物模型中成功地实施药理学研究。

[0017] MCP-1 是强效的单核细胞 / 巨噬细胞、嗜碱性粒细胞、激活 T 细胞和 NK 细胞的引诱剂。多种细胞类型, 例如内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、角质形成细胞、滑膜细胞、肾小球

膜细胞、成骨细胞、平滑肌细胞,以及众多肿瘤细胞均表达 MCP-1 (Baggiolini 1994)。它的表达受到几种类型的促炎剂,例如 IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 、LPS(脂多糖)和 GM-CSF 刺激。

[0018] 在混杂的趋化因子网络中相当与众不同, MCP-1 在其受体使用上是高度特异的,只以高亲和力与趋化因子受体 CCR2 结合。像所有趋化因子受体一样,CCR2 是 G 蛋白偶联受体 (GPCR) (Dawson2003)。CCR2 看来似乎由于编码羧基末端区域的 mRNA 的可变剪接而表达成两种稍微不同的形式 (CCR2a 和 CCR2b) (Charo 1994)。这些受体在单核细胞、骨髓前体细胞和激活的 T 细胞中表达 (Myers1995;Qin 1996)。MCP-1 与转染入 HEK-293 细胞中的受体的解离常数是 260pM,该值与在单核细胞上测得的值相一致 (Myers 1995;Van Riper 1993)。用 MCP-1 激活在经转染的 HEK-293 细胞上的 CCR2b,在浓度为 90pM 时抑制腺苷酸环化酶,并且在稍微更高的浓度时动员细胞内的钙,这看似不依赖于磷脂酰肌醇的水解。对腺苷酸环化酶和细胞内钙释放的影响受到百日咳毒素的强烈抑制,这意味着 G_i 型异源三聚体 G-蛋白参与了信号转导 (Myers 1995)。

[0019] MCP-1 参与将单核细胞募集入发炎的组织中。在那里,定居巨噬细胞释放趋化因子例如 MCP-1 及其他,和细胞因子例如 TNF、IL-1 β 及其他,它们激活内皮细胞以表达一批粘着分子。所产生的“粘性”内皮导致血管中的单核细胞沿着它的表面滚动。在这里,单核细胞遇到内皮表面上递呈的 MCP-1,其结合单核细胞上的 CCR2 并将它们激活。这最终导致被牢固地捕获,单核细胞沿着内皮扩散,并移行入周围组织中,在那里单核细胞分化成巨噬细胞并迁移至最大 MCP-1 浓度的位点。

[0020] MCP-1 是趋化因子家族的成员,该家族是一类小的(约 8-14kDa)、结合肝素的、大多数为碱性的且在结构上相关的分子的家族。它们主要在发炎的组织中形成并调节白血球(白细胞)的募集、激活和增殖 (Baggiolini 1994;Springer 1995;Schall 1994)。趋化因子选择性地诱导嗜中性白细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、肥大细胞、T 细胞和 B 细胞的趋化性。除了它们的趋化效应,它们还可以在应答细胞中选择性地发挥其他作用,如改变细胞形状,瞬时升高游离的细胞内钙离子的浓度,脱粒,上调整联蛋白,形成生物活性脂质例如白三烯、前列腺素、血栓烷,或呼吸爆发(释放活性氧类别来破坏致病微生物或肿瘤细胞)。因此,通过引起另外的促炎介质的释放以及白细胞向感染或炎症位点的趋化性和外渗,趋化因子引发炎症应答逐步升级。

[0021] 基于四个保守的半胱氨酸残基中的前两个的排列,将趋化因子分成四类:其中所述半胱氨酸串联的 CC 或 β -趋化因子,其中所述半胱氨酸由一个另外的氨基酸残基隔开的 CXC 或 α -趋化因子,只具有一个二硫桥的 XC 或 γ -趋化因子(迄今为止,淋巴细胞趋化因子 (lymphotactin) 是唯一的代表),以及特征为在所述半胱氨酸之间有 3 个氨基酸残基的 CX3C-趋化因子(迄今为止已知唯一的该类型的成员是膜结合的 fractalkin (Bazan 1997))。

[0022] CXC 趋化因子主要作用于嗜中性白细胞,特别是在它们的氨基末端处携带有氨基酸序列 ELR 的那些 CXC 趋化因子。对于嗜中性白细胞具有活性的 CXC 趋化因子的实例是 IL-8、GRO- α 、GRO- β 和 GRO- γ 、NAP-2、ENA-78 和 GCP-2。CC 趋化因子作用于更多类别的白细胞上,例如单核细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞以及 T 和 B 淋巴细胞 (Oppenheim 1991;Baggiolini1994;Miller 1992;Jose 1994;Ponath 1996a)。这些趋化因子的实例是 I-309、MCP-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4、MIP-1 α 和 MIP- β 、RANTES 和嗜酸性粒

细胞趋化因子。

[0023] 趋化因子通过属于七跨膜 G 蛋白偶联受体 (GPCRs ;Murphy2000) 超家族的受体起作用。一般而言,趋化因子和趋化因子受体的相互作用是趋于混杂的,因为一个趋化因子可以结合许多趋化因子受体,并且反而言之,单个趋化因子受体可以与几种趋化因子相互作用。一些已知的 CC 趋化因子的受体包括结合 MIP-1 α 和 RANTES 的 CCR1 (Neote 1993 ;Gao 1993) ;结合包括 MCP-1、MCP-2、MCP-3 和 MCP-4 在内的趋化因子的 CCR2 (Charo 1994 ;Myers 1995 ;Gong1997 ;Garcia-Zepeda 1996) ;结合包括嗜酸性粒细胞趋化因子、RANTES 和 MCP-3 在内的趋化因子的 CCR3 (Ponath 1996b) ;已经发现响应于 MCP-1、MIP-1 α 和 RANTES 而产生信号的 CCR4 (Power 1995) ;以及已经显示响应于 MIP-1 α 和 MIP- β 及 RANTES 而产生信号的 CCR5 (Boring 1996 ;Raport 1996 ;Samson 1996)。

[0024] 如上所述,MCP 家族的所有四个成员 (1-4) 都结合 CCR2,而 MCP-2、MCP-3 和 MCP-4 还可以与 CCR1 和 CCR3 相互作用 (Gong1997 ;Heath 1997 ;Uguccioni1997),并且在 MCP-2 的情况下可以与 CCR5 相互作用 (Ruffing 1998)。显示出与 MCP 家族具有高同源性的另一种 CC 趋化因子是嗜酸性粒细胞趋化因子,其最初从获自受变应原攻击的、致敏的豚鼠的支气管肺泡灌洗液中分离出来 (Jose1994)。已经显示出,嗜酸性粒细胞趋化因子也能够激活 CCR2 (Martinelli 2001)。

[0025] 作为本发明的基础的问题是提供与 MCP-1 特异性地相互作用的工具 (means),并且所述工具适合于分别预防和 / 或治疗慢性疾病和慢性病症。更具体而言,作为本发明的基础的问题是提供与 MCP-1 特异性地相互作用的基于核酸的工具,并且所述核酸适合于分别预防和 / 或治疗慢性疾病和慢性病症。

[0026] 作为本发明的基础的另外一个问题是提供用于制备用于治疗疾病的诊断剂的工具,由此所述疾病分别是慢性疾病和慢性病症。

[0027] 与上述特定问题相结合,慢性疾病和慢性病症分别优选是慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。

[0028] 作为本发明的基础的这些和其他的问题通过所附的独立权利要求的主题而得以解决。优选的实施方案可以从从属权利要求中获得。

[0029] 作为本发明的基础的问题通过独立权利要求的主题而得以解决。优选的实施方案受从属权利要求的支配。

[0030] 更具体而言,在第一个方面,这也是所述第一个方面的第一个实施方案,作为本发明的基础的问题通过能够结合 MCP-1 的核酸分子得以解决,由此该核酸分子用于作为用于治疗 and / 或预防慢性疾病或慢性病症的药剂使用,所述慢性疾病或慢性病症优选选自慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。

[0031] 在第二个方面,这也是所述第二个方面的第一个实施方案,作为本发明的基础的问题通过能够结合 MCP-1 的核酸分子得以解决,由此该核酸分子用于作为用于诊断慢性疾病或慢性病症的诊断剂使用,所述慢性疾病或慢性病症优选选自慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。

[0032] 在第一个和第二个方面的第二个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个实施方案的一个实施方案,慢性呼吸道疾病选自肺炎、肺和胸膜炎症、胸膜炎、胸腔积液、狼疮肺炎、慢性弥漫性间质性肺疾病、肺栓塞、肺出血、肺萎缩综合征、肺高压和慢性

阻塞性肺疾病及其组合。

[0033] 在第一个和第二个方面的第三个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个和第二个实施方案的一个实施方案,肺高压选自与左侧心脏病相关的肺高压、与肺病和 / 或低氧血症相关的肺高压、由于慢性血栓形成和 / 或栓塞疾病的肺高压、肺动脉高压,优选特发性肺动脉高压、胶原酶 (collagenase) 相关的肺动脉高压、家族性肺动脉高压、与其他疾病相关的肺动脉高压、和与静脉 (venous) 或毛细血管疾病相关的肺动脉高压。

[0034] 在第一个和第二个方面的第四个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个和第三个实施方案的一个实施方案,慢性阻塞性肺疾病是与肺血管牵涉相关或不相关的慢性阻塞性肺疾病。

[0035] 在第一个和第二个方面的第五个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个、第三个和第四个实施方案的一个实施方案,慢性阻塞性肺疾病选自慢性支气管炎和肺气肿。

[0036] 在第一个和第二个方面的第六个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个实施方案的一个实施方案,慢性肾疾病选自狼疮肾炎、膜性增生性肾小球肾炎、膜性肾小球肾炎、IgA 肾病、链球菌感染后肾小球肾炎、急进性肾小球肾炎、肾病综合征、局灶性节段性肾小球硬化症、糖尿病肾病、肾病综合征、和肾病综合征,优选狼疮肾炎。

[0037] 在第一个和第二个方面的第七个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五个和第六个实施方案的一个实施方案,该核酸选自 1A 型核酸、1B 型核酸、2 型核酸、3 型核酸、4 型核酸和具有根据 SEQ. ID. No. 87 至 115 中任一个的核酸序列的核酸。

[0038] 在第一个和第二个方面的第八个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第七个实施方案的一个实施方案,2 型核酸以 5' - > 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2 和第三序列段盒 B1B,由此

[0039] 第一序列段盒 B1A 和第三序列段盒 B1B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

[0040] 第一序列段盒 B1A 包含选自 ACGCA、CGCA 和 GCA 的核苷酸序列,

[0041] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CSUCCCUCACCGUGCAAGUGAAGCCGYGGCUC,并且

[0042] 第三序列段盒 B1B 包含选自 UGCGU、UGCG 和 UGC 的核苷酸序列。

[0043] 在第一个和第二个方面的第九个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第八个实施方案的一个实施方案,

[0044] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CGUCCCUCACCGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC。

[0045] 在第一个和第二个方面的第十个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第八个和第九个实施方案的一个实施方案,

[0046] a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 ACGCA,

[0047] 并且

[0048] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGCGU ;或者

[0049] b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CGCA,

[0050] 并且

- [0051] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGCG ;或者
- [0052] c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GCA,
- [0053] 并且
- [0054] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGC 或 UGCG。
- [0055] 在第一个和第二个方面的第十一个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第八个、第九个和第十个实施方案的一个实施方案,
- [0056] 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GCA。
- [0057] 在第一个和第二个方面的第十二个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第八个、第九个、第十个和第十一个实施方案的一个实施方案,优选第一个和第二个方面的第十一个实施方案,
- [0058] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 UGCG。
- [0059] 在第一个和第二个方面的第十三个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第八个、第九个、第十个、第十一个和第十二个实施方案的一个实施方案,所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 37、SEQ. ID. No116、SEQ. ID. No 117 和 SEQ. ID. No 278 的核酸序列。
- [0060] 在第一个和第二个方面的第十四个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五个、第六个和第七个实施方案的一个实施方案,所述 3 型核酸以 5' - > 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2A、第三序列段盒 B3、第四序列段盒 B2B、第五序列段盒 B4、第六序列段盒 B5A、第七序列段盒 B6、第八序列段盒 B5B 和第九序列段盒 B1B,由此
- [0061] 第一序列段盒 B1A 和第九序列段盒 B1B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,
- [0062] 第二序列段盒 B2A 和第四序列段盒 B2B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,
- [0063] 第六序列段盒 B5A 和第八序列段盒 B5B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,
- [0064] 第一序列段盒 B1A 包含选自 GURCUGC、GKSYGC、KBBSC 和 BNGC 的核苷酸序列,
- [0065] 第二序列段盒 B2A 包含核苷酸序列 GKMGU,
- [0066] 第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 KRRAR,
- [0067] 第四序列段盒 B2B 包含核苷酸序列 ACKMC,
- [0068] 第五序列段盒 B4 包含选自 CURYGA、CUWAUGA、CWRMGACW 和 UGCCAGUG 的核苷酸序列,
- [0069] 第六序列段盒 B5A 包含选自 GGY 和 CWGC 的核苷酸序列,
- [0070] 第七序列段盒 B6 包含选自 YAGA、CKAAU 和 CCUUUAU 的核苷酸序列,
- [0071] 第八序列段盒 B5B 包含选自 GCYR 和 GCWG 的核苷酸序列,并且
- [0072] 第九序列段盒 B1B 包含选自 GCAGCAC、GCRSMC、GSVVM 和 GCNV 的核苷酸序列。
- [0073] 在第一个和第二个方面的第十五个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个实施方案的一个实施方案,
- [0074] 第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GAGAA 或 UAAAA。
- [0075] 在第一个和第二个方面的第十六个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面

的第十四个和第十五个实施方案的一个实施方案,

[0076] 第五序列段盒 B4 包含核苷酸序列 CAGCGACU 或 CAACGACU。

[0077] 在第一个和第二个方面的第十七个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个和第十六个实施方案的一个实施方案,

[0078] 第五序列段盒 B4 包含核苷酸序列 CAGCGACU,并且盒 B3 包含核苷酸序列 UAAAA。

[0079] 在第一个和第二个方面的第十八个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个和第十六个实施方案的一个实施方案,

[0080] 第五序列段盒 B4 包含核苷酸序列 CAACGACU,并且第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GAGAA。

[0081] 在第一个和第二个方面的第十九个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个和第十八个实施方案的一个实施方案,

[0082] 第七序列段盒 B6 包含核苷酸序列 UAGA。

[0083] 在第一个和第二个方面的第二十个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个、第十八个和第十九个实施方案的一个实施方案,

[0084] a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GURCUGC,

[0085] 并且

[0086] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCAGCAC ;或者

[0087] b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GKS YGC,

[0088] 并且

[0089] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCRSMC ;或者

[0090] c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 KBBSC,

[0091] 并且

[0092] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GSVVM ;或者

[0093] d) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 BNGC,

[0094] 并且

[0095] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCNV。

[0096] 在第一个和第二个方面的第二十个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第二十个实施方案的一个实施方案,

[0097] a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GUGCUGC,

[0098] 并且

[0099] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCAGCAC ;或者

[0100] b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GUGC GC,

[0101] 并且

[0102] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCGCAC ;或者

[0103] c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 KKSSC,

[0104] 并且

[0105] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GSSMM ;或者

[0106] d) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 SNGC,

[0107] 并且

[0108] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCNS。

[0109] 在第一个和第二个方面的第二十二个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第二十一个实施方案的一个实施方案,

[0110] 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GGGC,

[0111] 并且

[0112] 第九序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GCCC。

[0113] 在第一个和第二个方面的第二十三实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个、第十八个、第十九个、第二十个、第二十一和第二十二个实施方案的一个实施方案,第二序列段盒 B2A 包含核苷酸序列 GKMGU,并且第四序列段盒 B2B 包含核苷酸序列 ACKMC。

[0114] 在第一个和第二个方面的第二十四实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第二十三实施方案的一个实施方案,第二序列段盒 B2A 包含核苷酸序列 GUAGU,并且第四序列段盒 B2B 包含核苷酸序列 ACUAC。

[0115] 在第一个和第二个方面的第二十五个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个、第十八个、第十九个、第二十个、第二十一、第二十二、第二十三和第二十四实施方案的一个实施方案,

[0116] a) 第六序列段盒 B5A 包含核苷酸序列 GGY,

[0117] 并且

[0118] 第八序列段盒 B5B 包含核苷酸序列 GCYR ;或者

[0119] b) 第六序列段盒 B5A 包含核苷酸序列 CWGC,

[0120] 并且

[0121] 第八序列段盒 B5B 包含核苷酸序列 GCWG。

[0122] 在第一个和第二个方面的第二十六个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第二十五个实施方案的一个实施方案,

[0123] 第六序列段盒 B5A 包含核苷酸序列 GGC,

[0124] 并且

[0125] 第八序列段盒 B5B 包含核苷酸序列 GCCG。

[0126] 在第一个和第二个方面的第二十七个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个、第十八个、第十九个、第二十个、第二十一、第二十二、第二十三、第二十四、第二十五和第二十六个实施方案,优选第一个方面和第二个方面的第二十五个和第二十六个实施方案的一个实施方案,第六序列段盒 B5A 与第八序列段盒 B5B 的核苷酸 GCY 杂交。

[0127] 在第一个和第二个方面的第二十八个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个、第十八个、第十九个、第二十个、第二十一、第二十二、第二十三、第二十四、第二十五、第二十六和第二十七个实施方案的一个实施方案,所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 56 的核酸序列。

[0128] 在第一个和第二个方面的第二十九个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第十四个、第十五个、第十六个、第十七个、第十八个、第十九个、第二十个、第二十一

个、第二十二个、第二十三、第二十四、第二十五、第二十六个和第二十七个实施方案的一个实施方案,所述核酸包含选自根据 SEQ. ID. No 57 至 61、SEQ. ID. No 67 至 71 和 SEQ. ID. No 73 的核酸序列的核酸序列。

[0129] 在第一个和第二个方面的第三十个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五个、第六个和第七个实施方案的一个实施方案,所述 4 型核酸以 5' - > 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2、第三序列段盒 B1B,由此

[0130] 第一序列段盒 B1A 和第三序列段盒 B1B 任选地相互杂交,由此在杂交后形成双链结构,

[0131] 第一序列段盒 B1A 包含选自 AGCGUGDU、GCGCGAG、CSKSUU、GUGUU 和 UGUU 的核苷酸序列;

[0132] 第二序列段盒 B2 包含选自 AGNDRDGBKGGURGYARGUAAAG、AGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAG 和 CAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAGA 的核苷酸序列,并且

[0133] 第三序列段盒 B1B 包含选自 GNCASGCU、CUCGCGUC、GRSMMSG、GRCAC 和 GGCA 的核苷酸序列。

[0134] 在第一个和第二个方面的第三十一个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第三十个实施方案的一个实施方案,

[0135] a) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GUGUU,

[0136] 并且

[0137] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GRCAC;

[0138] b) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 GCGCGAG,

[0139] 并且

[0140] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CUCGCGUC;或者

[0141] c) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CSKSUU,

[0142] 并且

[0143] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GRSMMSG,或者

[0144] d) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 UGUU,

[0145] 并且

[0146] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GGCA,或者

[0147] e) 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCGUGDU,

[0148] 并且

[0149] 第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GNCASGCU。

[0150] 在第一个和第二个方面的第三十二个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第三十一个实施方案的一个实施方案,第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CSKSUU,并且第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GRSMMSG。

[0151] 在第一个和第二个方面的第三十三个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第三十二个实施方案的一个实施方案,第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 CCGCUU,并且第三序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 GGGCGG。

[0152] 在第一个和第二个方面的第三十四个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方

面的第三十个、第三十一个、第三十二个和第三十三个实施方案的一个实施方案，

[0153] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG。

[0154] 在第一个和第二个方面的第三十五个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十个、第三十一个、第三十二个、第三十三个和第三十四个实施方案的一个实施方案，所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 80 和 SEQ. ID. No 81 的核酸序列。

[0155] 在第一个和第二个方面的第三十六个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五个、第六个和第七个实施方案的一个实施方案，所述 1A 型核酸以 5' -> 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2、第三序列段盒 B3、第四序列段盒 B4、第五序列段盒 B5、第六序列段盒 B6 和第七序列段盒 B1B，由此

[0156] 第一序列段盒 B1A 和第七序列段盒 B1B 任选地相互杂交，由此在杂交后形成双链结构，

[0157] 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCRUG，

[0158] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCCGGW，

[0159] 第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GUR，

[0160] 第四序列段盒 B4 包含核苷酸序列 RYA，

[0161] 第五序列段盒 B5 包含核苷酸序列 GGGGGRCGCGAYC，

[0162] 第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 UGCAUAAUG 或 URYAWUUG，并且

[0163] 第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CRYGCU。

[0164] 在第一个和第二个方面的第三十七个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个实施方案的一个实施方案，

[0165] 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCGUG。

[0166] 在第一个和第二个方面的第三十八个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个和第三十七个实施方案的一个实施方案，

[0167] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCCGGU。

[0168] 在第一个和第二个方面的第三十九个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个、第三十七个和第三十八个实施方案的一个实施方案，

[0169] 第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GUG。

[0170] 在第一个和第二个方面的第四十个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个、第三十七个、第三十八个和第三十九个实施方案的一个实施方案，

[0171] 第四序列段盒 B4 包含核苷酸序列 GUA。

[0172] 在第一个和第二个方面的第四十一个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个、第三十七个、第三十八个、第三十九个和第四十个实施方案的一个实施方案，

[0173] 第五序列段盒 B5 包含核苷酸序列 GGGGGCGCGACC。

[0174] 在第一个和第二个方面的第四十二个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个、第三十七个、第三十八个、第三十九个、第四十个和第四十一个实施方案的一个实施方案，

[0175] 第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 UACAUUUG。

[0176] 在第一个和第二个方面的第四十三个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方

面的第三十六个、第三十七个、第三十八个、第三十九个、第四十个、第四十一个和第四十二个实施方案的一个实施方案，

[0177] 第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CACGCU。

[0178] 在第一个和第二个方面的第四十四个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第三十六个、第三十七个、第三十八个、第三十九个、第四十个、第四十一个、第四十二个和第四十三个实施方案的一个实施方案，所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 21 的核酸序列。

[0179] 在第一个和第二个方面的第四十五个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五个、第六个和第七个实施方案的一个实施方案，所述 1B 型核酸以 5' -> 3' 方向包含第一序列段盒 B1A、第二序列段盒 B2、第三序列段盒 B3、第四序列段盒 B4、第五序列段盒 B5、第六序列段盒 B6 和第七序列段盒 B1B，由此

[0180] 第一序列段盒 B1A 和第七序列段盒 B1B 任选地相互杂交，由此在杂交后形成双链结构，

[0181] 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGYRUG，

[0182] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCAGCU 或 CCAGY，

[0183] 第三序列段盒 B3 包含核苷酸序列 GUG，

[0184] 第四序列段盒 B4 包含核苷酸序列 AUG，

[0185] 第五序列段盒 B5 包含核苷酸序列 GGGGGGCGCGACC

[0186] 第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 CAUUUUA 或 CAUUUA，并且

[0187] 第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CAYRCU。

[0188] 在第一个和第二个方面的第四十六个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第四十五个实施方案的一个实施方案，

[0189] 第一序列段盒 B1A 包含核苷酸序列 AGCGUG。

[0190] 在第一个和第二个方面的第四十七个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第四十五个和第四十六个实施方案的一个实施方案，

[0191] 第二序列段盒 B2 包含核苷酸序列 CCAGU。

[0192] 在第一个和第二个方面的第四十八个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第四十五个、第四十六个和第四十七个实施方案的一个实施方案，

[0193] 第六序列段盒 B6 包含核苷酸序列 CAUUUUA。

[0194] 在第一个和第二个方面的第四十九个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第四十五个、第四十六个、第四十七个和第四十八个实施方案的一个实施方案，

[0195] 第七序列段盒 B1B 包含核苷酸序列 CACGCU。

[0196] 在第一个和第二个方面的第五十个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第四十五个、第四十六个、第四十七个、第四十八个和第四十九个实施方案的一个实施方案，所述核酸包含根据 SEQ. ID. No 28 和 SEQ. ID. No 27 的核酸序列。

[0197] 在第一个和第二个方面的第五十一个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第五十个实施方案中任何一个的实施方案，所述 MCP-1 选自猴 MCP-1、马 MCP-1、兔 MCP-1、牛 MCP-1、犬 MCP-1、猪 MCP-1 和人 MCP-1。

[0198] 在第一个和第二个方面的第五十二个实施方案中，这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第五十一个实施方案中任何一个的实施方案，所述核酸能够结合人 MCP-1。

[0199] 在第一个和第二个方面的第五十三个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第五十二个实施方案中任何一个,优选第一个方面和第二个方面的第五十二个实施方案的实施方案,MCP-1 具有根据 SEQ ID No. 1 的氨基酸序列。

[0200] 在第一个和第二个方面的第五十四个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第五十三个实施方案中任何一个的实施方案,所述核酸包含修饰物(modification),由此所述修饰物优选为高分子量部分和 / 或由此所述修饰物优选允许改变根据权利要求 1 至 54 中任一项的核酸在动物或人体内,优选人体内的停留时间方面的特征。

[0201] 在第一个和第二个方面的第五十五个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第五十四个实施方案的一个实施方案,所述修饰物选自 HES 部分、PEG 部分、生物可降解修饰及其组合。

[0202] 在第一个和第二个方面的第五十六个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第五十五个实施方案的一个实施方案,所述修饰物是由直链或分支的 PEG 组成的 PEG 部分,由此所述 PEG 部分的分子量优选为大约 20,000 至 120,000Da,更优选大约 30,000 至 80,000Da,和最优选大约 40,000Da。

[0203] 在第一个和第二个方面的第五十七个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第五十五个实施方案的一个实施方案,所述修饰物是 HES 部分,由此优选地,所述 HES 部分的分子量为大约 10,000 至 200,000Da,更优选大约 30,000 至 170,000Da,和最优选大约 150,000Da。

[0204] 在第一个和第二个方面的第五十八个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第五十四、第五十五、第五十六和第五十七个实施方案的一个实施方案,所述修饰物经由连接体偶联至所述核酸,由此所述连接体是连接体或生物可降解连接体。

[0205] 在第一个和第二个方面的第五十九个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第五十四、第五十五、第五十六、第五十七和第五十八个实施方案的一个实施方案,所述修饰物在所述核酸的 5'-末端核苷酸和 / 或所述核酸的 3'-末端核苷酸处偶联至所述核酸,和 / 或偶联至在所述核酸的所述 5'-末端核苷酸和所述 3'-末端核苷酸之间的核苷酸。

[0206] 在第一个和第二个方面的第六十个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第五十九个实施方案中任何一个的实施方案,所述核酸的核苷酸或形成所述核酸的核苷酸是 L-核苷酸。

[0207] 在第一个和第二个方面的第六十一个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第六十个实施方案中任何一个的实施方案,所述核酸是 L-核酸。

[0208] 在第一个和第二个方面的第六十二个实施方案中,这也是第一个方面和第二个方面的第一个至第六十个实施方案中任何一个的实施方案,能够结合 MCP-1 的所述核酸的所述部分由 L-核苷酸组成。

[0209] 在第三个方面,这也是所述第三个方面的第一个实施方案,作为本发明的基础的问题通过药物组合物得以解决,所述药物组合物包含如第一个和第二个方面的任何一个实施方案中限定的核酸分子和任选地另外的组成成分,由此所述另外的组成成分选自药学上可接受的赋形剂、药学上可接受的载体和药学活性试剂,并且由此所述药物组合物用于治

疗和 / 或预防慢性疾病或慢性病症。

[0210] 在第三个方面的第二个实施方案中,这也是第三个方面的第一个实施方案的一个实施方案,所述药物组合物包含如第一个和第二个方面的任何一个实施方案中限定的核酸分子和药学上可接受的载体。

[0211] 在第三个方面的第三个实施方案中,这也是第三个方面的第一个和第二个实施方案的一个实施方案,所述慢性疾病或慢性病症如前述权利要求中任一项中限定的。

[0212] 在第三个方面的第四个实施方案中,这也是第三个方面的第一个、第二个和第三个实施方案的一个实施方案,所述药物组合物包含第二种药学活性试剂,由此此类第二种药学活性试剂是免疫抑制剂。

[0213] 在第三个方面的第五个实施方案中,这也是第三个方面的第四个实施方案的一个实施方案,所述免疫抑制剂作为分开的剂量单位包含在所述药物组合物中。

[0214] 在第三个方面的第六个实施方案中,这也是第三个方面的第四个和第五个实施方案的一个实施方案,所述药物组合物比包含免疫抑制剂作为单一疗法的药物组合物包含更少的免疫抑制剂。

[0215] 在第三个方面的第七个实施方案中,这也是第三个方面的第四个、第五个和第六个实施方案的一个实施方案,所述免疫抑制剂的剂量单位包含少于作为单一疗法使用时所述免疫抑制剂的剂量单位。

[0216] 在第三个方面的第八个实施方案中,这也是第三个方面的第六个和第七个实施方案的一个实施方案,实施于第三个方面的第六个和第七个实施方案的免疫抑制剂的减少是至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80% 或至少 90%,优选至少 75%。

[0217] 在第三个方面的第九个实施方案中,这也是第三个方面的第四个、第五个、第六个、第七个和第八个实施方案的一个实施方案,所述免疫抑制剂选自环磷酰胺和麦考酚酯。

[0218] 在第三个方面的第十个实施方案中,这也是第三个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五个、第六个、第七个、第八个和第九个实施方案,更优选第三个方面的第八个和第九个实施方案的一个实施方案,所述慢性疾病是狼疮肾炎和 / 或肺炎。

[0219] 在第三个方面的第十一个实施方案中,这也是第三个方面的第一个、第二个和第三个实施方案的一个实施方案,所述药物组合物包含第二种药学活性试剂,由此此类第二种药学活性试剂是抗炎剂。

[0220] 在第三个方面的第十二个实施方案中,这也是第三个方面的第十一个实施方案的一个实施方案,所述抗炎剂作为分开的剂量单位包含在所述药物组合物中。

[0221] 在第三个方面的第十三个实施方案中,这也是第三个方面的第十一个和第十二个实施方案的一个实施方案,所述药物组合物比包含抗炎剂作为单一疗法的药物组合物包含更少的抗炎剂。

[0222] 在第三个方面的第十四个实施方案中,这也是第三个方面的第十一个、第十二个和第十三个实施方案的一个实施方案,所述抗炎剂的剂量单位包含少于作为单一疗法使用时所述免疫抑制剂的剂量单位。

[0223] 在第三个方面的第十五个实施方案中,这也是第三个方面的第十三个和第十四个

实施方案的一个实施方案,实施于第三个方面的第十三个和第十四个实施方案的免疫抑制剂的减少是至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%,优选至少 75%。

[0224] 在第三个方面的第十六个实施方案中,这也是第三个方面的第十一个、第十二个、第十三个、第十四个和第十五个实施方案的一个实施方案,所述抗炎剂选自地塞米松和罗氟司特,优选地所述抗炎剂是地塞米松。

[0225] 在第三个方面的第十七个实施方案中,这也是第三个方面的第十一个、第十二个、第十三个、第十四个、第十五和第十六个实施方案,优选第三个方面的第十五和第十六个实施方案的一个实施方案,所述慢性疾病是慢性呼吸道疾病和更优选地 COPD。

[0226] 在第四个方面,这也是所述第四个方面的第一个实施方案,作为本发明的基础的问题通过如第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个所限定的核酸分子得以解决,用于在用于治疗患有慢性疾病或慢性病症或处于发展慢性疾病或慢性病症的危险中的受试者的方法中,由此该方法包括

[0227] - 给所述受试者施用药学活性量的核酸分子。

[0228] 在第四个方面的第二个实施方案中,所述慢性疾病或慢性病症如前述权利要求中任一项中限定。

[0229] 在第四个方面的第三个实施方案中,这也是第四个方面的第一个和第二个实施方案的一个实施方案,该方法进一步包括步骤

[0230] - 给所述受试者施用免疫抑制剂。

[0231] 在第四个方面的第四个实施方案中,这也是第四个方面的第三个实施方案的一个实施方案,在治疗过程中施用的免疫抑制剂的量小于作为单一疗法将施用于受试者的免疫抑制剂的量。

[0232] 在第四个方面的第五个实施方案中,这也是第四个方面的第四个实施方案的一个实施方案,所述免疫抑制剂的量减少至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%,优选至少 75%。

[0233] 在第四个方面的第六个实施方案中,这也是第四个方面的第一个、第二个、第三个、第四个和第五个实施方案的一个实施方案,所述免疫抑制剂选自环磷酰胺和麦考酚酸酯。

[0234] 在第四个方面的第七个实施方案中,这也是第四个方面的第一个、第二个、第三个、第四个、第五和第六个实施方案,并且更具体地第四个方面的第五和第六个实施方案的一个实施方案,所述慢性疾病是慢性肾疾病,优选狼疮肾炎和 / 或肺炎。

[0235] 在第四个方面的第八个实施方案中,这也是第四个方面的第一个和第二个实施方案的一个实施方案,该方法进一步包括步骤

[0236] - 给所述受试者施用抗炎剂。

[0237] 在第四个方面的第九个实施方案中,这也是第四个方面的第八个实施方案的一个实施方案,在治疗过程中施用的抗炎剂的量小于作为单一疗法将施用于受试者的免疫抑制剂的量。

[0238] 在第四个方面的第十个实施方案中,这也是第四个方面的第九个实施方案的一个实施方案,所述免疫抑制剂的量减少至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、

至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%，优选至少 75%。

[0239] 在第四个方面的第十一个实施方案中，这也是第四个方面的第八个、第九个和第十个实施方案的一个实施方案，所述抗炎剂选自地塞米松和罗氟司特，优选地所述抗炎剂是地塞米松。

[0240] 在第四个方面的第十二个实施方案中，这也是第四个方面的第八个、第九个、第十个和第十一个实施方案，并且更具体地第四个方面的第十个和第十一个实施方案的一个实施方案，所述慢性疾病是慢性呼吸道疾病，优选 COPD。

[0241] 在第五个方面，这也是所述第五个方面的第一个实施方案，作为本发明的基础的问题通过如第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个所限定的核酸分子的使用得以解决，用于制备用于治疗和 / 或预防慢性疾病或慢性病症的药剂。

[0242] 在第五个方面的第二个实施方案中，所述疾病或病症是如与第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个结合限定的疾病或病症。

[0243] 在第五个方面的第三个实施方案中，这也是第五个方面的第一个和第二个实施方案的一个实施方案，所述药剂用于人医学或用于兽医学。

[0244] 在第六个方面，这也是所述第六个方面的第一个实施方案，作为本发明的基础的问题通过用于诊断慢性疾病或慢性病症的方法得以解决，所述方法包括下述步骤：

[0245] - 使来自受试者的样品与如第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个所限定的核酸分子接触，所述受试者待测试是否患有慢性疾病或慢性病症或处于发展慢性疾病或慢性病症的危险中；和

[0246] - 直接或间接检测是否形成包含 MCP-1 和所述核酸分子的复合物。

[0247] 在第六个方面的第二个实施方案中，所述慢性疾病或慢性病症是如与第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个结合限定的慢性疾病或慢性病症。

[0248] 在第七个方面，这也是所述第七个方面的第一个实施方案，作为本发明的基础的问题通过如第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个所限定的核酸分子的使用得以解决，用于制备用于诊断如与第一个和第二个方面的实施方案 1 至 62 中任何一个结合限定的慢性疾病或慢性病症的诊断剂。

[0249] 本领域技术人员应当理解，下述实施方案和特征也可以与本文描述的特征和实施方案结合，特别是与如受与其附着的权利要求支配的方面和实施方案结合加以实现。

[0250] 如本文所使用的，术语慢性疾病和慢性病症优选指慢性呼吸道疾病、慢性肾疾病和全身性红斑狼疮。优选地，如本文所使用的，术语慢性呼吸道疾病包含肺炎、肺和胸膜炎、胸膜炎、胸腔积液、狼疮肺炎、慢性弥漫性间质性肺疾病、肺栓塞、肺出血、肺萎缩综合征、肺高压和慢性阻塞性肺疾病及其组合。更优选地，术语肺高压包含与左侧心脏病相关的肺高压、与肺病和 / 或低氧血症相关的肺高压、由于慢性血栓形成和 / 或栓塞疾病的肺高压、肺动脉高压，优选特发性肺动脉高压、胶原酶相关的肺动脉高压、家族性肺动脉高压、与其他疾病相关的肺动脉高压、和与静脉或毛细血管疾病相关的肺动脉高压。另外，术语慢性阻塞性肺疾病优选包含与肺血管牵涉相关或不相关的慢性阻塞性肺疾病。最后，术语慢性阻塞性肺疾病优选包含选自慢性支气管炎和肺气肿。此外，术语慢性肾疾病优选包含狼疮肾炎、膜性增生性肾小球肾炎、膜性肾小球肾炎、IgA 肾病、链球菌感染后肾小球肾炎、急进性肾小球肾炎、肾病综合征、局灶性节段性肾小球硬化症、糖尿病肾病、肾病综合征、和肾病

综合征,优选狼疮肾炎。

[0251] 如本文所述的根据本发明的核酸的特征可以在本发明的任一方面中实现,其中所述核酸单独或者以任何组合使用。

[0252] 人以及鼠 MCP-1 分别是具有根据 SEQ. ID. NO. 1 和 SEQ. ID. NO. 2 的氨基酸序列的碱性蛋白质。

[0253] 可以鉴定出对于 MCP-1 的短的且高亲和力结合性的核酸这一发现是令人惊讶的,这是因为 Eaton 等人 (1997) 观察到针对碱性蛋白质的适体 (aptamer) (即结合靶分子的 D-核酸) 的产生通常是非常困难的,因为这种类型的靶产生了高但非特异性的信噪比。这种高信噪比起因于由核酸对碱性靶 (例如 MCP-1) 所显示的高的非特异性亲和力。

[0254] 如在权利要求书和实施例 1 中更详细概述的,本发明人能够更令人惊讶地鉴定出许多不同的结合 MCP-1 的核酸分子,由此大多数核酸可以根据核苷酸序列段 (其在本文中也称为盒) 来表征。基于所述盒和某些结构特征及元件,可以分别对各种结合 MCP-1 的核酸分子进行分类。如此确定的各种类别在本文中也称为类型,并且更具体而言,称为 1A 型、1B 型、2 型、3 型和 4 型。

[0255] 根据本发明的核酸或其序列段或其任何一个或多个部分在原则上可以彼此杂交,这在本发明内。在此类杂交后,形成双链结构。本领域技术人员应认识到,此类杂交可以特别在体外和 / 或体内条件下发生或不发生。此外,在此类杂交的情况下,不一定是下述情况:杂交在 2 个序列段的完整长度上发生,其中至少基于关于碱基配对的规则,此类杂交和因此双链结构的形成在原则上可以发生。如本文优选使用的,双链结构是通过 2 条或更多条分开的链或单链的 2 个空间上分开的序列段形成的分子或结构的部分,由此存在至少 1 个、优选 2 个或更多个碱基对,其优选依照沃森 - 克里克碱基配对规则进行碱基配对。本领域技术人员还应认识到,其他碱基配对例如 Hoogsteen 碱基配对可以存在此类双链结构中或形成此类双链结构。

[0256] 在一个优选实施方案中,如本文所使用的,术语排列意指与本文公开的核酸结合在本文中描述的结构或功能特征或元件的次序或顺序。

[0257] 根据本发明的核酸是核酸分子,这在本发明内。在这个范围内,术语核酸和核酸分子在本文中以同义方式使用,如果没有表明与此相反。在本申请的一个实施方案中,核酸和因此核酸分子包含这样的核酸分子,其特征在于形成核酸分子的所有相邻核苷酸通过一个或超过一个共价键彼此连接或相连。更具体而言,此类核苷酸各自与 2 个其他核苷酸连接或相连,优选通过磷酸二酯键或其他键,形成相邻核苷酸序列段。然而,在此类排列中,2 个末端核苷酸,即优选在 5' 末端处和在 3' 末端处的核苷酸,仅在下述前提下各自与单个核苷酸连接:此类排列是线性而不是环状排列,并且因此是线性而不是环状分子。

[0258] 在本申请的另一个实施方案中,核酸和因此核酸分子包含至少 2 组相邻核苷酸,由此在每个相邻核苷酸组内,每个核苷酸与 2 个其他核苷酸连接或相连,优选通过磷酸二酯键或其他键,形成相邻核苷酸的序列段。然而,在此类排列中,2 个末端核苷酸,即优选在 5' 末端处和在 3' 末端处的核苷酸,各自仅与单个核苷酸连接。然而,在此类排列中,2 组相邻核苷酸不通过这样的共价键彼此连接或相连,所述共价键通过共价键使一组的一个核苷酸与另一个或其他组的一个核苷酸连接,优选在所述 2 个核苷酸之一的糖部分和所述 2 个核苷酸或核苷中另一个的磷部分之间形成的共价键。然而,在一个备选实施方案中,2 组

相邻核苷酸通过这样的共价键彼此连接或相连,所述共价键通过共价键使一组的一个核苷酸与另一个或其他组的一个核苷酸连接,优选在所述 2 个核苷酸之一的糖部分和所述 2 个核苷酸或核苷中另一个的磷部分之间形成的共价键。优选地,至少 2 组相邻核苷酸不通过任何共价键连接。在另一个优选实施方案中,至少 2 个组通过不同于磷酸二酯键的共价键连接。在另外一个实施方案中,至少 2 个组通过其为磷酸二酯键的共价键连接。

[0259] 根据本发明的核酸还应该包括与本文所公开的特定序列基本同源的核酸。术语基本同源应该理解为,同源性为至少 75%,优选 85%,更优选 90%,和最优选大于 95%、96%、97%、98%或 99%。

[0260] 存在于根据本发明的核酸中的同源核苷酸的实际百分比将取决于存在于该核酸中的核苷酸的总数。修饰百分比可以基于存在于该核酸中的核苷酸的总数。

[0261] 同源性可以如本领域技术人员已知的方式来测定。更具体而言,然后基于所指定的程序参数,用序列比较算法来计算出个或多个测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。测试序列优选是这样的序列或核酸分子,即所述序列或核酸分子据称被测试或待测试它是否与另一个核酸分子同源(如果同源的话,同源到什么程度),由此这种另一个核酸分子也称为参考序列。在一个实施方案中,参考序列是如本文所描述的核酸分子,更优选为具有根据 SEQ. ID. NO. 10-129、132-256 和 278-282 中任一个的序列的核酸分子。用于比较的最佳序列比对可以例如通过下列方法来进行:Smith & Waterman 的局部同源性算法(Smith & Waterman(1981)), Needleman & Wunsch 的同源性比对算法(Needleman & Wunsch, 1970), Pearson & Lipman 的相似性搜索方法(Pearson & Lipman, 1988), 这些算法的计算机化实施(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis. 中的 GAP、BESTFIT、FASTA 和 TFASTA), 或目测检查。

[0262] 适合于测定序列同一性百分比的算法的一个实例是在基本局部比对搜索工具(basic local alignment search tool, 在下文中称为“BLAST”)中使用的算法, 参见, 例如 Altschul 等人(Altschul 等人, 1990 ;和 Altschul 等人, 1997)。用于进行 BLAST 分析的软件是通过国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 在下文中称为“NCBI”)可公开获得的。在使用从 NCBI 可获得的软件(例如 BLASTN(用于核苷酸序列)和 BLASTP(用于氨基酸序列))进行的序列同一性测定中所采用的默认参数在 McGinnis 等人(McGinnis 等人, 2004) 中描述。

[0263] 术语本发明的核酸或根据本发明的核酸还应该包括包含本文所公开的核酸序列或其部分的那些核酸, 优选地至这样的程度, 即所述核酸或所述部分参与结合 MCP-1。如本文优选使用的, 术语本发明的核酸在一个实施方案中还应该包括适合于结合选自 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子的任何分子的核酸。本领域技术人员将会公认, 根据本发明的个别核酸将结合一个或几个此类分子。在一个实施方案中, 此类核酸是本文所描述的核酸分子之一, 或者其衍生物和/或代谢产物, 由此此类衍生物和/或代谢产物优选为与本文所描述的核酸分子相比较而言截短的核酸。截短可以涉及本文所公开的核酸的任一个末端或两个末端。此外, 截短可以涉及所述核酸的内部核苷酸序列, 即其可以分别涉及在 5' 和 3' 末端核苷酸之间的一个或多个核苷酸。此外, 截短应该包括来自本文所公开的核酸序列的少至单个核苷酸的缺失。截短还可以涉及一个或多个本发明核酸的超过一个的序列段, 由此该序列段可以少至一个核苷酸长。本领域技术人员可以通过用常规试验或者

通过使用或采用本文所描述的方法（优选如本文实施例部分中所描述的方法）来测定根据本发明的核酸的结合，优选与选自 MCP-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子的分子的结合。除非明确地说明与此相反，在本发明的一个实施方案范围内的是，无论何时当本文提及根据本发明的核酸结合至 MCP-1 或与 MCP-1 结合时，这也适用于根据本发明的核酸结合至选自 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子的任何分子或与之结合。

[0264] 根据本发明的核酸可以是 D- 核酸或 L- 核酸。优选地，本发明的核酸是 L- 核酸。另外，还可能的是，核酸的一个或几个部分作为 D- 核酸存在，或者核酸的至少一个或几个部分是 L- 核酸。术语核酸的“部分”应该表示至少一个核苷酸。此类核酸在本文中通常分别称作 D- 核酸和 L- 核酸。因此，在一个特别优选的实施方案中，根据本发明的核酸由 L- 核苷酸组成并包含至少一个 D- 核苷酸。此类 D- 核苷酸优选附着至与定义根据本发明的核酸的序列段不同的部分，优选为其中涉及与该核酸的其他部分相互作用的该核酸的那些部分。优选地，此类 D- 核苷酸分别附着在根据本发明的任何序列段的末端和任何核酸的末端处。在一个进一步优选的实施方案中，此类 D- 核苷酸可以用作间隔物或连接体，其优选地使修饰物例如 PEG 和 HES 附着至根据本发明的核酸。

[0265] 同样也在本发明的实施方案的范围内的是，本文描述的核酸分子中的每一个和任何一个就其一个或多个核酸序列而言整体局限于一个或多个特定的核苷酸序列。换言之，术语“包括”在这样的实施方案中应该解释为包含或由...组成的含义。

[0266] 也在本发明范围内的是，根据本发明的核酸是更长的核酸的部分，由此该更长的核酸包含几个部分，由此至少一个此类部分是根据本发明的核酸或其部分。这些更长的核酸的一个或多个其他部分可以是一个或几个 D- 核酸或一个或几个 L- 核酸。任何组合都可以与本发明结合使用。更长的核酸的这些一个或多个其他部分，单独地或合在一起，以其整体或以特定组合，可以表现出不同于结合（优选结合 MCP-1）的功能。一种可能的功能是允许与其他分子（由此此类其他分子优选地与 MCP-1 不同）相互作用，例如，用于固定、交联、检测或扩增。在本发明的一个另外的实施方案中，根据本发明的核酸包含几个本发明核酸，作为个别或组合的部分。包含几个本发明核酸的此类核酸也由术语更长的核酸所涵盖。

[0267] 如本文所使用的，L- 核酸是由 L- 核苷酸组成的核酸，优选完全由 L- 核苷酸组成的核酸。

[0268] 如本文所使用的，D- 核酸是由 D- 核苷酸组成的核酸，优选完全由 D- 核苷酸组成的核酸。

[0269] 如果没有明确表明与此相反，则术语核酸和核酸分子在本文中可互换的方式使用。

[0270] 此外，如果没有表明与此相反，则任何核苷酸序列在本文中以 5' → 3' 的方向示出。

[0271] 无论本发明的核酸由 D- 核苷酸组成、由 L- 核苷酸组成还是由两者的组合（该组合是例如随机的组合，或者是由至少一个 L- 核苷酸和至少一个 D- 核苷酸组成的序列段的限定序列）组成，所述核酸可以由一个或多个脱氧核糖核苷酸、一个或多个核糖核苷酸或其组合组成。

[0272] 因为几种原因，将本发明的核酸设计成 L- 核酸是有利的。L- 核酸是天然存在的核酸的对映体。然而，由于核酸酶的广泛存在，D- 核酸在含水溶液中并且特别是在生物系统

或生物样品中不是非常稳定的。天然存在的核酸酶,特别是来自动物细胞的核酸酶不能降解 L- 核酸。因此, L- 核酸的生物半衰期在此类系统(包括动物和人体)中显著增加。由于缺乏 L- 核酸的可降解性,不产生核酸酶降解产物,并且因而没有观察到由其产生的副作用。该方面界定了事实上所有其他化合物(其用于治疗涉及 MCP-1 的存在的疾病和/或病症)的 L- 核酸。通过不同于沃森-克里克碱基配对的机制特异性地结合靶分子的 L- 核酸,或者部分或完全由 L- 核酸组成的适体(尤其是参与该适体与靶分子结合的该适体的那些部分)也称为镜像异构体(spiegelmer)。

[0273] 也在本发明的范围内的是,本发明的核酸(在本文中也称为根据本发明的核酸)可以作为单链或双链核酸存在,不论它们作为 D- 核酸、L- 核酸或 D, L- 核酸存在或者它们是 DNA 或 RNA。通常,本发明的核酸是表现出由一级序列限定的二级结构并因而也可以形成三级结构的单链核酸。然而,本发明的核酸也可以是双链的,这意味着彼此互补或部分互补的两条链相互杂交。这赋予核酸以稳定性,特别是,如果核酸是以天然存在的 D- 形式而不是以 L- 形式存在,则其将是有益的。

[0274] 可以修饰本发明的核酸。此类修饰可以涉及核酸的单个核苷酸并且是本领域熟知的。此类修饰物的实例尤其描述于 Venkatesan(Venkatesan 2003);Kusser(Kusser 2000);Aurup(Aurup 1994);Cummins(Cummins 1995);Eaton 等人(Eaton 1995);Green 等人(Green 1995);Kawasaki 等人(Kawasaki 1993);Lesnik 等人(Lesnik 1993);和 Miller&Kragel(Miller 1993)中。此类修饰物可以是在组成核酸的单个核苷酸的 2' 位置处的 H 原子、F 原子或者 O-CH₃ 基团或 NH₂- 基团。此外,根据本发明的核酸可以包含至少一个 LNA 核苷酸。在一个实施方案中,根据本发明的核酸由 LNA 核苷酸组成。

[0275] 在一个实施方案中,根据本发明的核酸可以是多分体(multipartite)核酸。如本文所使用的,多分体核酸是由至少两条核酸链组成的核酸。这至少两条核酸链形成功能单元,由此该功能单元是靶分子的配体。所述至少两条核酸链可以衍生自任何本发明的核酸,其通过切割核酸以产生两条链,或者通过合成与本发明的即整体核酸的第一个部分相对应的一个核酸和与整体核酸的第二个部分相对应的另一个核酸。公认的是,切割和合成两者均可用于产生其中存在如上文例示的超过两条链的多分体核酸。换言之,所述至少两条核酸链通常不同于互补且相互杂交的两条链,尽管在各个核酸部分之间可能存在一定程度的互补性。

[0276] 最后,也在本发明范围内的是,实现了根据本发明的核酸的完全闭合(即环状的)结构,即,根据本发明的核酸是闭合的,优选通过共价连接闭合,由此更优选地,此类共价连接在如本文所公开的核酸序列的 5' 末端和 3' 末端之间发生。

[0277] 本发明人已经发现,根据本发明的核酸表现出非常有利的 K_D 值范围。

[0278] 测定结合常数的一种可能性是利用所谓的 biacore 装置,其也是本领域技术人员已知的。如本文所使用的,亲和力也通过利用如实施例中所描述的“pull-down 测定法”来测量。为了表示根据本发明的核酸与靶(在当前情况下为 MCP-1)之间的结合强度的合适量度是所谓的 K_D 值,该值以及用于测定它的方法是本领域技术人员已知的。

[0279] 根据本发明的核酸通过某个 K_D 值来表征。优选地,根据本发明的核酸所显示的 K_D 值低于 1 μ M。大约 1 μ M 的 K_D 值被认为是核酸与靶非特异性结合的特征。如本领域技术人员将公认的,一组化合物(例如根据本发明的核酸)的 K_D 值在某个范围内。上述的大约

1 μ M 的 K_D 是优选的 K_D 值上限。结合靶的核酸的 K_D 的优选下限可以是约 10pM 或更高。在本发明范围内的是, 单个核酸与 MCP-1 结合的 K_D 值优选在这一范围内。优选的范围可以通过选择该范围内的任意第一个数字和该范围内的任意第二个数字来限定。优选的上限值是 250nM 和 100nM, 优选的下限值是 50nM、10nM、1nM、100pM 和 10pM。

[0280] 根据本发明的核酸分子可以具有任意的长度, 只要它们仍然能够结合靶分子。本领域将公认, 存在有根据本发明的核酸的优选长度。通常, 长度在 15 和 120 个核苷酸之间。本领域技术人员将公认, 在 15 和 120 之间的任何整数是根据本发明的核酸的可能长度。根据本发明核酸的长度的更优选的范围是约 20 至 100 个核苷酸、约 20 至 80 个核苷酸、约 20 至 60 个核苷酸、约 20 至 50 个核苷酸和约 30 至 50 个核苷酸的长度。

[0281] 在本发明的范围内的是, 本文所公开的核酸包含这样的部分, 所述部分优选为高分子量部分和 / 或优选使得能够改变所述核酸尤其是在动物体内 (优选在人体内) 的停留时间方面的特征。此类修饰物的特别优选的实施方案是根据本发明的核酸的 PEG 化和 HES 化。如本文所使用的, PEG 表示聚 (乙二醇), 而 HES 表示羟乙基淀粉。如本文所优选使用的, PEG 化是根据本发明的核酸的修饰, 其中该修饰由附着至根据本发明的核酸的 PEG 部分组成。如本文所优选使用的, HES 化是根据本发明的核酸的修饰, 其中该修饰由附着至根据本发明的核酸的 HES 部分组成。这些修饰物以及用此类修饰物来修饰核酸的方法在欧洲专利申请 EP 1 306 382 和国际专利申请 W02005/074993 中描述, 所述专利申请的公开内容在此通过提及整体合并。

[0282] 优选地, 由高分子量部分组成或包含高分子量部分的修饰物的分子量为约 2,000 至 250,000Da, 优选 20,000 至 200,000Da。在 PEG 作为此类高分子量部分的情况下, 分子量优选为 20,000 至 120,000Da, 更优选 40,000 至 80,000Da。在 HES 作为此类高分子量部分的情况下, 分子量优选为约 20,000 至 200,000Da, 更优选 40,000 至 150,000Da。HES 修饰过程例如在德国专利申请 DE 12004006249.8 和国际专利申请 W02002080979 中描述, 所述专利申请的公开内容在此通过提及整体合并。

[0283] 在本发明的范围内的是, PEG 和 HES 中的任一可以以直链或分支的形式使用, 如在专利申请 W02005/074993、W02002/080979 和 PCT/EP02/11950 中进一步描述的。原则上, 此类修饰可以在本发明的核酸分子的任何位置处进行。优选地, 此类修饰在 5' - 末端核苷酸上、在 3' - 末端核苷酸上和 / 或在该核酸分子的 5' 核苷酸和 3' 核苷酸之间的任何核苷酸上进行。

[0284] 该修饰物并且优选 PEG 和 / 或 HES 部分, 可以或直接或通过连接体附着至本发明的核酸分子上。同样也在本发明的范围内的是, 根据本发明的核酸分子包含一个或多个修饰物, 优选一个或多个 PEG 和 / 或 HES 部分。在一个实施方案中, 单个连接体分子将超过一个的 PEG 部分或 HES 部分附着至根据本发明的核酸分子。在本发明中使用的连接体可以本身是直链的或支化的。这种类型的连接体是本领域技术人员已知的并且在专利申请 W02005/074993 和 PCT/EP02/11950 中进一步描述。

[0285] 在一个优选实施方案中, 连接体是生物可降解连接体。生物可降解连接体允许改变根据本发明的核酸尤其在动物体内 (优选在人体内) 的停留时间方面的特征, 由于修饰物从根据本发明的核酸中的释放。生物可降解连接体的使用可以允许更好的控制根据本发明的核酸的停留时间。此类生物可降解连接体的一个优选实施方案是如国际专利申请

W02006/052790、W02008/034122、W02004/092191 和 W02005/099768 中描述但不限于其的生物可降解连接体,由此在国际专利申请 W02004/092191 和 W02005/099768 中,连接体是聚合寡核苷酸药物前体的部分,所述聚合寡核苷酸药物前体由如本文所描述的一个或两个修饰物、核酸分子和两者之间的生物可降解连接体组成。

[0286] 在本发明的范围内的是,修饰物是生物可降解修饰物,由此所述生物可降解修饰物可以直接或通过连接体附着至本发明的核酸分子。生物可降解修饰物允许改变根据本发明的核酸尤其在动物体内(优选在人体内)的停留时间方面的特征,由于修饰物从根据本发明的核酸中的释放。生物可降解修饰物的使用可以允许更好的控制根据本发明的核酸的停留时间。此类生物可降解修饰物的一个优选实施方案是如国际专利申请 W02002/065963、W02003/070823、W02004/113394 和 W02000/41647 中描述但不限于其的生物可降解修饰物,在 W02000/41647 中优选第 18 页,第 4 至 24 行。更优选地,生物可降解修饰物是分别如国际专利申请 W02004/113394 和 W02000/41647 中描述的生物可降解 PEG 或生物可降解聚乙醇酸(缩写 PLGA)。

[0287] 不希望受任何理论的束缚,看起来通过用高分子量部分例如聚合物并且更特别是本文所公开的聚合物(其优选为生理学上可接受的)来修饰根据本发明的核酸,改变了分泌动力学。更具体而言,看起来由于这种经修饰的本发明核酸的分子量增加并且由于该核酸不经历代谢(特别是在 L 形式时),减少了从动物体内,优选从哺乳动物体内,和更优选从人体内的分泌。由于分泌通常通过肾脏发生,因此本发明人推测:经如此修饰的核酸的肾小球滤过率与不具有这种类型的高分子量修饰的核酸相比较显著减小,这导致在体内的停留时间增加。与之相关,特别值得注意的是,尽管具有这种高分子量修饰,但是根据本发明的核酸的特异性没有受到有害的影响。在这种情况下,根据本发明的核酸具有令人惊讶的特征(该特征通常不能从药物学活性化合物中预期),从而使得不需要具有持续释放性质的药物制剂以提供持续释放。相反,以它们包含高分子量部分的修饰形式,根据本发明的核酸可以像这样用作持续释放制剂。在这种情况下,如本文所公开的核酸分子的一种或多种修饰和经如此修饰的核酸分子以及任何包含其的组合物可以提供不同的,优选受控的药物动力学及其生物分布。这还包括在循环中的停留时间和分配到组织中。此类修饰在专利申请 PCT/EP02/11950 中进一步描述。

[0288] 然而,同样也在本发明的范围内的是,本文所公开的核酸不包含任何修饰,并且特别是不包含高分子量修饰例如 PEG 化或 HES 化。当核酸显示出优先分配到体内的任何靶器官或组织时,或当需要在施用后从体内快速清除核酸时,这种实施方案是特别优选的。具有至体内的任何靶器官或组织的优先分配谱如本文公开的核酸将允许在靶组织中建立有效的局部浓度,同时保持低的核酸全身浓度。这将使得能够使用低剂量,这不但从经济学观点来说是有利的,而且还减少了其他组织对于该核酸试剂的非必需的暴露,从而降低了潜在的副作用风险。在施用后如本文所公开的核酸从体内的快速清除在使用核酸或包括其的药剂的体内成像和特定治疗性给药需求的情况下可能是需要的,各自根据本发明。

[0289] 本发明的核酸(其在本文中也称为根据本发明的核酸)和/或根据本发明的拮抗剂可用于产生或制备药剂。根据本发明的此类药剂或药物组合物包含任选地与其他药物学活性化合物组合在一起的至少一种本发明的核酸,由此本发明的核酸优选地其本身用作药理学活性化合物。在优选的实施方案中,此类药剂至少包含药学上可接受的载体。此类载体

可以是例如水、缓冲液、PBS、葡萄糖溶液（优选 5% 葡萄糖的盐平衡溶液）、淀粉、糖、明胶或任何其他可接受的载体物质。此类载体通常是本领域技术人员已知的。本领域技术人员将公认，本发明药剂的任何实施方案、用途和方面或者与之相关的实施方案、用途和方面也可应用于本发明的药物组合物，并且反之亦然。

[0290] 用根据本发明的或根据本发明制备的核酸、药物组合物和药剂来进行治疗和 / 或预防的适应症、疾病和病症起因于 MCP-1 直接或间接参与的分别的致病机理。然而，还可以治疗和预防 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和 / 或嗜酸性粒细胞趋化因子直接或间接参与了其致病机理的那些适应症、疾病和病症。对本领域技术人员来说显而易见的是，特别是根据本发明的那些核酸可以在这种范围内使用，即用于更广义地涉及 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子的疾病，所述核酸分别与 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子相互作用或结合。

[0291] 更具体而言，此类用途尤其起因于 MCP-1 的表达模式，这暗示了其在特征为单核细胞浸润的人疾病中起重要作用。这种细胞浸润存在于许多炎症性疾病和自身免疫性疾病中。

[0292] 在动物模型中，已经显示，MCP-1 在局灶性缺血后 (Kim 1995 ;Wang 1995) 和在实验性自身免疫性脑脊髓炎期间 (Hulkower 1993 ;Ransohoff 1993 ;Banisor 2005) 在脑中表达。MCP-1 可能是在由这些动物模型举例说明的疾病过程（例如中风和多发性硬化症）中靶向单核细胞的重要趋化因子。

[0293] 大量的证据支持这样的观点，即 MCP-1/CCR2 轴在单核细胞的趋化过程中并因而在慢性炎症中具有独特的作用：(i) MCP-1 或 CCR2 缺陷型小鼠显示出显著减少的巨噬细胞趋化应答而在其他方面表现正常 (Kuziel 1997 ;Kurihara 1997 ;Boring 1997 ;Lu 1998)。 (ii)，尽管在体外与其他趋化因子呈现出功能冗余，但在几种炎症模型中仅 MCP-1 效应子功能的丧失就足以损害单核细胞的运输 (Lloyd 1997 ;Furuichi 2003 ;Egashira 2002 ; Galasso 2000 ;Ogata 1997 ;Kennedy 1998 ;Gonzalo 1998 ;Kitamoto 2003)。 (iii)，在许多炎症性疾病中 MCP-1 的水平升高。事实上，MCP-1 被认为在许多具有和没有明显炎症组分的疾病中起作用，例如类风湿性关节炎 (Koch 1992 ;Hosaka 1994 ;Akahoshi 1993 ;Harigai 1993 ;Rollins 1996)、肾疾病 (Wada 1996 ;Viedt 2002)、血管成形术后再狭窄 (Economou 2001)、变态反应和哮喘 (Alam 1996 ;Holgate 1997 ;Gonzalo 1998)、癌症 (Salcedo 2000 ; Gordillo 2004)、动脉粥样硬化 (Nelken 1991 ;Yla-Herttuala 1991 ;Schwartz 1993 ; Takeya 1993 ;Boring 1998)、牛皮癣 (Vestergaard 2004)、神经系统炎症 (Huang 2001)、特应性皮炎 (Kaburagi 2001)、结肠炎 (Okuno 2002)、子宫内膜异位 (Jolicœur 2001)、眼色素层炎 (Tuailon 2002)、视网膜病症 (Nakazawa 2007)、特发性肺纤维化和结节病 (Iyonaga 1994) 以及多肌炎 / 皮肌炎 (DeBleecker 2002)。

[0294] 使用抗 -MCP-1 试剂或 CCR2 拮抗剂的治疗性干预将会影响过量的炎症单核细胞运输，但可以保留基本的巨噬细胞运输，从而避免全面的免疫抑制和增加的感染风险 (Dawson 2003)。

[0295] 另外，基于对于炎症过程的分子机制和对于局部分泌的炎症介质的相互作用的不断增加的认识，已经鉴定了用于治疗肾病的新靶 (Holdsworth 2000 ;Segeer 2000)。那些靶之一是 MCP-1，对于所述的那些靶，存在大量的有关在合适的动物模型中用特异性拮抗剂进行的表达和干预研究方面的数据。这种蛋白质对于将免疫细胞募集到肾脏炎症的位点来

说具有广泛地非冗余的作用。免疫细胞对肾脏的浸润被认为在各种类型的肾病的发展中是结构性肾损伤和肾功能衰退的主要机制。

[0296] 所有类型的肾细胞在体外受到刺激时可以表达趋化因子,包括 MCP-1 (Seegerer 2000);存在大量在体外引发 MCP-1 表达的刺激,包括细胞因子、氧自由基、免疫复合物和脂质介质。

[0297] 在大鼠和小鼠的健康肾脏中, MCP-1 不表达,但是其在急性和慢性的肾脏炎症啮齿动物模型的过程中容易被上调,所述模型包括免疫复合物性肾小球肾炎、急进性肾小球肾炎、增生性肾小球肾炎、糖尿病性肾病、梗阻性肾病或急性肾小管坏死 (Seegerer 2000; Anders2003)。MCP-1 在啮齿动物中的表达数据与在人肾脏活组织检查中所发现的相应的表达非常相关 (Rovin 1994; Cockwell 1998; Wada1999)。此外,人肾脏中的肾表达与疾病活动度 (disease activity) 相关,并且在合适的治疗导致疾病缓解时降低 (Amann 2003)。

[0298] 肾小球的单核细胞浸润与患有糖尿病性肾病的患者中的弥漫性肾小球硬化的发展有关。MCP-1 在肾小球内单核细胞和淋巴细胞的募集和聚集中起重要作用 (Banba 2000; Morii 2003)。

[0299] 局部产生的 MCP-1 看来似乎特别是参与了肾小管间质损害的起始和进展,如在使用患有肾毒性血清诱导的肾炎 (NSN) 的转基因小鼠进行的实验中所证明的。主要是在血管内皮细胞、肾小管上皮细胞和浸润的单核细胞 (在间质损害中) 中检测到了 MCP-1。MCP-1 介导的肾小管上皮细胞的激活与下列观念相一致: MCP-1 促进了肾小管间质性炎症 (其为进行性肾病的标志) (Wada 2001; Viedt 2002)。

[0300] 由于在一方面的 MCP-1 和另一方面的 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子之间的同源性,根据本发明的核酸,至少它们中分别与 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子结合或与之相互作用的那些核酸通常可以用于治疗、预防和 / 或诊断任何这样的疾病,在所述疾病中分别有 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子的直接或间接的参与。如本文优选使用的,参与表示,如果各个参与该疾病的分子被阻止发挥其与该疾病的根本致病机理相关的功能中的一种、几种或全部,则该疾病将会被治愈或其程度将会减轻或其发作将会被阻止;至少此类疾病的症状或任何指示物 (indicator) 将分别得到减轻和改善,从而使得所述症状和指示物分别与在未患该疾病或不具有形成此类疾病的风险的受试者中所观察到的一种或多种相同或相近。

[0301] 当然,由于根据本发明的结合 MCP-1 的核酸与人或鼠 MCP-1 相互作用或与之结合,因此技术人员通常将会理解,根据本发明的结合 MCP-1 的核酸可以容易地用于治疗、预防和 / 或诊断人和动物的如本文所描述的任何疾病。

[0302] 因此,单核细胞化学吸引蛋白 (MCP) 家族的这些成员,即 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子,与 MCP-1 具有高度的序列相似性。尽管不是排它性的,嗜酸性粒细胞趋化因子、MCP-2、MCP-3 和 MCP-4 经由 CCR3 (人嗜酸性粒细胞上的特征性的趋化因子受体) 相互作用 (Heath 1997)。CCR3 受体在赘生性病状,例如皮肤 T 细胞淋巴瘤 (Kleinhans 2003)、胶质母细胞瘤 (Kouno 2004) 或肾细胞癌 (Johrer 2005) 中被上调。

[0303] 更具体而言,增加的嗜酸性粒细胞趋化因子水平与哮喘诊断和受损的肺功能直接相关 (Nakamura 1999)。已经在特应性和非特应性哮喘中均观察到嗜酸性粒细胞趋化因子在过敏性炎症位点处的表达增加 (Ying 1997; Ying 1999)。此外,编码 MCP-2 和 MCP-4

的 mRNA 在各种组织中组成性地表达 ;但是它们在这些背景下的生理功能是未知的。血浆 MCP-2 水平在脓毒症中与 MCP-1 一起增加 (Bossink1995) ;MCP-3 的表达在哮喘中发生 (Humbert 1997)。最后,在动脉粥样硬化的脉管的腔表面上可以发现 MCP-4 (Berkhout 1997)。

[0304] 因此,可以用根据本发明的药剂进行治疗和 / 或预防的疾病和 / 或病症和 / 或患病状况包括但不限于 :炎性疾病,自身免疫疾病,自身免疫性脑脊髓炎,中风,急性和慢性多发性硬化症,慢性炎症,类风湿性关节炎,肾病,再狭窄,血管成形术后再狭窄,急性和慢性变态反应,原发性和继发性免疫反应或变态反应,哮喘,结膜炎,支气管炎,癌症,动脉粥样硬化,动脉硬化性心血管心力衰竭或中风,牛皮癣,牛皮癣性关节炎,神经系统炎症,特应性皮炎,结肠炎,子宫内膜异位,眼色素层炎,视网膜病症,包括黄斑变性、视网膜脱离、糖尿病性视网膜病变、早产儿视网膜病变、色素性视网膜炎、增殖性玻璃体视网膜病变和浆液性中心性脉络膜视网膜炎 ;特发性肺纤维化,特发性和 / 或胶原酶相关的肺动脉高压,结节病,多肌炎,皮肌炎,避免免疫抑制,降低感染风险,脓毒症,肾脏炎症,肾小球肾炎,急进性肾小球肾炎,增生性肾小球肾炎,糖尿病性肾病,梗阻性肾病,急性肾小管坏死,和弥漫性肾小球硬化,全身性红斑狼疮,慢性支气管炎,贝赫切特病,肌萎缩性脊髓侧索硬化 (ALS),川崎病之后的过早动脉粥样硬化,心肌梗死,肥胖症,慢性肝病,佩罗尼病,急性脊髓损伤,肺或肾移植,心肌炎,阿尔茨海默病和神经病,乳腺癌,胃癌,膀胱癌,卵巢癌,错构瘤,结肠直肠癌,结肠腺瘤,胰腺炎,具有或没有肺脉管牵涉的慢性阻塞性肺部疾病 (COPD),和炎症肠病例如克罗恩病或溃疡性结肠炎。

[0305] 特别优选的慢性肾疾病是狼疮肾炎,优选用于联合疗法。

[0306] 狼疮肾炎是由全身性红斑狼疮 (缩写 SLE) 引起的肾脏的炎症,并且也称为狼疮肾小球肾炎,是肾小球肾炎的一个类型或形式。肾小球肾炎也称为肾小球的肾炎,是特征在于肾中的肾小球或小血管炎症的肾病。

[0307] SLE 也称为狼疮是慢性自身免疫疾病,导致炎症和组织损伤。除肾外, SLE 还可以影响机体的任何部分,但最通常损害心、关节、皮肤、肺、血管、肝和神经系统。肺的损伤变得表现在慢性呼吸道疾病例如肺炎,肺表现可以包括肺和胸膜炎症,这可以引起胸膜炎、胸腔积液、狼疮肺炎、慢性弥漫性间质性肺疾病、肺高压、肺栓塞、肺出血和肺萎缩综合征。

[0308] 狼疮肾炎的诊断一般取决于血液测试、尿分析、X 射线、肾的超声扫描和 / 或肾活组织检查。

[0309] 世界卫生组织基于活组织检查已将狼疮肾炎分成 5 个类别,所有这些应由如本文所使用的术语狼疮肾炎所涵盖。

[0310] 这个分类法在 1982 年定义并且在 1995 年修改。

[0311] -I 类是最低限度的膜性肾小球肾炎,其在光学显微镜检查下是组织学正常的,但在电子显微镜检查下具有肾小球膜沉积物。

[0312] -II 类基于膜性增生性狼疮肾炎的发现。这种形式通常对用皮质类固醇的治疗完全响应。

[0313] -III 类是局灶性增生性肾炎,并且通常对用高剂量皮质类固醇的治疗成功响应。

[0314] -IV 类是弥漫性增生性肾炎。这种形式主要用皮质类固醇和免疫抑制药品进行治疗。

- [0315] -V 类是膜性肾炎并且特征在于极度水肿和蛋白质丧失。
- [0316] -VI 类肾小球硬化症。
- [0317] 其他类型或形式的肾疾病肾小球肾炎是
- [0318] -膜性增生性肾小球肾炎（缩写 MPGN），由肾脏肾小球膜中的沉积物和基膜（缩写 GBM）增厚引起的一类肾小球肾炎，激活补体且损伤肾小球；
- [0319] -膜性肾小球肾炎（缩写 MGN），也称为膜性肾病，进展缓慢的肾疾病；
- [0320] -IgA 肾病变，遍及全世界的最常见的肾小球肾炎；该疾病由肾小球的中心——肾小球膜中免疫球蛋白 A（缩写 IgA）以斑点形式沉积而获得其名称。
- [0321] -链球菌感染后肾小球肾炎，在链球菌感染后肾中的肾小球（肾小球肾炎）或小血管病症；
- [0322] -急进性肾小球肾炎（缩写 RPGN），一种肾的综合征，当未进行治疗时，其快速进展为急性肾衰竭并且在数月内死亡。在 50% 的病例中，RPGN 与潜在疾病例如古德帕斯彻综合征、全身性红斑狼疮或韦格纳肉芽肿病相关；其余病例是特发性的；
- [0323] -肾病综合征（或急性肾病综合征），其更正确地意指与影响肾的病症，更具体而言肾小球病症相关的征兆集合；
- [0324] -局灶性节段性肾小球硬化症，儿童和青少年中的肾病综合征的病因，以及成人中的肾衰竭的主要病因；
- [0325] -糖尿病肾病，也称为基 - 威（Kimmelstiel-Wilson）二氏综合征和毛细血管间肾小球肾炎，是由肾脏肾小球中的毛细血管的血管病引起的进行性肾疾病。它的特征在于肾病综合征和结节性肾小球硬化症。它是由于长期糖尿病，并且是许多西方国家中关于透析的主要原因；
- [0326] -肾病综合征，是其中肾受损伤的非特异性病症，促使其将大量蛋白质（ > 3.5 克 / 天 / 1.73m^2 体表面积）泄漏到尿内；
- [0327] -间质性肾炎（或肾小管间质性肾炎），是影响肾脏肾小管周围的间质的肾炎形式。这种疾病可以是急性或慢性的。
- [0328] 存在 MCP-1 及其分别的趋化因子受体 CCR2 在自身免疫组织损害例如 SLE 的临床表现中起关键作用的非常强烈的证据（Gerard & Rollins 2001）。例如，对于 MCP-1 或 CCR2 基因缺陷的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠得到保护不受狼疮样自身免疫（Perez de Lema 2005, Tesch 1999）。因此，MCP-1/CCR2 轴可能代表用于例如狼疮肾炎的有希望的治疗靶。
- [0329] 慢性呼吸道疾病也称为慢性肺疾病或慢性肺部疾病，是肺的气道和其他结构例如肺脉管系统的慢性疾病。最常见慢性呼吸道疾病中的一些是哮喘、慢性阻塞性肺疾病（缩写 COPD）、呼吸道变态反应、职业性肺部疾病和肺高压。
- [0330] 慢性阻塞性肺疾病（缩写 COPD）是特征在于来自肺的气流持续堵塞的肺部疾病。它是诊断标准以下的，威胁生命的肺部疾病，其干扰正常呼吸并且不是完全可逆的。COPD 包括少数肺部疾病：最常见的是慢性支气管炎和肺气肿。具有 COPD 的许多人具有这两种疾病。肺气肿是对于在气道顶端处的气囊的损伤，这使得机体难以获取其需要的氧。在慢性支气管炎期间，气道是受刺激的、红色的，并且制造太多粘性粘液。气道的壁是肿胀的并且部分堵塞空气经过。
- [0331] MCP-1 在 COPD 和 / 或 COPD 发展中的牵涉迄今为止仍不明了。De Boer 和同事

发现在具有 COPD 的目前或以往抽烟者的外周肺组织的半定量分析中 1.5 倍高水平的 MCP-1mRNA (De Boer 2000)。基于他们的结果,作者假定在 COPD 中 MCP-1 可能牵涉巨噬细胞和肥大细胞招募到气道上皮中。Traves 等人 (Traves 2002) 发现在唾液中而不是在支气管肺泡灌洗 (缩写 BAL) 液中增加水平的 MCP-1,并且假定 MCP-1 牵涉单核细胞和嗜中性白细胞迁移到气道内,促成与 COPD 相关的增加的炎症负荷 (Traves 2002)。然而,在 2006 年,Ko 等人 (Ko 2006) 测定具有 COPD 患者的呼出呼吸冷凝物。他们未发现在 COPD 患者中升高的 MCP-1 水平 (Ko 2006)。

[0332] 尽管 MCP-1 牵涉炎症过程以及引起炎症的单核细胞和 / 或嗜中性白细胞的招募,但仍未完全明了 MCP-1 是否牵涉 COPD 和 / 或 COPD 的发展。令人惊讶的是,如本发明的实施例 11 中所示,在广泛用于就 COPD 治疗中的有用性筛选物质的公认动物模型中,结合 MCP-1 的镜像异构体的施用导致到肺内的细胞浸润的减少。基于本申请中所示的数据,结合 MCP-1 的镜像异构体适合于在慢性呼吸道疾病优选 COPD 的治疗中具有作用,单独或联合疗法的一个元素,优选在与类固醇药品优选地塞米松的联合疗法中。结合 MCP-1 的镜像异构体与地塞米松或其他类固醇药品的联合疗法利用 2 种独立的作用方式,以便治疗慢性呼吸道疾病例如 COPD。

[0333] 肺脉管结构和功能中的改变在具有 COPD 的患者中是高度普遍的 (Peinado 2008),此处指定为具有肺脉管牵涉的 COPD。脉管畸形损害气体交换,并且可能导致肺高压,这是与 COPD 患者中减少的存活相关的主要因素之一 (Peinado 2008)。在起始疾病阶段时已鉴定肺循环中的改变,提供其发病机制的新了解。由吸烟产物或炎症元素的作用产生的内皮细胞损伤和机能障碍目前被认为是起始导致肺高压的事件顺序的主要改变 (Peinado 2008)。

[0334] 肺高压 (缩写 PH) 是肺动脉、肺静脉或肺毛细血管 (统称为肺脉管系统) 中的血压中的增加,导致呼吸短促、眩晕、昏厥和其他症状,所有这些通过费力而恶化。PH 可以是具有明显减少的运动耐量和心力衰竭的严重疾病。自从 1973 年以后,进行了原发性 PH 和继发性 PH 之间的区别 (Hatano & Strasser 1975)。

[0335] 原发性 PH 是特征在于在不存在已知病因的情况下缓慢增加的肺血管阻力的综合征,如果不进行治疗,那么其通常导致在 4 年内的死亡 (Rubin 1997)。

[0336] 继发性 PH 起因于持续血管收缩和对于肺血管床的结构改变 (Hopkins 2002)。负责这些改变的主要刺激是慢性肺泡缺氧、慢性炎症和过度剪应力 (Voelker 1995)。

[0337] 在 2003 年,在威尼斯召集了 3rd World Symposium on Pulmonary Arterial Hypertension,以基于疾病机制的新发现修改分类法。由这个团体发展的修改系统提供用于理解肺高压的目前框架 (Simonneau 2004) :

[0338] -WHO 组 I- 肺动脉高压 (缩写 PAH)

[0339] ○特发性肺动脉高压 (缩写 IPAH)

[0340] ○家族性肺动脉高压 (缩写 FPAH)

[0341] ○与其他疾病相关的肺动脉高压 (缩写 APAH),由此其他疾病是胶原血管病 (例如硬皮病)、全身和肺循环之间的先天性分流、门静脉高压、HIV 感染、药品、毒素或其他疾病或病症。

[0342] ○与静脉或毛细血管疾病相关的肺动脉高压。

[0343] -WHO 组 II- 与左侧心脏病相关的肺高压

[0344] ○心房或心室疾病

[0345] ○心瓣膜病（例如二尖瓣狭窄）

[0346] -WHO 组 III- 与肺部疾病和 / 或低氧血症相关的肺高压

[0347] ○慢性阻塞性肺疾病（缩写 COPD），间质性肺疾病（缩写 ILD）

[0348] ○睡眠障碍性呼吸，肺泡通气不足

[0349] ○对于高海拔高度的长期暴露

[0350] ○发育肺畸形

[0351] -WHO 组 IV- 由于慢性血栓形成和 / 或栓塞疾病的肺高压

[0352] ○在近端或远端肺动脉中的肺栓塞

[0353] ○其他物质例如肿瘤细胞或寄生虫的栓塞形成

[0354] -WHO 组 V- 混杂的

[0355] 近年来已开发了许多试剂用于原发性和继发性 PAH：前列腺环素衍生物例如依前列醇，内皮素受体拮抗剂例如波生坦和 5 型磷酸二酯酶例如西地那非（Torres 2007）。

[0356] 与健康对照相比较，MCP-1 水平在具有特发性肺动脉高压或原发性肺高压的患者中是升高的。这些结果暗示 MCP-1 对于肺高压发展的贡献（Itoh 2006,）。如实施例 12 中所示，在广泛用于就肺高压治疗中的有用性筛选物质的动物模型中，结合 MCP-1 的镜像异构体显示对 PH 的正面作用。因此，结合 MCP-1 的镜像异构体可用于治疗 PH 的试剂。

[0357] 在其他实施方案中，所述药剂包含另外的药物学活性试剂。此类另外的药物学活性化合物尤其是（但不限于此）已知能控制血压和糖尿病的那些，例如血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂和血管紧张素受体阻断剂。在另外的实施方案中，所述另外的药物学活性化合物也可以是减少免疫细胞浸润至慢性炎症位点中或一般地抑制过度的免疫应答（所述过度的免疫应答存在于慢性炎症位置中并导致组织损伤）的那些化合物中的一种。此类化合物可以是但不限于类固醇或免疫抑制剂，并且优选选自皮质类固醇（例如泼尼松、甲泼尼龙、氢化可的松、地塞米松）和通用免疫抑制剂（例如环磷酰胺、环孢素、苯丁酸氮芥、硫唑嘌呤、他克莫司或吗替麦考酚酸酯）。另外，T- 细胞共刺激的更特异的阻断剂，如 CD154 或 CD40 或 CD28 或 CD86 或 CD80 的阻断剂；或者 T- 细胞和 / 或 B- 细胞耗竭剂，如抗 -CD20 试剂，可用于其他实施方案。最后，另外的药物学活性试剂可以是任何其他趋化因子的活性的调节剂，其可以是趋化因子激动剂或拮抗剂或者趋化因子受体激动剂或拮抗剂。备选地，或另外地，此类另外的药物学活性试剂是其他的根据本发明的核酸。备选地，所述药剂包含至少多于一种这样的核酸，所述核酸结合不同于 MCP-1 的靶分子或者显示出与根据本发明的核酸的功能不同的功能。

[0358] 在本发明的范围内，原则上将所述药剂备选地或另外地用于预防任何在所述药剂用于治疗所述疾病的用途方面所公开的疾病。因此，各自的标记物，即各自疾病的各自标记物，是本领域技术人员已知的。优选地，各自的标记是 MCP-1。备选地和 / 或另外地，各自的标记选自 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋化因子。另外一组标记物选自血浆中的自身反应性抗体（例如抗 -dsDNA 抗体）或类风湿因子。

[0359] 在本发明的药剂的一个实施方案中，将这种药剂与用于任何本文所公开的疾病（特别是，将使用本发明的药剂进行治疗的那些疾病）的其他治疗联合使用。

[0360] “联合疗法”(或“综合疗法(co-therapy)”)包括施用本发明的药剂和至少另一种试剂作为具体治疗方案的一部分,以期望从这些治疗剂即本发明的药剂和所述另一种试剂的共同作用中提供有益效应。这种联合的有益效应包括但不限于由治疗剂的联合而产生的药物动力学或药效动力学共同作用。这些治疗剂的联合施用通常在限定的时间内完成(通常为几分钟、数小时、数天或数周,这取决于所选择的组合)。

[0361] “联合疗法”意在包括(但通常不包括)施用两种或更多种这些治疗剂作为分开的单一疗法方案的一部分,所述单一疗法方案偶然地和不定期地导致本发明的联合。“联合疗法”旨在包括以连续的方式施用这些治疗剂,也就是说,其中每种治疗剂在不同的时间施用,以及以基本上同时的方式施用这些治疗剂或所述治疗剂中的至少两种。基本上同时施用可以例如通过下列方式来完成:将具有固定比例的每种治疗剂的单个胶囊或者将多个关于每种治疗剂的单胶囊施用给受试者。

[0362] 在一个优选实施方案中,慢性疾病是慢性肾疾病且更优选狼疮肾炎,或慢性肺疾病且更优选肺炎,这使用联合疗法进行治疗。此种联合疗法利用如本文所公开的核酸分子和免疫抑制剂的组合。优选地,免疫抑制剂选自环磷酰胺和麦考酚酸酯。

[0363] 环磷酰胺(Cytosan、Neosar、Revimmune的通用名称)也称为环磷酰胺(cytosphosphane),是氮芥烷化剂,来自 oxazophorines 组。环磷酰胺的静脉内和口服施用已成为用于治疗狼疮肾小球肾炎的护理标准(Steinberg 1991)。环磷酰胺是“药物前体”,其在肝脏中转化成具有化学治疗活性的活性形式。事实上,环磷酰胺的使用受潜在的严重毒性作用的限制,所述毒性作用包括骨髓抑制、出血性膀胱炎、机会致病菌感染、恶性疾病和早产儿性腺衰竭(Boumpas 1995)。与用单独的皮质类固醇的治疗相比较,用与皮质类固醇相组合的间歇性静脉内环磷酰胺的治疗的临床试验显示更大的长期肾存活,但并非总体存活(Austin 1986;Valeri 1994;Lehman 1989;Boumpas 1992)。另外,在接受环磷酰胺的 18 至 57% 患者中报告无法达到缓解,这与增加的进展至肾衰竭的速率相关(Korbert 2000;Gourley 1996;Ionnidis 2000;Mok 2004)。

[0364] 麦考酚酸酯是免疫抑制剂,由此它在肝脏中代谢成活性部分霉酚酸。它抑制肌苷一磷酸脱氢酶,该酶控制在 B 和 T 淋巴细胞增殖中使用的嘌呤合成的从头途径中的鸟嘌呤一磷酸合成速率。麦考酚酸酯批准用于预防移植排斥,已在具有对于环磷酰胺难治的狼疮肾炎的患者中和在无法耐受环磷酰胺的患者中使用(Dooley 1990;Gaubitz 1999;Kingdon 2001;Karim 2002)。在 4 周试验中,麦考酚酸酯在诱导狼疮肾炎的缓解中比静脉内环磷酰胺更有效(Ginzler 2005)。

[0365] 然而,2 种药品各自与显著的发病率和死亡率相关。例如,在 Aspreva Lupus Management Study(ALMS) 试验中,麦考酚酸酯在 27.7% 中引起严重不良反应,并且在 4.9% 中引起治疗相关死亡,而环磷酰胺分别在 22.8% 和 2.8% 的治疗患者中引起严重不良反应和治疗相关死亡(Appel 2007)。大多数严重不良反应和死亡涉及由于环磷酰胺和麦考酚酸酯的非特异性免疫抑制作用的感染(Appel 2007)。特异性阻断自身免疫炎症的新型药品可能允许减少目前治疗方案的毒性,通过替换环磷酰胺和麦考酚酸酯或通过组合使用时允许显著剂量减少。

[0366] 与此类联合疗法结合,免疫抑制剂的总体量的显著减少是可能的,而仍达到疗效。免疫抑制剂的总体量的显著减少可能通过在每次施用时减少免疫抑制剂的量来实现,或通

过在疾病治疗中减少免疫抑制剂的施用频率来实现。不管实践所述 2 个选择中的哪一个,在任何情况下,与仅施用免疫抑制剂而不是免疫抑制剂与根据本发明的核酸分子的组合时在患者治疗中施用的免疫抑制剂的总体量相比较,在治疗过程中施用于患者的免疫抑制剂的总体量是减少的。与所述疾病的治疗结合免疫抑制剂作为唯一的药学活性试剂的此类施用,在本文中也称为单一疗法。此类减少的程度取决于特定免疫抑制剂和特定疾病,以及待治疗患者的个人特征。在任何情况下,与分别的免疫抑制剂作为单一疗法的使用相比较,根据本发明的联合疗法伴随更少的副作用。

[0367] 使用根据本发明的核酸分子作为一种药学活性试剂的联合疗法的一个进一步优选的实施方案,是与慢性呼吸道疾病的治疗结合的联合疗法,由此所述慢性呼吸道疾病优选是 COPD。在所述联合疗法中连同根据本发明的核酸分子一起使用的试剂是抗炎剂。优选地,抗炎剂选自地塞米松和罗氟司特;更优选地所述抗炎剂是地塞米松。

[0368] 每种治疗剂的顺次施用或基本上同时施用可以通过任何合适的途径来实现,包括但不限于局部途径、口服途径、静脉内途径、肌肉内途径和经过粘膜组织的直接吸收。治疗剂可以通过相同的途径或通过不同的途径施用。例如,所选择的联合的第一种治疗剂可以通过注射施用而该联合中的其他治疗剂可以局部施用。

[0369] 备选地,例如,所有治疗剂可以局部施用或者所有治疗剂可以通过注射施用。治疗剂的施用顺序不是严格重要的,除非另外说明。“联合疗法”还可以包括将如上所述的治疗剂以与其他生物活性成分的进一步联合形式进行施用。如果联合疗法还包括非药物治疗,则该非药物治疗可以在任何合适的时间进行,只要能够实现从治疗剂和非药物治疗的联合的共同作用中获得有益效应。例如,在适当的情况下,当非药物治疗在时间上距离治疗剂的施用可能有几天或甚至几周时,仍然能够达到有益效应。

[0370] 如在上述通用术语中所概述的,根据本发明的药剂原则上可以以本领域技术人员已知的任何形式施用。优选的施用途径是全身性施用,更优选地,其通过肠胃外施用,优选通过注射施用来进行。备选地,药剂可以局部施用。其他施用途径包括肌肉内、腹膜内和皮下、经口、鼻内、气管内或肺部施用,优先选择侵入性最低并同时确保效力的施用途径。

[0371] 肠胃外施用通常用于皮下、肌肉内或静脉内注射和输注。另外,一种用于肠胃外施用的方法采用了本领域技术人员熟知的缓释或持续释放系统的植入,其确保维持恒定的剂量水平。

[0372] 此外,本发明的优选药剂可以通过局部使用合适的鼻内媒介物 (vehicle)、吸入剂来以鼻内形式进行施用,或者可以采用那些本领域技术人员所熟知的透皮贴剂的形式通过经皮途径进行施用。为了以透皮递送系统的形式施用,在整个给药方案过程中,剂量的施用将(当然)是连续的而不是间歇性的。其他优选的局部制剂包括乳膏剂、软膏剂、洗剂、气雾喷雾剂和凝胶剂,其中活性成分的浓度的范围通常将是 0.01% 至 15% (w/w 或 w/v)。

[0373] 本发明的药剂将通常包含溶解或分散于可药用介质中的有效量的治疗活性成分,包括但不限于本发明的核酸分子。可药用介质或载体包括任何和所有的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。对于药物学活性物质使用此类介质和试剂是本领域熟知的。补充的活性成分也可以掺入本发明的药剂中。

[0374] 在进一步的方面,本发明涉及药物组合物。此类药物组合物包含至少一种根据本发明的核酸并且优选包含可药用媒介物。此类媒介物可以是本领域使用的和/或已知的任

何媒介物或任何粘合剂。更特别地,此类粘合剂或媒介物是任何在关于本文所公开的药剂的制备时所论述的粘合剂或媒介物。在进一步的实施方案中,药物组合物包含另外的药物学活性试剂。

[0375] 根据本公开内容,本领域技术人员将知道药剂和药物组合物的制备。通常,此类组合物可以制备成注射剂(作为液体溶液或悬浮液);制备成适合于在注射前溶解或悬浮于液体中的固体形式;制备成用于口服施用的片剂或其他固体剂;制备成定时释放胶囊;或制备成当前使用的任何其他形式,包括滴眼剂、乳膏剂、洗剂、油膏剂、吸入剂等。由外科医生、内科医生或卫生保健工作者使用无菌制剂(例如基于盐水的洗液)来处理手术区中的特殊区域也是特别有用的。组合物也可以通过微型装置、微颗粒或海绵递送。

[0376] 在配制后,药剂将以与剂量制剂相容的方式并以药理学有效的量施用。制剂容易地以各种剂型,例如上述的可注射溶液的类型进行施用,但是也可以采用药物释放胶囊等。

[0377] 在这个背景中,待施用的活性成分的量 and 组合物的体积取决于待治疗的个体或受试者。对于施用而言所必需的活性化合物的具体量取决于从业者的判断,并且对于每个个体是特殊的。

[0378] 通常利用对于分散活性化合物而言所必需的最小体积的药剂。合适的施用方案也是可变的,但是典型的是:最初施用所述化合物并监测结果,然后以进一步的时间间隔提供进一步的受控剂量。

[0379] 例如,对于以片剂或胶囊(例如明胶胶囊)形式的口服施用,活性药物成分即本发明的核酸分子和/或任何另外的药物学活性试剂(在本文中也称为治疗剂或活性化合物)可以与口服的、无毒的、可药用的惰性载体例如乙醇、甘油、水等相组合。而且,当期望或需要时,也可以将合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂掺入混合物中。合适的粘合剂包括淀粉,硅酸镁铝,淀粉浆,明胶,甲基纤维素,羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮,天然糖类例如葡萄糖或 β -乳糖,玉米增甜剂,天然和合成的树胶例如阿拉伯胶、黄蓍胶或藻酸钠,聚乙二醇,蜡等。在这些剂型中使用的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、二氧化硅、滑石、硬脂酸、它的镁盐或钙盐和/或聚乙二醇等。崩解剂包括但不限于,淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶淀粉、琼脂、藻酸或其钠盐、或泡腾混合物等。稀释剂包括例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸。

[0380] 本发明的药剂还可以以诸如定时释放和持续释放片剂或胶囊、丸剂、粉剂、颗粒剂、酞剂、酞剂、混悬剂、糖浆剂和乳剂的口服剂型来进行施用。有利地由脂肪乳浊液或悬浮液制备栓剂。

[0381] 药物组合物或药剂可以是经灭菌的和/或含有佐剂,例如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、溶液促进剂(solution promoter)、用于调节渗透压的盐和/或缓冲剂。另外,它们还可以包含其他在治疗上有价值的物质。组合物根据传统的混合、粒化或包覆方法来制备,并且通常含有约0.1%至75%,优选约1%至50%的活性成分。

[0382] 液体的(特别是可注射的)组合物可以例如通过溶解、分散等来制备。将活性化合物溶解于在药物学上纯的溶剂(例如水、盐水、含水右旋糖、甘油、乙醇等)中或与之混合从而形成可注射的溶液或悬浮液。另外,可以配制适合于在注射前溶解于液体中的固体形式。

[0383] 对于固体组合物,赋形剂包括药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑

石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。还可以用例如聚亚烷基二醇如丙二醇作为载体将上文限定的活性化合物配制成栓剂。在一些实施方案中,栓剂有利地由脂肪乳浊液或悬浮液制备。

[0384] 各自地,本发明的药剂和核酸分子也可以以脂质体递送系统例如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡的形式施用。脂质体可以由各种磷脂(包含胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱)组成。在一些实施方案中,将脂质成分的薄膜与药物水溶液水合以形成包囊该药物的脂质层,这是本领域技术人员熟知的。例如,可以作为用本领域已知方法构建的与亲脂化合物或非免疫原性高分子量化化合物的复合物来提供本文所描述的核酸分子。另外,脂质体可以在它们的表面上携带有此类核酸分子,以便用于靶向和在内部携带细胞毒性试剂来介导细胞杀死。核酸相关的复合物的实例在美国专利号 6,011,020 中提供。

[0385] 各自地,本发明的药剂和核酸分子也可以与作为可靶向的药物载体的可溶聚合物相偶联。此类聚合物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基-甲基丙烯酰胺-苯酚、聚羟乙基天冬酰胺苯酚(polyhydroxyethylaspanamidephenol)或聚环氧乙烷聚赖氨酸,其用棕榈酰残基取代。此外,各自地,本发明的药剂和核酸分子可以偶联至一类可用于实现药物的受控释放的可生物降解的聚合物,例如聚乳酸、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛类、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯类以及水凝胶的交联或两亲性的嵌段共聚物。

[0386] 需要时,各自待施用的药物组合物和药剂还可以含有较少量的非毒性辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲剂以及其他物质例如乙酸钠和三乙醇胺油酸酯。

[0387] 各自使用本发明的核酸分子和药剂的给药方案可以根据多种因素进行选择,包括患者的类型、物种、年龄、体重、性别和医学状况;待治疗的病状的严重度;施用途径;患者的肾和肝的功能;以及所采用的具体适体或其盐。普通医师或兽医能够容易地确定和规定对于预防、对抗或阻止病状进展而言所需的药物的有效量。

[0388] 在治疗本文所公开的任何疾病中,根据本发明的核酸的有效血浆水平的范围优选为 500 fM 至 500 μ M。

[0389] 各自地,本发明的核酸分子和药剂可优选地以单次日剂量、每两天或每三天、每周、每两周、以单次月剂量或者每三个月进行施用。

[0390] 在本发明的范围内,本文所描述的药剂组成了本文所公开的药物组合物。

[0391] 在另外的方面,本发明涉及用于治疗需要这种治疗的受试者的方法,由此该方法包括施用药物学活性量的至少一种根据本发明的核酸。在一个实施方案中,受试者患有疾病或处于发展出该疾病的风险中,由此该疾病是任何本文所公开的那些,特别是在关于任何根据本发明的核酸用于制备药剂的用途时所公开的那些疾病中的任何一种。

[0392] 应当理解,根据本发明的核酸以及拮抗剂不仅可用作药剂或用于制备药剂,而且还可用于美容目的,特别是与 MCP-1 参与发炎的区域性皮肤损害有关的美容目的。因此,根据本发明的核酸、药剂和/或药物组合物可用于治疗或预防的其他病状或疾病是发炎的区域性皮肤损害。

[0393] 如本文优选使用的,诊断或诊断剂或诊断工具适合于直接或间接地检测 MCP-1,优选如本文所描述的 MCP-1,和更优选如本文在关于本文所描述的各种病症和疾病时所描述的 MCP-1。然而,就根据本发明的核酸分子也结合 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和嗜酸性粒细胞趋

化因子中的任何、一些或所有来说,此类核酸分子还可以分别用于诊断致病机理直接或间接地与 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和 / 或嗜酸性粒细胞趋化因子的过表达或过度活性相关或相关联的疾病和病症。该诊断适合于检测和 / 或随访任何各自在本文中所描述的病症和疾病。此类检测通过根据本发明的核酸与 MCP-1 的结合而成为可能。可以直接或间接地检测这种结合。相应的方法和工具是本领域技术人员已知的。尤其是,根据本发明的核酸可以包含标记,所述标记使得能够检测根据本发明的核酸,优选结合至 MCP-1 的核酸。此类标记优选选自放射性标记、酶标记和荧光标记。原则上,所有已知的对于抗体而开发的测定法都可用于根据本发明的核酸,但是将靶结合性抗体替换成了靶结合性核酸。在使用未标记的靶结合性抗体的抗体-测定法中,检测优选通过二抗来进行,所述二抗用放射性标记、酶标记和荧光标记进行修饰并且在其 Fc- 片段处结合该靶结合性抗体。在核酸,优选根据本发明的核酸的情形中,核酸用这样的标记进行修饰,其中优选地,这种标记选自生物素、Cy-3 和 Cy-5,并且这种标记通过针对此类标记的抗体例如抗生物素抗体、抗 Cy3 抗体或抗 Cy5 抗体进行检测,或者在标记是生物素的情况下,该标记通过天然结合生物素的链霉抗生物素蛋白或抗生物素蛋白进行检测。继而,将此类抗体、链霉抗生物素蛋白或抗生物素蛋白优选地用相应的标记例如放射性标记、酶标记或荧光标记进行修饰(如同二抗一样)。

[0394] 在另外的实施方案中,根据本发明的核酸分子通过第二种检测工具进行检测或分析,其中所述检测工具是分子信标。分子信标的方法学是本领域技术人员已知的。简而言之,核酸探针(其也称为分子信标)是待检测的核酸样品的反向互补序列并因而能够与待检测的核酸样品的部分杂交。在结合至核酸样品后,分子信标的荧光基团分开,这导致荧光信号的变化,优选为强度的变化。这种变化与存在的核酸样品的量相关。

[0395] 应认识到,用根据本发明的核酸来检测 MCP-1 将特别使得能够检测如本文所定义的 MCP-1。

[0396] 关于 MCP-1 的检测,优选的方法包括下列步骤:

[0397] (a) 提供样品,其待就 MCP-1 的存在进行检测,

[0398] (b) 提供根据本发明的核酸,

[0399] (c) 让所述样品与所述核酸反应,优选在反应容器中进行反应,

[0400] 由此步骤 (a) 可以在步骤 (b) 之前进行,或者步骤 (b) 可以在步骤 (a) 之前进行。

[0401] 在一个优选的实施方案中,提供了另外的步骤 d),其在于检测样品与核酸的反应。优选地,将步骤 b) 的核酸固定至表面。该表面可以是反应容器例如反应管、平板上的孔的表面,或者可以是包含于该反应容器中的装置(例如珠)的表面。将核酸固定至该表面可以通过任何本领域技术人员已知的手段来完成,包括但不限于非共价或共价连接。优选地,通过在表面和核酸之间的共价化学键来建立连接。然而,同样也在本发明范围内的是,将核酸间接地固定至表面,由此这种间接固定涉及使用另外的组分或一对相互作用配偶体。这种另外的组分优选为与待固定的核酸特异性地相互作用的化合物(其也称为相互作用配偶体),并因而介导核酸附着至该表面。相互作用配偶体优选选自核酸、多肽、蛋白质和抗体。优选地,相互作用配偶体为抗体,更优选为单克隆抗体。备选地,相互作用配偶体为核酸,优选为功能性核酸。更优选地,此类功能性核酸选自适体、镜像异构体和至少与该核酸部分互补的核酸。在另外的备选的实施方案中,核酸与表面的结合由多分体相互作用配偶体(multi-partite interaction partner)介导。这种多分体相互作用配偶体优选为由第

一个成员和第二个成员组成的一对相互作用配偶体或一个相互作用配偶体,由此第一个成员包含在该核酸中或与其连接,而第二个成员连接至该表面或包含在该表面内。多分体相互作用配偶体优选选自包括生物素和抗生物素蛋白、生物素和链霉抗生物素蛋白、以及生物素和中性亲和素 (neutravidin) 的相互作用配偶体对。优选地,该相互作用配偶体对的第一个成员是生物素。

[0402] 该方法的优选的结果是形成了 MCP-1 和所述核酸的经固定的复合物,由此更优选地,检测到所述复合物。在实施方案范围内的是,从该复合物中检测出 MCP-1。

[0403] 符合这一需要的相应的检测工具是例如任何对于 MCP-1 的那个 / 那些部分特异的检测工具。特别优选的检测工具是选自核酸、多肽、蛋白质和抗体的检测工具,所述检测工具的产生是本领域技术人员已知的。

[0404] 所述用于检测 MCP-1 的方法还包括将样品从已经优选地用于实施步骤 c) 的反应容器中移除。

[0405] 在另外的实施方案中,所述方法还包括将 MCP-1 的相互作用配偶体固定在表面(优选如上定义的表面)上的步骤,由此该相互作用配偶体是如本文中定义的,和优选如上面在关于相应的方法时所定义的,并且更优选在它们的各种实施方案中包括核酸、多肽、蛋白质和抗体。在这个实施方案中,特别优选的检测工具是根据本发明的核酸,由此此类核酸可优选为经标记的或未标记的。在此类核酸为经标记的情况下,它可以直接或间接地被检测。这种检测也可以涉及第二种检测工具的使用,所述第二种检测工具也优选选自核酸、多肽、蛋白质和在本文所描述的各种实施方案中的具体形式。此类检测工具优选为对于根据本发明的核酸是特异性的。在更优选的实施方案中,第二种检测工具是分子信标。在优选的实施方案中,所述核酸或所述第二种检测工具或两者可以包含检测标记。所述检测标记优选选自生物素、溴脱氧尿苷标记、洋地黄毒苷标记、荧光标记、UV- 标记、放射性标记和螯合剂分子。备选地,所述第二种检测工具与优选由该核酸所含有、由该核酸所包含或附着至该核酸的检测标记相互作用。特别优选的组合如下:

[0406] 检测标记是生物素而第二种检测工具是针对生物素的抗体,或其中

[0407] 检测标记是生物素而第二种检测工具是抗生物素蛋白或携带抗生物素蛋白的分子,或其中

[0408] 检测标记是生物素而第二种检测工具是链霉抗生物素蛋白或携带链霉抗生物素蛋白的分子,或其中

[0409] 检测标记是生物素而第二种检测工具是中性链霉抗生物素蛋白或携带中性链霉抗生物素蛋白的分子,或者

[0410] 其中检测标记是溴脱氧尿苷而第二种检测工具是针对溴脱氧尿苷的抗体,或其中

[0411] 检测标记是洋地黄毒苷而第二种检测工具是针对洋地黄毒苷的抗体,或其中

[0412] 检测标记是螯合剂而第二种检测工具是放射性核素,由此所述检测标记优选附着至所述核酸。将公认的是,这种类型的组合也可以应用于其中核酸附着至表面的实施方案。在这种实施方案中,检测标记优选附着至相互作用配偶体。

[0413] 最后,同样也在本发明的范围内的是,用第三种检测工具检测第二种检测工具,优选地,第三种检测工具是酶,更优选地为在检测第二种检测工具时显示出酶促反应的酶,或者第三种检测工具是用于检测辐射(更优选地,由放射性核素发射的辐射)的工具。优选

地,第三种检测工具特异性地检测第二种检测工具和 / 或与第二种检测工具相互作用。

[0414] 此外,在将 MCP-1 的相互作用配偶体固定在表面上并将根据本发明的核酸优选加入至在相互作用配偶体和 MCP-1 之间形成的复合物中的实施方案之中,可以将样品从反应体系中移除,更优选地从在其中进行步骤 c) 和 / 或 d) 的反应容器中移除。

[0415] 在一个实施方案中,根据本发明的核酸包含荧光部分,并且由此该荧光部分的荧光在所述核酸与 MCP-1 之间形成复合物和在所述核酸与游离的 MCP-1 之间形成复合物时是不同的。

[0416] 在另外的实施方案中,所述核酸是根据本发明的核酸的衍生物,由此所述核酸的衍生物包含至少一种腺苷的荧光衍生物以替换腺苷。在优选的实施方案中,所述腺苷的荧光衍生物是亚乙烯基腺苷。

[0417] 在另外的实施方案中,利用荧光来检测由根据本发明的核酸的衍生物和 MCP-1 组成的复合物。

[0418] 在所述方法的一个实施方案中,信号在步骤 (c) 或步骤 (d) 中产生,并且优选地,所述信号与样品中 MCP-1 的浓度相关。

[0419] 在一个优选的方面,所述测定法可以在 96 孔板中进行,其中将成分固定在如上描述的反应容器中并且将孔用作反应容器。

[0420] 本领域技术人员将公认,至少就根据本发明的核酸也结合至 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和 / 或嗜酸性粒细胞趋化因子或与之结合来说,上文中所描述的内容也适用于 MCP-2、MCP-3、MCP-4 和 / 或嗜酸性粒细胞趋化因子。

[0421] 在本发明的范围内的是,如本文所公开的用于检测样品中的 MCP-1 的方法还可以作为用于诊断疾病例如如本文更详细地描述的慢性疾病和慢性病的方法应用。

[0422] 本发明的核酸可以进一步用作用于药物设计的起始材料。主要存在两种可能的方法。一种方法是筛选化合物文库,而此类化合物文库优选为低分子量化合物文库。在一个实施方案中,所述筛选是高通量筛选。优选地,高通量筛选是在基于靶的测定法中对化合物进行快速且有效的试错法 (trial-and-error) 评估。该分析最好是通过比色测量法来进行。与之相关使用的文库是本领域技术人员已知的。

[0423] 备选地,根据本发明的核酸可用于药物的合理设计。优选地,合理药物设计是设计药物学先导结构。从靶的三维结构开始,用计算机程序把包含许多不同化合物的结构的数据库搜索一遍,所述三维结构通常通过诸如 X 射线晶体学或核磁共振光谱学之类的方法来确定。该选择通过计算机来完成,随后可在实验室中测试所确定的化合物。

[0424] 合理药物设计可以从任何根据本发明的核酸开始,并涉及与本发明核酸的结构相似的或与本发明核酸的结构中的介导结合的部分相同的结构,优选三维结构。在任何情况下,此类结构仍然显示出与本发明的核酸相同或相似的结合特征。在合理药物设计中的进一步的步骤中或作为备选的步骤,优选地用不同于核苷酸和核酸的化学基团来模拟结合至神经递质的所述核酸的那些部分的三维结构。通过这种模拟,可以设计出不同于所述核酸的化合物。此类化合物优选为小分子或肽。

[0425] 在例如通过使用本领域技术人员已知的竞争性测定法来筛选化合物文库的情况下,可以发现合适的 MCP-1 类似物、MCP-1 激动剂或 MCP-1 拮抗剂。这种竞争性测定法可以如下建立。将本发明的核酸,优选作为结合靶的 L- 核酸的镜像异构体偶联至固相。为了鉴

定 MCP-1 类似物,可以将经标记的 MCP-1 加入至该测定法。潜在的类似物将与 MCP-1 分子竞争结合该镜像异构体,这将伴随有通过相应标记获得的信号的减少。筛选激动剂或拮抗剂可以涉及使用本领域技术人员已知的细胞培养测定法。

[0426] 根据本发明的试剂盒可以包含至少一种或几种本发明的核酸。另外,试剂盒可以包含至少一种或几种阳性或阴性对照。阳性对照可以例如是 MCP-1,特别是针对其来选择本发明核酸或本发明核酸与其结合的 MCP-1,优选以液体形式。阴性对照可以例如是根据类似于 MCP-1 的生物物理学性质而限定的肽,但是其不会被本发明的核酸所识别。此外,所述试剂盒可以包含一种或几种缓冲液。各种成分可以以干燥或冻干的形式,或者以溶解于液体中的形式包含在试剂盒中。试剂盒可以包括一个或几个容器,所述容器继而可以包含一种或几种该试剂盒的成分。在另外的实施方案中,试剂盒包括说明书或说明书散页,其将有关如何使用试剂盒及其各种成分的信息提供给使用者。应当理解这类试剂盒同样并且特别适合于诊断和检测如本文所描述的慢性疾病和慢性病。

[0427] 根据本发明的核酸的药物学和生物分析测定主要用于评估它在几种人体和非人体的体液、组织和器官中的药物动力学和生物动力学特性。为这个目的,可以使用任何本文所公开的和本领域技术人员已知的检测方法。在本发明的另外的方面,提供了用于检测根据本发明的核酸的夹心杂交测定法。在该检测测定法中,使用了捕获探针和检测探针。捕获探针与根据本发明的核酸的第一个部分互补,而检测探针与根据本发明的核酸的第二个部分互补。捕获探针和检测探针都可以由 DNA 核苷酸、经修饰的 DNA 核苷酸、经修饰的 RNA 核苷酸、RNA 核苷酸、LNA 核苷酸和 / 或 PNA 核苷酸形成。

[0428] 因此,捕获探针包含与根据本发明的核酸的 5'-末端互补的序列段,而检测探针包含与根据本发明的核酸的 3'-末端互补的序列段。在该情况下,将捕获探针经其 5'-末端固定至表面或基质,由此该捕获探针可以在其 5'-末端处直接固定,或者经由在其 5'-末端和表面或基质之间的连接体进行固定。然而,原则上,连接体可以连接至捕获探针的每个核苷酸。连接体可以由本领域技术人员已知的亲水性连接体形成,或者由 D-DNA 核苷酸、经修饰的 D-DNA 核苷酸、D-RNA 核苷酸、经修饰的 D-RNA 核苷酸、D-LNA 核苷酸、PNA 核苷酸、L-RNA 核苷酸、L-DNA 核苷酸、经修饰的 L-RNA 核苷酸、经修饰的 L-DNA 核苷酸和 / 或 L-LNA 核苷酸形成。

[0429] 备选地,捕获探针包含与根据本发明的核酸的 3'-末端互补的序列段,而检测探针包含与根据本发明的核酸的 5'-末端互补的序列段。在该情况下,捕获探针经其 3'-末端固定至表面或基质,由此该捕获探针可以在其 3'-末端处直接固定,或者经由在其 3'-末端和表面或基质之间的连接体进行固定。然而,原则上,连接体可以连接至与根据本发明的核酸互补的序列段的每个核苷酸。连接体可以由本领域技术人员已知的亲水性连接体形成,或者由 D-DNA 核苷酸、经修饰的 D-DNA 核苷酸、D-RNA 核苷酸、经修饰的 D-RNA 核苷酸、D-LNA 核苷酸、PNA 核苷酸、L-RNA 核苷酸、L-DNA 核苷酸、经修饰的 L-RNA 核苷酸、经修饰的 L-DNA 核苷酸和 / 或 L-LNA 核苷酸形成。

[0430] 可以与根据本发明的核酸杂交的捕获探针和检测探针的核苷酸数目是可变的并且可依赖于捕获和 / 或检测探针和 / 或根据本发明的核酸自身的核苷酸数目。可与根据本发明的核酸杂交的捕获探针和检测探针的核苷酸总数目的最大值应该是根据本发明的核酸所包含的核苷酸数目。检测探针和捕获探针的核苷酸的最小数目(2 至 10 个核苷酸)应

该使得能够分别与根据本发明的核酸的 5' - 末端或 3' - 末端杂交。为了实现在根据本发明的核酸和存在于所分析的样品中的其他核酸之间的高的特异性和选择性,捕获探针和检测探针的核苷酸总数目应该是或者最多为根据本发明的核酸所包含的核苷酸数目。

[0431] 此外,检测探针优选携带有如本文先前所描述的可检测的标记物分子或标记。原则上,标记或标记物分子可以连接至检测探针的每个核苷酸。优选地,标记或标记物位于检测探针的 5' - 末端或 3' - 末端,由此在与根据本发明的核酸互补的检测探针内的核苷酸和所述标记之间可以插入连接体。连接体可以由本领域技术人员已知的亲水性连接体形成,或者由 D-DNA 核苷酸、经修饰的 D-DNA 核苷酸、D-RNA 核苷酸、经修饰的 D-RNA 核苷酸、D-LNA 核苷酸、PNA 核苷酸、L-RNA 核苷酸、L-DNA 核苷酸、经修饰的 L-RNA 核苷酸、经修饰的 L-DNA 核苷酸和 / 或 L-LNA 核苷酸形成。

[0432] 根据本发明的核酸的检测可以如下进行:

[0433] 将根据本发明的核酸以其一端与捕获探针杂交,并且以其另一端与检测探针杂交。然后,通过例如一个或多个洗涤步骤来移除未结合的检测探针。随后可以测量结合的检测探针的量,所述检测探针优选携带有标记或标记物分子,如例如在通过引用合并入本文的 WO/2008/052774 中更详细地概述的。

[0434] 如本文优选使用的,术语“治疗”在一个优选的实施方案中额外地或备选地包括预防和 / 或随访。

[0435] 如本文优选使用的,如果没有指出与此相反,术语“疾病”和“病症”应该以可交换的方式使用。

[0436] 如本文使用的,术语“包含”优选地无意于限制该术语前面的主题或由该术语所描述的主题。然而,在一个备选的实施方案中,术语“包含”应该以容纳的含义理解,并因而理解为限制了该术语前面的主题或由该术语所描述的主题。

[0437] 本文所使用的根据本发明的核酸分子和靶分子 MCP-1 的各个序列标识号、化学性质,其实际序列以及内部参考号概括在下表中。

[0438]

Seq.-ID	RNA/肽	序列	内部参考
1	L-蛋白质	QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKEICADPK QKWVQDSMDHLDKQTQTPKT	人 MCP-1, huMCP-1, CCL2
2	L-蛋白质	QPDAVNAPLTCCYSTSKMIPMSRLESYKRITSSRCPEAVVFVTKLKREVCAD PKKEWVQTYIKNLDRNQMRSEPTTLFKTASALRSSAPLNVKLTRKSEANASTTF STTTSSTSVGVTSVTVN	小鼠 MCP-1, mCCL2, mMCP-1, 鼠 MCP-1(小 家鼠)
3	L-蛋白质	QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKEICADPK QKWVQDSMDHLDKQIQTPKP	猴 MCP-1 (猕猴)
4	L-蛋白质	QPDAINSPVTCCTLTSSKISMQRMSYRRVTSSKCPKEAVIFKTIAGKEICAEP KQKWVQDSISHLDDKKNQTPKP	猪 MCP-1 (欧洲野猪)
5	L-蛋白质	QPDAIHSPVTCCTLTNKKISIQRLASYKRVTSKCPKEAVIFKTVLNKEICADPK QKWVQDSMAHLDDKKSQTQTA	狗 MCP-1 (家犬)
6	L-蛋白质	QPDAVNSPVTCCYFTFNKTISVKRLMSYRRINSTKCPKEAVIFMTKLAKGICAD PKQKWVQDAIANLDKKMQTPKTLTSYSTTQEHTTNLSSTRTPSTTSL	兔 MCP-1 (穴兔)
7	L-蛋白质	QPVGINTSTTCCYRFINKKIPKQRLSYRRITSSSHCPREAVIFKTKLDKEICADP TQKWVQDFMKHLDKKTQTPKL	人 MCP-3, CCL7, huMCP-3
8	L-蛋白质	GPASVPTTCCFNLANRKIPLQRLSYRRITSGKCPQKAVIFKTKLAKDICADPKK KWVQDSMKYLDQKSPTPKP	人嗜酸性粒细胞趋化因 子/CCL11

[0439]

9	L-蛋白质	QPDSVSIPITCCFNVINRKIPQIRLESYTRITNIQCPKEAVIFKTKRGKEVCADPK ERWVRDSMKHLDQIFQNLKP	人 MCP-2, CCL8, huMCP-2
10	L-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCGAGGGGACGGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	169-B1trc
11	L-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCGAGGGGACGGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	169-F3trc
12	L-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCGAGGGGACGGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	169-C1trc
13	L-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCGAGGGGACGGGACCGACCGCAUAUUGCGCGCU	169-A3trc
14	L-RNA	AGCGUGCCCGGAGUAGCGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	169-B2trc
15	L-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCGAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	176-B12trc
16	L-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGACAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	176-D9trc
17	L-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCGAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	176-B10trc
18	L-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCGAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	169-F2trc
19	L-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCGAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	176-B9trc
20	L-RNA	AGCAUGCCCGGUGUGGCGAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCAUGCU	176-H9trc
21	L-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCGAGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACGCU	176-E10trc
22	L-RNA	AGUGUGCCAGCGUGUGAGUGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACACACU	176-G9trc
23	L-RNA	AGUGUGCCAGCGUGUGAGUGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACACACU	176-F9trc
24	L-RNA	AGUGUGCGAGCGUGAGUGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACAUACU	176-C11trc
25	L-RNA	AGUGUGCCAGCGUGAGUGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACAUACU	176-E11trc
26	L-RNA	AGUAUGCCAGCGUGAGUGGGGGGCGGACCGACCGCAUAUUGCACAUACU	176-D10trc

[0440]

27	L-RNA	AGUGGCCAGUGUGAUGGGGGGGCGGACCCAUUUUACACACU	176-H10trc
28	L-RNA	AGCGUGCCAGUGUGAUGGGGGGGCGGACCCAUUUUACACGCU	176-C9trc
29	L-RNA	ACGCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCGU	180-B1-001
30	L-RNA	ACGCACCUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCGC	180-A4-002
31	L-RNA	ACGCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCGU	180-D1-002
32	L-RNA	GCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCGU	180-D1-011
33	L-RNA	ACGCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGC	180-D1-012
34	L-RNA	GCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGC	180-D1-018
35	L-RNA	CGCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCGU	180-D1-034
36	L-RNA	CGCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCG	180-D1-035
37	L-RNA	GCACGUCCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGGGCGCUCUGCG	180-D1-036 = NOX-E36
38	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCGAUUGCUGGCAGCAC	178-A8
39	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCUAAUGCUGGCAGCAC	178-F7
40	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCGAUUGCUGGCAGCAC	178-G7
41	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGAAAAACUACUGCCAGUGGGUCAGAGCUAGCAGCAC	178-C6
42	L-RNA	GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCAGAGCCGGCAGCAC	178-E7
43	L-RNA	GUGCUGCGGAGUUGAAAAACUCCCUAAGACAGGCCAGAGCCGGCAGCAC	178-G6
44	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCUAAUGCUGGCAGCAC	178-A7

[0441]

45	L-RNA	GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCUAGAGCCGGCAGCAC	178-C7
46	L-RNA	GUGCUGCGGCGUGAAAAACGCCCUUGCGACUGCCCUUAUGCAGGCAGCAC	178-E5
47	L-RNA	GUGCUGCGGUAGUGAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGCAC	181-F1
48	L-RNA	GUGCUGCGGUAGUGAAAGACUACCUUGUGACAGCCGAAUGCUGGCAGCAC	181-B2
49	L-RNA	GUACUGCGGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGCAC	181-C2
50	L-RNA	GUGCUGCGGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGCAC	178-A6
51	L-RNA	GUGCUGCGGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGCAC	178-D6
52	L-RNA	GUGCUGCGGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGCAC	178-D5
53	L-RNA	GUGCUGCGGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGCAC	181-A2
54	L-RNA	GGCUGCGGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGGCC	178-D5-020
55	L-RNA	GGCGCGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGGCC	178-D5-027
56	L-RNA	GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCAC	178-D5-030
57	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCAC	181-A2-002
58	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCAC	181-A2-004
59	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCAC	181-A2-005
60	L-RNA	GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGGAC	181-A2-006
61	L-RNA	UGCGCGGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGGCA	181-A2-007
62	L-RNA	GCUGCGGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCAGC	181-A2-008

[0442]

63	L-RNA	GCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGC	181-A2-011
64	L-RNA	GGUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCACC	181-A2-012
65	L-RNA	UGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGC—CA	181-A2-015
66	L-RNA	GCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGC	181-A2-016
67	L-RNA	GUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAC	181-A2-017
68	L-RNA	GG—GCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCCCC	181-A2-018
69	L-RNA	GAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCUC	181-A2-019
70	L-RNA	CGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGG	181-A2-020
71	L-RNA	CCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGG	181-A2-021
72	L-RNA	CAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCUG	181-A2-022
73	L-RNA	CUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAG	181-A2-023
74	L-RNA	AGCGUGUUAGUGAAGUGGGUGGCAGGUAAGGACACGCU	184-B8tre
75	L-RNA	AGCGUGUAGCGGUGUGGGUGGUAGGUAAAGGCCACGCU	184-C6tre
76	L-RNA	AGCGUGAUAGAAGAGCGGGUGGUAGGUAAAGGUCAGGCU	184-H5tre
77	L-RNA	AGCGUGUUAGGUAGGGUGGUAGUAAAGUAAAGGACACGCU	184-A7tre
78	L-RNA	AGCGUGUUAGGGUGGUGGUAGUAAAGUAAAGGACACGCU	187-A5tre
79	L-RNA	AGCGUGUUAGGGUGGUGGUAGUAAAGUAAAGGGCACGCU	187-H5tre
80	L-RNA	CCGCUUAGGGUGGUGGUAGUAAAGUAAAGGGGCGG	174-D4-004

[0443]

81	L-RNA	GGCGGAGCAGGUGGGUGGUAAGUAAGACUCGGGUC	166-A4-002
82	L-RNA	CGUGUAGGUGGGUGGUAAGUAAGAAAGGACACG	187-A5trc-001
83	L-RNA	GUGUAGGUGGGUGGUAAGUAAGAAAGGACAC	187-A5trc-002
84	L-RNA	CGUGUAGGUGGGUGGUAAGUAAGAAAGGGCAGG	187-H5trc-002
85	L-RNA	GUGUAGGUGGGUGGUAAGUAAGAAAGGGCAC	187-H5trc-003
86	L-RNA	UGUUAGGUGGGUGGUAAGUAAGAAAGGGCA	187-H5trc-004
87	L-RNA	GGACGAGAGUGACAAAUAGUAUAUAAACCUCUGACUAACGCCUGCGGGCGGACA GG	177-B3
88	L-RNA	GGACCUAUCGCCUAAAGACAAACGCCGAGUCUACGGGACAUUCUCCGGCGGACA GG	177-C1
89	L-RNA	GGACAAUUGUUACCCCCGAGAGAGACAAAUAGAGACAACCCUCCUGAAGACA GG	177-C2
90	L-RNA	GGACGAAAGUGAGAAAUGAUACAACCCUCCUGUGCGGAAUCCCGGACAG G	177-E3
91	L-RNA	GGACGUAAAAGACCGCUACCCCGAAAGAAUGUCAGGAGGGUAGACCCGACAGG	177-D1
92	L-RNA	GGACUAGAAACUACAUAUAGCGGGCCAGUUGCACCGCGUUAUCAACGACACAGG	177-E1
93	L-RNA	GGACUAGUCAGCCAGUGUGUAUAUCGGACCGGGGUUAUUUACUGACACAGG	177-A1
94	L-RNA	GGACUGUCCGGAGUGAGAAACUCCCCGAGACCCGCCAGAGCGGGGACAGG	177-G3
95	L-RNA	GGACUUCUAUCCAGGUGGGUGGUAAGUAAGAAAGAGAUAGAAGUGACAGG	177-C3

[0444]

96	L-RNA	GGACGAGAGCGAACAAUGAUUAACCUCCUGACGCGAAAGAGAUCCGACAGG	177-A2
97	L-RNA	CCUGUGCUACACGCAGUAAAGAGUGAACGUUCAGUAUGUGUGCACAGG	170-E4tre
98	L-RNA	CGUGAGCCAGGCACCGAGGGCGUUAACUGGCUGAUUGGACACGACACG	166-D2tre
99	L-RNA	CGUGAACAUUGCAAGCUAAGCGGGCGUGUUGGUUGCUUGGCCCGCCACG	174-A2tre
100	L-RNA	CGUGCAGAGAGAGACCAACCCAGUAAAUAACCCUAAUGGGCCCGCACG	174-E2tre
101	L-RNA	CGUGCAGAGAGAGACCAACCCAGUAAAUAACCCUAAUGGGCCCGCACG	183-G3tre
102	L-RNA	CGUGAACAUUCAAGCUAAGCGGGCGUGUUGGUUGCUUGGCCCGCCACG	183-B2tre
103	L-RNA	CGUGCCGAGGGCGGACCCAGCGUUAACUUAAGAGAGGCUUUGGCACCCACG	166-B2tre
104	L-RNA	CGUGAUAAACAGCCGUGCGUCAAAGAAACAAAGUUCGGGGCGGCACG	166-G3tre
105	L-RNA	CGUGGGUGGGCGACCCGAGGGCGAAAGCCACCAGUAAAGAUAGACCG	166-D1tre
106	L-RNA	CGUGUGAUCUCCUUUGGGGUGAUUAGCUUAGAGACUUCUCCACACG	183-H2tre
107	L-RNA	GCACCUUCGCCUAUAACACGUGCCGGCUAGCUAAUACUCGUCCCGC	167-A7tre
108	L-RNA	GCACGACUUGGGCGACCCAGUGAUACUUAAGAGAGCAAGUCGUGCGC	167-C7tre
109	L-RNA	GCGCGGCUCAGUAAAGAAUUGAAAGUUCAGAAUGUCGUGCGGC	167-B5tre
110	L-RNA	AGUGUGGCCAGGCCUAAAGGAGAUUUCGAGACCCACGCU	184-D7tre
111	L-RNA	AGUGUGGCCAGACUAUGGAUAGACUCCGAGACCCACGCU	184-D6tre
112	L-RNA	AGCGUGAGGCGACCCAGCGGAUUAUUAAGAGAGUCACGCU	184-E5tre
113	L-RNA	AGCGUGAAGGGGACCCAGCGUUAUUAACAGAGUUCACGCU	184-G6tre

[0445]

114	L-RNA	AGCGUGUAUGUAGCACCGUAUCAGAGGACACGCU	184-B7trc
115	L-RNA	AGCGUGAGGCGACCCGUGUUUCGUAGAGACGACGCU	184-B6trc
116	L-RNA	5' PEG-GCACGUCUCCUACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUCUGCG	NOX-E36-5' PEG
117	L-RNA	GCACGUCCUACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUCUGCG-3' PEG	NOX-E36-3' PEG
118	L-RNA	GAGAUAGCGGACAUUGGUUGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGC GCCCAUUC	188-A3-001
119	L-RNA	GAUGGCGACAUUGGUUGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGCGG CCAUUC	188-A3-004
120	L-RNA	GGCGACAUUGGUUGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGCGGCCA UUC	188-A3-005
121	L-RNA	GGCGACAUUGGUUGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGCGGCCA UU	188-A3-006
122	L-RNA	GGCGACAUUGGUUGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGCGGCCA	188-A3-007 mNOX-E36
123	L-RNA	GCUGGUUACCGAGGGGCGGCGUUGGAGUUUGGUUGGUUACACGAGC	189-G7-001
124	L-RNA	CUGGUUACCGAGGGGCGGCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC	189-G7-002
125	L-RNA	UGGUUACCGAGGGGCGGCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACCA	189-G7-003
126	L-RNA	GCCGGUACCGAGGGGCGGCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGCGC	189-G7-007
127	L-RNA	GCCGGCUACCGAGGGGCGGCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACGCGCGC	189-G7-008

[0446]

128	L-RNA	GCGCGUACCGAGGGGCGUGGAGUUUGGUUGGUUUGCCGCGC	189-G7-010
129	L-RNA	GGCCUACCGAGGGGCGUGGAGUUUGGUUGGUUGCCGCGC	189-G7-012
130	D-蛋白质	生物素- QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKEAVIFKTIVAKEICADPK QKWVQDSMDHLDKQTQTPKT	生物素化的人 D-MCP-1
131	D-蛋白质	生物素- QPD AVNAPLTCCYSFTSKMIPMSRLESYKRITSSRCPK EAVVFVTKLKREVCAD PKKEWVQTYIKNLDNRNQMRS EP-生物素	生物素化的小鼠 D-MCP-1
132	D-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGACGCCACCGCAAUAAUGCACGCU	169-B1tre
133	D-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGACGCCACCGCAAUAAUGCACGCU	169-F3tre
134	D-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGACGCCACCGCAAUAAUGCACGCU	169-C1tre
135	D-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGACGCCACCGCAAUAAUGCCGCGCU	169-A3tre
136	D-RNA	AGCGUGCCCGGAGUAGCAGGGGGGCGCGACCGCAAUAAUGCACGCU	169-B2tre
137	D-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGUAAGGGGGGCGCGAUCUACAAUUGCACGCU	176-B12tre
138	D-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGACAGGGGGGCGCGACCGCAUUUUGCACGCU	176-D9tre
139	D-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCGUAUUUUGCACGCU	176-B10tre
140	D-RNA	AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGGCGCGACCGCAAUAAUGCACGCU	169-F2tre
141	D-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCGCAAUUGCACGCU	176-B9tre
142	D-RNA	AGCAUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCGCAUUUUGCAUGCU	176-H9tre

[0447]

143	D-RNA	AGCGUGCCCGGUGUGUAGGGGGGCGGACCUACAUUUGCACGCU	176-E10tre
144	D-RNA	AGUGUGCCAGCUGUGAUGGGGGGCGCGACCCAUUUUACACACU	176-G9tre
145	D-RNA	AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGCGGACCCAUUUUACACACU	176-F9tre
146	D-RNA	AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGCGGACCCAUUUUACAUACU	176-C11tre
147	D-RNA	AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGCGGACCCAUUUUACAUACU	176-E11tre
148	D-RNA	AGUAUGCCAGCGUGAUGGGGGGCGGACCCAUUUUACAUACU	176-D10tre
149	D-RNA	AGUGUGCCAGUGUGAUGGGGGGCGGACCCAUUUUACACACU	176-H10tre
150	D-RNA	AGCGUGCCAGUGUGAUGGGGGGCGGACCCAUUUUACACGCU	176-C9tre
151	D-RNA	ACGCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCGU	180-B1-001
152	D-RNA	ACGCACCUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCGC	180-A4-002
153	D-RNA	ACGCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCGU	180-D1-002
154	D-RNA	GCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCGU	180-D1-011
155	D-RNA	ACGCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGC	180-D1-012
156	D-RNA	GCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGC	180-D1-018
157	D-RNA	CGCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCGU	180-D1-034
158	D-RNA	CGCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCG	180-D1-035
159	D-RNA	GCACGUCCCUACCCGGUGCAAGUGAAGCCCGGCGCUCUGCG	(D-) 180-D1-036, (D-) NOX-E36
160	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCGA AUGCUGGCAGCAC	178-A8

[0448]

161	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAAGACUACCUAAUGACAGCCUAAUGCUGGCAGCAC	178-F7
162	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAAGACUACCUAAUGACAGCCGAAUGCUGGCAGCAC	178-G7
163	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGAAACUACUGCCAGUGGGUCAGAGCUAGCAGCAC	178-C6
164	D-RNA	GUGCUGCGGAGUUAACUCCCUAAGACAGGCCAGAGCCGGCAGCAC	178-E7
165	D-RNA	GUGCUGCGGAGUUAACUCCCUAAGACAGGCCAGAGCCGGCAGCAC	178-G6
166	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGGAAAGACUACCUAUGACAGCCUAAUGCUGGCAGCAC	178-A7
167	D-RNA	GUGCUGCGGAGUUAACUCCCUAAGACAGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	178-C7
168	D-RNA	GUGCUGCGCGUGAAAAACGCCUCUGCGACUGCCCUUAUGCAGGCAGCAC	178-E5
169	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGAAAAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	181-F1
170	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGAAAGACUACCUUGUGACAGCCGAAUGCUGGCAGCAC	181-B2
171	D-RNA	GUACUGCGUAGUUAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	181-C2
172	D-RNA	GUGCUGCGUAGUUAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	178-A6
173	D-RNA	GUGCUGCGUAGUUAACUACCAACGACAGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	178-D6
174	D-RNA	GUGCUGCGUAGUUAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	178-D5
175	D-RNA	GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCAGCAC	181-A2
176	D-RNA	GGCUGCGUAGUUAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCAGCC	178-D5-020
177	D-RNA	GGCGCGUAGUUAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCGCC	178-D5-027
178	D-RNA	GUGCUGCGUAGUUAACUACCAACGACUGGCCUAGAGCCGGCGCC	178-D5-030

[0449]

179	D-RNA	GUGCGGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCAC	181-A2-002
180	D-RNA	GUGCCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGGCAC	181-A2-004
181	D-RNA	GUGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCCAC	181-A2-005
182	D-RNA	GUGCGGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGAC	181-A2-006
183	D-RNA	UGCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGCA	181-A2-007
184	D-RNA	GCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGC	181-A2-008
185	D-RNA	GCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAGC	181-A2-011
186	D-RNA	GGUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCACC	181-A2-012
187	D-RNA	UGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGC—CA	181-A2-015
188	D-RNA	GCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGC	181-A2-016
189	D-RNA	GUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGGCAC	181-A2-017
190	D-RNA	GG—GCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCCC	181-A2-018
191	D-RNA	GAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCUC	181-A2-019
192	D-RNA	CGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCCG	181-A2-020
193	D-RNA	CCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCGG	181-A2-021
194	D-RNA	CAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCUG	181-A2-022
195	D-RNA	CUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAGCCGGCAG	181-A2-023
196	D-RNA	AGCGUGUAGUGAAGUGGGGUGGCAGGUAAAGGACACGCU	184-B8tre

[0450]

197	D-RNA	AGCGUGGUAGCGGUGUGGGUGGUAGGUAAAGGCCACGCU	184-C6trc
198	D-RNA	AGCGUGAUAGAAGAGCGGGUGGUAGGUAAAAGGUCAGGCU	184-H5trc
199	D-RNA	AGCGUGUUAAGGUAGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGACACGCU	184-A7trc
200	D-RNA	AGCGUGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAGGACACGCU	187-A5trc
201	D-RNA	AGCGUGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAGGCGACGCU	187-H5trc
202	D-RNA	CCGCUUAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGGCGG	174-D4-004
203	D-RNA	GCGCGAGCAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAAGACUCGCGUC	166-A4-002
204	D-RNA	CGUGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGACACG	187-A5trc-001
205	D-RNA	GUGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGACAC	187-A5trc-002
206	D-RNA	CGUGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGCGACG	187-H5trc-002
207	D-RNA	GUGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGCGAC	187-H5trc-003
208	D-RNA	UGUUAAGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAGGGCA	187-H5trc-004
209	D-RNA	GGACGAGAGUGACAAAUGAUUAACCUCUGACUAAACGCGGCGGACA GG	177-B3
210	D-RNA	GGACCUAUCGCUAAGACAAACGGCGAGUCUACGGGACAUUCUCCGCGGACA GG	177-C1
211	D-RNA	GGACAAUUGUUAACCCCCGAGAGAGACAAAUAGAGACAACCUCCUGAAGACA GG	177-C2

[0451]

212	D-RNA	GGACGAAAGUGAGAAAUGAUACAACCUCCUGUUGCUGCGAAUCCGGACAG G	177-E3
213	D-RNA	GGACGUAAAAGACGCUACCCGAAAGAAUGUCAGGAGGGUAGACCGACAGG	177-D1
214	D-RNA	GGACUAGAAACUACAAUAGCGGCCAGUUGCACCCGCGUUUAUCAACGACAGG	177-E1
215	D-RNA	GGACUAGUCAGCCAGUGUGUAUAUCGGACGCGGGUUUAUUUACUGACAGG	177-A1
216	D-RNA	GGACUGUCCGGAGUGUAAAUCUCCCGAGACCGCCAGAAAGCGGGGACAGG	177-G3
217	D-RNA	GGACUUCUAUCCAGGUGGGUGUAGUAUGUAAAAGAGAUAGAAUGUGACAGG	177-C3
218	D-RNA	GGACGAGAGCGAACAUAUGAUUAUAAACCUCCUGACGGAAAGAGAUCCGACAGG	177-A2
219	D-RNA	CCUGUGCUACACGCAGUAAGAAGUGAACGUUCAGUAUGUGUGCACAGG	170-E4trc
220	D-RNA	CGUGAGCCAGGCCACCGAGGGCGUUAACUGGCUGAUUGGACACGACACG	166-D2trc
221	D-RNA	CGUGAACAUUGCAAGCUAAGCGGGGCGUGUUGGUUGCUUGGCCCGCCACG	174-A2trc
222	D-RNA	CGUGCAGAGAGAGACCAACCAACGUAAAAUACAACCUAAUGGGCCGCCACG	174-E2trc
223	D-RNA	CGUGCAGAGAGAGACCAACCAACGUAAAAUACAACCUAAUGGGCCGCCACG	183-G3trc
224	D-RNA	CGUGAACAUUCAAGCUAAGCGGGGCGUGUUGGUUGCUUGGCCCGCCACG	183-B2trc
225	D-RNA	CGUGCCGAGGGCGGACCAAGCGUUAUCUUAAGAGAGGCUUUGGCACCCACG	166-B2trc
226	D-RNA	CGUGAUAAACAGCCGUCGUGCAAGAAAAACAAGUUCGGGGCGGCCACG	166-G3trc
227	D-RNA	CGUGGGGCGCACCGAGGGCGAAAAAGCCACCAGUAAAAGAUAGACCG	166-D1trc
228	D-RNA	CGUGUGAUCUCCUUUGGGGUGAUUAGCUUAGAGACUUCGCCACACG	183-H2trc
229	D-RNA	GCACCUUCGCCUAAUACACGUGCGCGGUAGCUAAUACUUGUCCGC	167-A7trc

[0452]

230	D-RNA	GCACGACUUGGGCGACCAAGUAGUAUAGAGAGCAAGUCGUCGGC	167-C7tre
231	D-RNA	GCGCGCCUCAGUAAAGAAUUGAAAGUUCAGAAUGUCGUCGGCGC	167-B5tre
232	D-RNA	AGUGUGUGGCAGGCCUAAGGAGAUUCCGAGACCACGCU	184-D7tre
233	D-RNA	AGUGUGUGGCAGACUAUGGAUAGACUCCGAGACCACGCU	184-D6tre
234	D-RNA	AGCGUGAGGCGACCAAGCGGAUACUUAAGAGAGUCACGCU	184-E5tre
235	D-RNA	AGCGUGAAGGGGACCAAGCGUUAUUACAGAGUUCACGCU	184-G6tre
236	D-RNA	AGCGUGUGAUGUAUGUAGCACCGUAUCAGAGGACACGCU	184-B7tre
237	D-RNA	AGCGUGAGGCGACCCGUGUUCGUAGAGAGUCACGCU	184-B6tre
238	D-RNA	5' PEG-GCACGUCUCCUACCCGGUGCAAGUGAACCCGUGGCUCUGCG	NOX-E36-5' PEG
239	D-RNA	GCACGUCUCCUACCCGGUGCAAGUGAACCCGUGGCUCUGCG-3' PEG	NOX-E36-3' PEG
240	D-RNA	GAGUUGGCGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCUUGAUGAAUCCGC GGCCAUC	188-A3-001
241	D-RNA	GAUGGCGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCUUGAUGAAUCCGCGG CCAUC	188-A3-004
242	D-RNA	GGCGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCUUGAUGAAUCCGCGGCCA UUC	188-A3-005
243	D-RNA	GGCGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCUUGAUGAAUCCGCGGCCA UU	188-A3-006

[0453]

244	D-RNA	GGCGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGGGGCCA	(D-)188-A3-007=(D-) mNOX-E36
245	D-RNA	GCUGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACCAGC	189-G7-001
246	D-RNA	CUGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACCAG	189-G7-002
247	D-RNA	UGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACCA	189-G7-003
248	D-RNA	GCCGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACCGGC	189-G7-007
249	D-RNA	GCCGGCUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACCGCGC	189-G7-008
250	D-RNA	GCGCGUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACCGCGC	189-G7-010
251	D-RNA	GGCCCUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACCGCGC	189-G7-012
252	L-蛋白质	QPDVNAPLTCCYSFTGKMIPMSRLENYKRTSSRCPKAEVVFVTKLKREICAD PNKEWVQKYIRKLDQNVRSSET	大鼠 MCP-1
253	L-RNA	5'PEG-G GGGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGGGGCCA	mNOX-E36-5' PEG
254	L-RNA	GGGACAUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUUGAUGAAUCCGGGGCCA -3' PEG	mNOX-E36-3' PEG
255	L-DNA	5'-GAGGGACGTGC- (间隔物 18) ₂ -NH ₄ ⁺ -3'	NOX-E36 捕获探针
256	L-DNA	5'-生物素- (间隔物 18) ₂ -CGCAGAGCC	NOX-E36 检测探针
257	L-蛋白质	KSMQVFFSRCCFSFAEQEIPRAILCYRNTSSICSNEGLIFKLKRGKEACALDTV GWVQRHRKMLRHCPSKRK	CCL1/I-309

[0454]

258	L-蛋白质	SLAADTPTACCFSTYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPGVIFLTRSRQVCADPSEE WVQYVSDLELSA	CCL3/MIP-1 α
259	L-蛋白质	APMGSDPPTACCFSTYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPGVIFLTRSRQVCADP SESWVQEYVYDLELN	CCL4/MIP-1 β
260	L-蛋白质	SPYSSDTTPCCFAVIARPLPRAHIKEYFYTSKGKCSNPVVFVTRKNRQVCANPEK KWVREYINSLEMS	CCL5/RANTES
261	L-蛋白质	FNPGGLAQPDALNVPSTCCFTFSKKISLQRLKSYVITTSRCPQKAVIFRTKLK EICADPKEKWWQNYMKHLGRKAHTLKT	CCL13/MCP-4
262	L-蛋白质	TKTESSSRGPYHPSECCFTYTYTKIPRQIMDYETNSQCSKPGVIFITKRGHVS CTNPSDKWVQDYIKDMKEN	CCL14/HCC-1
263	L-蛋白质	ASVATELRCQCLQTLQGIHPKNIQSVNVKSPGPHCAQTEVIATLKNRKAACLN ASPIVKKIIEKMLNSDKSN	CXCL1/GRO α
264	L-蛋白质	APLATELRCQCLQTLQGIHLKNIQSVNVKSPGPHCAQTEVIATLKNRKAACLN PASPMVKKIIEKMLKNGKSN	CXCL2/GRO β
265	L-蛋白质	ASVVVTELRCCQCLQTLQGIHLKNIQSVNVKSPGPHCAQTEVIATLKNRKAACLN ASPMVQKIIIEKILNKGSTN	CXCL3/GRO γ
266	L-蛋白质	EAEEDGDLQCLCVKTTTSQVRPRHITSLEVIKAGPHCPTAQLIATLKNRKAACLN LQAPLYKKIIEKILLES	CXCL4/PF4

[0455]

267	L-蛋白质	GPAAAVLRELRCVCLQTQTQGVHPKMISNLQVFAIGPQCCKVEVVASLKNKGEI CLDPEAPFLKKVIQKILDGNGKEN	CXCL5/ENA-78
268	L-蛋白质	GPVSAVLTCLRCTCLRVTLRVNPKTIGKLQVFPAGPQCCKVEVVASLKNKGKQV CLDPEAPFLKKVIQKILDGNGKEN	CXCL6/GCP-2
269	L-蛋白质	SSTKGQTKRNLAKGKEESLSDLYAELRCMCIKTTSGIHPKNIQSLEVIGKGTGTH CNQVEVIATLKDGRKICLDPDAPRIKKIVQKKLAGDESAD	CXCL7/NAP-2
270	L-蛋白质	EGAVLPRSAKELRCQCCHIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEHIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENS	CXCL8/IL-8
271	L-蛋白质	TPVVRKGRCSISTNQGTIHLQSLDKLQFAPSPCEKIEIATLKNQVQTCCLNP DSADVKELIKKEQVVSQKKKQKNGKKKHQKKVVKVRSQRSRQKKTT	CXCL9/MIG
272	L-蛋白质	VPLSRTVRCCTCISISNPVNPRSLEKLEIHPASQFCPRVEIATMKKKGEKRCCLNP ESKAIKNLLKAVSKERSKRSP	CXCL10/IP-10
273	L-蛋白质	FPMFKRGRCLCIGPGVKAVKVADIEKASIMYPSNNDKIEVITLKENKGGQRCL NPKSKQARLIKKVERKNF	CXCL11/I-TAC
274	L-蛋白质	KPVSLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKNNNRQVCIDPK LKWIQEYLEKALNKRFBM	CXCL12 α /SDF-1 α
275	L-蛋白质	KPVSLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKNNNRQVCIDPK LKWIQEYLEKALNKRFBM	CXCL12 β /SDF-1 β

[0456]

276	L-蛋白质	QHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGRKRAHILETRQHRLFCADPK EQWVKDAMQHLDRAAALTRNG	CX ₃ CL1/Fractalkine
277	L-蛋白质	VGSEVSDKRTCVSLLTTRQLPVSRIKTYTITEGSLRAVIFITKRGGLKVCADPPQATW VRDVRSMDRKSNTNRNMIQTKPTGTQQSTNTAVTLTG	XCL1/淋巴细胞趋化因子
278	L-RNA	5' -生物素-GCACGUCUCCUACCCGGUGGAGGAGGCGGUGGCGGUGGCGG	生物素化的 NOX-E36
279	L-RNA	5' -UAAGGAAACUCGGUCUGAUGCGGU AGCGCUGUGCAGAGCU	POC
280	L-RNA	5' -PEG-UAAGGAAACUCGGUCUGAUGCGGU AGCGCUGUGCAGAGCU-3'	POC-PEG
281	L-DNA	5'-CCAATGTCGCC- (间隔物 18) ₂ -NH ₄ ⁺ -3'	mNOX-E36 捕获探针
282	L-DNA	5'-生物素- (间隔物 18) ₂ -CGCAGAGCC	mNOX-E36 检测探针
283	L-蛋白质	QPDAINSPVTCCYTFTTGKKISSQRLGSYKRVTSKCPKEAVIFKTLAKEICADPE QKWVQDAVKQLDKKAQTPKP	马 MCP-1 (家马)
284	L-蛋白质	QPDAINSQVACCYTFNSKKISMQRMLMNYRRVTSSKCPKEAVIFKTLGKELCAD PKQKWVQDSINYLNKKNQTPKP	牛 MCP-1 (家牛)
285	L-蛋白质	QPDAVNAPLTCCYSFTGKMIPMSRLENYKRITSSRCPKEAVVFTVKLKREICAD PNKEWVQKVIRKLDQNVQRSETTVFYKIASTLRTSAPLNVNLTHKSEANASTLF STTSSTSVETSMTEN	大鼠 MCP-1 (褐家鼠)

[0457] 本发明通过附图、实施例和序列表来进一步举例说明,从这些附图、实施例和序列表中可获得另外的特征、实施方案和优点,其中

[0458] 图 1 显示了结合人 MCP-1 的相关 RNA 配体的序列比对,其中指明了在一个优选的实施方案中以其整体对于结合人 MCP-1 来说不可缺少的序列基序(“1A 型”);

[0459] 图 2 显示了结合人 MCP-1 的相关 RNA 配体以及 RNA 配体 180-D1-002 的衍生物的序列比对,其中指明了在一个优选的实施方案中以其整体对于结合人 MCP-1 来说不可缺少的序列基序(“1B 型”);

[0460] 图 3 显示了结合人 MCP-1 的相关 RNA 配体的序列比对,其中指明了在一个优选的实施方案中以其整体对于结合人 MCP-1 来说不可缺少的序列基序(“2 型”);

[0461] 图 4 显示了结合人 MCP-1 的相关 RNA 配体的序列比对,其中指明了在一个优选的实施方案中以其整体对于结合人 MCP-1 来说不可缺少的序列基序(“3 型”);

[0462] 图 5 显示了 RNA 配体 178-D5 和 181-A2(序列基序“3 型”的人 MCP-1 RNA 配体)的衍生物;

[0463] 图 6 显示了结合人 MCP-1 的相关 RNA 配体的序列比对,其中指明了在一个优选的实施方案中以其整体对于结合人 MCP-1 来说不可缺少的序列基序(“4 型”)(其他序列);

[0464] 图 7 显示了几种不同的结合人 MCP-1 的 RNA 配体的序列的表格,其不能与 MCP-1 结合性序列基序“1A 型”、“1B 型”、“2 型”、“3 型”或“4 型”相关;

[0465] 图 8 显示了结合至鼠 MCP-1 的 RNA 配体 188-A3-001 和 189-G7-001 的衍生物的对;

[0466] 图 9 显示了适体 D-NOX-E36 与生物素化的人 D-MCP-1 在室温和 37°C 下的结合分析的结果,表示为随生物素化的人 D-MCP-1 浓度而变化的适体结合;

[0467] 图 10 显示了适体 D-mNOX-E36 与生物素化的鼠 D-MCP-1 在 37°C 下的结合分析的结果,表示为随生物素化的鼠 D-MCP-1 浓度而变化的适体结合;

[0468] 图 11 显示了在 THP-1 细胞中 MCP-1 诱导的 Ca^{++} -释放,其中获得了关于人 MCP-1 的剂量-反应曲线,其中表明半数有效浓度(halfeffective concentration, EC50)为大约 3nM,表示为随人 MCP-1 浓度而变化的相对于空白的荧光差异;

[0469] 图 12 显示了镜像异构体 NOX-E36 在钙释放测定法中的效力;细胞用与各种量的镜像异构体 NOX-E36 在 37°C 下预孵育的 3nM 人 MCP-1 进行刺激,表示为随 NOX-E36 浓度而变化的对照的百分比;

[0470] 图 13 显示了镜像异构体 mNOX-E36 在钙释放测定法中的效力;细胞用与各种量的镜像异构体 mNOX-E36 在 37°C 下预孵育的 5nM 鼠 MCP-1 进行刺激,表示为随 mNOX-E36 浓度而变化的对照的百分比;

[0471] 图 14 显示了人 MCP-1 诱导的 THP-1 细胞的趋化性,其中在 THP-1 细胞朝向各种 MCP-1 浓度迁移 3 小时后,获得了关于 MCP-1 的剂量-反应曲线,表示为随人 MCP-1 浓度而变化的相比于对照而言的 X 倍增加;

[0472] 图 15 显示了镜像异构体 NOX-E36 在趋化性测定法中的效力;让细胞朝向与各种量的镜像异构体 NOX-E36 在 37°C 下预孵育的 0.5nM 人 MCP-1 迁移,表示为随镜像异构体 NOX-E36 浓度而变化的对照的百分比;

[0473] 图 16 显示了镜像异构体 mNOX-E36 在趋化性测定法中的效力;让细胞朝向与各种量的镜像异构体 NOX-E36 在 37°C 下预孵育的 0.5nM 鼠 MCP-1 迁移,表示为随镜像异构体 mNOX-E36 浓度而变化的对照的百分比;

[0474] 图 17 显示了 Biacore 2000 传感图 (sensorgram), 其指明了镜像异构体 NOX-E-36 与人 MCP-1 (其通过胺偶联过程固定在 PioneerF1 传感器芯片上) 结合的 KD 值, 表示为随时间而变化的响应 (RU);

[0475] 图 18 显示了 Biacore 2000 传感图, 其指明了镜像异构体 NOX-E36 与人 MCP- 家族蛋白质 (huMCP-1、huMCP-2、huMCP-3) 和人嗜酸性粒细胞趋化因子 (其通过胺偶联过程分别固定在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上) 的结合, 表示为随时间而变化的响应 (RU);

[0476] 图 19 显示了 Biacore 2000 传感图, 其指明了镜像异构体 NOX-E36 与来自不同物种的 MCP-1 (犬 MCP-1、猴 MCP-1、人 MCP-1、猪 MCP-1、兔 MCP-1、小鼠 MCP-1、大鼠 MCP-1) (其中不同形式的 MCP-1 通过胺偶联过程分别固定在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上) 的结合, 表示为随时间而变化的响应 (RU);

[0477] 图 20 显示了 Biacore 2000 传感图, 其指明了镜像异构体 181-A2-018 与人 MCP-1 (其通过胺偶联过程固定在 CM4 传感器芯片上) 结合的 KD 值, 表示为随时间而变化的响应 (RU);

[0478] 图 21 显示了 Biacore 2000 传感图, 其指明了镜像异构体 181-A2-018 与人 MCP- 家族蛋白质 (huMCP-1、huMCP-2、huMCP-3) 和人嗜酸性粒细胞趋化因子 (其通过胺偶联过程分别固定在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上) 的结合, 表示为随时间而变化的响应 (RU);

[0479] 图 22 显示了 Biacore 2000 传感图, 其指明了镜像异构体 181-A2-018 与来自不同物种的 MCP-1 (犬 MCP-1、猴 MCP-1、人 MCP-1、猪 MCP-1、兔 MCP-1、小鼠 MCP-1、大鼠 MCP-1) (其中不同形式的 MCP-1 通过胺偶联过程分别固定在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上) 的结合, 表示为随时间而变化的响应 (RU);

[0480] 图 23 显示了来自不同哺乳动物物种的 MCP-1 以及人 MCP-2、MCP-3 和嗜酸性粒细胞趋化因子 (仅位置 1-76) 的 Clustal W 比对;

[0481] 图 24A 显示了概括了 NOX-E36 和 181-A2-018 对于来自不同哺乳动物物种的 MCP-1 以及人 MCP-2、MCP-3 和嗜酸性粒细胞趋化因子的结合特异性的表格;

[0482] 图 24B 显示了概括了通过 Biacore 分析测定的 NOX-E36 的选择性的表格, 其中生物素化的 NOX-E36 固定在传感器芯片表面上, 并且分析了一组各种 CC 和 CXC 趋化因子与 NOX-E36 的结合;

[0483] 图 24C 显示了通过 Biacore 分析测定的 NOX-E36 与趋化因子相互作用的动力学分析, 其中所述趋化因子共价固定在 CM5 传感器芯片表面上并注射入各种浓度的 NOX-E36, 并且用 BiaEvaluation 软件来分析 NOX-E36 的结合行为;

[0484] 图 24D 显示了用 MIP-1 α 刺激的 THP-1 细胞的趋化性剂量 - 反应曲线, 半数有效浓度为约 0.2nM;

[0485] 图 24E 显示了 NOX-E36 对于由 MIP-1 α 诱导的趋化性的抑制。NOX-E36 对于由 MIP-1 α 诱导的 THP-1 细胞的趋化性没有影响;

[0486] 图 25 显示了镜像异构体 NOX-E36-3'-PEG 在钙释放测定法中的效力; 将细胞用与各种量的镜像异构体 NOX-E36-3'-PEG 在 37℃ 下预孵育的 3nM 人 MCP-1 进行刺激, 表示为随镜像异构体 NOX-E36-3'-PEG 浓度而变化的对照的百分比;

[0487] 图 26 显示了镜像异构体 NOX-E36-3'-PEG 在趋化性测定法中的效力; 让细胞朝向与各种量的镜像异构体 NOX-E36-3'-PEG 在 37℃ 下预孵育的 0.5nM 人 MCP-1 迁移, 表示为

随 NOX-E36-3'-PEG 浓度而变化的对照的百分比；

[0488] 图 27A 显示了镜像异构体 NOX-E36-5'-PEG 在钙释放测定法中的效力；将细胞用与各种量的镜像异构体 NOX-E36-5'-PEG 在 37℃ 下预孵育的 3nM 人 MCP-1 进行刺激，表示为随镜像异构体 NOX-E36-5'-PEG 浓度而变化的对照的百分比；

[0489] 图 27B 显示了镜像异构体 NOX-E36-5'-PEG 在趋化性测定法中的效力；让细胞朝向与各种量的镜像异构体 NOX-E36-5'-PEG 在 37℃ 下预孵育的 0.5nM 人 MCP-1 迁移，表示为随镜像异构体 NOX-E36-5'-PEG 浓度而变化的对照的百分比；

[0490] 图 28 显示了在 THP-1 细胞中由鼠 MCP-1 诱导的 Ca^{++} - 释放，其中获得了关于鼠 MCP-1 的剂量 - 反应曲线，其中表明半数有效浓度 (EC50) 为大约 5nM，表示为随鼠 MCP-1 浓度而变化的相对于空白的荧光差异；

[0491] 图 29 显示了抗 - 鼠 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 在钙释放测定法中的效力；细胞用与各种量的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 在 37℃ 下预孵育的 3nM 鼠 MCP-1 进行刺激，表示为随镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 浓度而变化的对照的百分比；

[0492] 图 30 显示了鼠 MCP-1 诱导的 THP-1 细胞的趋化性，其中在 THP-1 细胞朝向各种 mMCP-1 浓度迁移 3 小时后，获得了关于 mMCP-1 的剂量 - 反应曲线，表示为随鼠 MCP-1 浓度而变化的相比于对照而言的 X 倍增加；

[0493] 图 31 显示了抗 - 鼠 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 在趋化性测定法中的效力；让细胞朝向与各种量的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 在 37℃ 下预孵育的 0.5nM 鼠 MCP-1 迁移，表示为随抗 - 鼠的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 浓度而变化的对照的百分比；

[0494] 图 32 显示了 Biacore 2000 传感图 (sensorgram)，其指明了适体 D-mNOX-E36 与鼠 D-MCP-1 (其通过胺偶联过程固定在 PioneerF1 传感器芯片上) 结合的 KD 值，表示为随时间而变化的响应 (RU)；

[0495] 图 33 显示了 Biacore 2000 传感图，其指明了适体 D-mNOX-E36 与人 D-MCP-1 和鼠 D-MCP-1 (其中所述两种不同形式的 D-MCP-1 通过胺偶联过程分别固定在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上) 的结合，表示为随时间而变化的响应 (RU)；

[0496] 图 34 显示了 24 周龄的 MRLlpr/lpr 小鼠的肾脏切片，其如所示的用过碘酸 - 希夫 (PAS)、Mac-2 (巨噬细胞) 的抗体和 CD3 (T 细胞) 的抗体进行染色；所述图像是每个组中 7-12 只小鼠的代表 (原始放大倍数 PAS : $\times 100$, PAS 插图 : $\times 400$, Mac2 : $\times 400$, CD3 : $\times 100$)；

[0497] 图 35 显示了表格，其图解说明了在不同组的 24 周龄的 MRLlpr/lpr 小鼠中肾功能参数和组织学检查结果；

[0498] 图 36 显示了组织学变化的定量，其通过在来自所有组的小鼠的银染色切片上实施的形态计量法来进行；A, 间隙体积指数 (interstitial volume index)；B, 肾小管扩张指数 (tubular dilation index)；和 C, 肾小管细胞损伤指数 (tubular cell damage index)，被计算为高倍视野的百分比并表示成平均值 $\pm$ SEM；

[0499] 图 37 显示了通过 Kaplan-Meier 分析计算出的各个治疗组的 MRL^{lpr/lpr} 小鼠的存活；

[0500] 图 38 显示了 CC- 趋化因子 CCL2 和 CCL5 的肾 mRNA 表达，其通过使用从每个组的 5 只小鼠中汇集的总肾 RNA 经实时 RT-PCR 来测定，其中每组小鼠的 RNA 水平按照各自的 18S

rRNA 表达来表示；

[0501] 图 39 显示了通过用 mNOX-E36-3' PEG 进行治疗引起肺病理学减少；从 24 周龄的所有组中制备肺组织，并半定量地进行评分；用 mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 进行治疗减少了 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的细支气管周炎症；所述图像是每个组中 7-11 只小鼠的代表；原始放大倍数 $\times 100$ ；

[0502] 图 40 显示了 24 周龄的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的皮肤狼疮表现，其通常出现在面部或颈部区域（左边的小鼠），其在用抗-mCCL2 镜像异构体治疗的小鼠（右边的小鼠）中较少发生；

[0503] 图 41 显示了在 24 周龄的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中血清和组织学检查结果；

[0504] 图 42 显示了在该研究过程中在血浆中 PEG 化的和未 PEG 化的抗-mCCL2 镜像异构体的药物动力学，表示为作为时间的函数的镜像异构体 mNOX-E36 的血浆浓度；

[0505] 图 43 显示了在 24 周龄的用媒介物治疗的或用 mNOX-E36-3' PEG- 治疗的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中在骨髓和外周血中的 CCR2 的流式细胞术；数据显示为在每个组的 5 只小鼠中，在骨髓或外周血中 CCR2 阳性细胞的平均百分比 $\pm$ SEM；

[0506] 图 44 显示了在用 PoC-PEG 治疗的（白色柱）和用 mNOX-E36-3' PEG (mNOX-E36-P) 治疗的（黑色柱）1K db/db 小鼠中的血清 CCL2 水平，其在所示的不同时间点通过 ELISA 来测定；数据是平均值 $\pm$ SEM；*， $p < 0.05$ ，mNOX-E36-3' PEG (mNOX-E36-P) 对 PoC-PEG；

[0507] 图 45 显示了在未治疗的或者用 PoC-PEG 或确切地说 mNOX-E36-3' PEG 治疗的 db/db 小鼠的肾小球和间质中，Mac-2 和 Ki-67 阳性细胞的浸润的数目；

[0508] 图 46 显示了在 6 个月大的 db/db 小鼠中的糖尿病性肾小球硬化；将来自不同组的小鼠的肾切片用过碘酸-希夫进行染色，并对来自每个肾切片的 15 个肾小球就糖尿病性肾小球硬化的程度进行评分；所述图像显示了分级至所示的各自得分的代表性肾小球，原始放大倍数为 $400\times$ ；所述图图解说明了每个组 ($n = 7-10$) 中所有小鼠的每个得分的平均百分比 $\pm$ SEM；*， $p < 0.05$ ，用 mNOX-E36-3' PEG (mNOX-E36-P) 治疗的 1K db/db 小鼠对用 PoC-PEG (PoC-P) 治疗的 1K db/db 小鼠；

[0509] 图 47 显示了在 6 个月大的用 mNOX-E36-3' PEG (mNOX-E36-P) 治疗的和用 PoC-PEG (PoC-P) 治疗的 1K db/db 小鼠中的肾小球滤过率 (GFR)；在所述研究的末期，在用 PoC-PEG 治疗的和用 mNOX-E36-3' PEG 治疗的 1K db/db 小鼠中，通过 FITC- 菊粉清除动力学来测定 GFR；

[0510] 图 48 显示了 6 个月大的 db/db 小鼠的肾小管萎缩和间隙体积；银染色的肾切片的图像图解说明了来自各个组的代表性肾脏（原始放大倍数为 $100\times$ ）；值表示每个组中的 7-10 只小鼠的各自形态计量分析指数的平均值 $\pm$ SEM；*， $p < 0.05$ ，2K db/db 对 BKS 野生型小鼠；[#]， $p < 0.05$ ，1K 对 2K db/db 小鼠；[†]， $p < 0.05$ ，用 mNOX-E36-3' PEG (mNOX-E36-P) 治疗的 1K db/db 小鼠对用 PoC-PEG 治疗的 1Kdb/db 小鼠；

[0511] 图 49 显示了 db/db 小鼠的肾 CCL2mRNA 表达，其通过使用从每个组的 6-10 只小鼠中汇集的总肾 RNA 经实时 RT-PCR 来测定；每组小鼠的 mRNA 水平按照各自的 18S rRNA 表达来表示；和

[0512] 图 50 显示了如通过免疫染色所测定的在 db/db 小鼠肾脏中的空间 CCL2 表达；所述图像图解说明了来自所示各个组的 6 个月大的小鼠的肾脏的代表性切片（原始放大倍数， $200\times$ ）。

[0513] 图 51A-E 显示在用媒介物、revmNOX-E36-3'-PEG、mNOX-E36-3'-PEG、CYC 低、CYC 高、CYC 低+mNOX-E36-3'-PEG 或 MMF 处理 MRL1pr/1pr 小鼠后, MRL1pr/1pr 小鼠中的狼疮肾炎标记物, 由此如由 Austin 等人 (Austin 等人 1984) 所述在 PAS 染色的肾切片上测定关于 DPLN 的活性指数 (图 51A) 和慢性指数 (图 51B); 并且由此测定在 24 周大的 MRL1pr/1pr 小鼠的肾切片中的肾小球巨噬细胞的平均数目 (图 51C) (15 个肾小球中的 Mac2+ 细胞 / 切片), 分别在 24 周大的 MRL1pr/1pr 小鼠的肾切片中的间质巨噬细胞数目 (图 51D) 或 T 细胞数目 (图 51E) (15 个高倍视野中的 Mac2+ 或 CD3+ 细胞 / 切片);

[0514] 图 52 显示来自 24 周大 MRL1pr/1pr 小鼠的过碘酸-希夫染色的肺切片的肺损伤的半定量评分;

[0515] 图 53A 显示在 LPS 攻击后 24 小时在 BAL 液体中的总细胞数目 ($\times 10^6$ / 动物; 平均值 $\pm$ SEM; 与阳性对照组相比较, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$), 由此动物在 LPS 攻击前用媒介物 (阳性对照)、地塞米松、罗氟司特或结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 或在清洁空气攻击前用媒介物 (阴性对照) 进行处理;

[0516] 图 53B 显示在 LPS 攻击后 24 小时在 BAL 液体中的嗜中性白细胞的绝对数目 (平均值 $\pm$ SEM; 与阳性对照组相比较, $**p < 0.01$), 由此动物在 LPS 攻击前用媒介物 (阳性对照)、地塞米松、罗氟司特或结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 或在清洁空气攻击前用媒介物 (阴性对照) 进行处理;

[0517] 图 54A 显示健康动物或在用 MCT/ 媒介物或 MCT/ 结合 MCP-1 的镜像 mNOX-E36-3'-PEG 处理后动物的右侧心脏肥大; 由此读数是右心室重量至左心室加上隔膜重量 RV/(LV+S);

[0518] 图 54B 显示健康动物或在用 MCT/ 媒介物或 MCT/ 结合 MCP-1 的镜像 mNOX-E36-3'-PEG 处理后动物的右心室收缩压 (RSVP[mmHg])。

[0519] 实施例 1: 结合人 MCP-1 的核酸

[0520] 使用生物素化的人 D-MCP-1 作为靶, 可以产生几种结合人 MCP-1 的核酸, 该核酸的核苷酸序列在图 1 至 7 中描绘。这些核酸如下进行表征: 采用使用生物素化的人 D-MCP-1 的竞争性或直接 pull-down 测定法在适体 (即 D- 核酸) 水平上进行表征 (实施例 4), 或者通过使用 Biacore 2000 装置进行的表面等离子体共振测量法 (实施例 7)、体外细胞培养物 Ca^{++} 释放测定法 (实施例 5) 或体外趋化性测定法 (实施例 6) 在镜像异构体水平 (即具有天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 的 L- 核酸) 上进行表征。

[0521] 如此产生的核酸分子显示出不同的序列基序, 四种主要的类型在图 1 和图 2 (1A/1B 型)、图 3 (2 型)、图 4 和图 5 (3 型) 以及图 6 (4 型) 中定义。另外的不能相互相关并且不能与本文所描述的不同序列基序相关的结合 MCP-1 的核酸在图 7 中列出。对于核苷酸序列基序的定义, 使用了 IUPAC 缩写以用于不确定的核苷酸:

[0522] S 强 G 或 C;

[0523] W 弱 A 或 U;

[0524] R 嘌呤 G 或 A;

[0525] Y 嘧啶 C 或 U;

[0526] K 酮基 G 或 U;

[0527] M 亚氨基 A 或 C;

[0528] B 非 A C 或 U 或 G ;

[0529] D 非 C A 或 G 或 U ;

[0530] H 非 G A 或 C 或 U ;

[0531] V 非 U A 或 C 或 G ;

[0532] N 全部 A 或 G 或 C 或 U。

[0533] 如果未指明与此相反,则任何核酸序列或者序列段和盒的序列都分别以 5' - > 3' 的方向显示。

[0534] 1A 型结合 MCP-1 的核酸 (图 1)

[0535] 如在图 1 中所描绘的,所有 1A 型的结合 MCP-1 的核酸的序列都包含几个序列段或盒,由此盒 **B1A** 和 **B1B** 是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段。然而,在该分子中并非一定给出这种杂交,如在生理条件下实际存在的。盒 **B2**、**B3**、**B4**、**B5** 和盒 **B6** 的侧翼为盒 **B1A** 和盒 **B1B**。

[0536] 采用使用生物素化的人 D-MCP-1 的直接和竞争性 pull-down 测定法,在适体水平上表征这些核酸,以便根据它们的结合行为对它们进行分级 (实施例 4)。将选择出的序列合成为镜像异构体 (实施例 3),并使用天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 在体外细胞培养物 Ca^{++} - 释放测定法中进行测试 (实施例 5)。

[0537] 所定义的盒的序列在 1A 型的结合 MCP-1 的核酸之间可能不同,这影响了对 MCP-1 的结合亲和力。基于对被概括为 1A 型结合 MCP-1 的核酸的不同的结合 MCP-1 的核酸所进行的结合分析,如下描述的盒 **B1A**、**B2**、**B3**、**B4**、**B5**、**B6** 和 **B1B** 以及它们的核苷酸序列独立地和更优选地以其整体对于结合 MCP-1 来说是必需的:

[0538] • 盒 **B1A** 和 **B1B** 是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段;其中 **B1A** 是 **AGCRUG**,优选 **AGCGUG**;并且其中 **B1B** 是 **CRYGCU**,优选 **CACGCU**;

[0539] • 盒 **B2**, 其是 **CCCGGW**, 优选 **CCCGGU** ;

[0540] • 盒 **B3**, 其是 **GUR**, 优选 **GUG** ;

[0541] • 盒 **B4**, 其是 **RYA**, 优选 **GUA** ;

[0542] • 盒 **B5**, 其是 **GGGGGRCGCGAYC**, 优选 **GGGGGGCGCGACC**;

[0543] • 盒 **B6**, 其是 **UGCAAUAUG** 或 **URYAWUUG**, 优选 **UACAUUUG** ;

[0544] 如在图 1 中所描绘的,称为 176-E10trc 的核酸分子具有最好的对 MCP-1 的结合亲和力 (在 pull-down 测定法中作为适体, K_D 为 5nM;以及在体外细胞培养物 Ca^{++} - 释放测定法中作为镜像异构体, IC_{50} 为 4-5nM), 并因此可以构成最佳序列以及序列元件 **B1A**、**B2**、**B3**、**B4**、**B5**、**B6** 和 **B1B** 的最佳组合。

[0545] 1B 型结合 MCP-1 的核酸 (图 2)

[0546] 如在图 2 中所描绘的,所有 1B 型的序列都包含几个序列段或盒,由此盒 **B1A** 和

B1B是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段, 并且盒 **B2**、**B3**、**B4**、**B5**和盒 **B6** 的侧翼为盒 **B1A**和盒 **B1B**。然而, 在该分子中并非一定给出这种杂交, 如在生理条件下实际存在的。

[0547] 采用使用生物素化的人 D-MCP-1 的直接和竞争性 pull-down 测定法, 在适体水平上表征这些核酸, 以便根据它们的结合行为对它们进行分级 (实施例 4)。将选择出的序列合成为镜像异构体 (实施例 3), 并使用天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 在体外细胞培养物 Ca^{++} -释放测定法中进行测试 (实施例 5)。

[0548] 所定义的盒的序列在 1B 型的结合 MCP-1 的核酸之间可能不同, 这影响了对 MCP-1 的结合亲和力。基于对被概括为 1B 型结合 MCP-1 的核酸的不同的结合 MCP-1 的核酸所进行的结合分析, 如下描述的盒 **B1A**、**B2**、**B3**、**B4**、**B5**、**B6** 和 **B1B** 以及它们的核苷酸序列独个地和更优选地以其整体对于结合 MCP-1 来说是必需的:

[0549] • 盒 **B1A**和 **B1B**, 其可以相互杂交; 其中 **B1A** 是 **AGYRUG**, 优选 **AGCGUG**; 并且 **B1B** 是 **CAYRCU**, 优选 **CACGCU**。

[0550] • 盒 **B2**, 其是 **CCAGCU** 或 **CCAGY**, 优选 **CCAGU**;

[0551] • 盒 **B3**, 其是 **GUG**;

[0552] • 盒 **B4**, 其是 **AUG**;

[0553] • 盒 **B5**, 其是 **GGGGGGCGCGACC**;

[0554] • 盒 **B6**, 其是 **CAUUUA** 或 **CAUUUA**, 优选 **CAUUUA**。

[0555] 如在图 2 中所描绘的, 称为 176-C9trc 的核酸具有最好的对 MCP-1 的结合亲和力 (在 pull-down 测定法中作为适体, K_D 为 5nM; 以及在体外细胞培养物 Ca^{++} -释放测定法中作为镜像异构体, IC_{50} 为 4-5nM), 并因此可以构成最佳序列以及序列元件 **B1A**、**B2**、**B3**、**B4**、**B5**、**B6** 和 **B1B** 的最佳组合。

[0556] 2 型结合 MCP-1 的核酸 (图 3)

[0557] 如在图 3 中所描绘的, 所有 2 型的序列都包含几个序列段或盒, 由此盒 **B1A**和 **B1B**是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段, 并且盒 **B2** 是中心的序列元件。然而, 在该分子中并非一定给出这种杂交, 如在生理条件下实际存在的。

[0558] 采用使用生物素化的人 D-MCP-1 的直接和竞争性 pull-down 测定法, 在适体水平上表征这些核酸, 以便根据它们的结合行为对它们进行分级 (实施例 4)。将选择出的序列合成为镜像异构体 (实施例 3), 并使用天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 在体外细胞培养物 Ca^{++} -释放测定法 (实施例 5) 或体外趋化性测定法 (实施例 6) 中进行测试。

[0559] 所定义的盒的序列在 3 型的结合 MCP-1 的核酸之间可能不同, 这影响了对 MCP-1 的结合亲和力。基于对被概括为 2 型结合 MCP-1 的核酸的不同的结合 MCP-1 的核酸所进行的结合分析, 如下描述的盒 **B1A**、**B2** 和 **B1B** 以及它们的核苷酸序列独个地和更优选地以其整体对于结合 MCP-1 来说是必需的:

[0560] • 盒 **B1A** 和 **B1B**, 其是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段; 其中 **B1A** 是 **ACGCA** 而 **B1B** 是 **UGCGU**, 或者 **B1A** 是 **CGCA** 而 **B1B** 是 **UGCG**, 或者 **B1A** 是 **GCA** 而 **B1B** 是 **UGCG** 或 **UGC**; 优选地, **B1A** 是 **GCA** 而 **B1B** 是 **UGCG**;

[0561] • 盒 **B2**, 其是 CSUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGYGGCUC, 优选 CGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC。

[0562] 如在图 3 中所描绘的, 称为 180-D1-002 的核酸以及 180-D1-002 的衍生物例如 180-D1-011、180-D1-012、180-D1-035 和 180-D1-036 (= NOX-E36) 具有最好的对 MCP-1 的结合亲和力 (在 pull-down 测定法或竞争性 pull-down 测定法中作为适体, $K_D < 1\text{nM}$), 并因此可以构成最佳序列以及序列元件 **B1A**、**B2** 和 **B1B** 的最佳组合。

[0563] 对于核酸分子 D-NOX-E36 (D-180-D1-036; SEQ. ID NO. 159), 测得解离常数 (K_D) 在室温 (RT) 下为 $890 \pm 65\text{pM}$ 而在 37°C 下为 $146 \pm 13\text{pM}$ (实施例 4; 图 9)。相应的镜像异构体 NOX-E36 (180-D1-036; SEQ. ID NO. 37) 在体外 Ca^{++} -释放测定法中显示出 3-4nM 的抑制浓度 (IC_{50}) (实施例 5; 图 12), 和在体外趋化性测定法中显示出约 0.5nM 的抑制浓度 (IC_{50}) (实施例 6; 图 15)。对于 NOX-E36 的 PEG 化的衍生物 NOX-E36-3' PEG 和 NOX-E36-5' PEG, 在 Ca^{++} -释放测定法中测定出约 3nM 的 IC_{50} (实施例 5; 图 25 和图 27A), 和在趋化性测定法中测定出 $< 1\text{nM}$ 的 IC_{50} (实施例 6; 图 26 和图 27B)。

[0564] 3 型结合 MCP-1 的核酸 (图 4+5)

[0565] 如在图 4 和图 5 中所描绘的, 所有 3 型的序列包含几个序列段或盒, 由此三对盒是 3 型结合 MCP-1 的核酸所特征性的。盒 **B1A** 和 **B1B** 以及盒 **B2A** 和 **B2B** 以及盒 **B5A** 和 **B5B** 具有相互杂交的能力。然而, 在该分子中并非一定给出这种杂交, 如在生理条件下实际存在的。非杂交性核苷酸位于这些可能杂交的序列元件之间, 其被定义为盒 **B3**、盒 **B4** 和盒 **B6**。

[0566] 采用使用生物素化的人 D-MCP-1 的直接和竞争性 pull-down 测定法, 在适体水平上表征这些核酸, 以便根据它们的结合行为对它们进行分级 (实施例 4)。将选择出的序列合成为镜像异构体 (实施例 3), 并使用天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 在体外趋化性测定法 (实施例 6) 中或通过 Biacore 测量法 (实施例 7) 进行测试。

[0567] 所定义的盒的序列在 3 型的结合 MCP-1 的核酸之间可能不同, 这影响了对 MCP-1 的结合亲和力。基于对被概括为 3 型结合 MCP-1 的核酸的不同的结合 MCP-1 的核酸所进行的结合分析, 如下描述的盒 **B1A**、**B2A**、**B3**、**B2B**、**B4**、**B5A**、**B6**、**B5B**、**B1B** 以及它们的核苷酸序列独个地和更优选地以其整体对于结合 MCP-1 来说是必需的:

[0568] • 盒 **B1A** 和 **B1B**, 其是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段; 其中 **B1A** 是 **GURCUGC** 而 **B1B** 是 **GCAGCAC**; 优选地, **B1A** 是 **GUGCUGC** 而 **B1B** 是 **GCAGCAC**;

[0569] 或者 **B1A** 是 **GKSYGC** 而 **B1B** 是 **GCRSMC**; 优选地, **B1A** 是

GUGCGC 而 **B1B** 是 **GCGCAC**;

[0570] 或者 **B1A** 是 **KBBSC** 而 **B1B** 是 **GSVVM**; 优选地, **B1A** 是 **KKSSC** 而 **B1B** 是 **GSSMM**;

[0571] 或者 **B1A** 是 **BNGC** 而 **B1B** 是 **GCNV**; 优选地, **B1A** 是 **SNGC** 而 **B1B** 是 **GCNS**; 最优选地, **B1A** 是 **GGGC** 而 **B1B** 是 **GCCC**;

[0572] • 盒 **B2A** 和 **B2B**, 其是可以相互杂交的序列段; 其中 **B2A** 是 **GKMGU** 而 **B2B** 是 **ACKMC**; 优选地, **B2A** 是 **GUAGU** 而 **B2B** 是 **ACUAC**;

[0573] • 盒 **B3**, 其是 **KRRAR**, 优选 **UAAAA** 或 **GAGAA**;

[0574] • 盒 **B4**, 其是 **CURYGA** 或 **CUWAUGA** 或 **CWRMGACW** 或 **UGCCAGUG**, 优选 **CAGCGACU** 或 **CAACGACU**;

[0575] • **B5A** 和 **B5B**, 其是可以相互杂交的序列段; 其中 **B5A** 是 **GGY** 而 **B5B** 是 **GCYR**, 其中 **GCY** 可以与 **B5A** 的核苷酸杂交; 或者 **B5A** 是 **CWGC** 而 **B5B** 是 **GCWG**; 优选地, **B5A** 是 **GGC** 而 **B5B** 是 **GCCG**;

[0576] • 盒 **B6**, 其是 **YAGA** 或 **CKAAU** 或 **CCUUUAU**, 优选 **UAGA**.

[0577] 如在图 4 和图 5 中所描绘的, 称为 178-D5 的核酸及其衍生物 178-D5-030 以及称为 181-A2 的核酸及其衍生物 181-A2-002、181-A2-004、181-A2-005、181-A2-006、181-A2-007、181-A2-017、181-A2-018、181-A2-019、181-A2-020、181-A2-021 和 181-A2-023 具有最好的对 MCP-1 的结合亲和力。178-D5 和 178-D5-030 在直接或竞争性 pull-down 测定法中作为适体进行评估 (实施例 4), 其 K_D 为约 500pM。在相同的实验设置下, 测定出 181-A2 的 K_D 约 100pM。通过 Biacore 分析 (实施例 7), 181-A2 及其衍生物对于 MCP-1 的 K_D 经测定为 200-300pM。在使用培养细胞的 Ca^{++} 释放测定法和趋化性测定法 (分别为实施例 5 和 6) 中, 测得 178-D5 和 181-A2 两者的 IC_{50} 为约 500pM。因此, 178-D5 和 181-A2 以及它们的衍生物可以构成最佳序列以及序列元件 **B1A**、**B2A**、**B3**、**B2B**、**B4**、**B5A**、**B6**、**B5B** 和 **B1B** 的最佳组合。

[0578] 4 型结合 MCP-1 的核酸 (图 6)

[0579] 如在图 6 中所描绘的, 所有 4 型的序列都包含几个序列段或盒, 由此盒 **B1A** 和 **B1B** 是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段, 并且盒 **B2** 是中心的序列元件。

[0580] 采用使用生物素化的人 D-MCP-1 的直接 pull-down 测定法, 在适体水平上表征这些核酸, 以便根据它们的结合行为对它们进行分级 (实施例 4)。将选择出的序列合成为镜像异构体 (实施例 3), 并使用天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 在体外细胞培养物 Ca^{++} 释放测定法 (实施例 5) 和 / 或趋化性测定法 (实施例 6) 中进行测试。

[0581] 所定义的盒的序列在 4 型的结合 MCP-1 的核酸中可能不同, 这影响了对 MCP-1 的结合亲和力。基于对被概括为 4 型结合 MCP-1 的核酸的不同的结合 MCP-1 的核酸所进行的结合分析, 如下描述的盒 **B1A**、**B2** 和 **B1B** 以及它们的核苷酸序列独个地和更优选地以其整体对于结合 MCP-1 来说是必需的:

[0582] • 盒 **B1A** 和 **B1B**, 其是可以相互杂交的 5' - 和 3' - 末端序列段; 其中 **B1A** 是 **AGCGUGDU** 而 **B1B** 是 **GNCASGCU**; 或者 **B1A** 是 **GCGCGAG** 而 **B1B** 是 **CUCGCGUC**; 或者 **B1A** 是 **CSKSUU** 而 **B1B** 是 **GRMSG**; 或者 **B1A** 是 **GUGUU** 而 **B1B** 是 **GRCAC**; 或者 **B1A** 是 **UGUU** 而 **B1B** 是 **GGCA**; 优选地, **B1A** 是 **CSKSUU** 而 **B1B** 是 **GRMSG**; 最优的 **B1A** 是 **CCGCUU** 而 **B1B** 是 **GGGCGG**; 以及

[0583] • 盒 **B2**, 其是 AGNDRDGBKGGURGYARGUAAAAG 或 AGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAG 或 CAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAAGA, 优选 AGGUGGGUGGUAGUAAAGUAAAAG。

[0584] 如在图 6 中所描述的, 称为 174-D4-004 和 166-A4-002 的核酸具有最好的对 MCP-1 的结合亲和力 (在体外细胞培养物 Ca^{++} 释放测定法中作为镜像异构体, IC_{50} 为 2-5nM), 并因此可以构成最佳序列以及序列元件 **B1A**、**B2** 和 **B1B** 的最佳组合。

[0585] 另外, 鉴定了 29 个其他的结合 MCP-1 的核酸, 它们不能通过已对于 1-4 型结合 MCP-1 的核酸而显示的核苷酸序列元件的组合来描述。这些序列在图 7 中列出。

[0586] 应当理解, 任何在图 1 至图 7 中显示的序列都是根据本发明的核酸, 包括它们的那些截短形式, 而且还包括它们的那些延伸形式, 但是条件是各自如此截短和延伸的核酸分子仍然能够结合靶。

[0587] 实施例 2: 结合鼠 MCP-1 的核酸

[0588] 使用生物素化的鼠 D-MCP-1 作为靶, 可以产生几种与之结合的核酸分子。这些核酸分子的序列分析的结果可从图 8 中获得。

[0589] 采用使用生物素化的鼠 D-MCP-1 的 pull-down 测定法, 在适体水平上表征这些核酸, 以便根据它们的结合行为对它们进行分级 (实施例 4)。将选择出的序列合成为镜像异构体 (实施例 3), 并使用天然构型的 MCP-1 (L-MCP) 在体外细胞培养物 Ca^{++} -释放测定法 (实施例 5) 或趋化性测定法 (实施例 6) 中进行测试。

[0590] 如在图 8 中所描绘的, D-188-A3-001 和 D-189-G7-001 以及它们的衍生物在 pull-down 测定法中以亚纳摩尔浓度的 K_D 结合 D-MCP-1 (图 8)。

[0591] 对于 D-mNOX-E36 (= D-188-A3-007; SEQ. ID NO. 244), 测得在 37°C 下解离常数 (K_D) 为 0.1-0.2nM (实施例 4; 图 10)。相应的镜像异构体 mNOX-E36 (188-A3-007; SEQ. ID NO. 122) 在体外 Ca^{++} -释放测定法中显示出约 12nM 的抑制浓度 (IC_{50}) (实施例 5; 图 13), 和在体外趋化性测定法中显示出约 7nM 的抑制浓度 (IC_{50}) (实施例 6; 图 16)。对于 mNOX-E36 的 PEG 化的衍生物 mNOX-E36-3' PEG (SEQ. ID NO. 254), 在 Ca^{++} -释放测定法中测定出约 8nM 的 IC_{50} (实施例 5; 图 29), 和在趋化性测定法中测定出约 3nM 的 IC_{50} (实施例 6; 图 31)。

[0592] 应当理解, 任何在图 1 至图 7 中显示的序列都是根据本发明的核酸, 包括它们的那些截短形式, 而且还包括它们的那些延伸形式, 但是条件是各自如此截短和延伸的核酸分子仍然能够结合靶。

[0593] 实施例 3: 适体和镜像异构体的合成和衍生化

[0594] 小规模合成

[0595] 利用 2' TBDMS RNA 亚磷酰胺化学 (M. J. Damha, K. K. Ogilvie, Methods in Molecular Biology, 第 20 卷 Protocols for oligonucleotides and analogs, 编辑 S. Agrawal, 第 81-114 页, Humana Press Inc. 1993), 使用 ABI 394 合成仪 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 通过固相合成来制备适体和镜像异构体。D- 和 L- 构型的 rA(N-Bz)-、rC(Ac)-、rG(N-ibu)- 和 rU- 亚磷酰胺购自 ChemGenes, Wilmington, MA。适体和镜像异构体通过凝胶电泳进行纯化。

[0596] 大规模合成加修饰

[0597] 利用 2' TBDMS RNA 亚磷酰胺化学 (M. J. Damha, K. K. Ogilvie, Methods in Molecular Biology, 第 20 卷 Protocols for oligonucleotides and analogs, 编辑 S. Agrawal, 第 81-114 页, Humana Press Inc. 1993), 使用 **Äkta Pilot 100** 合成仪 (Amersham Biosciences; General Electric Healthcare, Freiburg), 通过固相合成来制备镜像异构体 NOX-E36。L-rA(N-Bz)-、L-rC(Ac)-、L-rG(N-ibu)- 和 L-rU- 亚磷酰胺购自 ChemGenes, Wilmington, MA。5'-氨基-修饰剂购自 American International Chemicals Inc. (Framingham, MA, USA)。未修饰的镜像异构体的合成开始于 L-riboG 修饰的 CPG, 孔径为 1000 Å (Link Technology, Glasgow, UK); 对于 3'-NH₂- 修饰的镜像异构体, 使用 3'-氨基修饰剂-CPG, 1000 Å (ChemGenes, Wilmington, MA)。对于偶联 (每次循环 15 分钟), 使用 0.3M 在乙腈中的苄硫基四唑 (CMS-Chemicals, Abingdon, UK) 和 3.5 当量的各自 0.1M 在乙腈中的亚磷酰胺溶液。使用氧化封端循环。其他用于寡核苷酸合成的标准溶剂和试剂购自 Biosolve (Valkenswaard, NL)。合成镜像异构体, DMT-ON; 在去保护后, 使用 Source 15RPC 介质 (Amersham), 通过制备型 RP-HPLC (Wincott F 等人, (1995) Nucleic Acids Res 23:2677) 进行纯化。用 80% 乙酸除去 5' DMT- 基团 (在室温下 30 分钟)。随后, 加入 2M NaOAc 水溶液, 并使用 5K 再生纤维素膜 (Millipore, Bedford, MA) 通过切向流过滤来对镜像异构体进行脱盐。

[0598] NOX-E36 的 PEG 化

[0599] 为了延长镜像异构体在体内的血浆停留时间, 将镜像异构体 NOX-E36 在 3'-末端或 5'-末端处共价偶联至 40kDa 聚乙二醇 (PEG) 部分。

[0600] NOX-E36 的 3'-PEG 化

[0601] 为了 PEG 化 (关于 PEG 化方法的技术细节, 可参见欧洲专利申请 EP 1 306 382), 将纯化的 3'-氨基修饰的镜像异构体溶解于 H₂O (2.5ml)、DMF (5ml) 和缓冲液 A (5ml; 通过混合柠檬酸·H₂O [7g]、硼酸 [3.54g]、磷酸 [2.26ml] 和 1M NaOH [343ml] 并加入 H₂O 以达到 1L 的终体积来制备; 用 1M HCl 调节 pH = 8.4) 的混合物中。

[0602] 用 1M NaOH 使镜像异构体溶液的 pH 达到 8.4。然后, 在 37°C 下以 4 份 (每份 0.6 当量) 每 30 分钟添加 40kDa PEG-NHS 酯 (Nektar Therapeutics, Huntsville, AL), 直至达到 75 至 85% 的最大收率。在添加 PEG-NHS 酯的过程中, 用 1M NaOH 将反应混合物的 pH 保持在 8-8.5。

[0603] 将该反应混合物与 4ml 尿素溶液 (8M)、4ml 缓冲液 A 和 4ml 缓冲液 B (0.1M 的在 H₂O 中的乙酸三乙基铵) 混合, 并加热至 95°C 15 分钟。然后, 采用乙腈梯度 (缓冲液 B; 缓冲液 C: 0.1M 的在乙腈中的乙酸三乙基铵), 使用 Source 15RPC 介质 (Amersham), 通过 RP-HPLC 来纯化 PEG 化的镜像异构体。在 5% 缓冲液 C 处洗脱过量的 PEG, 在 10-15% 缓冲液 C 处洗

脱 PEG 化的镜像异构体。将纯度 > 95% (这通过 HPLC 来评估) 的产物级分合并, 并与 40ml 3M NaOAc 相混合。通过切向流过滤 (5K 再生纤维素膜, Millipore, Bedford MA) 对 PEG 化的镜像异构体进行脱盐。

[0604] NOX-E36 的 5' -PEG 化

[0605] 为了 PEG 化 (关于 PEG 化方法的技术细节, 可参见欧洲专利申请 EP 1 306 382), 将纯化的 5' -氨基修饰的镜像异构体溶解于 H₂O (2.5ml)、DMF (5ml) 和缓冲液 A (5ml; 通过混合柠檬酸·H₂O [7g]、硼酸 [3.54g]、磷酸 [2.26ml] 和 1M NaOH [343ml] 并加入水以达到 1L 的终体积来制备; 用 1M HCl 调节 pH = 8.4) 的混合物中。

[0606] 用 1M NaOH 使镜像异构体溶液的 pH 达到 8.4。然后, 在 37°C 下以 6 份 (每份 0.25 当量) 每 30 分钟添加 40kDa PEG-NHS 酯 (Nektar Therapeutics, Huntsville, AL), 直至达到 75 至 85% 的最大收率。在添加 PEG-NHS 酯的过程中, 用 1M NaOH 将反应混合物的 pH 保持在 8-8.5。

[0607] 将该反应混合物与 4ml 尿素溶液 (8M) 和 4ml 缓冲液 B (0.1M 的在 H₂O 中的乙酸三乙基铵) 混合, 并加热至 95°C 15 分钟。然后, 采用乙腈梯度 (缓冲液 B; 缓冲液 C: 0.1M 的在乙腈中的乙酸三乙基铵), 使用 Source 15RPC 介质 (Amersham), 通过 RP-HPLC 来纯化 PEG 化的镜像异构体。在 5% 缓冲液 C 处洗脱过量的 PEG, 在 10-15% 缓冲液 C 处洗脱 PEG 化的镜像异构体。将纯度 > 95% (这通过 HPLC 来评估) 的产物级分合并, 并与 40ml 3M NaOAc 相混合。通过切向流过滤 (5K 再生纤维素膜, Millipore, Bedford MA) 对 PEG 化的镜像异构体进行脱盐。

[0608] 实施例 4: 结合常数的测定 (Pull-Down 测定法)

[0609] 直接 pull-down 测定法

[0610] 分别在 20 或 37°C 下, 在 pull-down 测定法中测量适体对 D-MCP-1 的亲合力。使用 [γ -³²P]-标记的 ATP (Hartmann Analytic, Braunschweig, Germany), 通过 T4 多核苷酸激酶 (Invitrogen, Karlsruhe, Germany) 对适体进行 5' -磷酸标记。经标记的适体的比放射性为 200,000-800,000cpm/pmol。在变性和复性后将适体在 37°C 下以 20pM 的浓度与不同量的生物素化的 D-MCP-1 一起于选择缓冲液 (20mM Tris-HCl pH7.4; 137mM NaCl; 5mM KCl; 1mM MgCl₂; 1mM CaCl₂; 0.1% [w/vol] Tween-20) 中孵育 4-12 小时以便在低浓度下达到平衡。用 10 μ g/ml 人血清白蛋白 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) 和 10 μ g/ml 酵母 RNA (Ambion, Austin, USA) 补充选择缓冲液, 以便防止结合伴侣吸附至所使用的塑料器具或固定基质的表面。生物素化的 D-MCP-1 的浓度范围被设定为 8pM 至 100nM; 总反应体积为 1ml。将肽和肽-适体复合物固定在 1.5 μ l Streptavidin Ultralink Plus 颗粒 (Pierce Biotechnology, Rockford, USA) 上, 所述颗粒已用选择缓冲液预平衡并重悬于 6 μ l 的总体积中。颗粒在相应的温度下于热混匀器中保持悬浮 30 分钟。在分离上清液并适当洗涤后, 在闪烁计数器中对固定的放射性进行定量。将结合百分比对生物素化的 D-MCP-1 的浓度进行绘图, 并且通过使用软件算法 (GRAFIT; Erithacus Software; Surrey U.K.) 并假定 1:1 的化学计量来获得解离常数。

[0611] 竞争性 pull-down 测定法

[0612] 为了比较不同的结合 D-MCP-1 的适体, 实施竞争性分级测定法。为达到此目的, 将可获得的最具亲和力的适体进行放射性标记 (参见上文) 并用作参考。在变性和复性后,

将它一定的条件下于 37℃ 与生物素化的 D-MCP-1 在 1ml 选择缓冲液中进行孵育,所述条件导致在 NeutrAvidin 琼脂糖或 Streptavidin Ultralink Plus(两者都来自 Pierce)上固定和洗涤之后大约 5-10% 的与所述肽的结合(无竞争)。将过量的变性和复性的未标记的 D-RNA 适体变体以不同的浓度(如 2、10 和 50nM)与经标记的参考适体一起加入,以便进行平行的结合反应。待检测的适体与参考适体竞争结合靶,从而减少了结合信号,信号减少的情况取决于它们的结合特征。在该测定法中发现的最具活性的适体随后可以作为新的参考以用于其他适体变体的比较分析。

[0613] 实施例 5 :Ca⁺⁺-释放测定法中抑制浓度的测定

[0614] 将 THP-1 细胞(DSMZ, Braunschweig)以 0.3x10⁶/ml 的细胞密度,在 37℃ 和 5% CO₂ 下,在具有 GlutaMAX(Invitrogen)的 RPMI1640 培养基中培养过夜,该培养基另外还含有 10% 胎牛血清、50 单位/ml 青霉素、50 μg/ml 链霉素和 50 μM β-巯基乙醇。

[0615] 于 37℃ 在 0.2ml 薄型(low profile)96-管板中,在 Hanks 平衡盐溶液(HBSS)中将镜像异构体与重组人 MCP-1(Bachem)一起孵育 15 至 60 分钟,所述 Hanks 平衡盐溶液含有 1mg/ml 牛血清白蛋白、5mM 丙磺舒和 20mM HEPES(HBSS+)(“刺激溶液”)。

[0616] 为了用钙指示剂染料进行加载,将细胞以 300xg 离心 5 分钟,重悬于 4ml 指示剂染料溶液(10 μM fluo-4[分子探针]、0.08% pluronic127[分子探针],于 HBSS+ 中)中,并在 37℃ 下孵育 60 分钟。随后,加入 11ml HBSS+,并如上所述离心细胞,用 15ml HBSS+ 洗涤一次,然后再重悬于 HBSS+ 中以使细胞密度为 1.1x10⁶/ml。向黑色 96-孔板的每个孔中加入 90 μl 该细胞悬浮液。

[0617] 在 Fluostar Optima 多检测平板读取器(BMG)中以 485nm 的激发波长和 520nm 的发射波长测量荧光信号。对于多个样品的平行测量,同时记录 96-孔平板的(垂直的)一排孔。进行时间延迟为 4 秒的最初 3 次读取以用于确定基线。然后,中断记录,并将平板从该装置中取出。用多道移液器将 10 μl 刺激溶液加入孔中,然后将平板再次移进装置中并继续测量。总共,进行时间间隔为 4 秒的 20 次记录。

[0618] 对于每个孔,测定最大荧光值和基线值之间的差异,并对 MCP-1 浓度进行绘图,或者在关于由镜像异构体抑制钙释放的实验中,对镜像异构体的浓度进行绘图。

[0619] 人 MCP-1 的半数最大有效浓度(EC₅₀)的测定

[0620] 在用各种浓度的 hMCP-1 刺激 THP-1 细胞并将最大信号和基线信号之间的差异进行绘图后,获得了人 MCP-1 的剂量-反应曲线,其表明半数有效浓度(EC₅₀)为约 2-4nM(图 11)。该浓度被用于进一步的关于由镜像异构体抑制 Ca⁺⁺-释放的实验。

[0621] 鼠 MCP-1 的半数最大有效浓度(EC₅₀)的测定

[0622] 在用各种浓度的 mMCP-1 刺激 THP-1 细胞并将最大信号和基线信号之间的差异进行绘图后,获得了鼠 MCP-1 的剂量-反应曲线,其表明半数有效浓度(EC₅₀)为约 5nM(图 28)。该浓度被用于进一步的关于由镜像异构体抑制 Ca⁺⁺-释放的实验。

[0623] 实施例 6 :在趋向性测定法中抑制浓度的测定

[0624] 将如上所述进行生长的 THP-1 细胞离心,在 HBH(HBSS,含有 1mg/ml 牛血清白蛋白和 20mM HEPES)中洗涤一次,并以 3x10⁶ 个细胞/ml 进行重悬浮。将 100 μl 该悬浮液加入具有 5 μm 孔的 Transwell 插入物(inserts)(Corning, #3421)中。在较低的区域中,在加入细胞之前,将 MCP-1 与各种浓度的镜像异构体一起于 37℃ 在 600 μl HBH 中预孵育 20

至 30 分钟。允许细胞在 37℃ 下迁移 3 小时。随后,移去插入物,并将 60 μ l 在磷酸盐缓冲盐水中的 440 μ M 刃天青 (Sigma) 加入至较低的区室中。在 37℃ 下孵育 2.5 小时后,在 FluostarOptima 多检测平板读取器 (BMG) 中以 544nm 的激发波长和 590nm 的发射波长测量荧光。

[0625] 人 MCP-1 的半数最大有效浓度 (EC_{50}) 的测定

[0626] 在 THP-1 细胞向各种浓度的人 MCP-1 迁移 3 小时后,获得了人 MCP-1 的剂量 - 反应曲线,其表明最大有效浓度为约 1nM,并且在更高的浓度时活性减少 (图 14)。对于进一步的关于由镜像异构体抑制趋化性的实验,使用的 MCP-1 浓度为 0.5nM。

[0627] 鼠 MCP-1 的半数最大有效浓度 (EC_{50}) 的测定

[0628] 在 THP-1 细胞向各种浓度的鼠 MCP-1 迁移 3 小时后,获得了鼠 MCP-1 的剂量 - 反应曲线,其表明最大有效浓度为约 1-3nM,并且在更高的浓度时活性减少 (图 30)。对于进一步的关于由镜像异构体抑制趋化性的实验,使用的鼠 MCP-1 浓度为 0.5nM。

[0629] 实施例 7:通过表面等离子体共振测量进行的结合分析

[0630] 7.1 评估 NOX-E36、181-A2-018 和 mNOX-E36 的特异性

[0631] 使用 Biacore 2000 装置 (Biacore AB, Uppsala, Sweden) 来分析核酸与人 MCP-1 和相关蛋白质的结合。当偶联通过胺基团来实现时,将蛋白质针对水透析 1-2 小时 (Millipore VSWP 混合的纤维素酯;孔尺寸为 0.025 μ M) 以去除干扰性的胺。在蛋白质偶联之前,通过以 5 μ l/ 分钟的流速注射 35 μ l 0.4M NHS 和 0.1M EDC 的 1 : 1 稀释物来活化 PioneerF1 或 CM4 传感器芯片 (Biacore AB)。然后以 2 μ l/ 分钟的流速注射入浓度为 0.1-1.5 μ g/ml 的趋化因子,直到装置的响应在 1000-2000RU (相对单位) 的范围内。通过以 5 μ l/ 分钟的流速注射 35 μ l 盐酸乙醇胺溶液 (pH 8.5) 来使未反应的 NHS 酯去活化。将传感器芯片用结合缓冲液预处理两次,并以 10 μ l/ 分钟平衡 1-2 小时直到基线看起来稳定。对于所有蛋白质,通过一系列在选择缓冲液 (Tris-HCl, 20mM; NaCl, 137mM; KCl, 5mM; CaCl₂, 1mM; MgCl₂, 1mM; Tween 20, 0.1% [w/v]; pH 7.4) 中浓度为 1000、500、250、125、62.5、31.25 和 0nM 的镜像异构体注射液来评估动力学参数和解离常数。在所有实验中,在 37℃ 下用 Kinject 命令来进行分析,所述命令定义了 10 μ l/ 分钟的流速下缔合时间为 180 秒而解离时间为 360 秒。数据分析和解离常数 (K_D) 的计算采用 BIAevaluation 3.0 软件 (BIACOREAB, Uppsala, Sweden) 来进行,其使用了 Langmuir 1 : 1 化学计量拟合算法。

[0632] 7.1.1 NOX-E36 和 181-A2-018 (人 -MCP-1 特异性核酸)

[0633] 仅对于人 MCP-1,描述了所有的传感图 (分别为图 17 和 20);对于其他蛋白质,为了清晰的目的,只显示了使用 125nM 镜像异构体浓度获得的传感图 (图 18/19 和 21/22)。

[0634] NOX-E36 ● hMCP-1 相互作用的分析:将重组人 MCP-1 按照生产商的建议 (胺偶联方法) 固定在 PioneerF1 传感器芯片上,直到建立 1381RU (相对单位) 的仪器响应。测得的 NOX-E36 与人 MCP-1 结合的解离常数 (K_D) 为约 890pM (图 17)。

[0635] 181-A2-018 ● hMCP-1 相互作用的分析:将重组人 MCP-1 按照生产商的建议 (胺偶联方法) 固定在 CM4 传感器芯片上,直到建立 3111RU (相对单位) 的仪器响应。测得的 181-A2-018 与人 MCP-1 结合的解离常数 (K_D) 为约 370pM (图 20)。

[0636] 为了测定 NOX-E36 和 181-A2-018 的特异性,将各种人 MCP-1 家族蛋白质以及人嗜酸性粒细胞趋化因子固定在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上 (hMCP-1, 1754RU; hMCP-2,

1558RU ;hMCP-3,1290RU ;嗜酸性粒细胞趋化因子,1523RU)。动力学分析显示,NOX-E36 以 5-10nM 的解离常数 (K_D) 结合至嗜酸性粒细胞趋化因子和 hMCP-2 ;hMCP-3 不被识别 (图 18 和 24A)。与之相反,181-A2-018 结合嗜酸性粒细胞趋化因子、hMCP-2 和 hMCP-3,但是亲和力略有降低 (10-20nM ;图 21 和 24A)。

[0637] 使用在 PioneerF1 和 CM4 传感器芯片上的经胺偶联固定的来自人 (1460RU)、猴 (1218RU)、猪 (1428RU)、狗 (1224RU)、兔 (1244RU)、大鼠 (1267RU) 和小鼠 (1361RU) 的 MCP-1 来评估 NOX-E36 和 181-A2-018 的物种间交叉反应性。动力学分析显示,NOX-E36 以相当的 0.89-1.2nM 的解离常数 (K_D) 结合至人、猴、猪和犬 MCP-1,但是不识别来自小鼠、大鼠和兔的 MCP-1 (图 19 和 24A)。181-A2-018 以相当的 0.5-0.6nM 的解离常数 (K_D) 结合至人和猴 MCP-1,但是以低得多的亲和力结合猪、兔和犬 MCP-1。NOX-A2-018 不识别大鼠和小鼠 MCP-1 (图 22 和 24A)。

[0638] 序列以及在来自不同物种的 MCP-1 蛋白质和密切相关的人蛋白质之间的以相同氨基酸百分比表示的同源性程度在图 23 中描述 ;计算出的 NOX-E36 和 181-A2-018 的 KD 值在图 24A 中以表格形式显示。

[0639] 7.1. 2mNOX-E36 (鼠 MCP-1 特异性核酸)

[0640] 为了分析 mNOX-E36 的结合行为,将 3759RU 的合成的、生物素化的鼠 D-MCP-1 (流动池 (flow cell) 3) 和 3326RU 的生物素化的人 D-MCP-1 (流动池 4) 分别固定在缀有链霉抗生物素蛋白的传感器芯片 (Biacore AB, Freiburg, Germany) 上。使用 Kinject 命令来注射 500、250、125、62.5、31.25 和 0nM 的 mNOX-E36 适体 (D-RNA) 溶液,所述命令定义了缔合时间为 180 秒而解离时间为 360 秒。将流动池 1 用作缓冲液和葡聚糖基质对照 (Biacore SA- 芯片表面),而在流动池 2 上,固定非特异性的 D-肽以测定适体的非特异性结合。图 32 显示了 D-NOX-E36 结合至鼠 D-MCP-1 的动力学的传感图,计算出的解离常数 (K_D) 为 200-300pM。mNOX-E36 不结合人 D-MCP-1 (图 33);为了清晰的目的,只显示了使用 125nM 镜像异构体获得的传感图。

[0641] 7.2 评估 NOX-E36 的选择性

[0642] 通过将 5' 生物素化的 NOX-E36 固定在 Streptavidin (SA- 芯片) 上,利用表面等离子体共振分析来评估 NOX-E36 的选择性。在流动池 (FC) 1 上的 352RU 的 NOX-E36 和相同量的在 FC2 上的 5'-末端生物素化的非功能性对照镜像异构体 (POC) 通过链霉抗生物素蛋白 / 生物素的结合来进行固定。将 FC3 用作表面对照以测定与葡聚糖 -SA 传感器表面的非特异性结合。

[0643] 注射 100nM 的一组来自所有四个亚群 (CC、CXC、CX₃C 和 XC) 的人趋化因子 360 秒,并允许复合物在 10 μ l / 分钟的流速和 37°C 下解离 360 秒。将在缔合 (响应 1 ;相互作用的程度) 后和在解离 (响应 2,相互作用的亲和力) 后的响应单位进行绘图。在每次注射后,用 240s 的含 0.1% Tween 的 1M 氯化钠使芯片表面再生 ;随后允许固定的镜像异构体在生理条件 (走样缓冲液) 下重折叠 2 分钟。将每种趋化因子的注射重复 3 次。CXCL1、CXCL2、CXCL6 和 CXCL9 显示出与核糖核酸和芯片葡聚糖表面的非特异性结合。只有关于 CCL2/MCP-1、CCL8/MCP-2、CCL11/嗜酸性粒细胞趋化因子、CCL3/MIP1 α 和 CXCL7/NAP-2 才能够检测到与固定的 NOX-E36 的特异性高亲和力结合 (图 24B)。MCP-2 和嗜酸性粒细胞趋化因子被 NOX-E36 结合这一发现由于这些趋化因子和 MCP-1 之间具有 62% 和 70% 的相对较高

的同源性而并不令人惊讶,对于未预料到的阳性 CCL3/MIP-1 α 和 CXCL7/NAP-2,已经分别实施或目前正在建立有关功能性抑制的体外测试。

[0644] 最后,NOX-E36 和 CCL2/MCP-1、CCL8/MCP-2、CCL11/嗜酸性粒细胞趋化因子、CCL3/MIP1 α 、CXCL7/NAP-2、CCL7/MCP-3 及 CCL13/MCP-4 之间的相互作用的动力学参数在“反向的 (inverted)”体系中进行了测定。这里,固定趋化因子,并注射游离的 NOX-E36 (关于详细的方案,参见 7.1)。动力学数据概括于图 24C 中。

[0645] 7.3 体外评估抗 -MIP-1 α 功能性

[0646] Biacore 测量已经显示出 NOX-E36 与 MIP-1 α 的交叉反应性。应该通过采用功能性的、基于细胞培养的体外测定法来检验 NOX-E36 与 MIP-1 α 的纯粹的 Biacore 结合是否也转化为功能性,如拮抗作用。

[0647] 为了达到该目的,实施使用 THP-1 细胞的趋化性实验,所述 THP-1 细胞可通过 MIP-1 α 来进行刺激。将如上所述进行生长的 THP-1 细胞离心,在 HBH (HBSS, 含有 1mg/ml 牛血清白蛋白和 20mMHEPES) 中洗涤一次,并以 3×10^6 个细胞 /ml 进行重悬浮。将 100 μ l 该悬浮液加入具有 5 μ m 孔的 Transwell 插入物 (Corning, #3421) 中。在较低的区域中,在加入细胞之前,将 MIP-1 α 与各种浓度的镜像异构体一起于 37 $^{\circ}$ C 在 600 μ l HBH 中预孵育 20 至 30 分钟。允许细胞在 37 $^{\circ}$ C 下迁移 3 小时。随后,移去插入物,并将 60 μ l 在磷酸盐缓冲盐水中的 440 μ M 刃天青 (Sigma) 加入至较低的区域中。在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 2.5 小时后,在 Fluostar Optima 多检测平板读取器 (BMG) 中以 544nm 的激发波长和 590nm 的发射波长测量荧光。

[0648] 在 THP-1 细胞向各种浓度的人 MIP-1 α 迁移 3 小时后,获得了人 MIP-1 α 的剂量 - 反应曲线,其表明半数最大有效浓度为约 1nM,并且在更高的浓度时活性减少 (图 24D)。对于进一步的关于由镜像异构体抑制趋化性的实验,使用的 MIP-1 α 浓度为 0.5nM。

[0649] 使用 0.5nM MIP-1 α 的刺激,实施用于测定 NOX-E36 对趋化性的抑制的实验。可以清楚地显示,NOX-E36 不抑制由 MIP-1 α 诱导的趋化性,直至 1 μ M MIP-1 α 的最高测试浓度。作为阳性对照,平行实施了使用 MCP-1 作为刺激物的各自实验 (图 24E)。

[0650] 实施例 8 :用抗 -mMCP-1 镜像异构体治疗 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的狼疮样疾病

[0651] 阻断促炎介质已变成成为一种成功的用于治疗慢性炎症的方法 (Steinman 2004)。除了 TNF 和白细胞介素外,CC-趋化因子也是对于特异性拮抗作用的重要候选物,因为 CC-趋化因子介导白细胞从血管内腔募集至炎症位点 (Baggiolini 1998, Luster 2005)。存在非常强的证据表明,MCP-1 (= CCL2) 及其各自的趋化因子受体 CCR2 在自身免疫性组织损伤 (例如全身性红斑狼疮的临床表现) 中起至关重要的作用 (Gerard & Rollins 2001)。例如, Ccl2 或 Ccr2 基因缺陷的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠受到保护而免于狼疮样自身免疫 (Perez de Lema 2005, Tesch 1999)。因此, CCL2/CCR2 轴可代表具有前景的治疗靶,例如对于狼疮肾炎。实际上,延迟的基因疗法或转移经转染的细胞 (两者都导致原位产生 NH₂-截短的 MCP-1) 显著减少了 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的自身免疫性组织损伤。可是,此类实验方法由于控制不住的拮抗剂产生和肿瘤形成而不能用于人 (Hasegawa 2003, Shimizu 2004)。因此,仍然需要开发在体内具有有利的药物动力学特性曲线的新型 CCL2 拮抗剂。在该实施例中显示了,用抗 -mCCL2 镜像异构体 mNOX-E36 或 mNOX-E36-3' PEG 阻断鼠 CCL2 将适合用于治疗狼疮肾炎和全身性红斑狼疮的其他疾病表现。最近开始的 mCCL2 镜像异构体疗法有效改善了

MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的狼疮肾炎、自身免疫性支气管周炎和狼疮样皮肤疾病,而不受与治疗性 CCL2/CCR2 阻断相关的任何先前问题的支配。

[0652] 动物和实验方案

[0653] 从 Harlan Winkelmann (Borchen, Germany) 获得 10 周龄的雌性 MRL^{1pr/1pr} 小鼠,并将其以 12 小时的光照和黑暗循环保持在正常居住条件下。可以随意获得水和标准食物 (Ssniff, Soest, Germany)。在 14 周龄时,将 12 只小鼠的组如下每周三次接受皮下注射在 5% 葡萄糖中的镜像异构体 (注射体积为 4ml/kg): mNOX-E36, 1.5 μ mol/kg; mNOX-E36-3' PEG, 0.9 μ mol/kg; 无功能的对照镜像异构体 PoC (5' -UAAGGAAACUCGGUCUGAUG CGGUAGCGCUGUGCAGAGCU-3'), 1.9 μ mol/kg; PoC-PEG, 0.9 μ mol/kg; 媒介物 (5% 葡萄糖)。从分别在注射后 3 或 24 小时每周取自眶后窦的血样中测定 mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 的血浆水平。血浆样品中的镜像异构体水平通过如实施例 8 中描述的夹心杂交方法的改进形式来进行测定。在年龄的第 24 周结束时,通过颈脱位法处死小鼠。

[0654] 全身性狼疮的评估

[0655] 通过半定量评分来记录皮肤损害 (Schwartz 2005)。计算出脾和肠系膜淋巴结团块 (bulk) 与总体重的重量比作为与狼疮相关的淋巴组织增生综合征的标志。在实验期结束时,通过在吸入醚进行全身麻醉下从眶后静脉丛抽血来收集每只动物的血样和尿样。在实验结束时收集每只动物的血样和尿样,并如以前所描述的 (Pawar 2006) 测定尿白蛋白 / 肌酐酞比率和血清 dsDNA 自身抗体 IgG 同种型滴度。在 24 周时,通过在单次推注后 5、10、15、20、35、60 和 90 分钟时的血浆 FITC- 菊粉 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) 的清除动力学来测定肾小球滤过率 (GFR) (Qi 2004)。荧光以 485nm 的激发进行测定,并以 535nm 的发射进行读取。使用非线性回归曲线拟合软件 (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc., San Diego, CA), 基于二室模型来计算 GFR。使用对于 IL-6、IL-12p40 (OptEiA, BD

[0656] Pharmingen) 和 IFN- α (PBL Biomedical Labs, USA) 的商业 ELISA 试剂盒来测定血清细胞因子水平。将来自所有小鼠的肾脏和肺在 10% 缓冲的福尔马林固定,处理,并包埋于石蜡中。按照常规方案制备用于银染色和过碘酸 - 希夫染色的 5- μ m 切片 (Anders 2002)。使用如关于狼疮肾炎所描述的活性指数和慢性指数 (Austin 1984) 对肾脏损害的严重度进行分级,并且如以前描述的 (Anders 2002) 进行肾间质损伤的形态计量法。将支气管周围炎症的严重度半定量地分级为 0-4。对于免疫染色,将经福尔马林固定的且用石蜡包埋的组织切片脱蜡并再水化。通过 3% 过氧化氢来阻断内源性的过氧化物酶,并且在高压灭菌烘箱中于抗原提取溶液 (Vector, Burlingame, CA) 中进行抗原提取 (retrieval)。使用抗生物素蛋白 / 生物素阻断试剂盒 (Vector) 来阻断生物素。将载玻片与一抗一起孵育 1 小时,之后与生物素化的二抗 (抗大鼠 IgG, Vector) 和 ABC 试剂 (Vector) 一起孵育。在孵育步骤之间,在磷酸盐缓冲盐水中洗涤载玻片。将具有金属增强作用的 3' 3' 二氨基联苯胺 (DAB, Sigma, Taufkirchen, Germany) 用作检测体系,产生了黑色产物。将甲基绿用作复染剂,将载玻片脱水并放置在 Histomount (Zymed Laboratories, San Francisco, CA) 中。使用下列一抗: 大鼠抗 -Mac2 (巨噬细胞, Cederlane, Ontario, Canada, 1 : 50)、抗 - 小鼠 CD3 (1 : 100, 克隆 500A2, BD)、抗 - 小鼠 IgG₁ (1 : 100, M32015, Caltag Laboratories, Burlingame, CA, USA)、抗 - 小鼠 IgG_{2a} (1 : 100, M32215, Caltag)、抗 - 小鼠 C3 (1 : 200,

GAM/C3c/FITC, NordicImmunological Laboratories, Tilburg, Netherlands)。阴性对照包括与相应的同种型抗体一起孵育。阴性对照包括用相应的同种型抗体进行孵育。对于定量分析,计数在 15 个皮质肾小球 / 切片中的肾小球细胞。在 15 个皮质肾小球切片上,对肾小球 Ig 和 C3c 沉积物在 0-3 范围内进行评分。

[0657] RNA 的制备和实时定量 (TaqMan) RT-PCR

[0658] 将来自每只小鼠的肾组织在液氮中速冻并在 -80°C 下贮存。从每只动物中,如所描述的 (Anders 2002) 进行总肾 RNA 的制备和逆转录。引物和探针来自 PE Biosystems, Weiterstadt, Germany。所使用的用于检测 Ccl2、Ccl5 和 18S rRNA 的引物 (300nM), 预先开发的 TaqMan 测定法试剂, 来自 PE Biosystems。

[0659] 流式细胞术

[0660] 在该研究结束时,从所有组的小鼠中获得总血样和骨髓样品。使用 FACScalibur 仪器和先前经表征的 MC21 抗 -mCCR2 抗体 (Mack2001) 进行流式细胞术。将生物素化的抗 - 大鼠 IgG 抗体 (BDBiosciences) 用于检测。将大鼠 IgG_{2b} (BD Biosciences) 用作同种型对照。

[0661] 统计学分析

[0662] 数据表示为平均值 $\pm$ 平均值的标准误 (SEM)。组之间的比较用单变量 ANOVA 来完成。将 Posthoc Bonferroni 校正用于多重比较。 $p < 0.05$ 的值被认为是表明了统计学显著性。

[0663] 夹心杂交测定法

[0664] 基于如 Drolet 等人, 2000 (Pharm Res 17 :1503) 所描述的测定法, 通过夹心杂交测定法来定量样品中的镜像异构体量。平行收集血样以跟踪 NOX-E36 的血浆清除。制备所选择的组织用以测定镜像异构体浓度。

[0665] 杂交平板的制备

[0666] 将镜像异构体 mNOX-E36 通过使用未验证的夹心杂交测定法来进行定量。简而言之, 将在 0.5M 磷酸钠、1mM EDTA (pH 8.5) 中的 0.75mM mNOX-E36 捕获探针 (Seq. ID. No :281) 在 4°C 下固定至白色的 DNA-BIND 96 孔板 (Corning Costar, Wiesbaden, Germany) 过夜。将孔洗涤两次并在 37°C 下用在 0.25M 磷酸钠、1mM EDTA (pH8.5) 中的 0.5% w/v BSA 封闭 3 小时, 再次洗涤并在 4°C 下贮存直到使用。在杂交前, 将孔预先升温至 37°C , 并用预先升温的洗涤缓冲液 (3 $\times$ SSC, 0.5% [w/v] 十二烷基肌氨酸钠, pH 7.0 ; 预先制备无月桂酰基肌氨酸钠的 20 $\times$ 储液 [3M NaCl, 0.3M 柠檬酸钠], 并相应地进行稀释) 洗涤两次。

[0667] 样品的制备

[0668] 将所有样品一式两份地进行测定。将血浆样品在冰上解冻, 涡旋振荡, 并在冷却的台式离心机中简短地进行离心。将组织匀浆物在室温下解冻, 并在最大速度和室温下离心 5 分钟。只移出 5 μl 的每种样品用于测定法, 并随后将其放回冷冻室进行贮存。按照下列方案, 在室温下将样品用杂交缓冲液 (8nM mNOX-E36 检测探针 [Seq. ID :282], 在洗涤缓冲液中) 进行稀释:

[0669]	1 : 30	5 μl 样品	+145 μl 杂交缓冲液
[0670]	1 : 300	20 μl 1 : 30	+180 μl 杂交缓冲液
[0671]	1 : 3000	20 μl 1 : 300	+180 μl 杂交缓冲液

[0672] 1 : 30000 20 μ l 1 : 3000 +180 μ l 杂交缓冲液。

[0673] 检测所有的样品稀释液。将 mNOX-E36 标准品系列稀释成跨越 0-4nM 范围的 8- 点校准曲线。不制备和检测 QC 样品。校准标准品与所研究样品的那个相同。

[0674] 杂交和检测

[0675] 将样品在 95℃ 下加热 10 分钟,并冷却至 37℃。将镜像异构体 / 检测探针复合物在 37℃ 下与经固定的捕获探针退火 30 分钟。通过分别用洗涤缓冲液和 1×TBST (20mM Tris-Cl, 137mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH 7.5) 洗涤两次来除去未结合的镜像异构体。在室温下,通过在 1×TBST 中以 1 : 5000 稀释的链霉抗生物素蛋白碱性磷酸酶来检测杂交的复合物 1 小时。为了除去未结合的缀合物,将孔用 1×TBST 和 20mM Tris-Cl, 1mM MgCl₂, pH 9.8 再次洗涤 (每孔洗涤两次)。最后,用 100ml CSDP 底物 (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) 充满孔,并在室温下孵育 45 分钟。在 FLUOstar Optima 微量培养板读取器 (BMG Labtechnologies, Offenburg, Germany) 上测量化学发光。

[0676] 数据分析

[0677] 将下面经测定的样品稀释物用于定量数据分析 :

[0678] 大鼠 EDTA 血浆 1 : 2000。

[0679] 作为背景信号,减去从媒介物组 (没有施用镜像异构体) 获得的数据。

[0680] 对于镜像异构体 NOX-36、NOX-E36-5'-PEG 和 NOX-E36-3'-PEG,也以类似的方式进行如本文所描述的夹心杂交测定法,其中必须使用相应的 NOX-E36 捕获探针 (Seq. ID :255) 和相应的 NOX-E36 检测探针 (Seq. ID :256) (数据未显示)。

[0681] 结果

[0682] mNOX-E36-3' PEG 改善 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的存活和肾病

[0683] 雌性 MRL^{1pr/1pr} 小鼠发展出并随后死于增生性免疫复合物性肾小球肾炎,这与人类中的弥散性增生性狼疮肾炎惊人地相似。在该治疗性研究设计中,在年龄的第 14 至 24 周时,将待治疗的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠用 PEG 化的和未 PEG 化的抗-mCCL2 镜像异构体、PEG 化的和未 PEG 化的对照 ("PoC")- 镜像异构体或媒介物进行治疗。这时,媒介物、PoC 或 PoC-PEG 治疗的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠显示出弥散性增生性肾小球肾炎,其特征在于肾小球巨噬细胞浸润以及混合的肾小球周和间质的炎性细胞浸润物 (其由肾小球和间质的 Mac2- 阳性巨噬细胞和间质的 CD3- 阳性淋巴细胞组成) (图 34 和 35)。mNOX-E36-3' PEG 改善了狼疮肾炎的活性指数和慢性指数以及前面提及的肾脏炎症的标志 (图 35)。未 PEG 化的分子 mNOX-E36 对于慢性指数以及间质巨噬细胞和 T 细胞计数的效果较小 (图 35)。通过在经媒介物、PoC 和 PoC-PEG 治疗的小鼠中的肾小管萎缩和间质纤维化的汇合面积来进一步说明了晚期慢性肾病 (图 34)。通过将形态计量法应用于定量这些变化,发现 PEG 化的和未 PEG 化的 mNOX-E36 减少了间隙体积、肾小管细胞损伤和肾小管扩张,这些都是慢性肾病的严重度和预后的标志 (图 36)。mNOX-E36-3' PEG,而不是未 PEG 化的 mNOX-E36,改善了 50% 死亡率 (图 37)。因此, mNOX-E36-3' PEG 可以减少肾巨噬细胞和 T 细胞浸润物的数目,并改善 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的狼疮肾炎和 (肾) 存活。为了研究用 mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 治疗是否会影响 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的肾内炎症,实施实时 RT-PCR 来评估促炎趋化因子 CCL2 和 CCL5 的表达水平,先前表明在肾病的发展过程中,CCL2 和 CCL5 的表达水平在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的肾脏中被逐渐上调 (Perez de Lema 2001)。与经媒介物治疗的对照相比较,在年龄的第 14 至 24 周用

mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 进行治疗减少了 CCL2 和 CCL5mRNA 的肾表达 (图 38)。

[0684] 抗-CCL2 镜像异构体在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中减少肾外的自身免疫性组织损伤

[0685] 在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中,皮肤和肺通常也受自身免疫性组织损伤的影响。在经媒介物治疗的小鼠中,自身免疫性肺病的特征在于中等的细支气管周的和血管周的炎性细胞浸润物,并且在 60% 的小鼠中观察到皮肤损害 (图 39、40 和 35)。分别与经媒介物、PoC 和 PoC-PEG 治疗的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠相比较, mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 两者都减少了支气管周的炎症和皮肤疾病 (图 39、40 和 35)。因此, CCL2- 特异性镜像异构体的效果不局限于狼疮肾炎,而是延伸到 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的自身免疫性组织损伤的其他表现。

[0686] mNOX-E36 和在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的淋巴组织增生综合征、dsDNA 自身抗体及血清细胞因子水平

[0687] 雌性 MRL^{1pr/1pr} 小鼠发展出了淋巴组织增生综合征,其特征在于严重的脾肿大以及颈部、腋窝、腹股沟和肠系膜淋巴结团块。mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 两者都对 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的脾重量和淋巴结重量没有影响 (图 41)。MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的自身免疫的特征在于针对多种核抗原 (包括 dsDNA) 的自身抗体的产生。在 24 周龄的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中,血清 dsDNA IgG, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b} 自身抗体以高水平存在。mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 两者都对任一种这些 DNA 自身抗体没有影响 (图 41)。在经媒介物治疗的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的狼疮样疾病的特征在于升高的 IFN- α 、IL-12p40 和 IL-6 的血清水平。mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 两者都对任一种这些炎症介质没有影响 (图 41)。因此,这两种 mNOX-E36 变体都不影响 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的淋巴组织增生、抗-dsDNA IgG 产生和血清细胞因子水平。

[0688] MRL^{1pr/1pr} 小鼠中 mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 的血浆水平

[0689] 以一周的间隔测定 mNOX-E36 和 mNOX-E36-3' PEG 血浆水平,以便在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的进行性肾病过程中监控药物暴露。在该研究的整个过程中,在注射后 3 小时的平均 mNOX-E36 血浆水平和在注射后 24 小时的平均 mNOX-E36-3' PEG 血浆水平分别为约 300nM 和 1 μ M (图 42)。因此,PEG 化增加了 mNOX-E36 的血浆水平,并且 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的进行性肾病没有调节这两种镜像异构体的药物动力学。

[0690] mNOX-E36-3' PEG 阻断单核细胞从骨髓中渗出

[0691] 据显示,细菌感染过程中单核细胞从骨髓中的渗出涉及趋化因子受体 CCR2 (Serbina 2006),但是 CCL2 在自身免疫情形中的作用仍然是假定的。因此,在 24 周龄 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的经 mNOX-E36-3' PEG 和媒介物治疗的组的小鼠中,检查了外周血和骨髓中的 CCR2- 阳性单核细胞群体。用 mNOX-E36-3' PEG 进行治疗使骨髓中的 CCR2 阳性细胞百分比从 13% 增加至 26%,而它使外周血中的该群体从 26% 减少至 11% (图 43)。这些数据支持了 CCL2 对于在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的自身免疫性疾病过程中 CCR2 阳性细胞从骨髓中逃逸出的作用。

[0692] 总结

[0693] 通过应用镜像异构体技术,产生了新的且特异性的 mCCL2 拮抗剂,其在体外和体内有效地阻断 mCCL2。事实上,最近出现的使用 CCL2 镜像异构体进行治疗在 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中显著改善了晚期狼疮样自身免疫性组织损伤。这些数据支持了 CCL2 在慢性炎症组织损伤中的中心作用,并将 CCL2 镜像异构体鉴定为新的用于自身免疫组织损伤的治疗剂。

[0694] 实施例 9:使用抗-mMCP-1 镜像异构体治疗在经单侧肾切除的糖尿病小鼠中的糖

尿病性肾病

[0695] 糖尿病性肾病依然是终末期肾病的最主要原因,因为靶向血管紧张素依赖性的病理机制常常不能防止疾病的进展 (Zimmet 2001;Ritz1999;United States Renal Data System 2004;Svensson 2003)。因此,对于糖尿病性肾病的治疗方法需要加入其他治疗策略。

[0696] 来自最近的实验研究的数据将糖尿病性肾病的发展与肾内炎症相关联 (Galkina 2006;Mora 2005;Meyer 2003;Tuttle 2005)。例如,吗替麦考酚酸酯、甲氨蝶呤或辐射减少了患有经链脲佐菌素诱导的糖尿病性肾病的大鼠中的尿白蛋白排泄和肾小球硬化 (Yozai 2005;Utamura 2003)。然而,糖尿病性肾病中的肾内炎症的分子和细胞机制依然很难表征。患有糖尿病性肾病的患者具有增加的炎症的急性期标记物的血清水平,但这可能并不可代表肾内炎症 (Dalla Vestra2005;Navarro 2003)。患有糖尿病性肾病的患者将高水平的 CC-趋化因子单核细胞化学吸引蛋白 1 (MCP-1/CCL2) 排泄于尿中,这可能对于肾内炎症来说是更特异的 (Morii 2003;Tashiro 2002;Takebayashi 2006)。事实上, MCP-1/CCL2 是由暴露于高的葡萄糖浓度或高级糖基化终产物的人肾小球膜细胞所表达的 (Ihm 1998;Yamagishi 2002)。CCL2 参与白细胞从血管内募集至血管外区室 (即肾小球和肾间质) 中这一复杂的多步骤过程 (Baggiolini 1998)。实际上,巨噬细胞浸润物是人和实验性的糖尿病性肾小球硬化及肾小管间质损伤中的普遍发现 (Bohle 1991;Furuta 1993;Chow 2007)。Ccl2-缺陷型 1 型或 2 型糖尿病小鼠具有更低的肾小球巨噬细胞计数,这与较少的肾小球损伤相关 (Chow 2004;Chow 2006)。在这些研究中,还证实了 CCL2 对于 1 型和 2 型糖尿病性肾病的肾小球病理学的功能性作用。因此, CCL2 可能代表了对于糖尿病性肾病的潜在的治疗靶,并且具有有利的药物动力学特性曲线的合适 CCL2 拮抗剂在该疾病情形中应当被证实是有效的。在该实施例中,我们报导了 PEG 化的抗 -CCL2 镜像异构体 mNOX-E36-3'PEG 在患有晚期糖尿病性肾病的 2 型糖尿病 db/db 小鼠中的效果。我们显示, 抗 CCL2-镜像异构体应该适合用于治疗糖尿病性肾病。

[0697] 动物和实验方案

[0698] 5 周龄的雄性 C57BLKS db/db 或 C57BLKS 野生型小鼠从 Taconic (Ry, Denmark) 获得,并将其在研究期间圈养于具有过滤盖的笼中,采用 12 小时黑暗 / 光照循环并且可不受限制地摄取食物和水。将笼、草垫、小巢 (nestlets)、食物和水在使用前通过高压灭菌法进行灭菌。在 6 周龄时,如以前所描述的 (Bower 1980),在 db/db 和野生型小鼠中通过 1cm 的胁腹切口实施单侧肾切除术 (“1K”小鼠) 或假手术 (“2K”小鼠)。在假手术组的小鼠中,肾脏保留在原位。10 周后,在 4 个月大时,将 1K db/db 小鼠分成两组,其每周 3 次接受使用在 5% 葡萄糖中的 mNOX-E36-3'PEG 或 PoC-PEG (剂量, $0.9 \mu\text{mol/kg}$; 注射体积, 1ml/kg) 的皮下注射。让该治疗持续 8 周 (直到 6 个月大),到那时,将动物处死并获得组织以用于组织病理学评估。所有的实验操作过程都已经得到当地政府机构的批准。

[0699] 糖尿病性肾病的评估

[0700] 如所描述的 (Anders 2002),在石蜡包埋的切片上实施所有免疫组织学研究。将下列抗体用作一抗:大鼠抗 -Mac2 (肾小球巨噬细胞, Cederlane, Ontario, Canada, 1 : 50)、抗 -Ki-67 (细胞增殖, Dianova, Hamburg, Germany, 1 : 25)。对于组织病理学评估,从每只小鼠中,将肾脏的一部分在磷酸盐缓冲盐水中的 10% 福尔马林中进行固定,并包埋于石蜡中。

按照供应商 (Bio-Optica, Milano, Italy) 的说明书, 将 $3\mu\text{m}$ 切片用高碘酸-希夫试剂或银进行染色。肾小球硬化损害通过如下采用由不知情的观察者进行半定量评分来评估: 分别地, 0 = 无损害, 1 = $\leq 25\%$ 硬化, 2 = 25-49% 硬化, 3 = 50-74% 硬化, 4 = 75-100% 硬化。每个切片分析 15 个肾小球。如以前描述的 (Anders 2002), 通过将 100 个点的网格叠合在 10 个非重叠的皮质区域上来测定间隙体积指数和肾小管扩张指数。由不知情的观察者在 15 个高倍视野 (hpf, $400\times$) 中测定间质细胞计数。从脱石蜡的肾小球中进行 RNA 制备和实时定量 (TaqMan) RT-PCR。在 60°C 下于裂解缓冲液 (10mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, 2% SDS 和 $20\mu\text{g/ml}$ 蛋白酶 K) 中孵育 16 小时后, 实施基于苯酚-氯仿的 RNA 提取。将肾小球 RNA 溶解于 $10\mu\text{l}$ 无 RNA 酶的水中。如所描述的 (Anders 2002, Cohen 2002), 从总器官和肾小球 RNA 中实施逆转录和实时 RT-PCR。关于靶和管家基因由 ddH₂O 组成的对照是阴性的。用于 mCcl2、Gapdh 和 18S rRNA 的寡核苷酸引物 (300nM) 和探针 (100nM) 是来自 PE 的预先开发的 TaqMan 测定法试剂。引物和探针来自 ABI Biosystems, Weiterstadt, Germany。通过在单次推注后 5、10、15、20、35、60 和 90 分钟时的血浆 FITC-菊粉 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) 的清除动力学来测定肾小球滤过率 (GFR) (Qi 2004)。荧光以 485nm 的激发进行测定, 并以 535nm 的发射进行读取。使用非线性回归曲线拟合软件 (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc., San Diego, CA), 基于二室模型来计算 GFR。将所有数据都表示为平均值 $\pm$ SEM。使用 ANOVA 来进行组的比较, 并且此后将 Bonferroni 校正用于多重比较。 $p < 0.05$ 的值被认为是表明了统计学显著性。

[0701] 结果

[0702] mNOX-E36-3' PEG 减少了经单侧肾切除的 db/db 小鼠中的肾小球巨噬细胞计数和总体肾小球硬化

[0703] 当功能性 CCL2 的缺乏与 db/db 小鼠中肾小球巨噬细胞募集的减少有关 (Chow 2007) 并且 mNOX-E36-3' PEG 能够在体外和体内阻断 CCL2-介导的巨噬细胞募集, 则 mNOX-E36-3' PEG 应当削弱患有晚期 2 型糖尿病性肾病的 db/db 小鼠中的肾巨噬细胞募集。为了检验这一假设, 我们在 4 个月大的经单侧肾切除的 ("1K") db/db 小鼠中开始皮下注射 mNOX-E36-3' PEG 或 PoC-PEG。该治疗持续 8 周, 到那时, 收集组织以用于评估糖尿病性肾病。在这一过程中, mNOX-E36-3' PEG 治疗没有显著影响白细胞或血小板计数、血糖水平或体重, 而白细胞或血小板计数、血糖水平或体重在所有 db/db 小鼠组中都相比非糖尿病 BLKS 小鼠而言显著升高 (数据未显示)。有趣的是, mNOX-E36-3' PEG 增加了 1K db/db 小鼠中的 CCL2 血清水平, 这表明 CCL2 拮抗剂使 CCL2 保留在循环中 (图 44)。与我们的假设相一致, 与经 PoC-PEG 或媒介物治疗的 db/db 小鼠相比较, mNOX-E36-3' PEG 使肾小球巨噬细胞的数目显著减少了 40%, 这与在经 mNOX-E36-3' PEG 治疗的 db/db 小鼠的肾小球内 Ki-67 阳性增殖性细胞数目较低相关 (图 45)。这些发现与 1K db/db 小鼠中总体糖尿病性肾小球硬化的显著改善有关 (图 46)。实际上, mNOX-E36-3' PEG 治疗使 1K db/db 小鼠中的糖尿病性肾小球硬化减轻至在年龄相当的未经肾切除的 ("2K") db/db 小鼠中所存在的肾小球硬化的程度 (图 46)。这些发现显示, 由 mNOX-E36-3' PEG 引起的 CCL2-依赖性肾小球巨噬细胞募集的延迟阻断可在 2 型糖尿病 db/db 小鼠中预防总体糖尿病性肾小球硬化。

[0704] mNOX-E36-3' PEG 改善了 1K db/db 小鼠中的 GFR

[0705] mNOX-E36-3' PEG 治疗对于 1K db/db 小鼠中的糖尿病性肾小球硬化的有益效果应

当与更好的 GFR 相关。我们在 db/db 小鼠中分析了作为 GFR 的标志的 FITC- 菊粉清除动力学 (Qi 2004)。与 db/db 小鼠中正常的大约 250ml/ 分钟的 GFR (Qi 2004) 相比较, 我们发现在注射了 PoC-PEG 的 6 个月大的 1K db/db 小鼠中 GFR 降低为 $112 \pm 23 \text{ml/分钟}$ (图 47)。mNOX-E36-3' PEG 治疗在 1K db/db 小鼠中将 GFR 显著改善至 $231 \pm 30 \text{ml/分钟}$ ($p < 0.001$), 这暗示阻断 CCL2- 依赖性肾小球巨噬细胞募集也可以改善 2 型糖尿病小鼠中的肾功能。

[0706] mNOX-E36-3' PEG 减少了 1Kdb/db 小鼠中的间质巨噬细胞计数和肾小管间质损伤

[0707] 人的晚期糖尿病性肾病与显著数量的间质巨噬细胞和肾小管间质损伤相关 (Bohle 1991)。在 2K db/db 小鼠中, 间质巨噬细胞浸润物和显著的肾小管间质损伤不在 8 月龄之前出现 (Chow 2007)。在 db/db 小鼠中, 早期单侧肾切除术加速了肾小管间质病理学的发展 (Ninichuk2005), 因而我们对间质巨噬细胞、肾小管扩张和间隙体积进行定量以作为 6 月龄的所有组的小鼠中肾小管间质损伤的标志。在这时, 与 2K db/db 小鼠相比较, 1K db/db 小鼠显示出间质巨噬细胞的数目增加以及肾小管扩张和间隙体积显著升高 (图 45, 图 48)。mNOX-E36-3' PEG 治疗使 1K db/db 小鼠中的间质巨噬细胞数目减少了 53%, 而且还减少了肾小管扩张和间隙体积 (图 45, 图 48)。因此, 阻断 CCL2- 依赖性肾巨噬细胞募集还可预防 2 型糖尿病 db/db 小鼠中的肾小管间质损伤。

[0708] mNOX-E36-3' PEG 减少了 1K db/db 小鼠中 Ccl12 的肾表达

[0709] 巨噬细胞浸润物增强了组织损伤中的炎症应答, 例如局部的 CCL2 表达。因此, 我们假定, 肾巨噬细胞的与 mNOX-E36-3' PEG 相关的减少应该与较低的肾 CCL2 表达有关。我们利用实时 RT-PCR 来定量 db/db 小鼠中 CCL2 的 mRNA 表达。与年龄相当的经 PoC-PEG 治疗的小鼠相比较, mNOX-E36-3' PEG 减少了 6 个月大的 1K db/db 小鼠肾脏中的 CCL2 的 mRNA 水平 (图 49)。为了进一步评估 CCL2 的空间表达, 我们在肾切片上进行了对于 CCL2 蛋白质的免疫染色。与 2K db/db 小鼠或 2K 野生型小鼠相比较, 在 1K db/db 小鼠中, CCL2 的表达在肾小球、肾小管和间质细胞中明显提高 (图 50)。与经媒介物或 PoC-PEG 治疗的 1K db/db 小鼠相比较, mNOX-E36-3' PEG 明显减少了在所有这些区室中的 CCL2 染色。这些数据表明, 用 mNOX-E36-3' PEG 阻断 CCL2- 依赖性肾巨噬细胞募集减少了 1Kdb/db 小鼠中 CCL2 的局部表达。

[0710] 总结

[0711] 炎症促进人糖尿病性肾病的发展这一概念逐渐变得为人所接受 (Tuttle 2005), 这使得 MCP-1/CCL2 作为潜在的靶来治疗该疾病成为焦点。在该实施例中, 我们已经显示, 用 mNOX-E36-3' PEG 治疗经单侧肾切除的糖尿病小鼠在 6 月龄时减少了肾小球 (和间质) 的巨噬细胞数目, 这与较少的增殖性肾小球细胞相关。另外, 用 mNOX-E36-3' PEG 治疗使 CCL2mRNA 的肾 / 肾小球表达明显减少。此外, 治疗组中较少数目的肾小球巨噬细胞和肾小球增殖性细胞与保护免于总体肾小球硬化以及与显著改善的肾小球滤过率有关。mNOX-E36-3' PEG 对于糖尿病小鼠中的肾小球病理学和肾功能的有益效果与在其他肾小球损伤模型中使用其他 CCL2 拮抗剂的那些研究 (Lloyd 1997, Hasegawa 2003, Tang 1996, Wenzel 1997, Fujinaka1997, Schneider 1999) 相一致。引人注意的是, CCL2 阻断的延迟发生也减少了 1K db/db 小鼠中的间质巨噬细胞数目, 这与较少的肾小管间质病理学相关。

[0712] 总之, 这些数据证实了 CCL2 为具有前景的用于糖尿病性肾病的治疗靶, 并暗示了用镜像异构体起始 CCL2 阻断 (即使在疾病的晚期) 仍然具有保护作用。

[0713] 实施例 10 :mNOX-E36-3'-PEG 允许环磷酰胺的剂量减少,以控制 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的弥漫性增生性狼疮肾炎和肺炎

[0714] 人弥漫性增生性狼疮肾炎(缩写 DPLN)的控制需要用环磷酰胺(缩写 CYC)或麦考酚酸酯(缩写 MMF)的有效免疫抑制。2 种药品各自与显著发病率和死亡率相关(Appel 2007)。大多数严重不良事件和死亡涉及由于 CYC 和 MMF 的非特异性免疫抑制作用的感染(Appel 2007)。特异性阻断自身免疫炎症的新型药品可能允许减少目前治疗方案的毒性,通过替换 CYC 和 MMF 或通过组合中使用允许显著剂量减少。

[0715] 实验研究已揭示 MCP-1 及其受体 CCR2 在自身免疫组织损害例如全身性红斑狼疮(缩写 SLE)的表现中具有关键作用(Gerard 2001);例如,已证实具有实验性 SLE 的 MCP-1 或 CCR2 缺陷的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠受保护以免 DPLN(Perez 2005;Tesch 1999)。用抗 MCP-1 镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 作为单一疗法的小鼠阻断的有利作用已在体内用雌性 MRL^{1pr/1pr} 小鼠得到证实;从 14 周大开始用 mNOX-E36-3'-PEG 处理 10 周显著改善 DPLN,如实施例 9 中所示。尽管疗效是明确显著的,但仍不明与 CYC 或 MMF 的功效相比较,mNOX-E36-3'-PEG 的功效如何。为了评估与完全剂量 CYC 等价的疗效——这有效抑制免疫系统——也可以用低剂量 CYC 加上 mNOX-E36-3'-PEG 的组合来达到,执行第二种体内研究。

[0716] 动物和实验方案

[0717] 从 Harlan Winkelmann(Borchen, Germany) 获得 7 周龄的雌性 MRL^{1pr/1pr} 小鼠,并将其以 12 小时的光照和黑暗循环保持在正常居住条件下。可以随意获得水和标准食物(Ssniff, Soest, Germany)。从 14 周龄开始,小鼠如下注射 10 周:(A),5%葡萄糖 s.c.(媒介物组);(B),0.89 μ mol/kg PEG 化的对照镜像异构体 revmNOX-E36s.c.;(C),0.89 μ mol/kg mNOX-E36-3'-PEG s.c.;(D),30mg/kg/4 周 CYC i.p.(CYC 低);(E),30mg/kg/ 周 CYC i.p.(CYC 高);(F),0.89 μ mol/kg mNOX-E36-3'-PEG 加上 30mg/kg/4 周 CYC(组合)和(G),100mg/kg/ 天 MMF 口服(Roche, Mannheim, Germany)。所有媒介物或镜像异构体注射给予 3x/ 周。在 10 周处理结束时,通过颈脱位法处死小鼠。所有实验操作根据德国动物管理和伦理法来执行并且得到当地政府当局批准。

[0718] 全身性狼疮的评估

[0719] 计算出脾和肠系膜淋巴结团块(bulk)与总体重的重量比作为与狼疮相关的淋巴组织增生综合征的标志。如以前所描述的(Pawar2006)测定尿白蛋白/肌酐比率。将来自所有小鼠的肾脏和肺在 10%缓冲的福尔马林中固定,处理,并包埋于石蜡中。按照常规方案制备用于高碘酸-希夫染色的 5- μ m 切片(Anders 2002)。使用如关于人狼疮肾炎所描述的活性指数和慢性指数(Austin 1984)对肾脏损害的严重程度进行分级。由不知情观察者将支气管周围炎症的严重程度半定量地分级为 0-4。如以前描述的(Anders 2002)进行免疫染色。使用下列一抗:大鼠抗-Mac2(巨噬细胞,Cederlane, Ontario, Canada, 1:50)、抗-小鼠 CD3(1:100,克隆 500A2,BD)。阴性对照包括与相应的同种型抗体一起孵育。计数在 15 个皮质肾小球/切片中的肾小球细胞。通过高倍视野(缩写 hpf)计数间质细胞。

[0720] 统计分析

[0721] 数据表示为平均值 $\pm$ 平均值的标准误(SEM)。组之间的比较用单变量 ANOVA 来完成。将 Posthoc Bonferroni 校正用于多重比较。 $p < 0.05$ 的值被认为是表明了统计学显著性。

[0722] 用 mNOX-E36-3'-PEG 的添加 (Add-on) 疗法改善每月 CYC 对 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的肾疾病的作用

[0723] 雌性 MRL^{1pr/1pr} 小鼠发展类似于人中的 DPLN 的增生性免疫复合物肾小球肾炎。MRL^{1pr/1pr} 小鼠从 14 周龄到 24 周龄用 CYC、MMF、镜像异构体或媒介物进行处理。这代表治疗性处理方案,因为在 14 周龄时,MRL^{1pr/1pr} 小鼠显示具有活性得分指数 4.1 ± 1.1 的 DPLN。在这个年龄时,不存在小管间质性区室的主要畸形(未显示)。在处理 10 周后,媒介物和对照镜像异构体处理的 MRL^{1pr/1pr} 小鼠揭示 DPLN 伴随肾小球细胞过多、肾小球基质扩张、局灶性簇坏死(focal tuftnecrosis)以及混合的肾小球外周和间质炎性细胞浸润。每周 CYC 和每月 CYC 加上 mNOX-E36-3'-PEG 在改善狼疮肾炎的活性和慢性指数中是同等有效的(图 51A 和 51B)。mNOX-E36 和单独的低剂量 CYC 以及 MMF 较不有效,但仍显著改善狼疮肾炎的活性和慢性指数。因此,将 mNOX-E36-3'-PEG 加入基于每月 CYC 的方案中对于 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的 DPLN 与每周 CYC 治疗一样有效。

[0724] mNOX-E36 和每月 CYC 对 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的肾中的免疫细胞浸润的减少具有累加作用

[0725] 免疫细胞浸润促成狼疮肾炎中的肾损伤 (Vielhauer 2006),并且 MCP-1 介导 T 细胞和巨噬细胞招募至 MRL^{1pr/1pr} 小鼠 (Tesch 1999)。因此假定 mNOX-E36-3'-PEG/ 每月 CYC 组合的累加作用可能涉及 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中受损的巨噬细胞和间质 T 细胞招募。肾小球和间质巨噬细胞和间质 T 细胞 (Mac2+ 巨噬细胞和 CD3+T 细胞) 通过免疫染色的评估揭示每周 CYC 和每月 CYC 加上 mNOX-E36 在减少 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的肾脏中的肾小球以及间质 Mac2+ 巨噬细胞数目中是同等有效的(图 51C 和 51D)。mNOX-E36-3'-PEG 和单独的每月 CYC 以及 MMF 较不有效,但仍显著减少 2 个区室中的巨噬细胞(图 51C 和 51D)。对于间质 CD3 阳性 T 细胞数目同样发现这点(图 3E)。因此,mNOX-E36-3'-PEG 和每月 CYC 对 MRL^{1pr/1pr} 小鼠的肾病理学的累加作用与间质巨噬细胞和 T 细胞以及肾小球巨噬细胞的显著减少相关,这类似于每周 CYC 的作用。

[0726] mNOX-E36-3'-PEG 和每月 CYC 对 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的肺损伤的减少具有累加作用

[0727] 自身免疫支气管周炎是 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的狼疮样全身性自身免疫的另一种表现。每周 CYC 在控制 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的肺损伤中比每月 CYC 更有效。然而,每月 CYC 加上 mNOX-E36 与每周 CYC 一样有效(图 52)。令人惊讶的是,MMF 对 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的肺损伤没有作用。

[0728] 总结

[0729] 数据证实在 14 周龄时(当自身免疫组织损伤已建立的时间点 (Tesch 1999; Perez 2001)) 起始的 mNOX-E36 和低剂量 CYC 处理的组合在抑制 MRL^{1pr/1pr} 小鼠中的 DPLN 和肺损伤中与高剂量 CYC 一样有效。总之,与 CYC 组合的 MCP-1 的抑制允许显著的 CYC 剂量减少,这避免 CYC 的严重免疫毒性作用,尽管等效控制自身免疫组织损伤如 DPLN。这个新型概念可能帮助减少具有 DPLN 和自身免疫疾病的潜在其他严重表现的患者中的严重和潜在威胁生命的 CYC 毒性,所述自身免疫疾病牵涉 MCP-1 依赖性免疫细胞浸润。

[0730] 实施例 11 :COPD 筛选研究——通过用结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 处理减少到肺内的细胞浸润

[0731] 慢性呼吸道疾病的异质群体包括慢性支气管炎、慢性阻塞性肺疾病(缩写 COPD)和哮喘。来自受 COPD 和哮喘影响的患者的肺组织学显示巨噬细胞和粒细胞的显著气道浸

润,在 COPD 中主要是嗜中性白细胞并且在哮喘中主要是嗜酸性粒细胞。在临床研究中,这些炎症参数已显示与肺功能中的减少和对于非特异性刺激扩大的支气管收缩(气道高反应性[缩写 AHR])相关。少数体内模型模仿 COPD 的慢性炎症,提供经过许多天的肺功能检查,并且刺激与嗜中性白细胞增多症和 AHR 相关的粘液分泌过多。已显示大鼠/人单次暴露于脂多糖(缩写 LPS)引起急性肺嗜中性白细胞增多症和 AHR。LPS 的吸入引起与 COPD 类似的进一步特征,即肺功能中的进行性下降、持续 AHR、和支气管肺泡液体中的嗜中性炎症细胞群体、连同一氧化氮生产过剩。衍生自炎症细胞激活、招募和 LPS 的介质被认为诱导上皮增殖、通透性和粘液高酸分泌性表型。

[0732] 在这篇报告中描述的研究中,使用细菌 LPS 的攻击模型用于评估结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 在 LPS 诱导的大鼠肺炎症模型中的疗效。所有动物用 LPS 进行攻击用于诱导急性呼吸道炎症。执行用结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG、地塞米松(药理学参考物质 1)和罗氟司特(药理学参考物质 2)以不同剂量的治疗干预。

[0733] 地塞米松是类固醇激素的糖皮质激素类别的有效合成成员。它充当抗炎剂以及免疫抑制剂:

[0734] (I),抗炎:糖皮质激素诱导脂皮质素-1(膜联蛋白-1)合成,这随后与细胞膜结合,阻止磷脂酶 2 与其底物花生四烯酸接触;这导致减少的类花生酸产生。环加氧酶(COX-1 和 COX-2)表达也得到抑制,使该效应成为可能。换言之,炎症中的 2 种主要产物——前列腺素和白三烯受糖皮质激素作用的抑制。糖皮质激素也刺激脂皮质素-1 逸出至细胞外间隙,其中它与白细胞膜受体结合,并且抑制各种炎症事件:上皮粘附,迁出,趋化现象,噬菌作用,呼吸爆发,以及各种炎症介质从嗜中性白细胞、巨噬细胞和肥大细胞中的释放(溶酶体酶、细胞因子、组织型纤溶酶原激活物、趋化因子等)。

[0735] (II),免疫抑制:糖皮质激素抑制细胞介导的免疫。它们通过抑制许多细胞因子基因发挥作用,其中最重要的是 IL-2 基因,这因此减少 T 细胞增殖。除阻止 T 细胞增殖外,另一种众所周知的效应是糖皮质激素诱导的凋亡。该效应在仍驻留在胸腺中的幼 T 细胞中更显著,但也影响外周 T 细胞。最后,糖皮质激素抑制体液免疫,促使 B 细胞表达更少量的 IL-2 和 IL-2 受体。这减少 B 细胞克隆扩增和抗体合成。减少量的 IL-2 还引起更少的 T 淋巴细胞被激活。

[0736] 罗氟司特是充当磷酸二酯酶 PDE-4 的选择性、长效抑制剂的药品。它具有抗炎作用并且处于作为用于治疗肺的炎症病状的口服施用药品的开发中,所述肺的炎症病状例如哮喘、慢性阻塞性肺疾病和肺气肿。虽然发现罗氟司特在临床试验中有效,但它产生几种剂量限制性副作用,包括恶心、腹泻和头痛,并且继续尝试开发,以使副作用的发生降到最低同时保留临床功效。

[0737] 动物和饲养

[0738] 在这个研究以及建立的 LPS 诱导的炎症模型中使用雄性 SpragueDawley 大鼠。大鼠通过 Harlan Winkelmann, Borcheln, Germany 以 5 周龄(约 80-110g)供应,并且在 7 周龄时开始研究。动物圈养在 Makrolon®(聚碳酸酯)笼(2 只大鼠/笼)中,并且在常规实验室条件下维持。笼和软木垫(softwood bedding)材料(Ssniff 3/4, Soest, Germany)每周更换 2 次。电子监控动物室的温度和相对湿度,并且在连续基础上记录。限制对于温度设为 $22 \pm 2^\circ\text{C}$,并且对于相对湿度设为 $55 \pm 15\%$ 。12 小时黑暗/光照循环用于通过

自动定时装置的光调节。作为饮食使用以丸剂形式的商品化食物 (Ssniff R/M-H V1534, Ssniff **Spezialdiäten**, Soest, Germany)。可不受限制地摄取食物和饮用水 (Stadtwerke Hannover)。

[0739] 在随机化和第一次致敏前,允许动物调整并且变得适应实验室的环境 2 周。在该研究中使用的动物未显示其健康状况的任何下降征兆。所有动物在其笼中每天进行观察。

[0740] 材料

[0741] 结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3' PEG

[0742] 用于 mNOX-E36-3' -PEG 的媒介物:用于注射用途的 5% 葡萄糖溶液

[0743] LPS:来自大肠埃希杆菌 (*Escherichia coli*) 0111:B4 的脂多糖 (Sigma/Aldrich, 批号 76K4085)。工作溶液在应用当天时新鲜制备。

[0744] 药理学参考物质 (1):地塞米松二氢化磷酸 (dihydrogenphosphat) 钠溶液, Ratiopharm 批号 H224164mg/mL 溶液。母液在打开后在冰箱中贮藏 7 天。工作溶液在应用当天时新鲜制备。

[0745] 药理学参考物质 (2):罗氟司特 (选择性 PDE4 抑制剂, 批号 K429927)。工作溶液在应用当天时新鲜制备。

[0746] 用于地塞米松的媒介物:Dulbecco's 磷酸盐缓冲盐水 (缩写 DPBS) -0.0095M (P04) 不含 Ca^{++} 和 Mg^{++}

[0747] 研究的执行

[0748] 所有动物在其第一次致敏前进行称重和随机化:考虑到其重量,将它们平等地分配至各 10 只动物的组。在分配至组后,检查平均体重的平均值和标准差 ($\pm$ SD),并且在每个组内以及在组之间低于 20%。动物的体重个别进行测量且记录。

[0749] 在研究第 1 天时,通过吸入执行 LPS 攻击,导致约 $2.93 \mu\text{g}$ LPS 的沉积剂量。在 LPS 攻击前 (阳性对照) 或清洁空气攻击 (阴性对照) 1 小时,阳性和阴性对照组的动物用媒介物 (5% 葡萄糖) 进行 i. v. 处理。药理学对照 (1) 中的动物在 LPS 攻击前 18 和 1 小时 i. p. 接受 2mg/kg 地塞米松;药理学对照 (2) 中的那些动物胃内接受 $600 \mu\text{g}$ 罗氟司特/动物。使用结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 的处理在 LPS 攻击前 1 小时通过静脉内注射以 4 个不同剂量完成 (0.02mg/kg; 0.2mg/kg; 2mg/kg; 20mg/kg)。

[0750] 攻击后 24 小时,用过量戊巴比妥钠无痛处死动物,并且收集支气管肺泡灌洗 (缩写 BAL)。动物的肺灌洗 5 次,每次用 5.0ml 冰冷的 0.9% NaCl。对于 BAL 的评估,第一次灌洗的上清液在通过离心使细胞沉降后进行等分。这之后,合并来自所有灌洗的细胞,并且在收集后紧接着进行离心 (以 1,200U/分钟 10 分钟)。使细胞重悬浮于 1mLPBS 中,并且在 **CasyÒ** 细胞计数器中自动计数。根据 Pappenheim 制备细胞斑点 (Cytospots) 且染色,以评估细胞分类计数。通过计数 400 细胞的总数目/细胞斑点分析肺中的炎症状态,包括巨噬细胞/单核细胞、嗜中性白细胞、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞数目。

[0751] 统计方法

[0752] 为了检验组之间的显著差异,使用非参数检验。对于多重比较 (> 2 个组),执行 Anova 检验和非参数 Dunnett 检验。具有 $p < 0.05$ 的差异视为显著性的。

[0753] 结果

[0754] 如预期的,与阳性对照组相比较,BAL 中的总细胞数目在阴性对照组中明显减少。

用 20mg/kg 结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 的处理导致阳性对照组在 BAL 中 41% 的总细胞数目显著减少。使用地塞米松的处理诱导 71% 的细胞数目减少,而罗氟司特未显示任何显著作用(参见图 53A)。

[0755] 吸入 LPS 攻击诱导通过 BAL 中 71.8% 的嗜中性白细胞粒细胞的嗜中性白细胞增多症表示的肺中的炎症。在阴性对照组中未经处理的动物的肺灌洗液不包含任何嗜中性白细胞粒细胞。使用地塞米松和 2 或 20mg/kg 结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 的处理导致显著减少的嗜中性白细胞数目。2mg/kg mNOX-E36-3'-PEG 已使嗜中性白细胞数目减少约 42%,并且 20mg/kg mNOX-E36-3'-PEG 导致约 48% 的嗜中性白细胞减少。与阳性对照组相比较,罗氟司特处理不影响支气管肺泡灌洗中的嗜中性白细胞的绝对和相对量(参见图 53B)。

[0756] 结论

[0757] 关于 BAL 中的不同细胞计数的结果正面证实在肺中急性 LPS 诱导的炎症应答的诱导。LPS 攻击的大鼠用地塞米松的治疗性处理显示在暴露于 LPS 后显著阻止炎症应答。对于用结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 处理的动物也获得显著的疗效。基于如本文显示的数据,结合 MCP-1 的镜像异构体具有在慢性呼吸道疾病优选 COPD 的治疗中使用的潜力,单独或在联合疗法中,优选在与地塞米松的联合疗法中。结合 MCP-1 的镜像异构体与地塞米松的联合疗法利用 2 种独立的作用方式,以便治疗慢性呼吸道疾病例如 COPD。

[0758] 实施例 12 :结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36 在实验性肺高压中的作用

[0759] 完成如本文所描述的研究,以便测定结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36 对大鼠中建立的野百合碱诱导的肺高压模型中的血液动力学和重塑的作用。

[0760] 肺动脉高压(缩写 PAH)通过在静止时平均肺动脉压 ≥ 20 mmHg 的升高、血管重塑和右心室肥大进行限定。特发性 PAH 也称为原发性肺高压(缩写 PPH)通常出现在年轻女性中,如果未治疗,导致在 3 年内由于右心衰竭的死亡。该疾病严重度的关键是肺血管重塑,特征在于肺动脉平滑肌细胞(缩写 PASMC)的增殖和迁移。在 PAH 的晚期也可以观察到新生内膜损害,作为内皮细胞增殖的结果。所观察到的病理状态是潜在自身永存的,具有在疾病进展中发挥作用的生长因子和炎症介质的同时失调。

[0761] 作为肺高压的啮齿类模型的野百合碱

[0762] 这个模型成功地预测了用于临床肺高压的所有现代治疗的临床结果,包括类前列腺素、磷酸二酯酶抑制剂和内皮素受体拮抗剂。此外,它提供用于 PAH 的预防和逆转研究的机会。在野百合碱模型中,大鼠被给予双吡咯烷类生物碱毒素野百合碱的单次皮下注射。该毒素产生炎症肺血管病,在 3-4 周后导致显著的肺高压。关于这个模型的读数包括右心室压、全身压力、右心室/左心室+隔膜重量比率(RV/[LV+S])和肺血管重塑。

[0763] 动物

[0764] 从 Charles River Laboratories(Sulzfeld, Germany) 获得成年雄性 Sprague Dawley 大鼠(300-350g 体重)。根据 National Institutes of Health Guidelines on the Use of Laboratory Animals 执行实验。

[0765] 实验方案

[0766] 生命内(In-life)操作:将野百合碱(缩写 MCT;Sigma,Deishofen)溶解于 1M HCl 中,用 NaOH 调整至 pH 7.4,并且如所述的以 60mg/kg 体重的剂量作为单次皮下注射进行施

用。对照大鼠接受等体积的等渗盐水。

[0767] 对于慢性干预性研究：将注射 MCT 的大鼠随机化，以通过皮下注射接受作为安慰剂的 5% 葡萄糖 ($n = 10$) 或结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG (对于 2 和 20mg/kg 的 2 种剂量分别为 $n = 10$)，每周 3 次。处理在注射 MCT 后 3 周 (当预期肺高压完全建立时的时间点) 起始。动物被处理另外 2 周的持续时间，即总共 6 次注射。在第 35 天时，测定血液动力学参数且制备组织。

[0768] 血液动力学：对于血液动力学参数的测量，使大鼠麻醉。然后，大鼠接受阿托品的 i. m. 注射 ($250 \mu\text{g/kg}$ 体重)，以使制备期间的血管迷走神经副作用降到最低。使大鼠切开气管并且用 60/ 分钟频率通风。呼气末正压设为 $1\text{cm H}_2\text{O}$ 。左颈动脉插入套管用于动脉压监控，并且通过右颈静脉插入右心导管，用于由流体填充力传感器测量右心室压。

[0769] 组织制备：在放血后，肺用等渗盐水以 $22\text{cm H}_2\text{O}$ 的恒压经由肺动脉进行冲洗。右肺在门处进行结扎，在液氮中速冻，并且贮藏于 -80°C ；左叶用 Zamboni's 固定剂以 $22\text{cm H}_2\text{O}$ 的压力经由肺动脉灌注 5 分钟。使组织在福尔马林 (4%) 中在 4°C 下固定 12 小时，并且随后转移到 0.1M 磷酸盐缓冲液内。

[0770] 右侧心脏肥大评估：为了评估右心室肥大，取出心脏且切开。计算出右心室重量与左心室加上隔膜重量的比率 $\text{RV}/(\text{LV}+\text{S})$ 。

[0771] 统计分析

[0772] 所有数据作为平均值 $\pm$ SEM 给出。对于多重比较，组之间的差异通过 ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 事后检验进行评估。

[0773] 结果

[0774] 如预期的，与健康动物相比较，MCT/ 安慰剂处理的动物显示右侧心脏肥大中明显和统计上显著的增加。然而，MCT/ 安慰剂处理的动物显示约 0.61 的 $\text{RV}/(\text{LV}+\text{S})$ ，健康大鼠仅具有约 0.23。结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 代替安慰剂的施用导致对于 2mg/kg MCT 处理的动物约 0.39 的显著减少的右侧心脏肥大，并且对于 20mg/kg mNOX-E36 约 0.45 (参见图 54A)。

[0775] 与右侧心脏肥大相一致，在 MCT/ 安慰剂处理的大鼠中所测量的右心室收缩压增至 69mmHg (健康动物, 29mmHg)。用结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 代替安慰剂的处理导致对于 2mg/kg mNOX-E36-3' PEG 约 46mmHg 的显著减少的右心室收缩压，并且对于 20mg/kg mNOX-E36-3' PEG 约 49mmHg (图 54B)。

[0776] 结论

[0777] 在 MCT/ 安慰剂处理的大鼠中关于右侧心脏肥大和右心室收缩压的结果正面证实通过 MCT 诱导肺动脉高压。结合 MCP-1 的镜像异构体 mNOX-E36-3'-PEG 对 MCT 处理的大鼠的施用显著阻止右侧心脏肥大和右心室收缩压。因此，结合 MCP-1 的镜像异构体是用于治疗肺高压的有希望的试剂。

[0778] 参考文献

[0779] 如果未表明与此相反，本文所引用的文献的完整参考文献资料 (其公开内容通过提及合并) 如下：

[0780] Akahoshi T, Wada C, Endo H, Hirota K, Hosaka S, Takagishi K, Kondo H, Kashiwazaki S, Matsushima K (1993). Expression of monocyte chemotactic and

activating factor in rheumatoid arthritis.Regulation of its production in synovial cells by interleukin-1 and tumor necrosis factor.Arthritis Rheum. 36 : 762

[0781] Alam R, York J, Moyars M, Stafford S, Grant JA, Lee J, Forsythe P, Sim T, Ida N (1996). Increased MCP-1, RANTES, and MIP-1 α in bronchoalveolar lavage fluid of allergic asthmatic patients. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 153 : 1398

[0782] Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990), Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 215(3) : 403-10.

[0783] Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST : a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. Sep 1 ; 25(17) : 3389-402.

[0784] Amann B, Tinzmann R, Angelkort B (2003). ACE inhibitors improve diabetic nephropathy through suppression of renal MCP-1. Diabetes Care 26 : 2421

[0785] Anders HJ, Vielhauer V, Frink M, Linde Y, Cohen CD, Blattner SM, Kretzler M, Strutz F, Mack M, Grone HJ, Onuffer J, Horuk R, Nelson PJ, **Schlöndorff** D (2002). A chemokine receptor CCR-1 antagonist reduces renal fibrosis after unilateral ureter ligation. J. Clin. Invest. 109 : 251

[0786] Anders HJ, Vielhauer V, **Schlöndorff** D (2003). Chemokines and chemokine receptors are involved in the resolution or progression of renal disease. Kidney Int. 63 : 401

[0787] Appel G, Dooley MA, Ginzler EM, Isenberg D, Jayne D, Solomons N, Wolfs D. (2007). Mycophenolate mofetil compared with intravenous cyclophosphamide as induction therapy for lupus nephritis : Aspreva Lupus Management Study (ALMS) results. J Am Soc Nephrol 18 : SA-FC057 [abstract]

[0788] Aurup H, Tuschl T, Benseler F, Ludwig J, Eckstein F. (1994). Oligonucleotide duplexes containing 2' -amino-2' -deoxycytidines : thermal stability and chemical reactivity. Nucleic Acids Res 22 : 20

[0789] Austin HA 3rd, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TT, Balow JE (1984). Diffuse proliferative lupus nephritis : identification of specific pathologic features affecting renal outcome. Kidney Int. 25 : 689

[0790] Austin HA III, Klippel JH, Balow JE, 等人 Therapy of lupus nephritis : controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. (1986) N Engl J Med 314 : 614-619.

[0791] Baggiolini M (1998). Chemokines and leukocyte traffic. Nature 392 : 565

[0792] Baggiolini M, Dewald B, Moser B. (1994). Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. Adv. Immunol. 55 : 97

[0793] Banba N, Nakamura T, Matsumura M, Kuroda H, Hattori Y, Kasai K (2000). Possible relationship of monocyte chemoattractant protein-1 with diabetic nephropathy. Kidney Int. 58 : 684

- [0794] Banisor I, Leist TP, Kalman B(2005). Involvement of β -chemokines in the development of inflammatory demyelination. *J. Neuroinflammation* 2:7
- [0795] Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, Greaves DR, Zlotnik A, Schall TJ(1997). A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature* 385:640 Berkhout TA(1997). *J Biol Chem* 272:16404
- [0796] Bohle A, Wehrmann M, Bogenschütz O, Batz C, Müller CA, Müller GA(1991). The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy. Investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis. *Pathol. Res. Pract.* 187:251
- [0797] Boring L, Gosling J, Chensue SW, Kunkel SL, Farese RV Jr, Broxmeyer HE, Charo IF(1997). Impaired monocyte migration and reduced type 1 (Th1) cytokine responses in C-C chemokine receptor 2 knockout mice. *J. Clin. Invest.* 100:2552
- [0798] Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF(1998). Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 394:894
- [0799] Boring L, Gosling J, Montecclaro FS, Luscis AJ, Tsou CL, Charo IF(1996). Molecular cloning and functional expression of murine JE (monocyte chemoattractant protein 1) and murine macrophage inflammatory protein 1 α receptors: evidence for two closely linked C-C chemokine receptors on chromosome 9. *J. Biol. Chem.* 271:7551
- [0800] Bossink AW, Paemen L, Jansen PM, Hack CE, Thijs LG, Van Damme J(1995). Plasma levels of the chemokines monocyte chemoattractant proteins-1 and -2 are elevated in human sepsis. *Blood* 86:3841
- [0801] Boumpas DT, Austin HA III, Fessler BJ, Balow JE, Klippel JH, Lockshin MD. Systemic lupus erythematosus: emerging concepts(1995). Part I. Renal, neuropsychiatric, cardiovascular, pulmonary, and hematologic disease. *Ann Intern Med* 122:940-950.
- [0802] Boumpas DT, Austin HA III, Vaughn EM, 等人 (1992) Controlled trial of pulse methylprednisolone versus two regimens of pulse cyclophosphamide in severe lupus nephritis. *Lancet* 340:741-745.
- [0803] Bower G, Brown DM, Steffes MW, Vernier RL, Mauer SM(1980). Studies of the glomerular mesangium and the juxtaglomerular apparatus in the genetically diabetic mouse. *Lab. Invest.* 43:333
- [0804] Charo IF, Myers SJ, Herman A, Franci C, Connolly AJ, Coughlin SR(1994). Molecular cloning and functional expression of two monocyte chemoattractant protein 1 receptors reveals alternative splicing of the carboxyl-terminal tails. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 91:2752
- [0805] Chow F, Ozols E, Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC, Tesch GH(2004). Macrophages in mouse type 2 diabetic nephropathy: Correlation with diabetic state and progressive renal injury. *Kidney Int.* 65:116

- [0806] Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ma FY, Ozols E, Rollins BJ, Tesch GH(2007). Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but not type 2 diabetes in obese db/db mice. *Diabetologia* 50 :471
- [0807] Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ozols E, Atkins RC, Rollin BJ, Tesch GH(2006). Monocyte chemoattractant protein-1 promotes the development of diabetic renal injury in streptozotocin-treated mice. *Kidney Int.* 69 :73
- [0808] Cockwell P, Howie AJ, Adu D, Savage CO(1998). In situ analysis of C-C chemokine mRNA in human glomerulonephritis. *Kidney Int.* 54 :827
- [0809] Cohen CD, **Gröne** HJ, **Gröne** EF, Nelson PJ, **Schlöndorff** D, Kretzler M(2002). Laser microdissection and gene expression analysis on formaldehyde-fixed archival tissue. *Kidney Int.* 61 :125
- [0810] Cummins LL, Owens SR, Risen LM, Lesnik EA, Freier SM, McGee D, Guinosso CJ, Cook PD. (1995). Characterization of fully 2' -modified oligoribonucleotide hetero- and homoduplex hybridization and nuclease sensitivity. *Nucleic Acids Res* 23 :2019
- [0811] Dalla Vestra M, Mussap M, Gallina P, Bruseghin M, Cernigoi AM, Saller A, Plebani M, Fioretto P(2005). Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16 Suppl 1 :S78
- [0812] Dawson J, Miltz W, Mir AK, Wiessner C(2003). Targeting monocyte chemoattractant protein-1 signalling in disease. *Expert Opin. Ther. Targets* 7 :35
- [0813] De Bleecker JL, De Paepe B, Vanwallegghem IE, Schroder JM(2002). Differential expression of chemokines in inflammatory myopathies. *Neurology* 58 :1779
- [0814] De Boer WI, Sont JK, van Schadewijk A, Stolk J, van Krieken JH, Hiemstra PS. (2000) Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8, and chronic airways inflammation in COPD(2000) *J Pathol.* 190(5) :619-26
- [0815] Dooley MA, Cosio FG, Nachman PH, 等人 Mycophenolate mofetil therapy in lupus nephritis : clinical observations. (1999) *J Am Soc Nephrol* 10 :833-839.
- [0816] Drolet DW, Nelson J, Tucker CE, Zack PM, Nixon K, Bolin R, Judkins MB, Farmer JA, Wolf JL, Gill SC, Bendele RA(2000). Pharmacokinetics and safety of an anti-vascular endothelial growth
- [0817] factor aptamer(NX1838) following injection into the vitreous humor of rhesus monkeys. *Pharm. Res.* 17 :1503
- [0818] Eaton BE, Gold L, Hicke BJ, Janjic N, Jucker FM, Sebosta DP, Tarasow TM, Willis MC, Zichi DA(1997). *Bioorg Med Chem* 5 :1087
- [0819] Eaton BE, Gold L, Zichi DA. (1995). Let's get specific : the relationship between specificity and affinity. *Chem Biol* 2 :633
- [0820] Economou E, Tousoulis D, Katinioti A, Stefanadis C, Trikas A, Pitsavos

C, Tentolouris C, Toutouza MG, Toutouzas P(2001). Chemokines in patients with ischaemic heart disease and the effect of coronary angioplasty. *Int. J. Cardiol.* 80 :55

[0821] Egashira K, Zhao Q, Kataoka C, Ohtani K, Usui M, Charo IF, Nishida K, Inoue S, Katoh M, Ichiki T, Takeshita A(2002). Importance of monocyte chemoattractant protein-1 pathway in neointimal hyperplasia after periarterial injury in mice and monkeys. *Circ. Res.* 90 :1167

[0822] Fujinaka H, Yamamoto T, Takeya M, Feng L, Kawasaki K, Yaoita E, Kondo D, Wilson CB, Uchiyama M, Kihara I(1997). Suppression of anti-glomerular basement membrane nephritis by administration of anti-monocyte chemoattractant protein-1 antibody in WKY rats. *J. Am. Soc. Nephrol.* 8 :1174

[0823] Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K-I, Hashimoto H, Ishiwata Y, Tomosugi N, Mukaida N, Matsushima K, Egashira K, Yokoyama H(2003). Gene therapy expressing amino-terminal truncated monocyte chemoattractant protein-1 prevents renal ischemia-reperfusion injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14 :1066

[0824] Furuta T, Saito T, Ootaka T, Soma J, Obara K, Abe K, Yoshinaga K(1993). The role of macrophages in diabetic glomerulosclerosis. *Am. J. Kidney Dis.* 21 :480

[0825] Galasso JM, Liu Y, Szaflarski J, Warren JS, Silverstein FS(2000). Monocyte chemoattractant protein-1 is a mediator of acute excitotoxic injury in neonatal rat brain. *Neuroscience* 101 :737

[0826] Galkina E, Ley K(2006). Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17 :368-377

[0827] Gao JL, Kuhns DB, Tiffany HL, McDermott D, Li X, Francke U, Murphy PM(1993). Structure and functional expression of the human macrophage inflammatory protein 1 alpha/RANTES receptor. *J. Exp. Med.* 177 :1421

[0828] Garcia-Zepeda EA, Combadiere C, Rothenberg ME, Sarafi MN, Lavigne F, Hamid Q, Murphy PM, Luster AD(1996). Human monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 is a novel CC chemokine with activities on monocytes, eosinophils, and basophils induced in allergic and nonallergic inflammation that signals through the CC chemokine receptors (CCR)-2 and -3. *J. Immunol.* 157 :5613

[0829] Gaubitz M, Schorat A, Schotte H, Kern P, Domschke W. (1999) Mycophenolate mofetil for the treatment of systemic lupus erythematosus: an open pilot trial. *Lupus* 8 :731-736.

[0830] Gerard C, Rollins, BJ(2001). Chemokines and disease. *Nat. Immunol.* 2 :108

[0831] Gong X, Gong W, Kuhns DB, Ben-Baruch A, Howard OM, Wang JM(1997). Monocyte chemotactic protein-2 (MCP-2) uses CCR1 and CCR2B as its functional receptors. *J. Biol. Chem.* 272 :11682

[0832] Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, Albar JP, Wells TNC, Proudfoot A, Martinez-A C, Dorf M, Bjerke T, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC(1998). The coordinated action

of CC chemokines in the lung orchestrates allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *J. Exp. Med.* 188 :157

[0833] Gordillo GM, Onat D, Stockinger M, Roy S, Atalay M, Beck FM, Sen CK (2004). A key angiogenic role of monocyte chemoattractant protein-1 in hemangioendothelioma proliferation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 287 :C866

[0834] Gourley MF, Austin HA III, Scott D, 等人 (1996) Methylprednisolone and cyclophosphamide, alone or in combination, in patients with lupus nephritis. *Ann Intern Med* 125 :549-557.

[0835] Green LS 等人 (1995). *Chem Biol* 2 :683

[0836] Handel TM, Domaille PJ (1996). Heteronuclear (^1H , ^{13}C , ^{15}N) NMR assignments and solution structure of the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) dimer. *Biochemistry* 35 :6569

[0837] Harigai M, Hara M, Yoshimura T, Leonard EJ, Inoue K, Kashiwazaki S (1993). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in inflammatory joint diseases and its involvement in the cytokine network of rheumatoid synovium. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 69 :83

[0838] Hasegawa H, Kohno M, Sasaki M, Inoue A, Ito MR, Terada M, Hieshima K, Maruyama H, Miyazaki J, Yoshie O, Nose M, Fujita S (2003). Antagonist of monocyte chemoattractant protein-1 ameliorates the initiation and progression of lupus nephritis and renal vasculitis in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum.* 48 :2555

[0839] Hatano S, Strasser R (1975). Primary pulmonary hypertension. Geneva : World Health Organization.

[0840] Heath H, Qin S, Rao P, Wu L, LaRosa G, Kassam N, Ponath PD, Mackay CR. (1997). Chemokine receptor usage by human eosinophils. The importance of CCR3 demonstrated using an antagonistic monoclonal antibody. *J Clin Invest* 99 :178

[0841] Holdsworth SR, Kitching AR, Tipping PG (2000). Chemokines as therapeutic targets in renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 9 :505

[0842] Holgate ST, Bodey KS, Janezic A, Frew AJ, Kaplan AP, Teran LM (1997). Release of RANTES, MIP-1 α , and MCP-1 into asthmatic airways following endobronchial allergen challenge. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156 :1377

[0843] Hopkins N, McLoughlin P (2002) The structural basis of pulmonary hypertension in chronic lung disease : remodelling, rarefaction or angiogenesis? *J Anat.* 201(4) :335-48.

[0844] Hosaka S, Akahoshi T, Wada C, Kondo H. (1994). Expression of the chemokine superfamily in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 97 :451

[0845] Huang DR, Wang J, Kivisakk P, Rollins BJ, Ransohoff RM (2001). Absence of monocyte chemoattractant protein 1 in mice leads to decreased local macrophage recruitment and antigen-specific T helper cell type 1 immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Exp. Med.* 193 :713

- [0846] Hulkower K, Brosnan CF, Aquino DA, Cammer W, Kulshrestha S, Guida MP, Rapoport DA, Berman JW(1993). Expression of CSF-1, c-fms, and MCP-1 in the central nervous system of rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J. Immunol.* 150 :2525
- [0847] Humbert M, Ying S, Corrigan C, Menz G, Barkans J, Pfister R, Meng Q, Van Damme J, Opdenakker G, Durham SR, Kay AB(1997). Bronchial mucosal expression of the genes encoding chemokines RANTES and MCP-3 in symptomatic atopic and nonatopic asthmatics: relationship to the eosinophil-active cytokines interleukin(IL)-5, granulocyte macrophage-colony-stimulating factor, and IL-3. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16 :1
- [0848] Ihm CG, Park JK, Hong SP, Lee TW, Cho BS, Kim MJ, Cha DR, Ha H(1998). A high glucose concentration stimulates the expression of monocyte chemotactic peptide 1 in human mesangial cells. *Nephron* 79 :33
- [0849] Ioannidis JPA, Boki KA, Katsorida EM, 等人 (2000) Remission, relapse, and re-remission of proliferative lupus nephritis treated with cyclophosphamide. *Kidney Int* 57 :258-264.
- [0850] Itoh T, Nagaya N, Ishibashi-Ueda H, Kyotani S, Oya H, Sakamaki F, Kimura H, Nakanishi N(2006). Increased plasma monocyte chemoattractant protein-1 level in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Respirology*. 11(2) :158-63.
- [0851] Iyonaga K, Takeya M, Saita N, Sakamoto O, Yoshimura T, Ando M, Takahashi K(1994). Monocyte chemoattractant protein-1 in idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial lung diseases. *Hum. Pathol.* 25 :455
- [0852] Johrer K, Zelle-Rieser C, Perathoner A, Moser P, Hager M, Ramoner R, Gander H, Holtl L, Bartsch G, Greil R, Thurnher M(2005). Up-regulation of functional chemokine receptor CCR3 in human renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 11 :2459
- [0853] Jolicœur C, Lemay A, Akoum A(2001). Comparative effect of danazol and a GnRH agonist on monocyte chemotactic protein-1 expression by endometriotic cells. *Am. J. Reprod. Immunol.* 45 :86
- [0854] Jose PJ, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Walsh DT, Moqbel R, Totty NF, Truong O, Hsuan JJ, Williams TJ(1994). Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. *J. Exp. Med.* 179 :881
- [0855] Kaburagi Y, Shimada Y, Nagaoka T, Hasegawa M, Takehara K, Sato S(2001). Enhanced production of CC-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , and eotaxin) in patients with atopic dermatitis. *Arch. Dermatol. Res.* 293 :350
- [0856] Karim MY, Alba P, Cuadrado MJ, 等人 (2002) Mycophenolate mofetil for systemic lupus erythematosus refractory to other immunosuppressive agents. *Rheumatology (Oxford)* 41 :876-882.
- [0857] Kawasaki AM 等人 (1993). *J Med Chem* 36 :831

- [0858] Kennedy KJ, Strieter RM, Kunkel SL, Lukacs NW, Karpus WJ(1998). Acute and relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis are regulated by differential expression of the CC chemokines macrophage inflammatory protein-1 α and monocyte chemoattractant protein-1. *J. Neuroimmunol.* 91 :98
- [0859] Kim JS, Gautam SC, Chopp M, Zaloga C, Jones ML, Ward PA, Welch KM(1995). Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1 after focal cerebral ischemia in the rat. *J. Neuroimmunol.* 56 :127
- [0860] Kingdon EJ, McLean AG, Psimenou E, 等人 (2001) The safety and efficacy of MMF in lupus nephritis: a pilot study. *Lupus* 10 :606-611.
- [0861] Kitamoto S, Egashira K(2003). Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy for cardiovascular diseases. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 1 :393
- [0862] Kleinhans M, Tun-Kyi A, Gilliet M, Kadin ME, Dummer R, Burg G, and Nestle FO(2003). Functional expression of the eotaxin receptor CCR3 in CD30+ cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 101 :1487
- [0863] Ko FW, Lau CY, Leung TF, Wong GW, Lam CW, Hui DS(2006) Exhaled breath condensate levels of 8-isoprostane, growth related oncogene alpha and monocyte chemoattractant protein-1 in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 100(4) :630-8.
- [0864] Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Johnson B, Evanoff HL, Haines GK, Burdick MD, Pope RM, Strieter RM(1992). Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* 90 :772
- [0865] Korbett SM, Lewis EJ, Schwartz MM, Reichlin M, Evans J, Rohde RD. (2000) Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 35 :904-914.
- [0866] Kouno J, Nagai H, Nagahata T, Onda M, Yamaguchi H, Adachi K, Takahashi H, Teramoto A, and Emi M(2004). Up-regulation of CC chemokine, CCL3L1, and receptors, CCR3, CCR5 in human glioblastoma that promotes cell growth. *J Neurooncol* 70 :301
- [0867] Kurihara T, Warr G, Loy J, Bravo R(1997). Defects in macrophage recruitment and host defense in mice lacking the CCR2 chemokine receptor. *J. Exp. Med.* 186 :1757
- [0868] Kusser W(2000). Chemically modified nucleic acid aptamers for in vitro selections: evolving evolution. *J Biotechnol* 74 :27-38
- [0869] Kuziel WA, Morgan SJ, Dawson TC, Griffin S, Smithies O, Ley K, Maeda N(1997). Severe reduction in leukocyte adhesion and monocyte extravasation in mice deficient in CC chemokine receptor 2. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A* 94 :12053
- [0870] Lehman TJ, Sherry DD, Wagner-Weiner L, 等人 (1989) Intermittent intravenous cyclophosphamide therapy for lupus nephritis. *J Pediatr* 114 :1055-1060.
- [0871] Lesnik EA, Guinosso CJ, Kawasaki AM, Sasmor H, Zounes M, Cummins LL, Ecker DJ, Cook PD, Freier SM. (1993).
- [0872] Oligodeoxynucleotides containing 2'-O-modified adenosine:

synthesis and effects on stability of DNA:RNA duplexes. *Biochemistry* 32:7832

[0873] Lloyd CM, Minto AW, Dorf ME, Proudfoot A, Wells TNC, Salant DJ, Gutierrez-Ramos JC (1997). RANTES and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) play an important role in the inflammatory phase of crescentic nephritis, but only MCP-1 is involved in crescent formation and interstitial fibrosis. *J. Exp. Med.* 185:1371

[0874] Lu BB, Rutledge BJ, Gu L, Fiorillo J, Lukacs NW, Kunkel SL, North R, Gerard C, Rollins BJ (1998). Abnormalities in monocyte recruitment and cytokine expression in monocyte chemoattractant protein-1 deficient mice. *J. Exp. Med.* 187:601

[0875] Lubkowski J, Bujacz G, Boque L, Domaille PJ, Handel TM, Wlodawer A (1997). The structure of MCP-1 in two crystal forms provides a rare example of variable quaternary interactions. *Nat Struct Biol* 4:64

[0876] Mack M, Cihak J, Simonis C, Luckow B, Proudfoot AE, Plachy J, Bruhl H, Frink M, Anders HJ, Vielhauer V, Pfirstinger J, Stangassinger M, **Schlöndorff** D (2001). Expression and characterization of the chemokine receptors CCR2 and CCR5 in mice. *J. Immunol.* 166:4697

[0877] Martinelli R, Sabroe I, LaRosa G, Williams TJ, Pease JE. The CC chemokine eotaxin (CCL11) is a partial agonist of CC chemokine receptor 2b. *J Biol Chem* 276:42957

[0878] Matsushima K, Morishita K, Yoshimura T, Lavu S, Kobayashi Y, Lew W, Appella E, Kung HF, Leonard EJ, Oppenheim JJ (1989). Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.* 167:1883

[0879] McGinnis S, Madden TL (2004). BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 32 (Web Server issue):W20-5.

[0880] Meyer TW (2003). Immunosuppression for diabetic glomerular disease? *Kidney Int.* 63:377

[0881] Miuer LE 等人 (1993). *J Physiol* 469:213

[0882] Miller MD, Krangel MS (1992). Biology and biochemistry of the chemokines: a family of chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit. Rev. Immunol.* 12:17

[0883] Mok CC, Ying KY, Tang S, 等人 Predictors and outcome of renal flares after successful cyclophosphamide treatment for diffuse proliferative lupus glomerulonephritis. (2004) *Arthritis Rheum* 50:2559-2568.

[0884] Mora C, Navarro JF (2005). The role of inflammation as a pathogenic factor in the development of renal disease in diabetes. *Curr. Diab. Rep.* 5:399

[0885] Morii T, Fujita H, Narita T, Shimotomai T, Fujishima H, Yoshioka N, Imai H, Kakei M, Ito S (2003). Association of monocyte chemoattractant protein-1 with renal tubular damage in diabetic nephropathy. *J. Diabetes Complications* 17:11

[0886] Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, Hebert CA, Horuk R, Matsushima K, Miller

- LH, Oppenheim JJ, Power CA(2000). International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol. Rev.* 52 :145
- [0887] Myers SJ, Wong LM, Charo IF(1995). Signal transduction and ligand specificity of the human monocyte chemoattractant protein-1 receptor in transfected embryonic kidney cells. *J. Biol. Chem.* 270 :5786
- [0888] Nakamura H, Weiss ST, Israel E, Luster AD, Drazen JM, Lilly CM(1999). Eotaxin and impaired lung function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 160 :1952
- [0889] Nakazawa T, Hisatomi T, Nakazawa C, Noda K, Maruyama K, She H, Matsubara A, Miyahara S, Nakao S, Yin Y, Benowitz L, Hafezi-Moghadam A, Miller JW(2007). Monocyte chemoattractant protein 1 mediated retinal detachment-induced photoreceptor apoptosis. *Proc Natl. Acad. Sci. U S A* 104 :2425
- [0890] Navarro JF, Mora C, Maca M, Garca J(2003). Inflammatory parameters are independently associated with urinary albumin in type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Kidney Dis.* 42 :53
- [0891] Needleman & Wunsch(1970), A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J. Mol. Biol.* 48(3) :443-53.
- [0892] Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN(1991). Monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerotic plaques. *J. Clin. Invest.* 88 :1121
- [0893] Neote K, DiGregorio D, Mak JY, Horuk R, Schall TJ(1993). Molecular cloning, functional expression, and signaling characteristics of a C-C chemokine receptor. *Cell* 72 :415
- [0894] Ninichuk V, Gross O, Reichel C, Khandoga A, Pawar RD, Ciubar R, Segerer S, Belemzova E, Radomska E, Luckow B, de Lema GP, Murphy PM, Gao JL, Henger A, Kretzler M, Horuk R, Weber M, Krombach F, Schlöndorff D, Anders HJ(2005). Delayed chemokine receptor 1 blockade prolongs survival in collagen 4A3-deficient mice with Alport disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16 :977
- [0895] Ogata H, Takeya M, Yoshimura T, Takagi K, Takahashi K(1997). The role of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the pathogenesis of collagen-induced arthritis in rats. *J. Pathol.* 182 :106
- [0896] Okuno T, Andoh A, Bamba S, Araki Y, Fujiyama Y, Fujiyama M, Bamba T(2002). Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α induce chemokine and matrix metalloproteinase gene expression in human colonic subepithelial myofibroblasts. *Scand. J. Gastroenterol.* 37 :317
- [0897] Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K(1991). Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu. Rev. Immunol.* 9 :617
- [0898] Pawar RD, Patole PS, Zeicher D, Segerer S, Kretzler M, **Schlöndorff** D, Anders HJ(2006). Toll-like receptor-7 modulates immune complex glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17 :141

- [0899] Pearson & Lipman(1988), Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Nat' l. Acad. Sci. USA* 85 :2444
- [0900] Peinado VI, Pizarro S, Barberà JA. Pulmonary Vascular Involvement in COPD(2008) *Chest*. 134 :808-814
- [0901] Perez de Lema G, Maier H, Franz TJ, Escribese M, Chilla mS, Segerer S, Camarasa N, Schmid H, Banas B, Kalaydjiev S, Busch DH, Pfeffer K, Mampaso F, **Schlöndorff** D, Luckow B(2005). Chemokine receptor CCR2 deficiency reduces renal disease and prolongs survival in MRL/lpr lupus-prone mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16 : 3592
- [0902] Perez de Lema G, Maier H, Nieto E, Vielhauer V, Luckow B, Mampaso F, **Schlöndorff** D(2001). Chemokine expression precedes inflammatory cell infiltration and chemokine receptor and cytokine expression during the initiation of murine lupus nephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12 :1369
- [0903] Ponath PD, Qin S, Post TW, Wang J, Wu L, Gerard NP, Newman W, Gerard C, Mackay CR(1996b). Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. *J. Exp. Med.* 183 :2437
- [0904] Ponath PD, Qin S, Ringler DJ, Clark-Lewis I, Wang J, Kassam N, Smith H, Shi X, Gonzalo JA, Newman W, Gutierrez-Ramos JC, Mackay CR(1996a). Cloning of the human eosinophil chemoattractant, eotaxin. Expression, receptor binding, and functional properties suggest a mechanism for the selective recruitment of eosinophils. *J. Clin. Invest.* 97 :604
- [0905] Power CA, Meyer A, Nemeth K, Bacon KB, Hoogwerf AJ, Proudfoot AE, Wells TN(1995). Molecular cloning and functional expression of a novel CC chemokine receptor cDNA from a human basophilic cell line. *J. Biol. Chem.* 270 :19495
- [0906] Qi Z, Whitt I, Mehta A, Jin J, Zhao M, Harris RC, Fogo AB, Breyer MD(2004). Serial determination of glomerular filtration rate in conscious mice using FITC-inulin clearance. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 286 :F590
- [0907] Qin S, LaRosa G, Campbell JJ, Smith-Heath H, Kassam N, Shi X, Zeng L, Butcher EC, Mackay CR(1996). Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 receptors on subsets of T cells: correlation with transendothelial chemotactic potential. *Eur. J. Immunol.* 26 :640
- [0908] Ransohoff RM, Hamilton TA, Tani M, Stoler MH, Shick HE, Major JA, Estes ML, Thomas DM, Tuohy VK. (1993). Astrocyte expression of mRNA encoding cytokines IP-10 and JE/MCP-1 in experimental autoimmune encephalomyelitis *FASEB J* 7 :592
- [0909] Raport CJ, Gosling J, Schweickart VL, Gray PW, Charo IF(1996). Molecular cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine receptor (CCR5) for RANTES, MIP-1 β , and MIP-1 α . *J. Biol. Chem.* 271 :17161
- [0910] Ritz E, Rychlik I, Locatelli F, Halimi S(1999). End-stage renal failure in type 2 diabetes: A medical catastrophe of world wide dimensions. *Am. J. Kidney*

Dis. 34 :795-808

[0911] Rollins BJ(1996). Monocyte chemoattractant protein 1 :a potential regulator of monocyte recruitment in inflammatory disease. Mol. Med. Today 2 :198

[0912] Rollins BJ, Stier P, Ernst T, Wong GG(1989). The human homolog of the JE gene encodes a monocyte secretory protein. Mol. Cell Biol. 9 :4687

[0913] Rovin BH, Rumancik M, Tan L, Dickerson J(1994). Glomerular expression of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental and human glomerulonephritis. Lab. Invest. 71 :536

[0914] Rubin LJ(1997) Primary pulmonary hypertension. N Engl J Med. 336(2) :111-7

[0915] Ruffing N, Sullivan N, 等人 (1998). CCR5 has an expanded ligand-binding repertoire and is the primary receptor used by MCP-2 on activated T cells. Cell Immunol 189 :160

[0916] Salcedo R, Ponce ML, Young HA, Wasserman K, Ward JM, Keinman HK, Oppenheim JJ, Murphy WJ(2000). Human endothelial cells express CCR2 and respond to MCP-1 : direct role of MCP-1 in angiogenesis and tumor progression. Blood 96 :34

[0917] Samson M, Labbe O, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M(1996). Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. Biochemistry 35 :3362

[0918] Schall TJ, Bacon KB(1994). Chemokines, leukocyte trafficking, and inflammation. Curr. Opin. Immunol. 6 :865

[0919] Schneider A, Panzer U, Zahner G, Wenzel U, Wolf G, Thaiss F, Helmchen U, Stahl RA(1999). Monocyte chemoattractant protein-1 mediates collagen deposition in experimental glomerulonephritis by transforming growth factor-beta. Kidney Int. 56 :135

[0920] Schwarting A, Paul K, Tschirner S, Menke J, Hansen T, Brenner W, Kelly VR, Relle M, Galle PR(2005). Interferon-beta :a therapeutic for autoimmune lupus in MRL-Fas^{lpr} mice. J. Am. Soc. Nephrol. 16 :3264

[0921] Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA(1993). A modern view of atherogenesis. Am. J. Cardiol. 71 :9B

[0922] Segerer S, Nelson PJ, **Schlöndorff** D(2000). Chemokines, chemokine receptors, and renal disease :from basic science to pathophysiologic and therapeutic studies. J. Am. Soc. Nephrol. 11 :152

[0923] Shimizu S, Nakashima H, Masutani K, Inoue Y, Miyake K, Akahoshi M, Tanaka Y, Egashira K, Hirakata H, Otsuka T, Harada M(2004). Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates nephritis in MRL/lpr mice. Rheumatology (Oxford) 43 :1121

[0924] Simonneau G, Galiè N, Rubin LJ, 等人 (2004). Clinical classification of pulmonary hypertension" . J. Am. Coll. Cardiol. 43(12 Suppl S) :5S-12S.

[0925] Smith & Waterman(1981), Adv. Appl. Math. 2 :482

- [0926] Springer TA(1995).Traffic signals on endothelium forlymphocyte recirculation and leukocyte emigration. Annu. Rev. Physiol. 57 :827
- [0927] Steinberg AD, Steinberg SC. Long-term preservation of renal function in patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisone only. (1991) Arthritis Rheum 34 :945-950.
- [0928] Steinman L(2004). Immune therapy for autoimmune diseases. Science 305 : 212
- [0929] Svensson M, Sundkvist G, Arnqvist HJ, Bjork E, Blohme G, Bolinder J, Henricsson M, Nystrom L, Torffvit O, Waernbaum I, Ostman J, Eriksson JW(2003). Signs of nephropathy may occur early in young adults with diabetes despite modern diabetes management: Results from the nationwide population-based Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). Diabetes Care 26 :2903
- [0930] Takebayashi K, Matsumoto S, Aso Y, Inukai T(2006). Association between circulating monocyte chemoattractant protein-1 and urinary albumin excretion in nonobese Type 2 diabetic patients. J. Diabetes Complications 20 :98
- [0931] Takeya M, Yoshimura T, Leonard EJ, Takahashi K(1993). Detection of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerotic lesions by an anti-monocyte chemoattractant protein-1 monoclonal antibody. Hum. Pathol. 24 :534
- [0932] Tang WW, Qi M, Warren JS(1996). Monocyte chemoattractant protein 1 mediates glomerular macrophage infiltration in anti-GBM Ab GN. Kidney Int. 50 :665
- [0933] Tashiro K, Koyanagi I, Saitoh A, Shimizu A, Shike T, Ishiguro C, Koizumi M, Funabiki K, Horikoshi S, Shirato I, Tomino Y(2002). Urinary levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-8 (IL-8), and renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy. J. Clin. Lab. Anal. 16 :1
- [0934] Tesch GH, Maifert S, Schwarting A, Rollins BJ, Kelley VR(1999). Monocyte chemoattractant protein 1-dependent leukocytic infiltrates are responsible for autoimmune disease in MRL-Fas(lpr) mice. J. Exp. Med. 190 :1813
- [0935] Torres F(2007) Systematic review of randomised, double-blind clinical trials of oral agents conducted in patients with pulmonary arterial hypertension. Int J Clin Pract. 61(10) :1756-65.
- [0936] Traves SL, Culpitt SV, Russell RE, Barnes PJ, Donnelly LE(2002) Increased levels of the chemokines GROalpha and MCP-1 in sputum samples from patients with COPD. Thorax. 57(7) :590-5.
- [0937] Tuailon N, Shen de F, Berger RB, Lu B, Rollins BJ, Chan CC(2002). MCP-1 expression in endotoxin-induced uveitis. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 43 :1493
- [0938] Tuttle KR(2005). Linking metabolism and immunology: diabetic nephropathy is an inflammatory disease. J. Am. Soc. Nephrol. 16 :1537
- Uguccioni M, Mackay CR 等人 (1997). High expression of the chemokine receptor CCR3 in human blood basophils. Role in activation by eotaxin, MCP-4, and other chemokines. J Clin Invest 100 :1137

- [0939] United States Renal Data System(2004).Annual data report :Incidence and prevalence 2004. Am. J. Kidney Dis. 45 :S77
- [0940] Utimura R, Fujihara CK, Mattar AL, Malheiros DM, Noronha IL, Zatz R(2003).Mycophenolate mofetil prevents the development of glomerular injury in experimental diabetes. Kidney Int. 63 :209
- [0941] Valeri A, Radhakrishnan J, Estes D, 等人 (1994) Intravenous pulse cyclophosphamide treatment of severe lupus nephritis: a prospective five-year study. Clin Nephrol 42 :71-78.
- [0942] Van Riper G, Siciliano S, Fischer PA, Meurer R, Springer MS, Rosen H(1993). Characterization and species distribution of high affinity GTP-coupled receptors for human rantes and monocyte chemoattractant protein 1. J. Exp. Med. 177 :851
- [0943] Venkatesan N 等人 (2003). Curr Med Chem 10 :1973
- [0944] Vestergaard C, Just H, Baumgartner Nielsen J, Thestrup-Pedersen K, Deleuran M(2004). Expression of CCR2 on monocytes and macrophages in chronically inflamed skin in atopic dermatitis and psoriasis. Acta Derm. Venereol. 84 :353
- [0945] Viedt C, Orth SR(2002). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the kidney: does it more than simply attract monocytes ? Nephrol. Dial. Transplant. 17 :2043
- [0946] Vielhauer V, Anders HJ(2006). Blockade of chemokine-mediated tissue injury in lupus nephritis. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 6(4) :313-21.
- [0947] Voelkel NF, Tudor RM. (1995) Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of severe pulmonary hypertension(1995) Eur Respir J. 8(12) :2129-38.
- [0948] Wada T, Furuichi K, Segada-Takaeda C, Ahimizu M, Sakai N, Takeda SI, Takasawa K, Kida H, Kobayashi KI, Mukaida N, Ohmoto Y, Matsushima K, Yokoyama H(1999). MIP-1 α and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions in human crescentic glomerulonephritis. Kidney Int. 56 :995
- [0949] Wada T, Yokoyama H, Furuichi K, Kobayashi KI, Harada K, Naruto M, Su SB, Akiyama M, Mukaida N, Matsushima K(1996). Intervention of crescentic glomerulonephritis by antibodies to monocyte chemotactic and activating factor (MCAF/MCP-1). FASEB J. 10 :1418
- [0950] Wada T, Yokoyama H, Matsushima K, Kobayashi KI(2001). Chemokines in renal diseases. Int. Immunopharmacol. 1 :637
- [0951] Wang X, Yue TL, Barone FC, Feuerstein GZ(1995). Monocyte chemoattractant protein-1 messenger RNA expression in rat ischemic cortex. Stroke 26 :661
- [0952] Wenzel U, Schneider A, Valente AJ, Abboud HE, Thaïss F, Helmchen UM, Stahl RA(1997). Monocyte chemoattractant protein-1 mediates monocyte/macrophage influx in anti-thymocyte antibody-induced glomerulonephritis. Kidney Int. 51 :770
- [0953] Yamagishi S, Inagaki Y, Okamoto T, Amano S, Koga K, Takeuchi M, Makita Z(2002). Advanced glycation endproduct-induced apoptosis and overexpression

of vascular endothelial growth factor and monocyte chemoattractant protein-1 in human-cultured mesangial cells. *J. Biol. Chem.* 277 :20309

[0954] Ying S, Meng Q, Zeibecoglou K, Robinson DS, Macfarlane A, Humbert M, Kay AB (1999). Eosinophil chemotactic chemokines (eotaxin, eotaxin-2, RANTES, monocyte chemoattractant protein-3 (MCP-3), and MCP-4), and C-C chemokine receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and nonatopic (Intrinsic) asthmatics. *J. Immunol.* 163 :6321

[0955] Ying S, Robinson DS, Meng Q, Rottman J, Kennedy R, Ringler DJ, Mackay CR, Daugherty BL, Springer MS, Durham SR, Williams TJ, Kay AB (1997). Enhanced expression of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsiveness and predominant co-localization of eotaxin mRNA to bronchial epithelial and endothelial cells. *Eur J Immunol.* 27 :3507

[0956] Yla-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Sarkioja T, Yoshimura T, Leonard EJ, Witztum JL, Steinberg D (1991). Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A* 88 :5252

[0957] Yoshimura T, Robinson EA, Tanaka S, Appella E, Leonard EJ (1989). Purification and amino acid analysis of two human monocyte chemoattractants produced by phytohemagglutinin-stimulated human blood mononuclear leukocytes. *J. Immunol.* 142 :1956

[0958] Yozai K, Shikata K, Sasaki M, Tone A, Ohga S, Usui H, Okada S, Wada J, Nagase R, Ogawa D, Shikata Y, Makino H (2005). Methotrexate prevents renal injury in experimental diabetic rats via anti-inflammatory actions. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16 :3326

[0959] Zimmet P, Alberti KG, Shaw J (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414 :782

[0960] 在说明书、权利要求书和 / 或附图中公开的本发明的特征（分开地和以其任何组合）可以是用于以本发明的各种形式来实现本发明的材料。

序列表

<110>NOXXON Pharma AG

<120> 结合 MCP-1 的核酸及其用途

<130>NOXXON Pharma AG

<160>286

<170>PatentIn version 3.3

<210>1

<211>76

<212>PRT

<213> 人

<400>1

Gln	Pro	Asp	Ala	Ile	Asn	Ala	Pro	Val	Thr	Cys	Cys	Tyr	Asn	Phe	Thr
1				5					10					15	
Asn	Arg	Lys	Ile	Ser	Val	Gln	Arg	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Arg	Ile	Thr
			20					25					30		
Ser	Ser	Lys	Cys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Ile	Phe	Lys	Thr	Ile	Val	Ala
		35					40					45			
Lys	Glu	Ile	Cys	Ala	Asp	Pro	Lys	Gln	Lys	Trp	Val	Gln	Asp	Ser	Met
	50					55				60					
Asp	His	Leu	Asp	Lys	Gln	Thr	Gln	Thr	Pro	Lys	Thr				
65					70					75					

<210>2

<211>125

<212>PRT

<213> 小鼠

<400>2

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

Ser Ser Arg Cys Pro Lys Glu Ala Val Val Phe Val Thr Lys Leu Lys
 35 40 45
 Arg Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Lys Glu Trp Val Gln Thr Tyr Ile
 50 55 60
 Lys Asn Leu Asp Arg Asn Gln Met Arg Ser Glu Pro Thr Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Lys Thr Ala Ser Ala Leu Arg Ser Ser Ala Pro Leu Asn Val Lys Leu
 85 90 95
 Thr Arg Lys Ser Glu Ala Asn Ala Ser Thr Thr Phe Ser Thr Thr Thr
 100 105 110
 Ser Ser Thr Ser Val Gly Val Thr Ser Val Thr Val Asn
 115 120 125

<210>3

<211>76

<212>PRT

<213> 猕猴

<400>3

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Pro Val Thr Cys Cys Tyr Asn Phe Thr
 1 5 10 15
 Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr
 20 25 30
 Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala
 35 40 45
 Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln Lys Trp Val Gln Asp Ser Met
 50 55 60
 Asp His Leu Asp Lys Gln Ile Gln Thr Pro Lys Pro
 65 70 75

<210>4

<211>76

<212>PRT

<213> 猪

<400>4

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ser Pro Val Thr Cys Cys Tyr Thr Leu Thr
 1 5 10 15
 Ser Lys Lys Ile Ser Met Gln Arg Leu Met Ser Tyr Arg Arg Val Thr

	20		25		30										
Ser	Ser	Lys	Cys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Ile	Phe	Lys	Thr	Ile	Ala	Gly
	35		40		45										
Lys	Glu	Ile	Cys	Ala	Glu	Pro	Lys	Gln	Lys	Trp	Val	Gln	Asp	Ser	Ile
	50		55		60										
Ser	His	Leu	Asp	Lys	Lys	Asn	Gln	Thr	Pro	Lys	Pro				
65					70					75					

<210>5

<211>76

<212>PRT

<213> 家犬

<400>5

Gln	Pro	Asp	Ala	Ile	Ile	Ser	Pro	Val	Thr	Cys	Cys	Tyr	Thr	Leu	Thr
1				5					10					15	
Asn	Lys	Lys	Ile	Ser	Ile	Gln	Arg	Leu	Ala	Ser	Tyr	Lys	Arg	Val	Thr
			20					25						30	
Ser	Ser	Lys	Cys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Ile	Phe	Lys	Thr	Val	Leu	Asn
		35					40					45			
Lys	Glu	Ile	Cys	Ala	Asp	Pro	Lys	Gln	Lys	Trp	Val	Gln	Asp	Ser	Met
	50						55					60			
Ala	His	Leu	Asp	Lys	Lys	Ser	Gln	Thr	Gln	Thr	Ala				
65						70					75				

<210>6

<211>102

<212>PRT

<213> 家兔

<400>6

Gln	Pro	Asp	Ala	Val	Asn	Ser	Pro	Val	Thr	Cys	Cys	Tyr	Thr	Phe	Thr
1				5					10					15	
Asn	Lys	Thr	Ile	Ser	Val	Lys	Arg	Leu	Met	Ser	Tyr	Arg	Arg	Ile	Asn
			20					25						30	
Ser	Thr	Lys	Cys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Ile	Phe	Met	Thr	Lys	Leu	Ala
		35					40					45			
Lys	Gly	Ile	Cys	Ala	Asp	Pro	Lys	Gln	Lys	Trp	Val	Gln	Asp	Ala	Ile
	50						55					60			

65

70

<210>9

<211>76

<212>PRT

<213> 人

<400>9

Gln Pro Asp Ser Val Ser Ile Pro Ile Thr Cys Cys Phe Asn Val Ile

1

5

10

15

Asn Arg Lys Ile Pro Ile Gln Arg Leu Glu Ser Tyr Thr Arg Ile Thr

20

25

30

Asn Ile Gln Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Lys Arg Gly

35

40

45

Lys Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Glu Arg Trp Val Arg Asp Ser Met

50

55

60

Lys His Leu Asp Gln Ile Phe Gln Asn Leu Lys Pro

65

70

75

<210>10

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>10

agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcacgcu

47

<210>11

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223>合成的

<400>11

agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauugc acgcu

45

<210>12

<211>47

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(47)

<223>合成的

<400>12

agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cuguaauaau gcacgcu

47

<210>13

<211>47

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>13

agcgugccccg guguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcgcgcu

47

<210>14

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>14

agcgugccccg gaguagcagg ggggcgcgac cugcaauaau gcacgcu

47

<210>15

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>15

agcgugccccg gugugguagg ggggcgcgau cuacaauugc acgcu

45

<210>16

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>16

agcgugcccg gugugacagg ggggcgcgac cugcauuugc acgcu

45

<210>17

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>17

agcgugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcauuugc acgcu

45

<210>18

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (47)

<223> 合成的

<400>18

agcgugcccg gaguggcagg ggggcgcgac cugcauaau gcacgu

47

<210>19

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (45)

<223> 合成的

<400>19

agcgugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcaauugc acgu

45

<210>20

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (45)

<223> 合成的

<400>20

agcaugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcauuugc augcu

45

<210>21

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>21

agcgugcccg gugugguagg ggggcgcgac cuacauuugc acgcu

45

<210>22

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>22

agugugccag cugugauggg ggggcgcgac ccauuuuaca cacu

44

<210>23

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>23

agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu

43

<210>24

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>24

agugugcgag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacau acu

43

<210>25

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>25

agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacau acu

43

<210>26

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>26

aguaugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuacaua cu

42

<210>27

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>27

agugugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu

43

<210>28

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>28

agcgugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac gcu

43

<210>29

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>29

acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cgcggcucug cgu

43

<210>30

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>30

acgcaccucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgc

43

<210>31

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>31

acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgu

43

<210>32

<211>41

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(41)

<223> 合成的

<400>32

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg u

41

<210>33

<211>41

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (41)

<223> 合成的

<400>33

acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug c

41

<210>34

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>34

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugc

39

<210>35

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (42)

<223> 合成的

<400>35

cgcacguccc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc gu

42

<210>36

<211>41

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(41)

<223> 合成的

<400>36

cgcacgucce ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc g

41

<210>37

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223> 合成的

<400>37

gcacgucceu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>38

<211>49

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(49)

<223>合成的

<400>38

gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccgaaugc uggcagcac

49

<210>39

<211>49

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(49)

<223>合成的

<400>39

gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccuaaugc uggcagcac

49

<210>40

<211>49

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(49)

<223>合成的

<400>40

gugcugcgua guggaagacu accuuaugac agccgaaugc uggcagcac

49

<210>41

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>41

gugcugcgua gugaaaaacu acugccagug ggucagagcu agcagcac

48

<210>42

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>42

gugcugcgga guaaaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac

48

<210>43

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>43

gugcugcgga guugaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac

48

<210>44

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>44

gugcugcgua guggaagacu accuaugaca gccuaaugcu ggcagcac

48

<210>45

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>45

gugcugcgga guaaaaacu ccuaagaca ggcuaagacc ggcagcac

48

<210>46

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(50)

<223> 合成的

<400>46

gugcugcggc gugaaaaacg ccugcgacu gcccuuuuug caggcagcac

50

<210>47

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>47

gugcugcgua gugaaaaacu accaacgacu ggcuaagacc ggcagcac

48

<210>48

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>48

gugcugcgua gugaaagacu accugugaca gccgaaugcu ggcagcac

48

<210>49

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>49

guacugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>50

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>50

gugcugcgua guuaaaaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>51

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>51

gugcugcgua guuaaaaaacu accagcgaca ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>52

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>52

gugcugcgua guuaaaaaacu accagcgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>53

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>53

gugcugcgua gugagaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>54

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>54

ggcugcgua uuaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcagcc

46

<210>55

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (44)

<223> 合成的

<400>55

ggcgcguagu uaaaaacuac cagcgacugg cuagagccgg cgcc

44

<210>56

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (46)

<223> 合成的

<400>56

gugcgcguag uaaaaacuac ccagcgacug gcuagagccg gcgcac

46

<210>57

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (46)

<223> 合成的

<400>57

gugcgcguag ugagaaacuac ccaacgacug gcuagagccg gcgcac

46

<210>58

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>58

gugccguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg gcac

44

<210>59

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>59

guggcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg ccac

44

<210>60

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>60

gucgcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgac

44

<210>61

<211>44

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>61

ugcgcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgca

44

<210>62

<211>44

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>62

gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc

44

<210>63

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>63

gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc

44

<210>64

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>64

ggugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cacc

44

<210>65

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>65

uggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ca

42

<210>66

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>66

gcgcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gc

42

<210>67

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>67

gugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ac

42

<210>68

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>68

gggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cc

42

<210>69

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>69

gagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc uc

42

<210>70

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的

<400>70

cggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cg

42

<210>71

<211>42

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的

<400>71

ccgcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gg

42

<210>72

<211>42

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的 1

<400>72

cagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ug

42

<210>73

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>73

cugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ag

42

<210>74

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>74

agcguguuag ugaagugggu ggcagguaaa ggacacgcu

39

<210>75

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>75

agcgugguag cggugugggg gguagguaaa ggccacgcu

39

<210>76

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>76

agcgugauag aagagcgggu gguagguaaa ggucaggcu

39

<210>77

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>77

agcguguuag guaggguggu aguaaguaaa ggacacgcu

39

<210>78

<211>38

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (38)

<223> 合成的

<400>78

agcguguuag guggguggua guaaguaaag gacacgcu

38

<210>79

<211>38

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (38)

<223> 合成的

<400>79

agcguguuag guggguggua guaaguaaag ggcacgcu

38

<210>80

<211>34

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(34)

<223>合成的

<400>80

ccgcuuaggu gggugguagu aaguaaaggg gcgg

34

<210>81

<211>39

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(39)

<223>合成的

<400>81

gcgcgagcag guggguggua gaauguaaag acucgcguc

39

<210>82

<211>34

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(34)

<223>合成的

<400>82

cguguuaggu gggugguagu aaguaaagga cacg

34

<210>83

<211>32

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(32)

<223> 合成的

<400>83

guguuaggug ggugguagua aguaaaggac ac

32

<210>84

<211>34

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(34)

<223> 合成的

<400>84

cguguuaggu gggugguagu aaguaaaggg cacg

34

<210>85

<211>32

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(32)

<223>合成的

<400>85

guguuaggug ggugguagua aguaaagggc ac

32

<210>86

<211>30

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(30)

<223>合成的

<400>86

uguuaggugg gugguaguaa guaaagggca

30

<210>87

<211>52

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(52)

<223> 合成的

<400>87

ggacgagagu gacaaaugau auaaccuccu gacuaacgcu gcgggcgaca gg

52

<210>88

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(52)

<223> 合成的

<400>88

ggaccuauugc cuaagacaac gcgcagucua cgggacauuc uccgcggaca gg

52

<210>89

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(52)

<223> 合成的

<400>89

ggacaauugu uacccccgag agagacaaau gagacaaccu ccugaagaca gg

52

<210>90

<211>51

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(51)

<223> 合成的

<400>90

ggacgaaagu gagaaaugau acaaccuccu guugcugcga auccggacag g

51

<210>91

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(50)

<223> 合成的

<400>91

ggacguaaaa gacgcuaccc gaaagaaugu caggagggua gaccgacagg

50

<210>92

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223> 合成的

<400>92

ggacuagaaa cuacaauagc ggccaguugc accgcguuau caacgacagg

50

<210>93

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223> 合成的

<400>93

ggacuaguca gccagugugu auaucggacg cggguuuauu uacugacagg

50

<210>94

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223> 合成的

<400>94

ggacuguccg gagugugaaa cuccccgaga ccgccagaag cggggacagg

50

<210>95

<211>50
<212>RNA
<213> 人工序列

<220>
<223>MCP-1 结合子

<220>
<221>L-RNA
<222>(1).. (50)
<223> 合成的

<400>95
ggacuucua u ccaggugggu gguaguaugu aaagagauag aagugacagg 50

<210>96
<211>50
<212>RNA
<213> 人工序列

<220>
<223>MCP-1 结合子

<220>
<221>L-RNA
<222>(1).. (50)
<223> 合成的

<400>96
ggacgagagc gaacaaugau auaaccuccu gacggaaaga gaucgacagg 50

<210>97
<211>48
<212>RNA
<213> 人工序列

<220>
<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>97

ccugugcuac acgcaguaag aagugaacgu ucaguaugug ugcacagg

48

<210>98

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>98

cgugagccag gcaccgaggg cguuaacugg cugauuggac acgacacg

48

<210>99

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>99

cgugaacaug caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg

48

<210>100

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>100

cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg

48

<210>101

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>101

cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg

48

<210>102

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>102

cgugaacauu caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg

48

<210>103

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>103

cgugccgagg cggcgaccag cguuacuuag agaggcuuug gcaccacg

48

<210>104

<211>47

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(47)

<223>合成的

<400>104

cgugauaaca gccgucgguc aagaaaaca aguucgggcg gcgcacg

47

<210>105

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>105

cguggguggc gcaccgaggg cgaaaagcca ccaguaaaga uagaccg

47

<210>106

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>106

cgugugaucu ccuuuggggu gauuagcuua gagacuuccc acacg

45

<210>107

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223>合成的

<400>107

gcaccuucgc cuaauacacg ugccggcuag cuaauacucg uccgc

45

<210>108

<211>45

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(45)

<223>合成的

<400>108

gcacgacuug ggcgaccagu gauacuuaga gagcaagucg ucggc

45

<210>109

<211>44

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>109

gcgcgcgcuc aguaagaaau ugaaaguuca gaaugucguc gcgc

44

<210>110

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>110

aguguguggc aggcuaagga gauauuccga gaccacgcu

39

<210>111

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>111

aguguguggc agacuaugga uagacuccga gaccacgcu

39

<210>112

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>112

agcgugaggc gaccagcgga uuacuuagag agucacgcu

39

<210>113

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>113

agcgugaagg ggaccagcgu uacuuacaga guucacgcu

39

<210>114

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>114

agcgugugau guauguagca ccguaucaga ggacacgcu

39

<210>115

<211>37

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (37)

<223> 合成的

<400>115

agcgugaggc gacccguguu ucguagagag ucacgcu

37

<210>116

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>NOX-E36-5' PEG

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (40)

<223> 合成的

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (1)

<223>5' PEG 化

<400>116

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>117

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>NOX-E36-3' PEG

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223> 合成的

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223>3' PEG 化

<400>117

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>118

<211>58

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(58)

<223> 合成的

<400>118

gagauggcga cauugguugg gcaugaggcg aggcccuuug augaaucgc ggccauuc

58

<210>119

<211>56

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(56)

<223> 合成的

<400>119

gauggcgaca uugguugggc augaggcgag gcccuuugau gaauccgcgg ccuuc

56

<210>120

<211>53

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(53)

<223> 合成的

<400>120

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uuc

53

<210>121

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(52)

<223>合成的

<400>121

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uu

52

<210>122

<211>50

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(50)

<223>合成的

<400>122

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca

50

<210>123

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>123

gcugguuacc gagggggcgu cguuggaguu ugguugguug ucaccagc

48

<210>124

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>124

cugguuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu caccag

46

<210>125

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>125

ugguuaccga gggggcgucg uuggaguuug guugguuguc acca

44

<210>126

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>126

gccgguuacc gagggggcgu cguuggaguu ugguugguug ucaccggc

48

<210>127

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>127

gccggcuacc gagggggcgu cguuggaguu ugguugguug ucgccggc

48

<210>128

<211>46

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(46)

<223>合成的

<400>128

gcgcguaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu ccgcgc

46

<210>129

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>129

gggccuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu cggccc

46

<210>130

<211>76

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 生物素化的人 D MCP-1

<220>

<221>D- 蛋白

<222>(1)..(76)

<223> 合成的

<220>

<221> 生物素化

<222>(1)..(1)

<223> 合成的

<400>130

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Pro Val Thr Cys Cys Tyr Asn Phe Thr

1

5

10

15

Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr

20

25

30

Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala
35 40 45
Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln Lys Trp Val Gln Asp Ser Met
50 55 60
Asp His Leu Asp Lys Gln Thr Gln Thr Pro Lys Thr
65 70 75

<210>131

<211>76

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 生物素化的小鼠 D MCP-1

<220>

<221>D- 蛋白

<222>(1).. (76)

<223> 合成的

<220>

<221> 生物素化

<222>(1).. (1)

<223> 合成的

<220>

<221> 生物素化

<222>(76).. (76)

<223> 合成的

<400>131

Gln Pro Asp Ala Val Asn Ala Pro Leu Thr Cys Cys Tyr Ser Phe Thr
1 5 10 15
Ser Lys Met Ile Pro Met Ser Arg Leu Glu Ser Tyr Lys Arg Ile Thr
20 25 30
Ser Ser Arg Cys Pro Lys Glu Ala Val Val Phe Val Thr Lys Leu Lys
35 40 45
Arg Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Lys Glu Trp Val Gln Thr Tyr Ile
50 55 60
Lys Asn Leu Asp Arg Asn Gln Met Arg Ser Glu Pro

65

70

75

<210>132

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>132

agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcacgcu

47

<210>133

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>133

agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauugc acgcu

45

<210>134

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<400>134

agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cuguaauaau gcacgcu

47

<210>135

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>135

agcgugcccg guguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcgcgcu

47

<210>136

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>136

agcgugcccg gaguagcagg ggggacgac cugcaauaau gcacgcu

47

<210>137

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>137

agcgugcccg gugugguagg ggggcgcgau cuacaauugc acgcu

45

<210>138

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>138

agcgugcccg gugugacagg ggggcgcgac cugcauuugc acgcu

45

<210>139

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>139

agcgugcccg guguggcagg ggggcgcgac cuguauuugc acgcu

45

<210>140

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>140

agcgugcccg gaguggcagg ggggcgcgac cugcaauaau gcacgcu

47

<210>141

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>141

agcgugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcaauugc acgcu

45

<210>142

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>142

agcaugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcauuugc augcu

45

<210>143

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223> 合成的

<400>143

agcgugcccg gugugguagg ggggcgcgac cuacauuugc acgcu

45

<210>144

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>144

agugugccag cugugauggg ggggcgcgac ccauuuuaca cacu

44

<210>145

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>145

agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu

43

<210>146

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>146

agugugcgag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacau acu

43

<210>147

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>147

agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacau acu

43

<210>148

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>148

aguaugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuacaua cu

42

<210>149

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223>合成的

<400>149

agugugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu

43

<210>150

<211>43

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223>合成的

<400>150

agcgugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac gcu

43

<210>151

<211>43

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223>合成的

<400>151

acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cgcggcucug cgu

43

<210>152

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>152

acgcaccucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgc

43

<210>153

<211>43

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(43)

<223> 合成的

<400>153

acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgu

43

<210>154

<211>41

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (41)

<223>合成的

<400>154

gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg u

41

<210>155

<211>41

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (41)

<223>合成的

<400>155

acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug c

41

<210>156

<211>39

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223>合成的

<400>156

gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugc

39

<210>157

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>157

cgcacgucc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc gu

42

<210>158

<211>41

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(41)

<223> 合成的

<400>158

cgcacgucc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc g

41

<210>159

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(40)

<223> 合成的

<400>159

gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>160

<211>49

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(49)

<223> 合成的

<400>160

gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccgaaugc uggcagcac

49

<210>161

<211>49

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(49)

<223> 合成的

<400>161

gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccuaaugc uggcagcac

49

<210>162

<211>49

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(49)

<223> 合成的

<400>162

gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccgaaugc uggcagcac

49

<210>163

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>163

gugcugcgua gugaaaaacu acugccagug ggucagagcu agcagcac

48

<210>164

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>164

gugcugcgga guuaaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac

48

<210>165

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>165

gugcugcgga guugaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac

48

<210>166

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (48)

<223> 合成的

<400>166

gugcugcgua guggaagacu accuaugaca gccuaaugcu ggcagcac

48

<210>167

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (48)

<223> 合成的

<400>167

gugcugcgga guuaaaaacu ccuaagaca ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>168

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (50)

<223> 合成的

<400>168

gugcugcggc gugaaaaacg ccugcgacu gccuuuuaug caggcagcac

50

<210>169

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>169

gugcugcgua gugaaaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac 48

<210>170

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>170

gugcugcgua gugaaagacu accugugaca gccgaaugcu ggcagcac 48

<210>171

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>171

guacugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>172

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>172

gugcugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>173

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>173

gugcugcgua guuaaaaacu accagcgaca ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>174

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>174

gugcugcgua guuaaaaacu accagcgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>175

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>175

gugcugcgua gugagaaacu accaacgacu ggcuagagcc ggcagcac

48

<210>176

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>176

ggcugcguag uaaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcagcc

46

<210>177

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>177

ggcgcguguu uaaaaacuac cagcgacugg cuagagccgg cgcc

44

<210>178

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>178

gugcgcguag uaaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcgcac

46

<210>179

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>179

gugcgcguag ugagaaacua ccaacgacug gcuagagccg gcgcac

46

<210>180

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>180

gugccguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg gcac

44

<210>181

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>181

guggcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg ccac

44

<210>182

<211>44

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>182

gucgcuagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgac

44

<210>183

<211>44

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>183

ugcgcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgca

44

<210>184

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>184

gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc

44

<210>185

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>185

gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc

44

<210>186

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>186

ggugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cacc

44

<210>187

<211>40

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(40)

<223>合成的

<400>187

uggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc

40

<210>188

<211>42

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的

<400>188

gcgcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gc

42

<210>189

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>189

gugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ac

42

<210>190

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>190

gggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cc

42

<210>191

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的

<400>191

gagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc uc

42

<210>192

<211>42

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的

<400>192

cggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cg

42

<210>193

<211>42

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223>合成的

<400>193

ccgcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gg

42

<210>194

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>194

cagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ug

42

<210>195

<211>42

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(42)

<223> 合成的

<400>195

cugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ag

42

<210>196

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>196

agcguguuag ugaagugggu ggcagguaaa ggacacgcu

39

<210>197

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>197

agcgugguag cggugugggu gguagguaaa ggccacgcu

39

<210>198

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>198

agcgugauag aagagcgggu gguagguaaa ggucaggcu

39

<210>199

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>199

agcguguuag guaggguggu aguaaguuuu ggacacgcu

39

<210>200

<211>38

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(38)

<223> 合成的

<400>200

agcguguuag guggguggua guaaguuaag gacacgcu

38

<210>201

<211>38

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (38)

<223> 合成的

<400>201

agcguguuag guggguggua guaaguaag ggcacgcu

38

<210>202

<211>34

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (34)

<223> 合成的

<400>202

ccgcuuaggu gggugguagu aaguaaaggg gcgg

34

<210>203

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>203

gcgcgagcag guggguggua gaauguaaag acucgcguc

39

<210>204

<211>34

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (34)

<223> 合成的

<400>204

cguguuaggu gggugguagu aaguaaagga cacg

34

<210>205

<211>32

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (32)

<223> 合成的

<400>205

guguuaggug ggugguagua aguaaaggac ac

32

<210>206

<211>34

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(34)

<223> 合成的

<400>206

cguguuaggu gggugguagu aaguaaaggg cacg

34

<210>207

<211>32

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(32)

<223> 合成的

<400>207

guguuaggug ggugguagua aguaaagggc ac

32

<210>208

<211>30

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (30)

<223> 合成的

<400>208

uguuaggugg gugguaguaa guaaagggca

30

<210>209

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (52)

<223> 合成的

<400>209

ggacgagagu gacaaaugau auaaccuccu gacuaacgcu gcgggcgaca gg

52

<210>210

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (52)

<223> 合成的

<400>210

ggaccuau cg cuaagacaac gcgcagucua cgggacauuc uccgcggaca gg

52

<210>211

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(52)

<223> 合成的

<400>211

ggacaauugu uacccccgag agagacaaau gagacaaccu ccugaagaca gg

52

<210>212

<211>51

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(51)

<223> 合成的

<400>212

ggacgaaagu gagaaugau acaaccuccu guugcugcga auccggacag g

51

<210>213

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(50)

<223>合成的

<400>213

ggacguaaaa gacgcuaccc gaaagaaugu caggagggua gaccgacagg

50

<210>214

<211>50

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(50)

<223>合成的

<400>214

ggacuagaaa cuacaauagc ggccaguugc accgcguuau caacgacagg

50

<210>215

<211>50

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(50)

<223>合成的

<400>215

ggacuaguca gccagugugu auaucggacg cggguuuauu uacugacagg

50

<210>216

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(50)

<223> 合成的

<400>216

ggacuguccg gagugugaaa cucccccgaga ccgccagaag cggggacagg

50

<210>217

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(50)

<223> 合成的

<400>217

ggacuucuau ccaggugggu gguaguaugu aaagagauag aagugacagg

50

<210>218

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(50)

<223> 合成的

<400>218

ggacgagagc gaacaaugau auaaccuccu gacggaaaga gaucgacagg

50

<210>219

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>219

ccugugcuac acgcaguaag aagugaacgu ucaguaugug ugcacagg

48

<210>220

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>220

cgugagccag gcaccgaggg cguaaacugg cugauuggac acgacacg

48

<210>221

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>221

cgugaacaug caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg

48

<210>222

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>222

cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg

48

<210>223

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>223

cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg

48

<210>224

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>224

cgugaacauu caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg

48

<210>225

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>225

cgugccgagg cggcgaccag cguuacuuag agaggcuuug gcaccacg

48

<210>226

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>226

cgugauaaca gccgucgguc aagaaaacaa aguucgggcg gcgcacg

47

<210>227

<211>47

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(47)

<223> 合成的

<400>227

cguggguggc gcaccgaggg cgaaaagcca ccaguaaaga uagaccg

47

<210>228

<211>45

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223>合成的

<400>228

cgugugaucu ccuuuggggg gauuagcuua gagacuuccc acacg

45

<210>229

<211>45

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223>合成的

<400>229

gcaccuucgc cuaauacacg ugccggcuag cuaauacucg uccgc

45

<210>230

<211>45

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(45)

<223>合成的

<400>230

gcacgacuug ggcgaccagu gauacuuaga gagcaagucg ucggc

45

<210>231

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223> 合成的

<400>231

gcgcgcgcuc aguaagaaau ugaaaguuca gaaugucguc gcgc

44

<210>232

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>232

aguguguggc aggcuagga gauauuccga gaccacgcu

39

<210>233

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>233

aguguguggc agacuaugga uagacuccga gaccacgcu

39

<210>234

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(39)

<223> 合成的

<400>234

agcgugaggc gaccagcgga uuacuuagag agucacgcu

39

<210>235

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>235

agcgugaagg ggaccagcgu uacuuacaga guucacgcu

39

<210>236

<211>39

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (39)

<223> 合成的

<400>236

agcgugugau guauguagca ccguaucaga ggacacgcu

39

<210>237

<211>37

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (37)

<223> 合成的

<400>237

agcgugagge gacccguguu ucguagagag ucacgcu

37

<210>238

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (40)

<223> 合成的

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (40)

<223>5' PEG 化

<400>238

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>239

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (40)

<223> 合成的

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (40)

<223>3' -PEG 化

<400>239

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>240

<211>58

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(58)

<223> 合成的

<400>240

gagauggcga cauugguugg gcaugaggcg aggcccuug augaauccgc ggccauuc 58

<210>241

<211>56

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(56)

<223> 合成的

<400>241

gauggcgaca uugguugggc augaggcgag gcccuugau gaauccgcgg ccauuc 56

<210>242

<211>53

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (53)

<223> 合成的

<400>242

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uuc

53

<210>243

<211>52

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (52)

<223> 合成的

<400>243

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uu

52

<210>244

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1).. (50)

<223> 合成的

<400>244

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca

50

<210>245

<211>48

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223> 合成的

<400>245

gcugguuacc gagggggcguc cguuggaguu ugguugguug ucaccagc

48

<210>246

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>246

cugguuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu caccag

46

<210>247

<211>44

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(44)

<223>合成的

<400>247

ugguuaccga gggggcgucg uggaguuug guugguuguc acca

44

<210>248

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>248

gccgguuacc gagggggcgu cguuggaguu ugguugguug ucaccggc

48

<210>249

<211>48

<212>RNA

<213>人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(48)

<223>合成的

<400>249

gccggcuacc gagggggcguc cguuggaguu ugguugguug ucgccggc

48

<210>250

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>250

gcgcguaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu ccgcgc

46

<210>251

<211>46

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>D-RNA

<222>(1)..(46)

<223> 合成的

<400>251

gggccuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu cggccc

46

<210>252

<211>76

<212>PRT

<213> 大鼠

<400>252

Gln Pro Asp Ala Val Asn Ala Pro Leu Thr Cys Cys Tyr Ser Phe Thr
 1 5 10 15
 Gly Lys Met Ile Pro Met Ser Arg Leu Glu Asn Tyr Lys Arg Ile Thr
 20 25 30
 Ser Ser Arg Cys Pro Lys Glu Ala Val Val Phe Val Thr Lys Leu Lys
 35 40 45
 Arg Glu Ile Cys Ala Asp Pro Asn Lys Glu Trp Val Gln Lys Tyr Ile
 50 55 60
 Arg Lys Leu Asp Gln Asn Gln Val Arg Ser Glu Thr
 65 70 75

<210>253

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223> 合成的

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223>5' -PEG 化

<400>253

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca

50

<210>254

<211>50

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223>合成的

<220>

<221>L-RNA

<222>(1).. (50)

<223>3'-PEG 化

<400>254

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca

50

<210>255

<211>11

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<223>NOX-E36 捕获探针

<220>

<221>L-DNA

<222>(1).. (11)

<223>合成的

<220>

<221>L-DNA

<222>(1).. (11)

<223>-(间隔子 18)2-nh4+ 在 3' 末端

<400>255

gagggacgtg c

11

<210>256

<211>9

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>NOX-E36 检测探针

<220>

<221>L-DNA

<222>(1)..(9)

<223> 合成的

<220>

<221>L-DNA

<222>(1)..(9)

<223>5' - 生物素 -(间隔子 18)

<400>256

cgcagagcc

9

<210>257

<211>73

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CCL1/I-309

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1)..(73)

<223> 合成的

<400>257

Lys Ser Met Gln Val Pro Phe Ser Arg Cys Cys Phe Ser Phe Ala Glu

1 5 10 15

Gln Glu Ile Pro Leu Arg Ala Ile Leu Cys Tyr Arg Asn Thr Ser Ser

20 25 30

Ile Cys Ser Asn Glu Gly Leu Ile Phe Lys Leu Lys Arg Gly Lys Glu

35 40 45

Ala Cys Ala Leu Asp Thr Val Gly Trp Val Gln Arg His Arg Lys Met

50	55	60
Leu Arg His Cys Pro Ser Lys Arg Lys		
65	70	

<210>258

<211>69

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CCL3/MIP-1 ?

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (69)

<223> 合成的

<400>258

Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Thr	Pro	Thr	Ala	Cys	Cys	Phe	Ser	Tyr	Thr	Ser
1				5					10					15	
Arg	Gln	Ile	Pro	Gln	Asn	Phe	Ile	Ala	Asp	Tyr	Phe	Glu	Thr	Ser	Ser
			20					25					30		
Gln	Cys	Ser	Lys	Pro	Gly	Val	Ile	Phe	Leu	Thr	Lys	Arg	Ser	Arg	Gln
		35					40					45			
Val	Cys	Ala	Asp	Pro	Ser	Glu	Glu	Trp	Val	Gln	Lys	Tyr	Val	Ser	Asp
		50				55					60				
Leu	Glu	Leu	Ser	Ala											
65															

<210>259

<211>69

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CCL4/MIP-1beta

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (69)

<223> 合成的

<400>259

Ala	Pro	Met	Gly	Ser	Asp	Pro	Pro	Thr	Ala	Cys	Cys	Phe	Ser	Tyr	Thr
1				5					10					15	
Ala	Arg	Lys	Leu	Pro	Arg	Asn	Phe	Val	Val	Asp	Tyr	Tyr	Glu	Thr	Ser
			20					25					30		
Ser	Leu	Cys	Ser	Gln	Pro	Ala	Val	Val	Phe	Gln	Thr	Lys	Arg	Ser	Lys
		35					40						45		
Gln	Val	Cys	Ala	Asp	Pro	Ser	Glu	Ser	Trp	Val	Gln	Glu	Tyr	Val	Tyr
	50					55					60				
Asp	Leu	Glu	Leu	Asn											
65															

<210>260

<211>68

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CCL5/RANTES

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (68)

<223> 合成的

<400>260

Ser	Pro	Tyr	Ser	Ser	Asp	Thr	Thr	Pro	Cys	Cys	Phe	Ala	Tyr	Ile	Ala
1				5					10					15	
Arg	Pro	Leu	Pro	Arg	Ala	His	Ile	Lys	Glu	Tyr	Phe	Tyr	Thr	Ser	Gly
			20					25					30		
Lys	Cys	Ser	Asn	Pro	Ala	Val	Val	Phe	Val	Thr	Arg	Lys	Asn	Arg	Gln
		35					40						45		
Val	Cys	Ala	Asn	Pro	Glu	Lys	Lys	Trp	Val	Arg	Glu	Tyr	Ile	Asn	Ser
	50					55					60				
Leu	Glu	Met	Ser												
65															

<210>261

<211>82

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CCL13/MCP-4

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (82)

<223> 合成的

<400>261

Phe	Asn	Pro	Gln	Gly	Leu	Ala	Gln	Pro	Asp	Ala	Leu	Asn	Val	Pro	Ser
1				5				10					15		
Thr	Cys	Cys	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Lys	Lys	Ile	Ser	Leu	Gln	Arg	Leu
			20					25					30		
Lys	Ser	Tyr	Val	Ile	Thr	Thr	Ser	Arg	Cys	Pro	Gln	Lys	Ala	Val	Ile
		35					40					45			
Phe	Arg	Thr	Lys	Leu	Gly	Lys	Glu	Ile	Cys	Ala	Asp	Pro	Lys	Glu	Lys
	50					55				60					
Trp	Val	Gln	Asn	Tyr	Met	Lys	His	Leu	Gly	Arg	Lys	Ala	His	Thr	Leu
65					70					75				80	
Lys	Thr														

<210>262

<211>74

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CCL14/HCC-1

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (74)

<223> 合成的

<400>262

Thr Lys Thr Glu Ser Ser Ser Arg Gly Pro Tyr His Pro Ser Glu Cys
1 5 10 15
Cys Phe Thr Tyr Thr Thr Tyr Lys Ile Pro Arg Gln Arg Ile Met Asp
 20 25 30
Tyr Tyr Glu Thr Asn Ser Gln Cys Ser Lys Pro Gly Ile Val Phe Ile
 35 40 45
Thr Lys Arg Gly His Ser Val Cys Thr Asn Pro Ser Asp Lys Trp Val
 50 55 60
Gln Asp Tyr Ile Lys Asp Met Lys Glu Asn
65 70

<210>263

<211>73

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL1/GR0alpha

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (73)

<223> 合成的

<400>263

Ala Ser Val Ala Thr Glu Leu Arg Cys Gln Cys Leu Gln Thr Leu Gln
1 5 10 15
Gly Ile His Pro Lys Asn Ile Gln Ser Val Asn Val Lys Ser Pro Gly
 20 25 30
Pro His Cys Ala Gln Thr Glu Val Ile Ala Thr Leu Lys Asn Gly Arg
 35 40 45
Lys Ala Cys Leu Asn Pro Ala Ser Pro Ile Val Lys Lys Ile Ile Glu
 50 55 60
Lys Met Leu Asn Ser Asp Lys Ser Asn
65 70

<210>264

<211>73

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL2/GR0beta

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (73)

<223> 合成的

<400>264

Ala	Pro	Leu	Ala	Thr	Glu	Leu	Arg	Cys	Gln	Cys	Leu	Gln	Thr	Leu	Gln
1				5				10					15		
Gly	Ile	His	Leu	Lys	Asn	Ile	Gln	Ser	Val	Lys	Val	Lys	Ser	Pro	Gly
			20					25					30		
Pro	His	Cys	Ala	Gln	Thr	Glu	Val	Ile	Ala	Thr	Leu	Lys	Asn	Gly	Gln
		35					40					45			
Lys	Ala	Cys	Leu	Asn	Pro	Ala	Ser	Pro	Met	Val	Lys	Lys	Ile	Ile	Glu
	50					55				60					
Lys	Met	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Ser	Asn							
65						70									

<210>265

<211>73

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL3/GR0gama

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (73)

<223> 合成的

<400>265

Ala	Ser	Val	Val	Thr	Glu	Leu	Arg	Cys	Gln	Cys	Leu	Gln	Thr	Leu	Gln
1				5				10					15		

Gly Ile His Leu Lys Asn Ile Gln Ser Val Asn Val Arg Ser Pro Gly
20 25 30
Pro His Cys Ala Gln Thr Glu Val Ile Ala Thr Leu Lys Asn Gly Lys
35 40 45
Lys Ala Cys Leu Asn Pro Ala Ser Pro Met Val Gln Lys Ile Ile Glu
50 55 60
Lys Ile Leu Asn Lys Gly Ser Thr Asn
65 70

<210>266

<211>70

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL4/PF4

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (70)

<223> 合成的

<400>266

Glu Ala Glu Glu Asp Gly Asp Leu Gln Cys Leu Cys Val Lys Thr Thr
1 5 10 15
Ser Gln Val Arg Pro Arg His Ile Thr Ser Leu Glu Val Ile Lys Ala
20 25 30
Gly Pro His Cys Pro Thr Ala Gln Leu Ile Ala Thr Leu Lys Asn Gly
35 40 45
Arg Lys Ile Cys Leu Asp Leu Gln Ala Pro Leu Tyr Lys Lys Ile Ile
50 55 60
Lys Lys Leu Leu Glu Ser
65 70

<210>267

<211>77

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL5/ENA-78

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (77)

<223>合成的

<400>267

```
Gly Pro Ala Ala Ala Val Leu Arg Glu Leu Arg Cys Val Cys Leu Gln
1           5           10           15
Thr Thr Gln Gly Val His Pro Lys Met Ile Ser Asn Leu Gln Val Phe
          20           25           30
Ala Ile Gly Pro Gln Cys Ser Lys Val Glu Val Val Ala Ser Leu Lys
          35           40           45
Asn Gly Lys Glu Ile Cys Leu Asp Pro Glu Ala Pro Phe Leu Lys Lys
          50           55           60
Val Ile Gln Lys Ile Leu Asp Gly Gly Asn Lys Glu Asn
65           70           75
```

<210>268

<211>77

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>CXCL6/GCP-2

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (77)

<223>合成的

<400>268

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


Asn Gly Lys Gln Val Cys Leu Asp Pro Glu Ala Pro Phe Leu Lys Lys
50 55 60
Val Ile Gln Lys Ile Leu Asp Ser Gly Asn Lys Lys Asn
65 70 75

<210>269

<211>94

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL7/NAP-2

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (94)

<223> 合成的

<400>269

Ser Ser Thr Lys Gly Gln Thr Lys Arg Asn Leu Ala Lys Gly Lys Glu
1 5 10 15
Glu Ser Leu Asp Ser Asp Leu Tyr Ala Glu Leu Arg Cys Met Cys Ile
20 25 30
Lys Thr Thr Ser Gly Ile His Pro Lys Asn Ile Gln Ser Leu Glu Val
35 40 45
Ile Gly Lys Gly Thr His Cys Asn Gln Val Glu Val Ile Ala Thr Leu
50 55 60
Lys Asp Gly Arg Lys Ile Cys Leu Asp Pro Asp Ala Pro Arg Ile Lys
65 70 75 80
Lys Ile Val Gln Lys Lys Leu Ala Gly Asp Glu Ser Ala Asp
85 90

<210>270

<211>79

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL8/IL-8

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (79)

<223> 合成的

<400>270

```
Glu Gly Ala Val Leu Pro Arg Ser Ala Lys Glu Leu Arg Cys Gln Cys
1           5           10           15
Ile Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Phe His Pro Lys Phe Ile Lys Glu Leu
          20          25          30
Arg Val Ile Glu Ser Gly Pro His Cys Ala Asn Thr Glu Ile Ile Val
          35          40          45
Lys Leu Ser Asp Gly Arg Glu Leu Cys Leu Asp Pro Lys Glu Asn Trp
          50          55          60
Val Gln Arg Val Val Glu Lys Phe Leu Lys Arg Ala Glu Asn Ser
65           70           75
```

<210>271

<211>103

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL9/MIG

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (103)

<223> 合成的

<400>271

```
Thr Pro Val Val Arg Lys Gly Arg Cys Ser Cys Ile Ser Thr Asn Gln
1           5           10           15
Gly Thr Ile His Leu Gln Ser Leu Lys Asp Leu Lys Gln Phe Ala Pro
          20          25          30
Ser Pro Ser Cys Glu Lys Ile Glu Ile Ile Ala Thr Leu Lys Asn Gly
          35          40          45
Val Gln Thr Cys Leu Asn Pro Asp Ser Ala Asp Val Lys Glu Leu Ile
50           55           60
```


<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (73)

<223> 合成的

<400>273

Phe Pro Met Phe Lys Arg Gly Arg Cys Leu Cys Ile Gly Pro Gly Val
1 5 10 15
Lys Ala Val Lys Val Ala Asp Ile Glu Lys Ala Ser Ile Met Tyr Pro
 20 25 30
Ser Asn Asn Cys Asp Lys Ile Glu Val Ile Ile Thr Leu Lys Glu Asn
 35 40 45
Lys Gly Gln Arg Cys Leu Asn Pro Lys Ser Lys Gln Ala Arg Leu Ile
 50 55 60
Ile Lys Lys Val Glu Arg Lys Asn Phe
65 70

<210>274

<211>72

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL12alpha/SDF-1alpha

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (72)

<223> 合成的

<400>274

Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser
1 5 10 15
His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro
 20 25 30
Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln
 35 40 45
Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys
 50 55 60

Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys Met
65 70

<210>275

<211>72

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CXCL12beta/SDF-1beta

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (72)

<223> 合成的

<400>275

Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser
1 5 10 15
His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro
20 25 30
Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln
35 40 45
Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys
50 55 60
Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys Met
65 70

<210>276

<211>76

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>CX3CL1/ 趋化因子 CX3

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (76)

<223> 合成的

<400>276

```
Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met Thr
1           5           10           15
Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln Ala
           20           25           30
Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg Leu
           35           40           45
Phe Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln His
           50           55           60
Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly
65           70           75
```

<210>277

<211>93

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>XCL1/ 淋巴细胞趋化因子

<220>

<221>L- 蛋白

<222>(1).. (93)

<223> 合成的

<400>277

```
Val Gly Ser Glu Val Ser Asp Lys Arg Thr Cys gal Ser Leu Thr Thr
1           5           10           15
Gln Arg Leu Pro Val Ser Arg Ile Lys Thr Tyr Thr Ile Thr Glu Gly
           20           25           30
Ser Leu Arg Ala Val Ile Phe Ile Thr Lys Arg Gly Leu Lys Val Cys
           35           40           45
Ala Asp Pro Gln Ala Thr Trp Val Arg Asp Val Val Arg Ser Met Asp
           50           55           60
Arg Lys Ser Asn Thr Arg Asn Asn Met Ile Gln Thr Lys Pro Thr Gly
65           70           75           80
Thr Gln Gln Ser Thr Asn Thr Ala Val Thr Leu Thr Gly
```

85

90

<210>278

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 生物素化的 NOX-E36

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223> 合成的

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223>5' 生物素

<400>278

gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg

40

<210>279

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>POC

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223> 合成的

<400>279

uaaggaaacu cggucugaug cgguagcgcu gugcagagcu

40

<210>280

<211>40

<212>RNA

<213> 人工序列

<220>

<223>POC-PEG

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223> 合成的

<220>

<221>L-RNA

<222>(1)..(40)

<223>5' PEG 化

<400>280

uaaggaaacu cggucugaug cgguagcgcu gugcagagcu

40

<210>281

<211>11

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>mNOX-E36 捕获探针

<220>

<221>L-DNA

<222>(1)..(11)

<223> 合成的

<220>

<221>L-DNA

<222>(1)..(11)

<223>3' -(间隔子 18) 2-NH4+

<400>281

ccaatgtcgc c

11

<210>282

<211>9

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>mNOX-E36 检测探针

<220>

<221>L-DNA

<222>(1)..(9)

<223> 合成的

<220>

<221>L-DNA

<222>(1)..(9)

<223>5'-生物素-(间隔子 18)2-

<400>282

cgcagagcc

9

<210>283

<211>76

<212>PRT

<213> 马

<400>283

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ser Pro Val Thr Cys Cys Tyr Thr Phe Thr

1 5 10 15

Gly Lys Lys Ile Ser Ser Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Lys Arg Val Thr

20 25 30

Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Leu Ala

35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Glu Gln Lys Trp Val Gln Asp Ala Val

50 55 60

Lys Gln Leu Asp Lys Lys Ala Gln Thr Pro Lys Pro

65

70

75

<210>284

<211>76

<212>PRT

<213> 欧洲牛

<400>284

Gln	Pro	Asp	Ala	Ile	Asn	Ser	Gln	Val	Ala	Cys	Cys	Tyr	Thr	Phe	Asn
1				5					10					15	
Ser	Lys	Lys	Ile	Ser	Met	Gln	Arg	Leu	Met	Asn	Tyr	Arg	Arg	Val	Thr
			20					25						30	
Ser	Ser	Lys	Cys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Ile	Phe	Lys	Thr	Ile	Leu	Gly
			35				40							45	
Lys	Glu	Leu	Cys	Ala	Asp	Pro	Lys	Gln	Lys	Trp	Val	Gln	Asp	Ser	Ile
			50				55					60			
Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Lys	Asn	Gln	Thr	Pro	Lys	Pro				
65						70					75				

<210>285

<211>125

<212>PRT

<213> 褐家鼠

<400>285

Gln	Pro	Asp	Ala	Val	Asn	Ala	Pro	Leu	Thr	Cys	Cys	Tyr	Ser	Phe	Thr
1				5					10					15	
Gly	Lys	Met	Ile	Pro	Met	Ser	Arg	Leu	Glu	Asn	Tyr	Lys	Arg	Ile	Thr
			20					25						30	
Ser	Ser	Arg	Cys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Val	Phe	Val	Thr	Lys	Leu	Lys
			35				40							45	
Arg	Glu	Ile	Cys	Ala	Asp	Pro	Asn	Lys	Glu	Trp	Val	Gln	Lys	Tyr	Ile
			50				55					60			
Arg	Lys	Leu	Asp	Gln	Asn	Gln	Val	Arg	Ser	Glu	Thr	Thr	Val	Phe	Tyr
65						70				75				80	
Lys	Ile	Ala	Ser	Thr	Leu	Arg	Thr	Ser	Ala	Pro	Leu	Asn	Val	Asn	Leu
						85				90				95	
Thr	His	Lys	Ser	Glu	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Leu	Phe	Ser	Thr	Thr	Thr
						100				105				110	

Ser Ser Thr Ser Val Glu Val Thr Ser Met Thr Glu Asn
115 120 125

<210>286

<211>50

<212>RNA

<213> 人工的

<220>

<223>MCP-1 结合子

<220>

<221>misc_feature

<222>(1).. (50)

<223>L-RNA

<400>286

accggcgccu aaguaguuuc ecggagcgga guacggguug guuacagcgg

50

1A型	长度 (nt)						Pull-down		IC ₅₀ Ca ⁺⁺ - 测定法[nM]
	B1A	B2	B3	B4	B5	B6			
169-B1trc	AGCGUG	CCCGGA	GUG	GCA	GGGGACGCGACC	UGCAUAUAUG	CACGCU	>> E10trc	8
169-F3trc	AGCGUG	CCCGGA	GUG	GCA	GGGGACGCGACC	UGCAUAUG	CACGCU	>> E10trc	10
169-C1trc	AGCGUG	CCCGGA	GUG	GCA	GGGGACGCGACC	UGUAUAUAUG	CACGCU	>> E10trc	
169-A3trc	AGCGUG	CCCGGU	GUG	GCA	GGGGACGCGACC	UGCAUAUAUG	CGCGCU	>> E10trc	
169-B2trc	AGCGUG	CCCGGA	GUA	GCA	GGGGGCGCGACC	UGCAUAUAUG	CACGCU	>> E10trc	
176-B12trc	AGCGUG	CCCGGU	GUG	GUA	GGGGGCGCGAUC	UACAUAUG	CACGCU	>> E10trc	
176-D9trc	AGCGUG	CCCGGU	GUG	ACA	GGGGGCGCGACC	UGCAUAUG	CACGCU	>> E10trc	
176-B10trc	AGCGUG	CCCGGU	GUG	GCA	GGGGGCGCGACC	UGUAUAUG	CACGCU	> E10trc	14
169-F2trc	AGCGUG	CCCGGA	GUG	GCA	GGGGGCGCGACC	UGCAUAUAUG	CACGCU	> E10trc	
176-B9trc	AGCGUG	CCCGGU	GUG	GCA	GGGGGCGCGACC	UGCAUAUG	CACGCU	> E10trc	
176-H9trc	AGCAUG	CCCGGU	GUG	GCA	GGGGGCGCGACC	UGCAUAUG	CAUGCU	> E10trc	
176-E10trc	AGCGUG	CCCGGU	GUG	GUA	GGGGGCGCGACC	UACAUAUG	CACGCU	5 nM	4-5
盒	B1A	B2	B3	B4	B5	B6	B1B		

> E10trc, 比176-E10trc更弱地结合, 如在竞争测定法中所测定的
>> E10trc, 比176-E10trc弱得多地结合, 如在竞争测定法中所测定的

图 1

232

1B型

	AGUGUG	CCAGCU	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CACACU	长度 (nt)	Pull-down	IC ₅₀ Ca ⁺⁺ - 测定法 [nM]
176-G9trc	AGUGUG	CCAGCU	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CACACU	44	> C9trc	6
176-F9trc	AGUGUG	CCAGC	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CACACU	43	> C9trc	
176-C11trc.	AGUGUG	CGAGC	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CAUACU	43	> C9trc	
176-E11trc	AGUGUG	CCAGC	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CAUACU	43	> C9trc	
176-D10trc	AGUAUG	CCAGC	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUA	CAUACU	42	> C9trc	30
176-H10trc	AGUGUG	CCAG U	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CACACU	43	= C9trc	6
176-C9trc	AGCGUG	CCAG U	GUG	AUG	GGGGGGCGGACG	CAUUUUA	CACGCU	43	5 nM	4-5
盒	B1A	B2	B3	B4	B5	B6	B1B			

= C9trc, 类似于176-C9trc地结合, 如在竞争测定法中所测定的
> C9trc, 比176-C9trc更弱地结合, 如在竞争测定法中所测定的

图 2
233

2型

180-B1-001	180-A4-002	180-D1-002	盒
ACGCA	ACGCA	ACGCA	B1A
CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGGCUC	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGGCUC	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGGCUC	B2
CCUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	CCUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	CCUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	B1B
UGCGU	UGCGU	UGCGU	
长度 (nt)	Pull-down	IC ₅₀ Ca ⁺⁺ -测定法	IC ₅₀ 趋化性
43	> D1-002		
43	> D1-002		
43	0.7 nM	5 nM	< 1 nM

180-D1-002的衍生物

180-D1-011	GCA	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	UGCGU	= D1-002	5 nM	1.2 nM
180-D1-012	ACGCA	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	UGG	= D1-002	6 nM	2.6 nM
180-D1-018	GCA	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	UGG	> D1-002	<10 nM	2 nM
180-D1-034	CGCA	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	UGCGU	> D1-002		
180-D1-035	CGCA	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	UGCG	= D1-002		
180-D1-036	GCA	CGUCCCUCAACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC	UGCG	= D1-002	3-4 nM	0.5 nM

盒	B1A	B2	B1B
---	-----	----	-----

= D1-002, 类似于180-D1-002地结合, 如在竞争测定法中所测定的
> D1-002, 比180-D1-002更弱地结合, 如在竞争测定法中所测定的

图 3

3型

IC ₅₀ Ca ⁺⁺ - 敏化性[nM]	Pull-down	长度 (nt)
	> 178-D5	49
	> 178-D5	49
	> 178-D5	49
	> 178-D5	48
	> 178-D5	48
	> 178-D5	48
	> 178-D5	48
	> 178-D5	48
	> 178-D5	48
	= 178-D5	48
	= 178-D5	48
	= 178-D5	48
0.5	= 178-D5	48
	0.5 nM	48
0.5	0.5 nM	48
0.5	0.1 nM	48

178-D5, 类似于178-D5地结合, 如在竞争测定中所测定的
> 178-D5, 比178-D5更弱地结合, 如在竞争测定中所测定的

图 4

4型

184-B8trc
184-C6trc
184-H5trc
184-A7trc
174-D4-004
166-A4-002
187-A5trc
187-A5-001
187-A5-002
187-H5trc
187-H5-002
187-H5-003
187-H5-004

AGCGUGUU
AGCGUGGU
AGCGUGAU
AGCGUGUU
CCGCUU
CCGCGAG
AGCGUGUU
CGUGUU
GUGUU
AGCGUGUU
CGUGUU
GUGUU
UGUU

B1A

AGUGNAGUGGGUGGCAGGUAAAG
AGCGGUGUGGGUGGUAGGUAAAG
AGNAGCCGGUGGUAGGUAAAG
AGGUAGCGGUGGUAGGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
CAGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG
AGGU-GGGUGGUAGGUAGUAAAG

B2

GACACGCU
GCCACGCU
GUCAGGCU
GACACGCU
GGCGG
CUCGCGUC
GACACGCU
GACACG
GACAC
GGCAGCU
GGCAGC
GGCAG
GGC
B1B

长度 (nt)	Full- down [nM]	IC ₅₀ Ca ⁺⁺ - 测定法 [nM]	IC ₅₀ 趋化性 [nM]
39	48		
39	56		
39	69		
39	29		
34	2-4	2-5	2
39		3-5	
38	20		
34	23		
32	26		
38	16		
34	15		
32	17		
30	40		

图 6

鼠特异性镜像异构件

188-A3-001和衍生物

长度 (nt)	Pull- down	IC ₅₀ Ca ⁺⁺ - 测定法	IC ₅₀ 趋化性 [nM]
58	< 1 nM		
56	< 1 nM		
53	< 1 nM		
52	< 1 nM	12	4
50	~0.2 nM	12	7

188-A3-001 GAGUUGCGGACAUUGUUGGGCAUGGAGCGGAGGCCCUUUGAUGAUAUCCGGGCCCAUUC
 188-A3-004 GAUGCGGACAUUGUUGGGCAUGGAGCGGAGGCCCUUUGAUGAUAUCCGGGCCCAUUC
 188-A3-005 GCGGACAUUGUUGGGCAUGGAGCGGAGGCCCUUUGAUGAUAUCCGGGCCCAUUC
 188-A3-006 GCGGACAUUGUUGGGCAUGGAGCGGAGGCCCUUUGAUGAUAUCCGGGCCCAUUC
 188-A3-007 GCGGACAUUGUUGGGCAUGGAGCGGAGGCCCUUUGAUGAUAUCCGGGCCCAUUC
 = mNOK-E36

189-G7-001和衍生物

长度 (nt)	Pull- down	IC ₅₀ Ca ⁺⁺ - 测定法	IC ₅₀ 趋化性 [nM]
48	< 1 nM	20-30	
46	< 1 nM	40-50	6.5
44	< 1 nM		
48	~ 1 nM	20	
48		12	5
46		40	
46		> 50	

189-G7-001 GCUUGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC
 189-G7-002 CUGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC
 189-G7-003 UGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC
 189-G7-007 GCGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC
 189-G7-008 GCGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC
 189-G7-010 GCGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC
 189-G7-012 GCGGUUAACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUGGUUGUACACGAGC

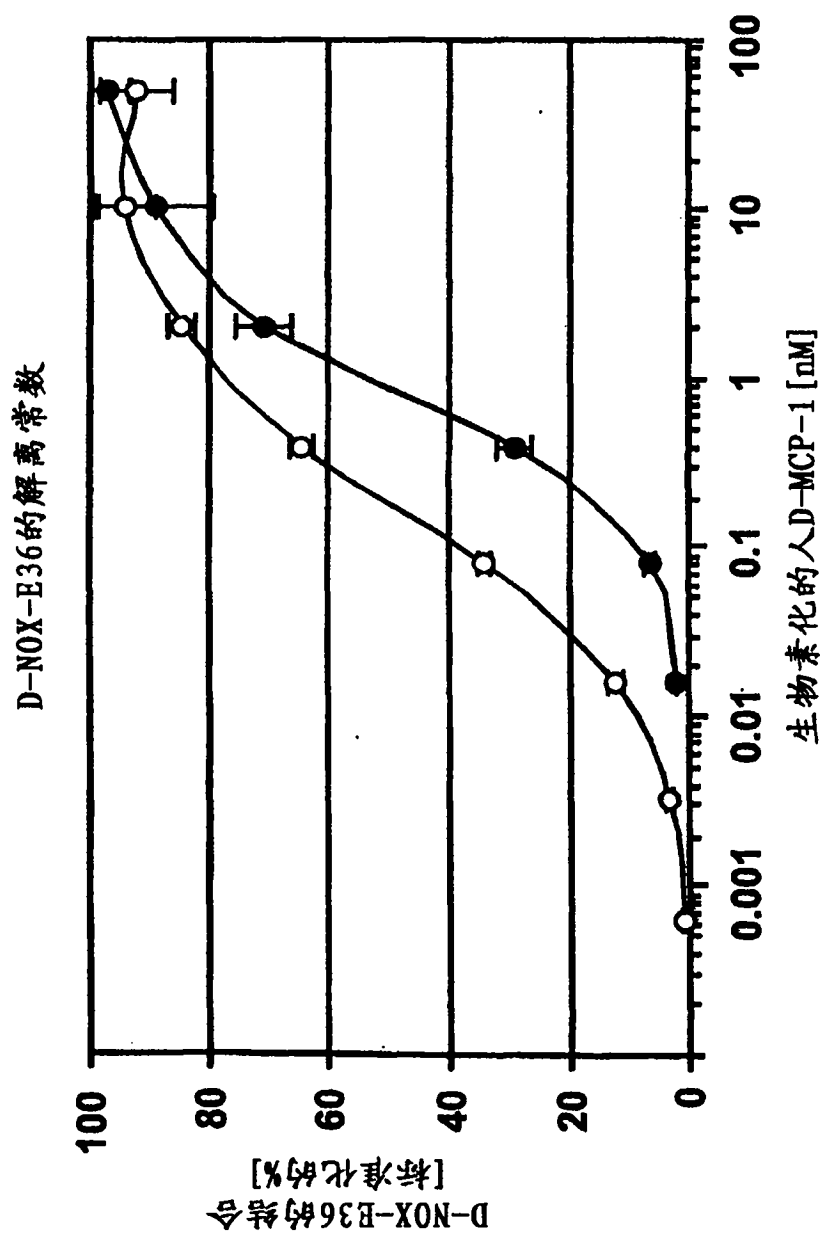


图 9

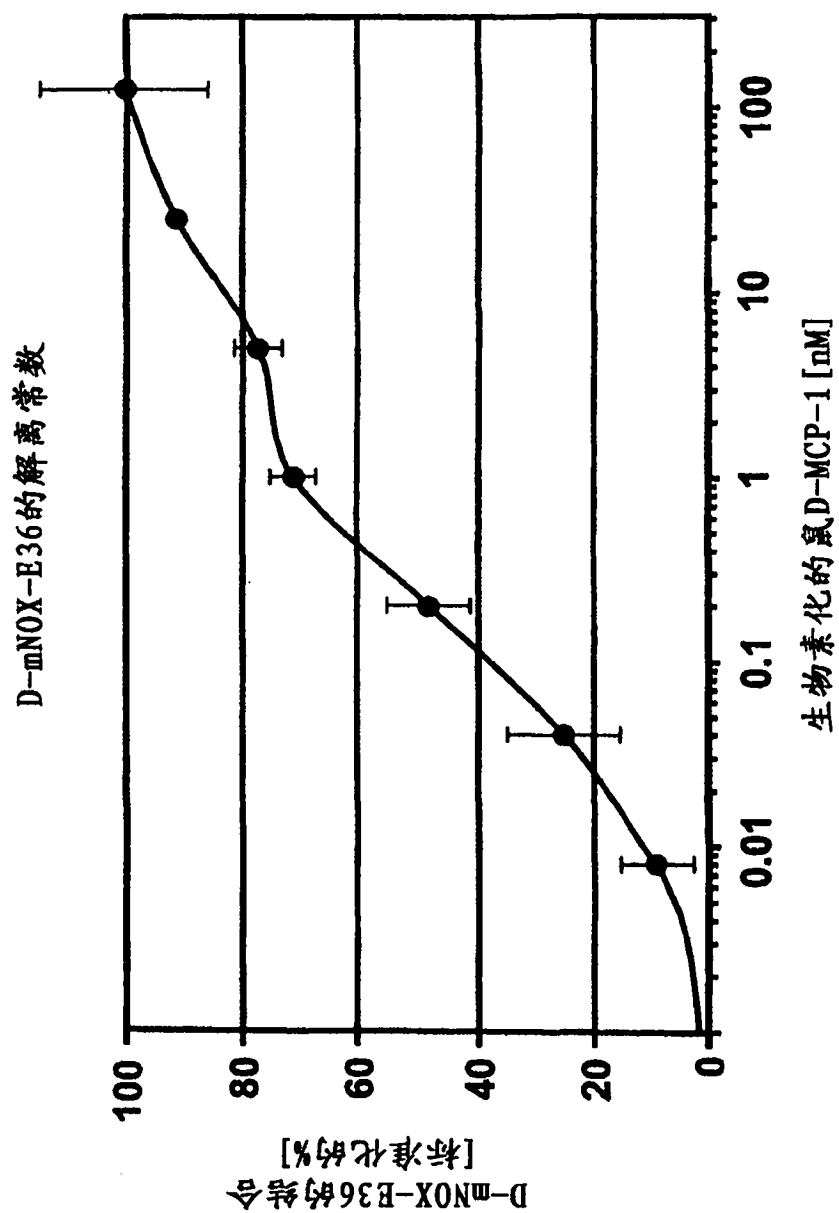


图 10

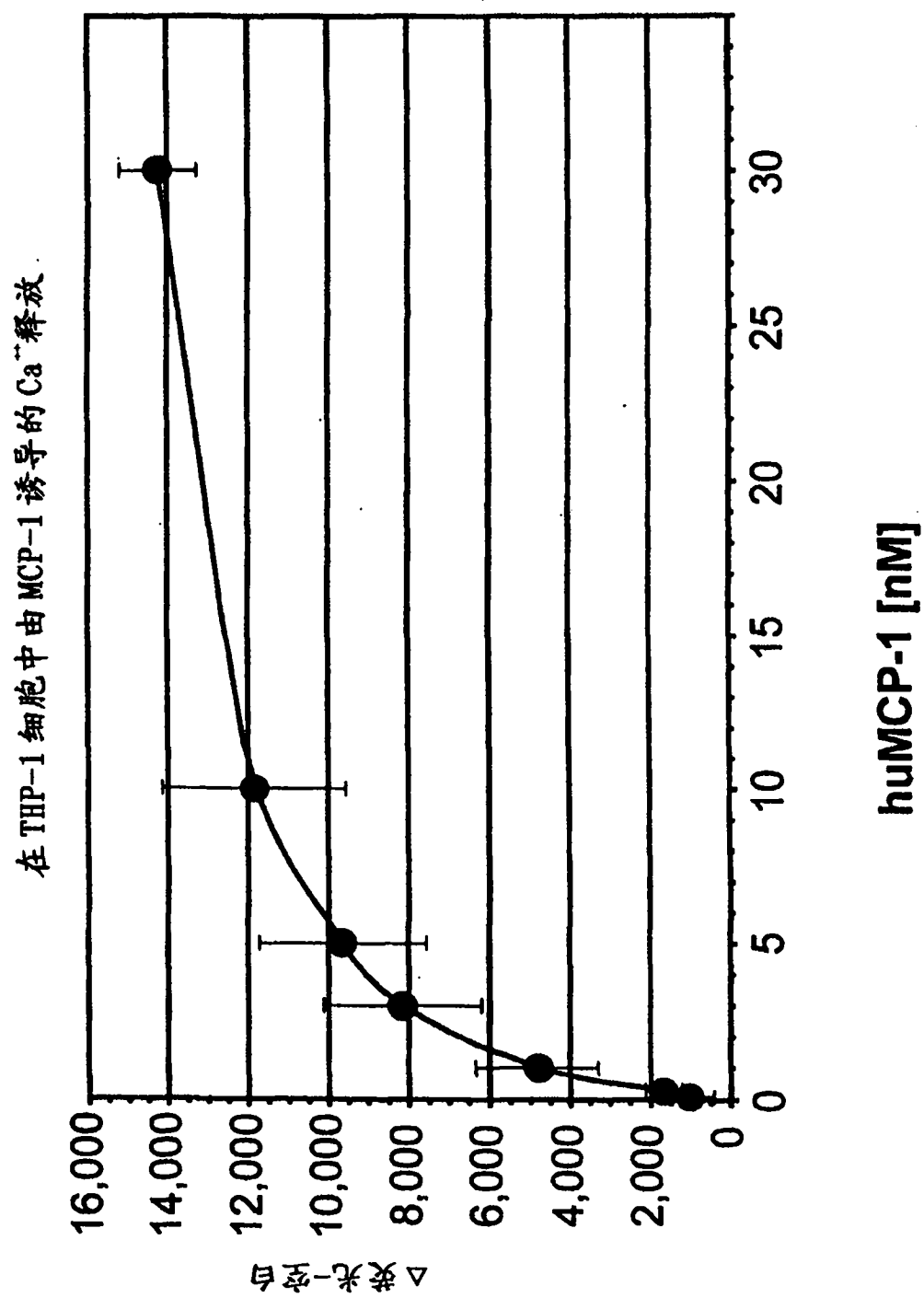


图 11

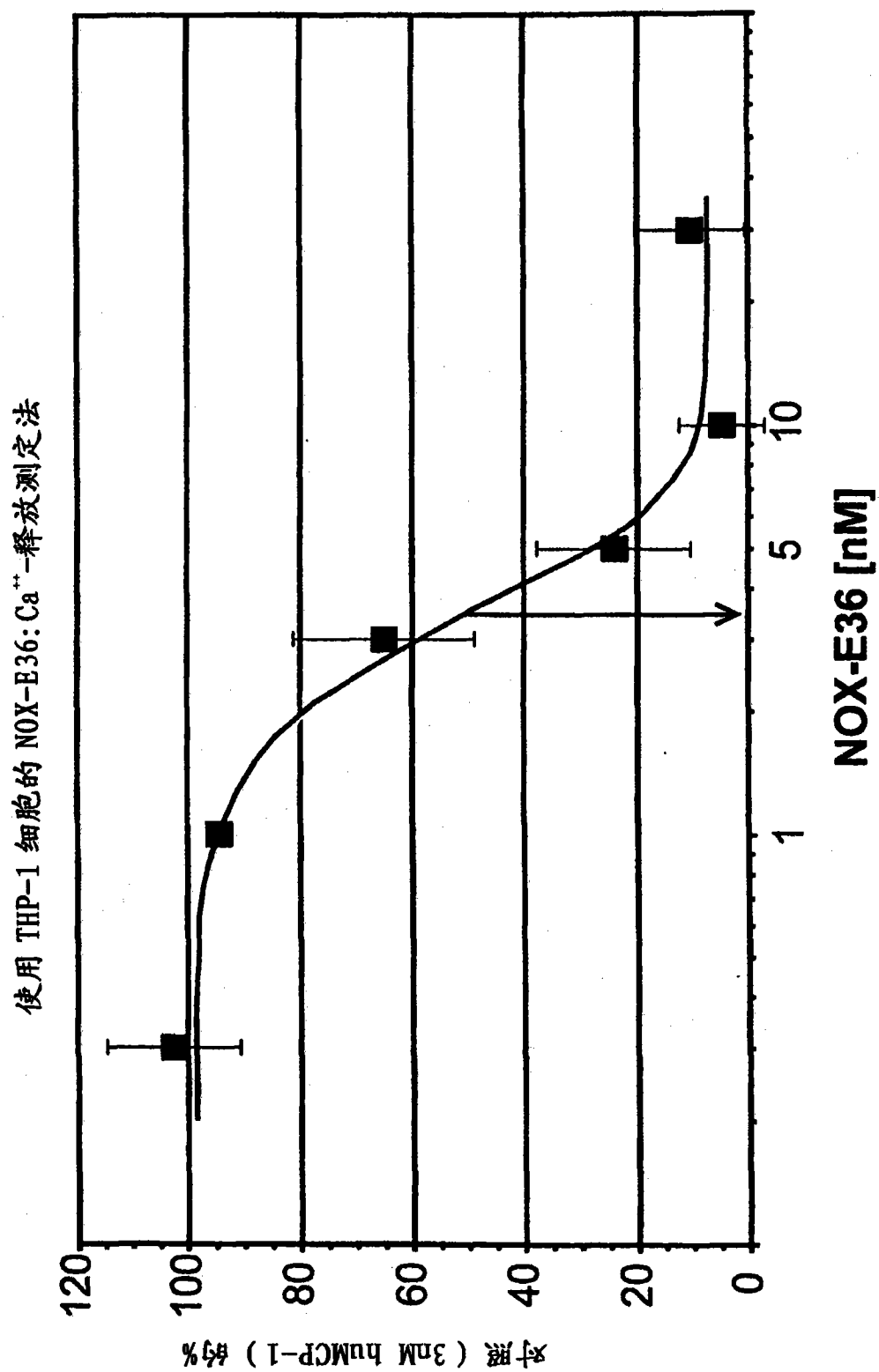


图 12

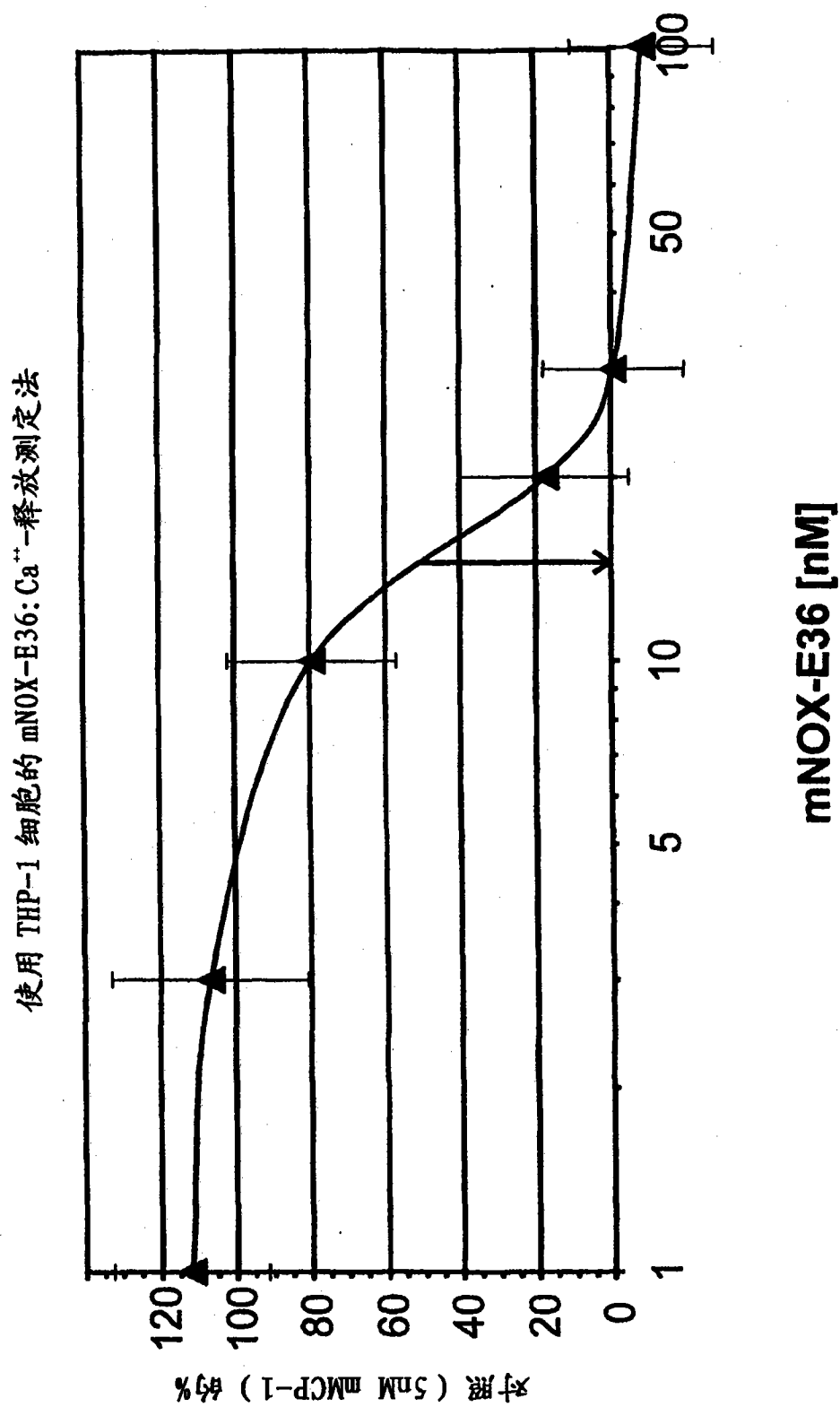


图 13

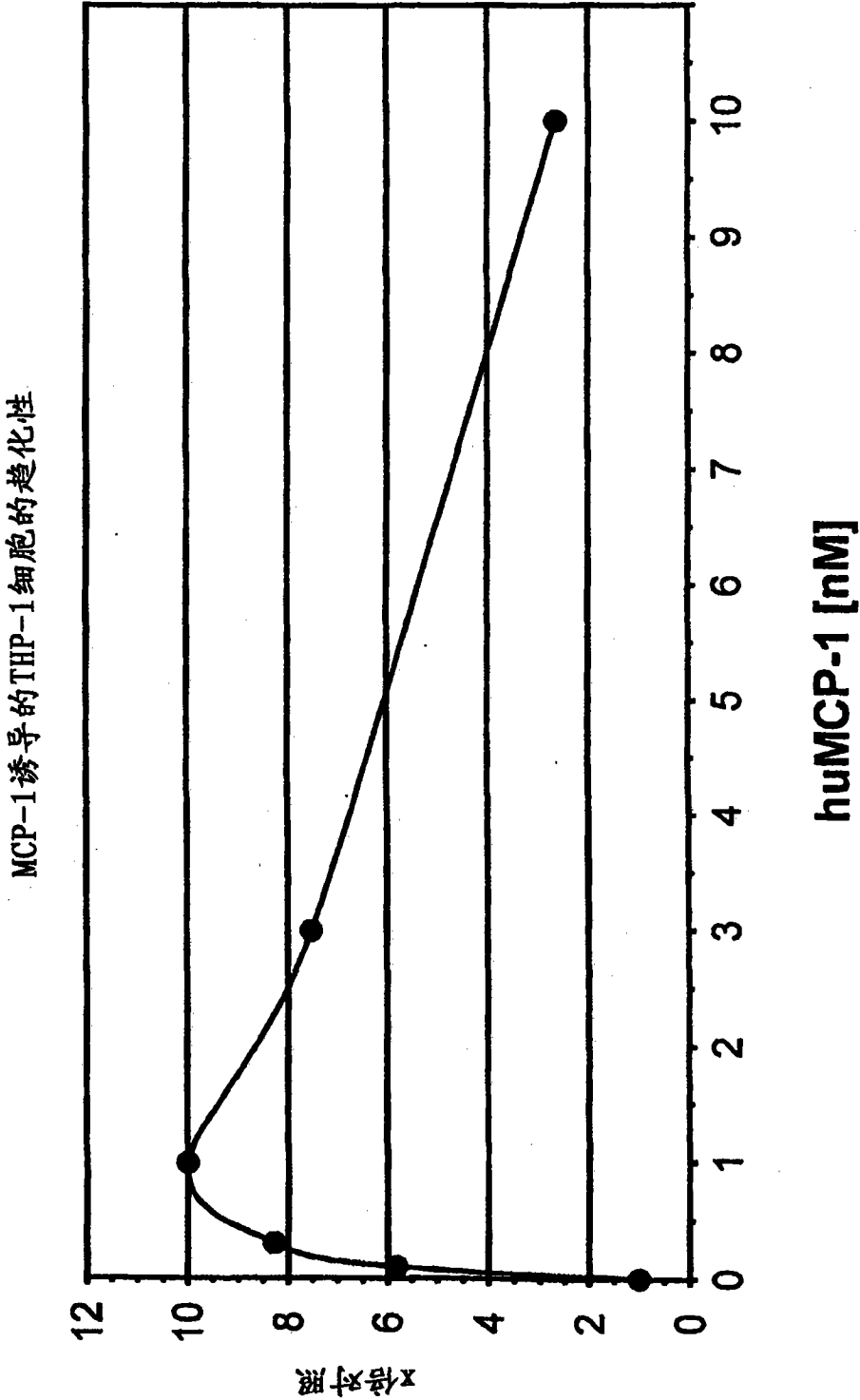


图 14

使用THP-1细胞的NOX-E36: 趋化性测定法

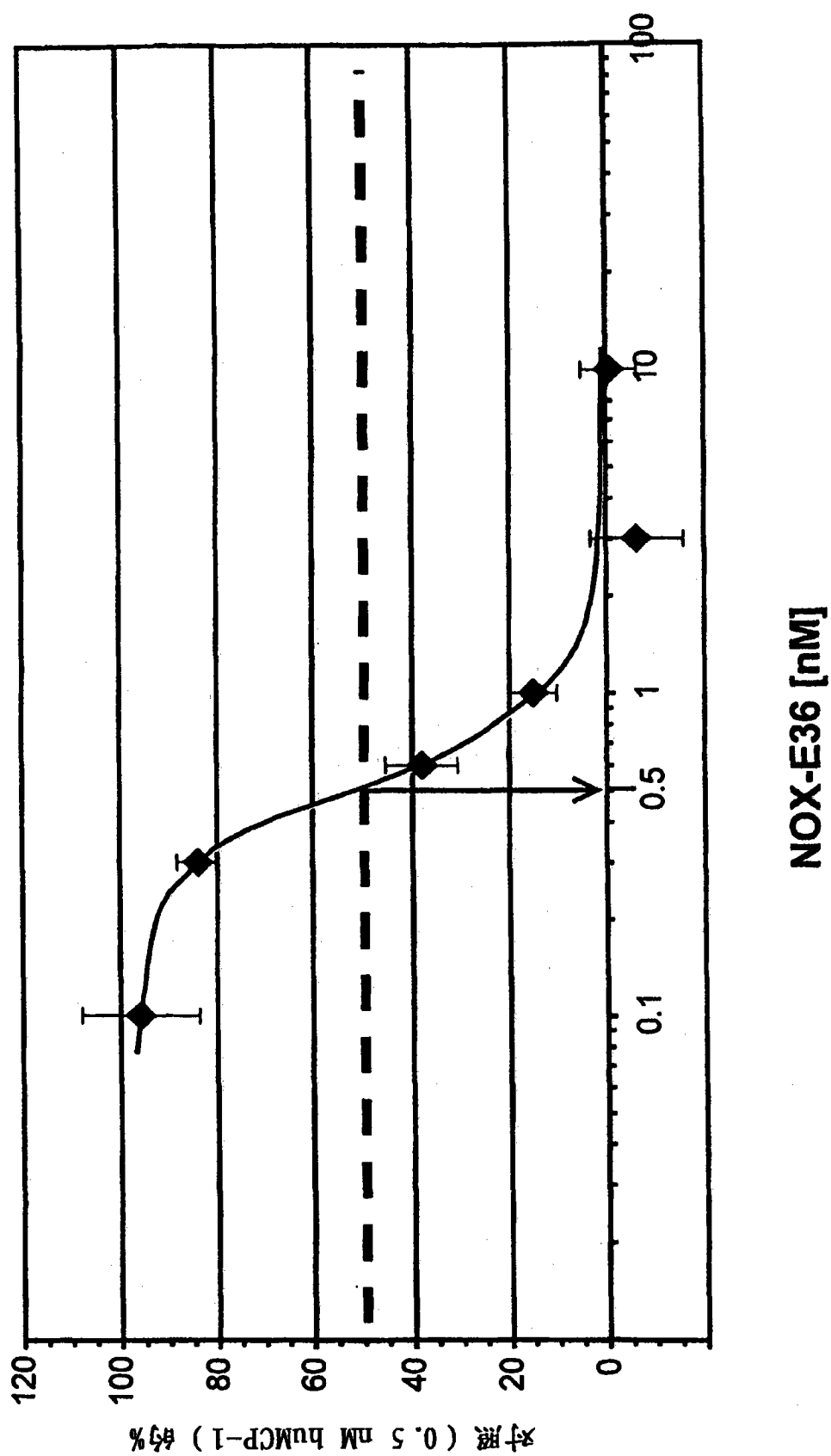


图 15

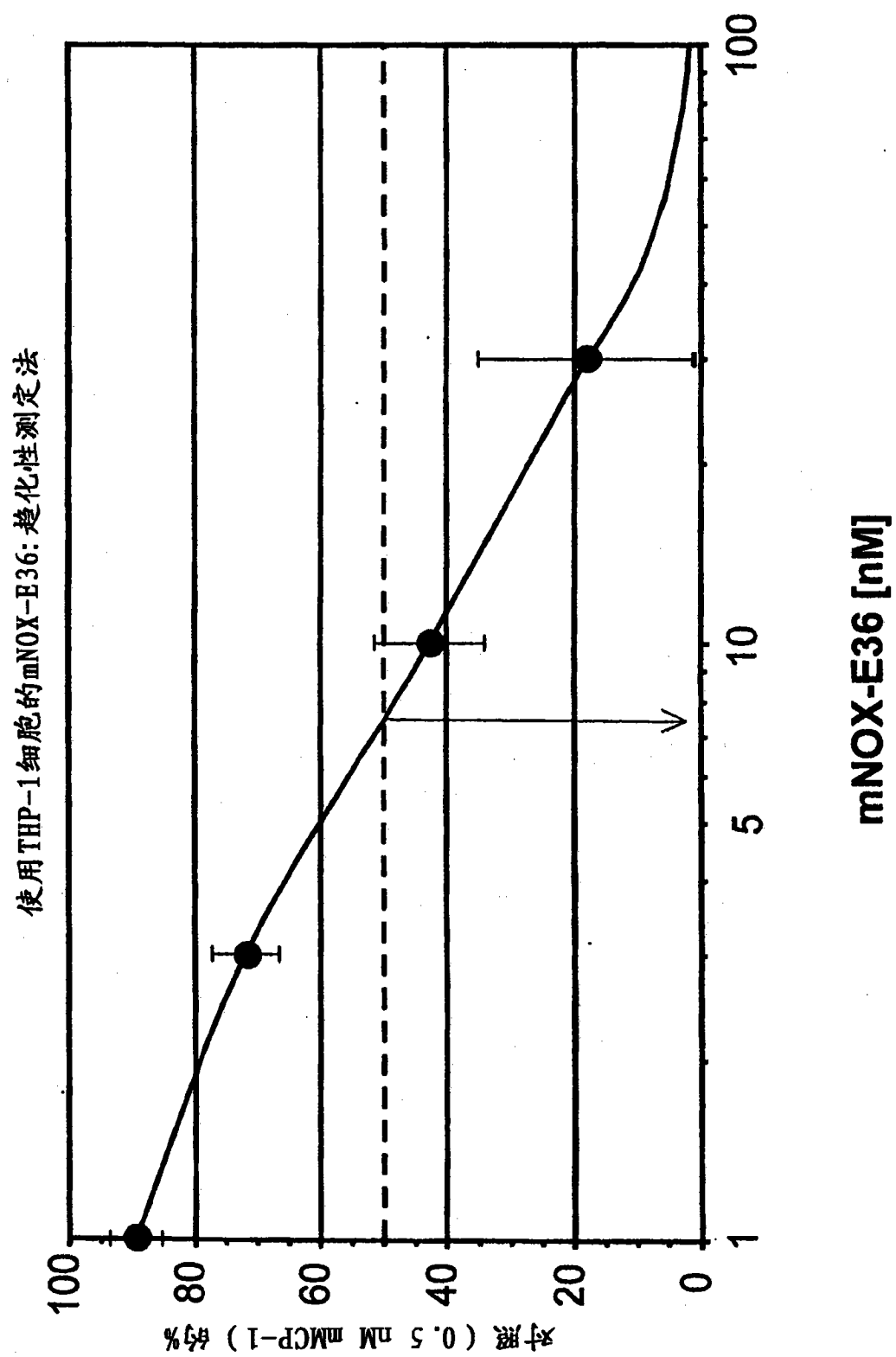
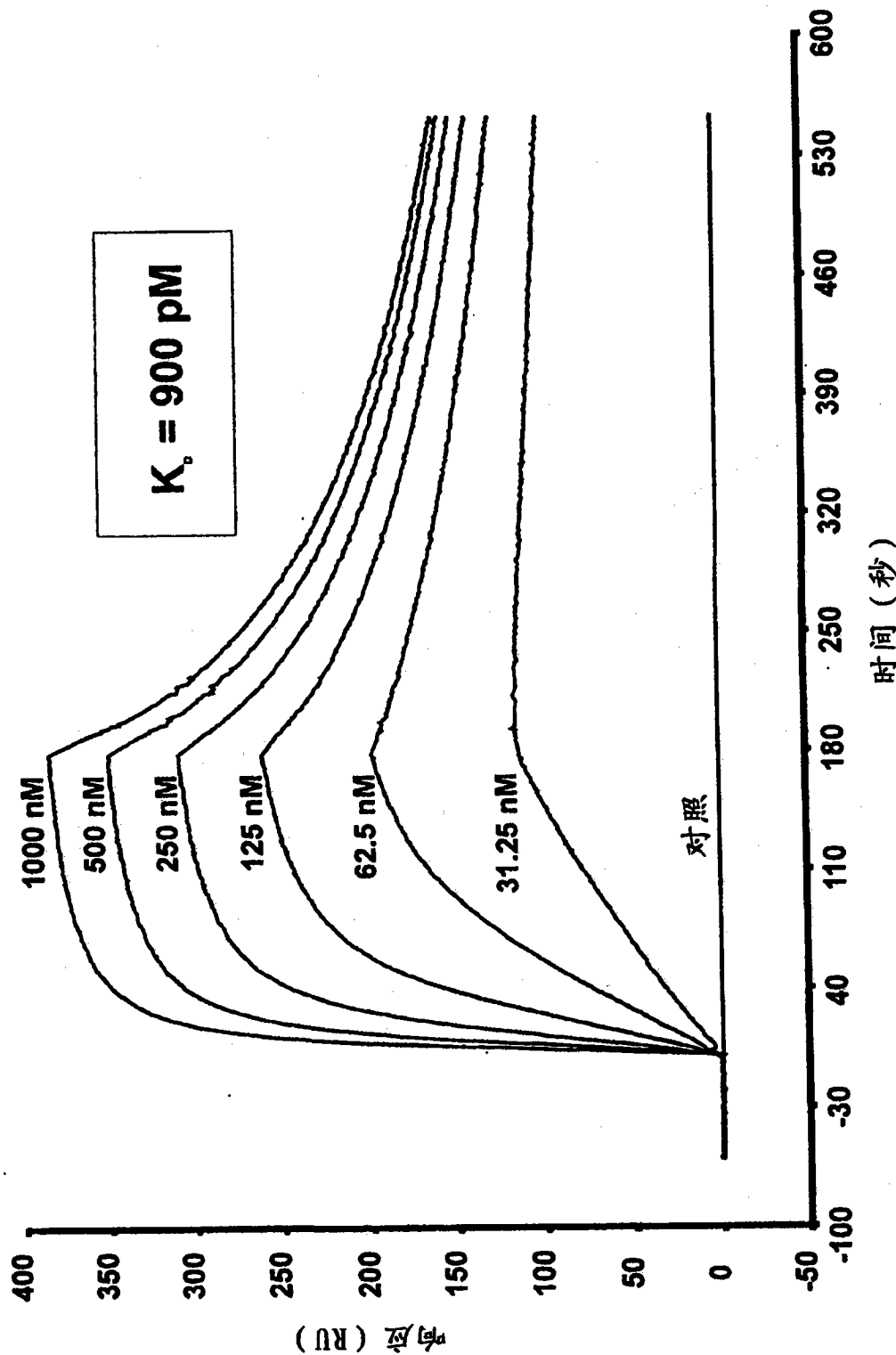
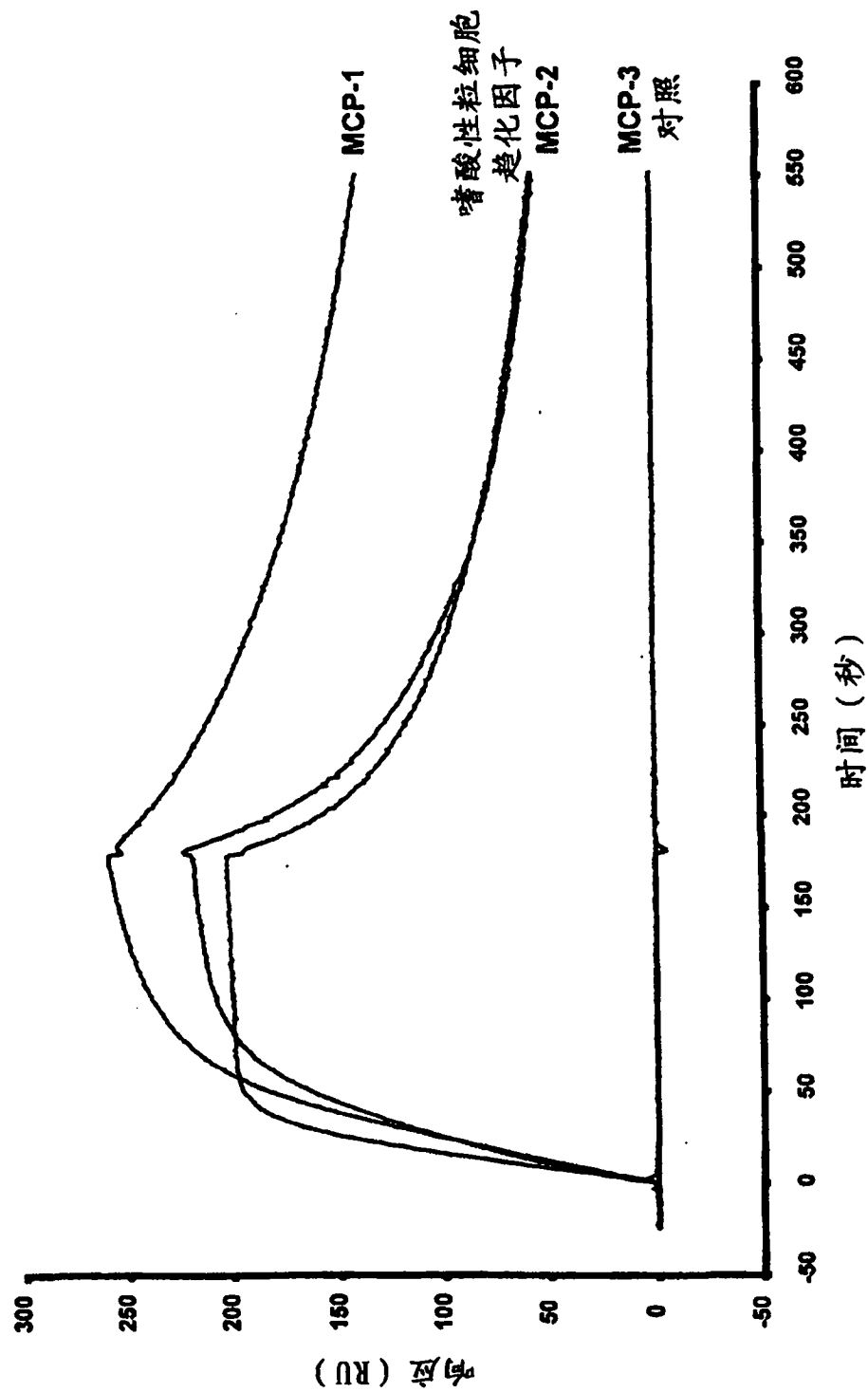


图 16



镜像异构体NOX-E36与人MCP-1结合的动力学

图 17



镜像异构体NOX-E36结合人MCP-家族蛋白质和嗜酸性粒细胞趋化因子

图 18

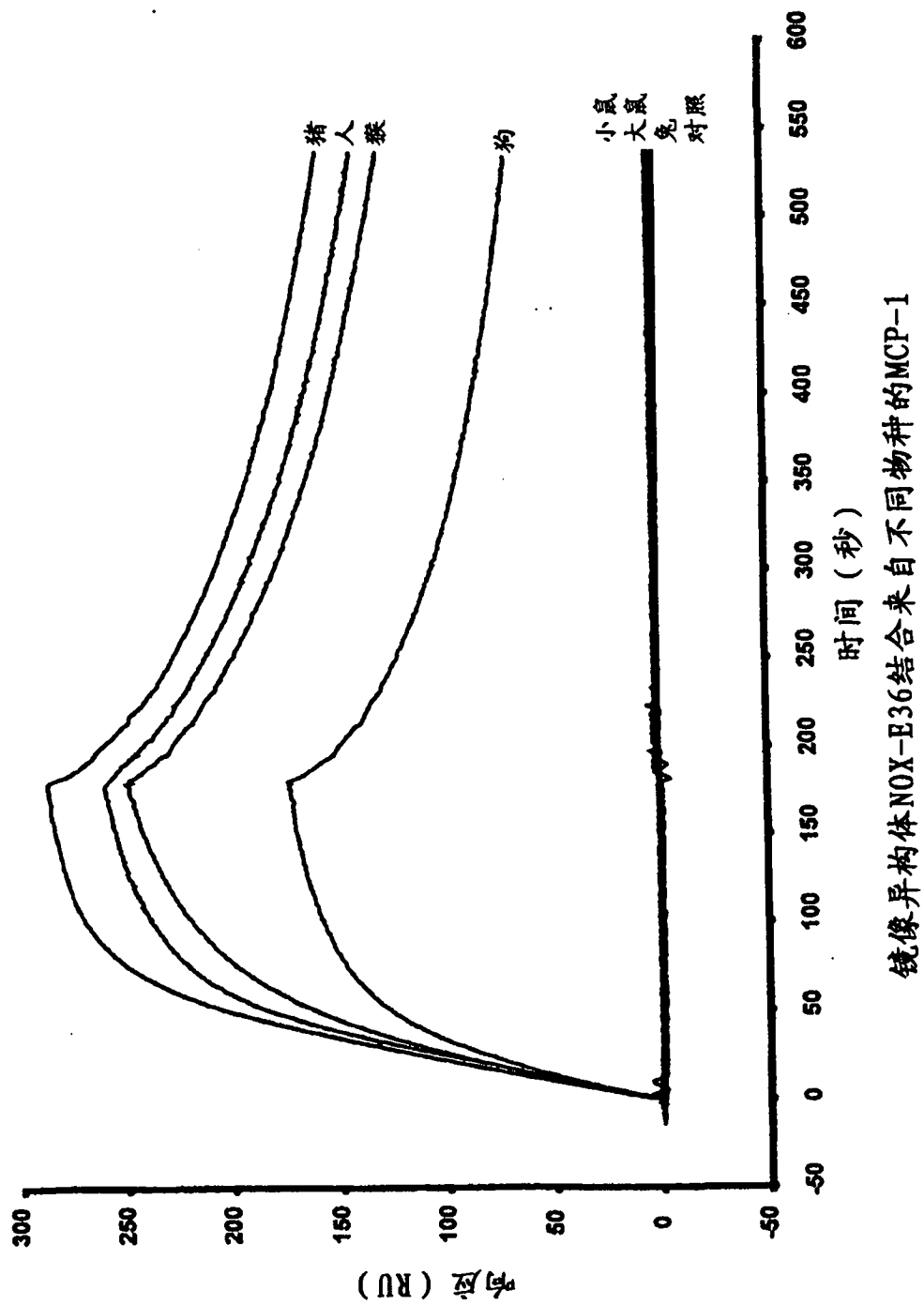
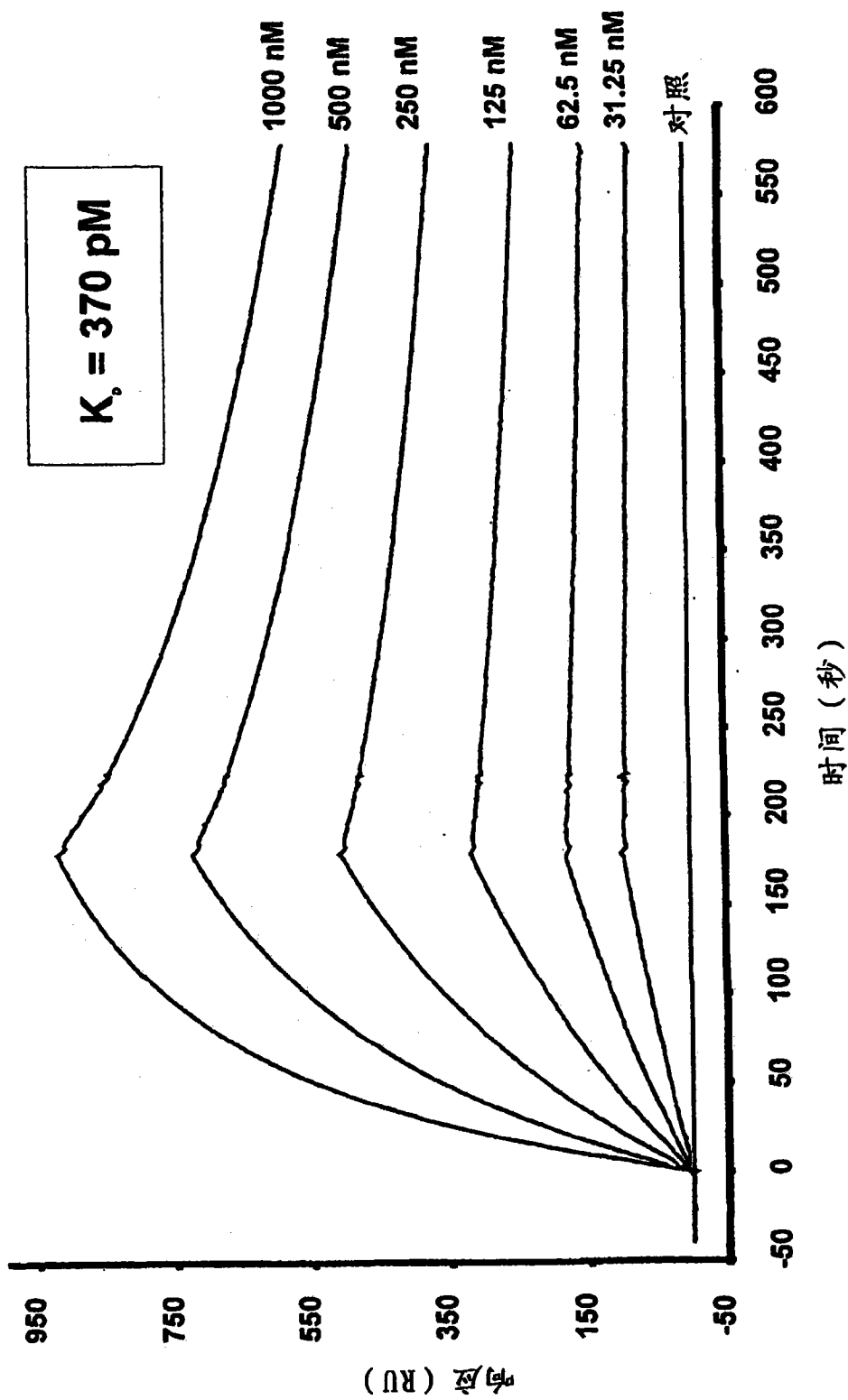
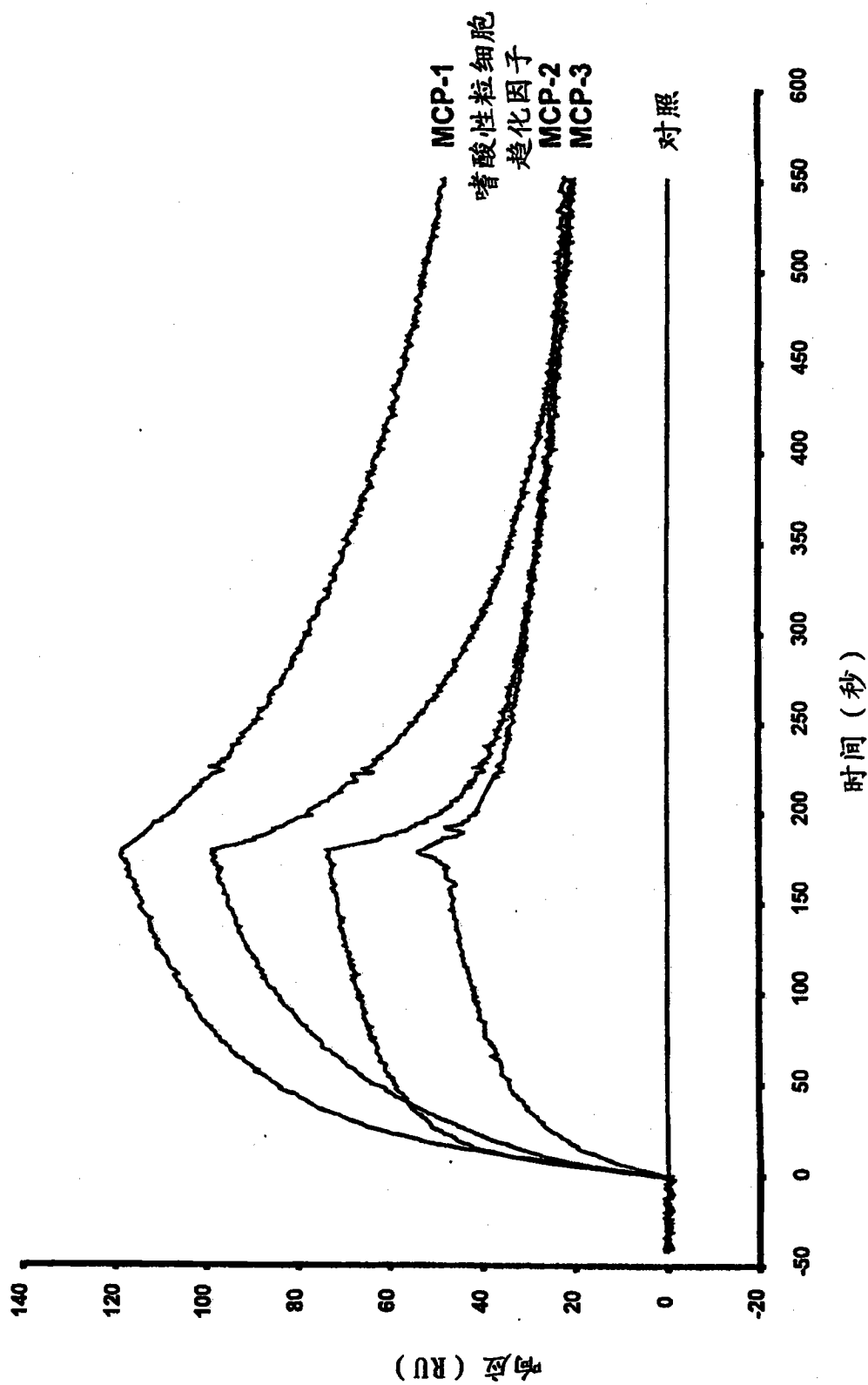


图 19



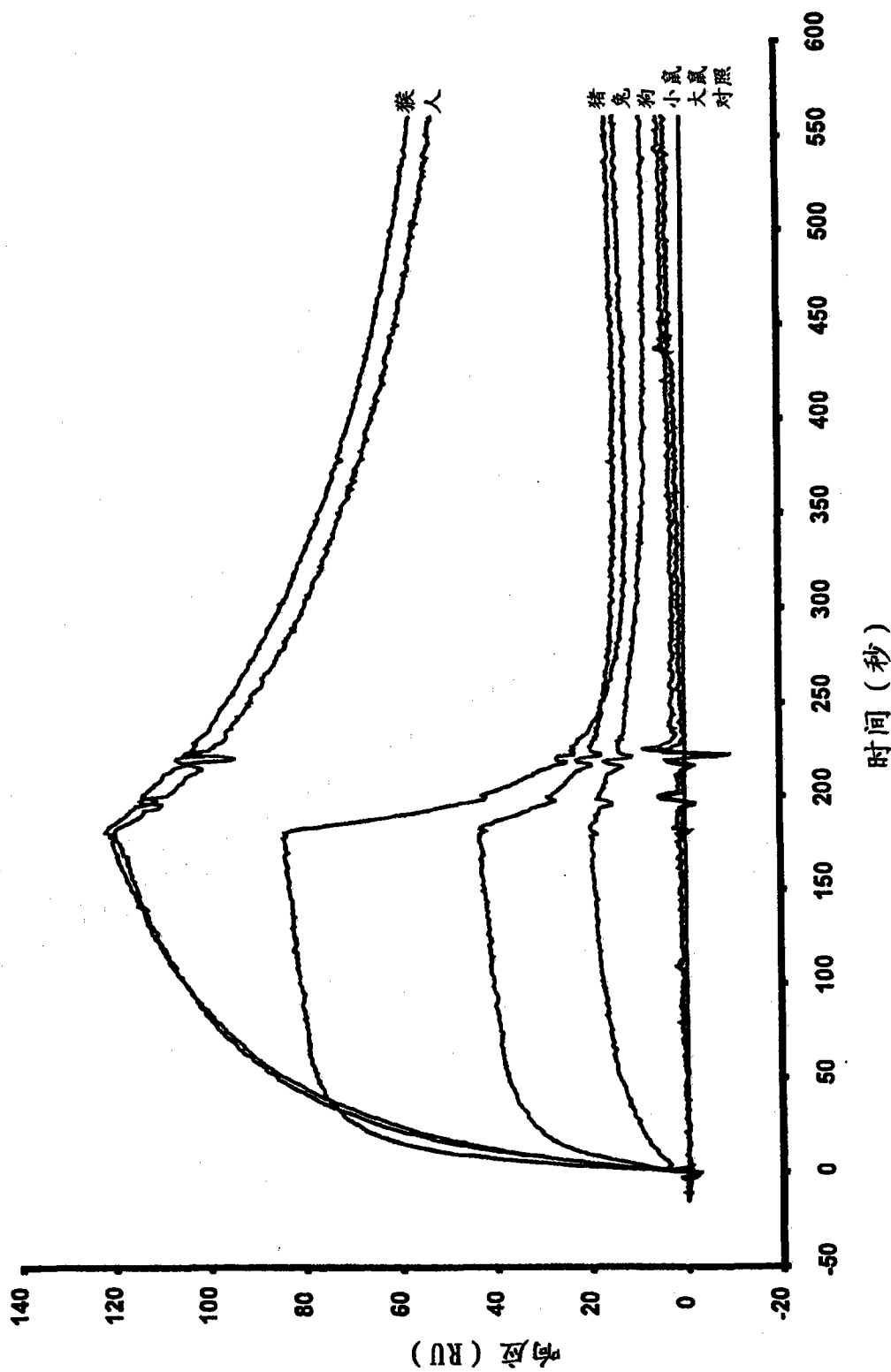
镜像异构体181-A2-018与人MCP-1结合的动力学

图 20



镜像异构体181-A2-018结合人MCP-家族蛋白质和嗜酸性粒细胞趋化因子

图 21



镜像异构体181-A2-018结合来自不同物种的MCP-1

图 22

1 QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASVRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKZICADPKQKWQDSMDHLDKQTQTTPKI
 2 QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASVRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKZICADPKQKWQDSMDHLDKQTQTTPKI
 3 QPDAINSPVTCCTLTSTKISMQRLMSVRRITSSKCPKEAVIFKTIAGKEICAEPKQKWQDSISHLDKKNQTTPKI
 4 QPDAINSPVTCCTTFTGKKISSQRLGSKRVTSKCPKEAVIFKTIILAKEICADPEQKWQDAVKQLDKKAQTTPKI
 5 QPDAIISPVTCCYTLTNKKISIQRLASVRRITSSKCPKEAVIFKTVLNKEICADPKQKWQDSMAHLDKKSQTQTA
 6 QPDAVNSPVTCCYTFNKTISVKRLMSVRRITSSKCPKEAVIFMTKLAKGICADPKQKWQDAIANLDKKNQTTPKI
 7 QPDAINSQVACCTFNSKKISMQRLMNVRRITSSKCPKEAVIFKTIILGKELCADPKQKWQDSINYLNNKNQTTPKI
 8 QPVGINSTTCCYRFINKKIPKQRLSYRRITSSSHCPKEAVIFKTKLDKEICADPTQKWQDFMKHLDKKTQTTPKI
 9 GP--ASVPTTCCFNLANRKIPQRLSYRRITSGKCPKEAVIFKTKLAKDICADPKKWQDSMKYLDQKSPTPKI
 10 QPDSVSIPIITCCFNVINRKIPQRLSYRRITSNIOCPKEAVIFKTKRGKEVCADPKERWVRDMSMKHLDQIFQNLKP
 11 QPDAVNAPLTCCYSFTSKMIPMSRLSYRRITSSSRCPKEAVFVTKLKREVCAADPKKEWVQTYIKNLDRNQMRSEP
 12 QPDAVNAPLTCCYSFTGKMI PMSRLSYRRITSSSRCPKEAVFVTKLKREICADPNKEWVQYIRKLQDNQVRSET

与人MCP-1的同一性%

1	智人 MCP-1	100%
2	猕猴 (恒河猴) MCP-1	97%
3	欧洲野猪 (猪) MCP-1	79%
4	家马 (马)	78%
5	家犬 (狗) MCP-1	76%
6	穴兔 (兔) MCP-1	75%
7	家牛 (牛)	72%
8	智人 MCP-3	71%
9	智人嗜酸性粒细胞趋化因子	64%
10	智人 MCP-2	62%
11	小家鼠 (小鼠) MCP-1	55%
12	褐家鼠 (大鼠) MCP-1	55%

图 23

NOX-E36和181-A2-018的特异性

	NOX-E-036 K _D [nM]	181-A2-018 K _D [nM]
hMCP-1	0.89	0.37-0.6
hMCP-2	5-10	10
hMCP-3	-	10
嗜酸性粒细胞 趋化因子	5-10	10-20
猴 MCP-1	0.90	0.6
猪 MCP-1	0.82	> 1000
犬 MCP-1	1.2	> 1000
兔 MCP-1	-	> 1000
大鼠 MCP-1	-	-
小鼠 MCP-1	-	-

-, 不结合

图 24A

趋化因子/异名 结合

CCL1/I-309	-
CCL2/MCP-1	+
CCL3/MIP-1 α	+
CCL4/MIP-1 β	-
CCL5/RANTES	-*
CCL7/MCP-3	-
CCL8/MCP-2	+
CCL11/嗜酸性粒细胞趋化因子	+
CCL13/MCP-4	(+)
CCL14/HCC-1	-
CXCL1/GRO α	-
CXCL2/GRO β	-
CXCL3/GRO γ	-
CXCL4/PF4	-**
CXCL5/ENA-78	-
CXCL6/GCP-2	-**
CXCL7/NAP-2	+
CXCL8/IL-8	-
CXCL9/MIG	-*
CXCL10/IP-10	-
CXCL11/I-TAC	-**
CXCL12 α /SDF-1 α	-
CXCL12 β /SDF-1 β	-
CX ₃ CL1/Fractalkine	-
XCL1/淋巴细胞趋化因子	-

结合如下进行分类:

- +, 特异性结合 < 10 nM;
- (+), NOX-E36 特异性结合 > 1 μ M;
- , 没有可测量到的相互作用
- *, 非特异性聚阴离子 (PoC或葡聚糖基质) 结合 > 250 nM;
- **, 非特异性聚阴离子 (PoC或葡聚糖基质) 结合 > 10 μ M.

图 24B

	缔合速度常数 k_s [$M^{-1}s^{-1}$]	解离速度常数 k_d [s^{-1}]	解离常数 K_D [nM]
CCL2/MCP-1	$1.8 \pm 0.4 \times 10^5$	$1.9 \pm 0.1 \times 10^{-4}$	1.1 ± 0.2
CCL3/MIP-1 α	$1.6 \pm 0.3 \times 10^5$	$6.4 \pm 1.1 \times 10^{-4}$	4.1 ± 1.3
CCL7/MCP-3	—	—	—
CCL8/MCP-2	$2.0 \pm 0.7 \times 10^5$	$6.7 \pm 2.0 \times 10^{-4}$	4.2 ± 2.5
CCL11/嗜酸性粒细胞趋化因子	$1.6 \pm 0.4 \times 10^5$	$1.1 \pm 0.6 \times 10^{-3}$	7.7 ± 5.2
CCL13/MCP-4	—	—	$> 1,000$
CXCL7/NAP-2	$1.8 \pm 0.5 \times 10^5$	$4.1 \pm 0.4 \times 10^{-4}$	2.5 ± 0.9

图 24C

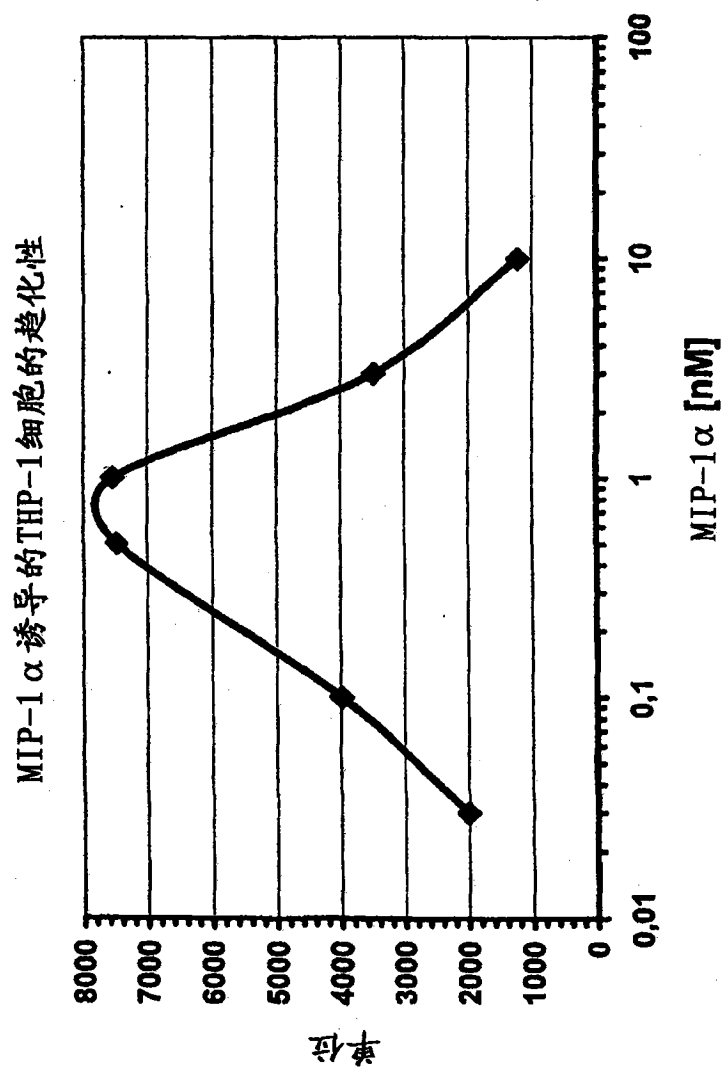


图 24D

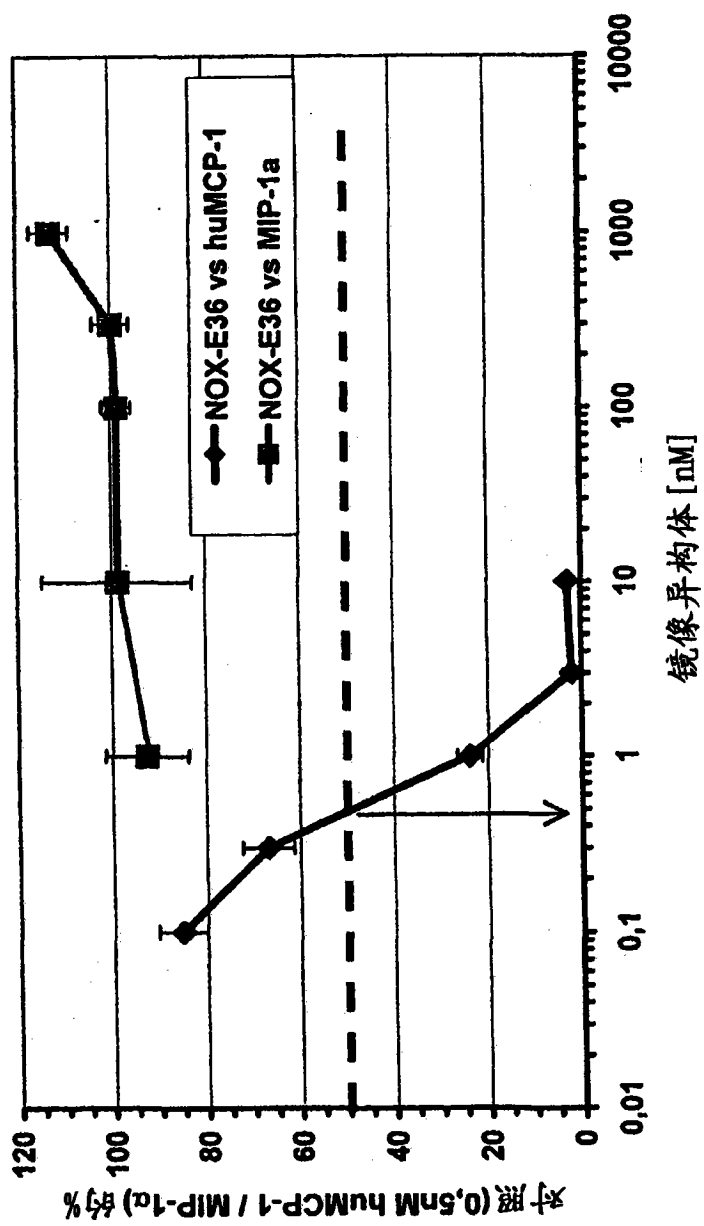
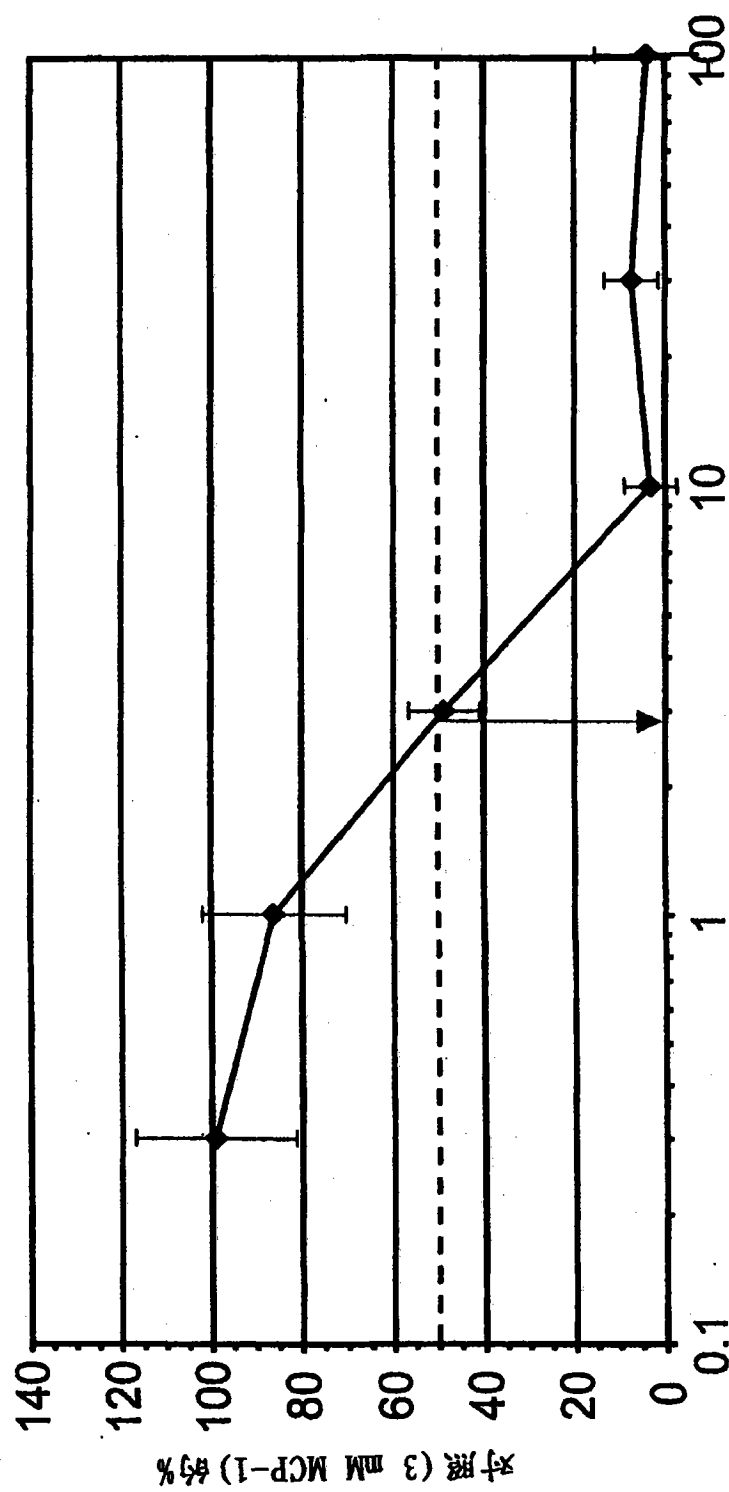


图 24E

使用 THP-1 细胞的 NOX-E36-3'PEG: Ca^{++} -释放测定法



NOX-E36-3'PEG [nM]

图 25

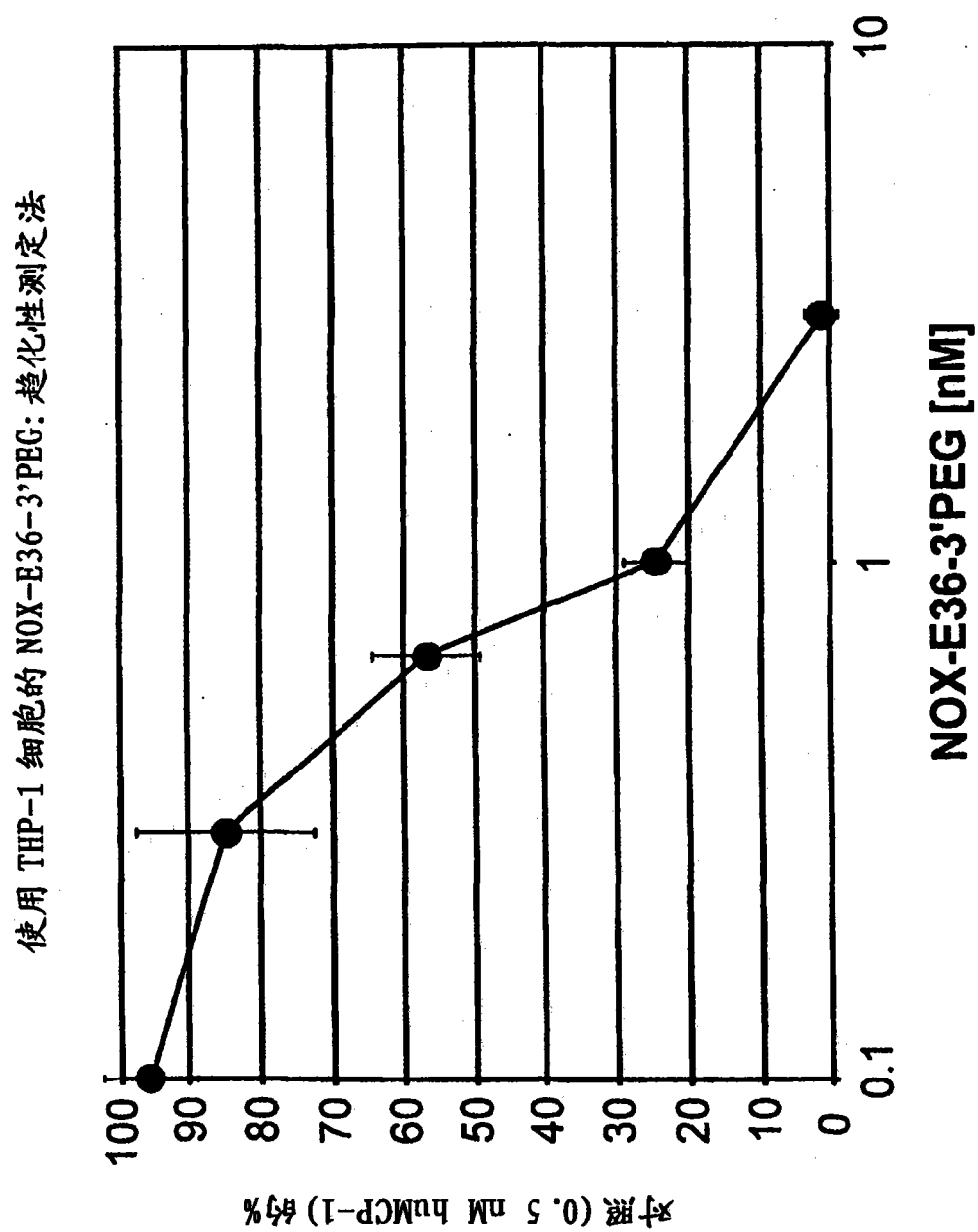


图 26

使用 THP-1 细胞的 NOX-E36-5'PEG: Ca^{++} -释放测定法

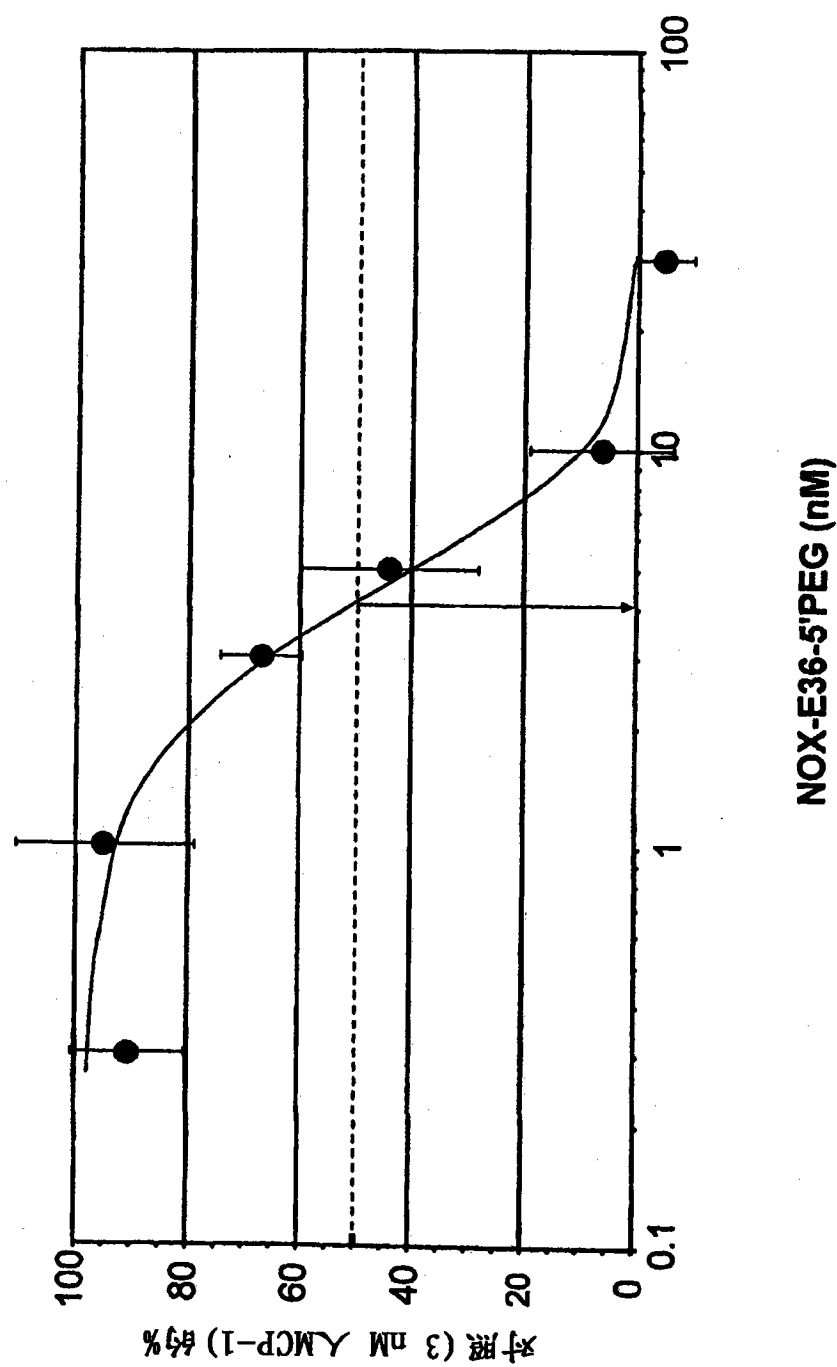


图 27A

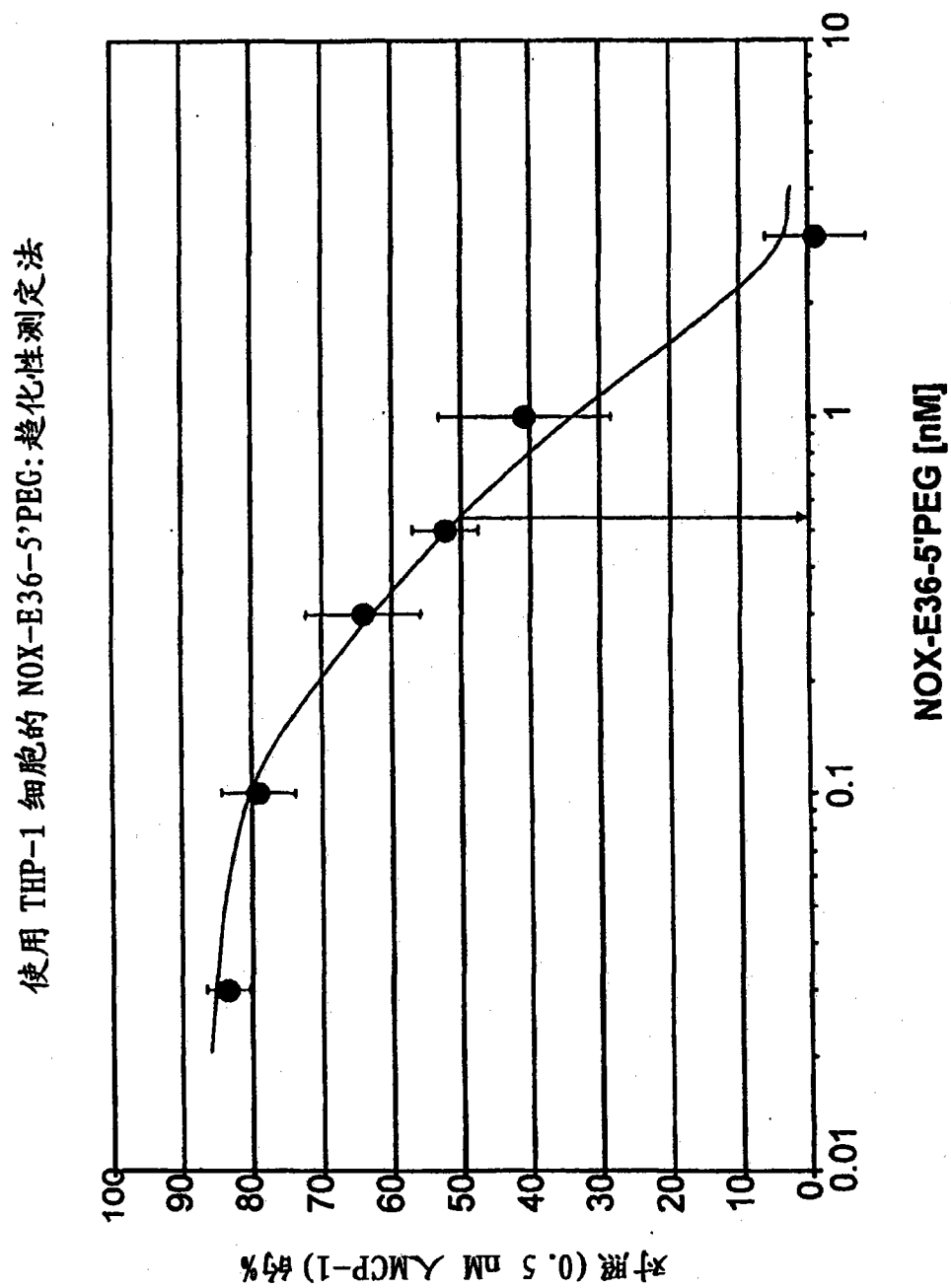


图 27B

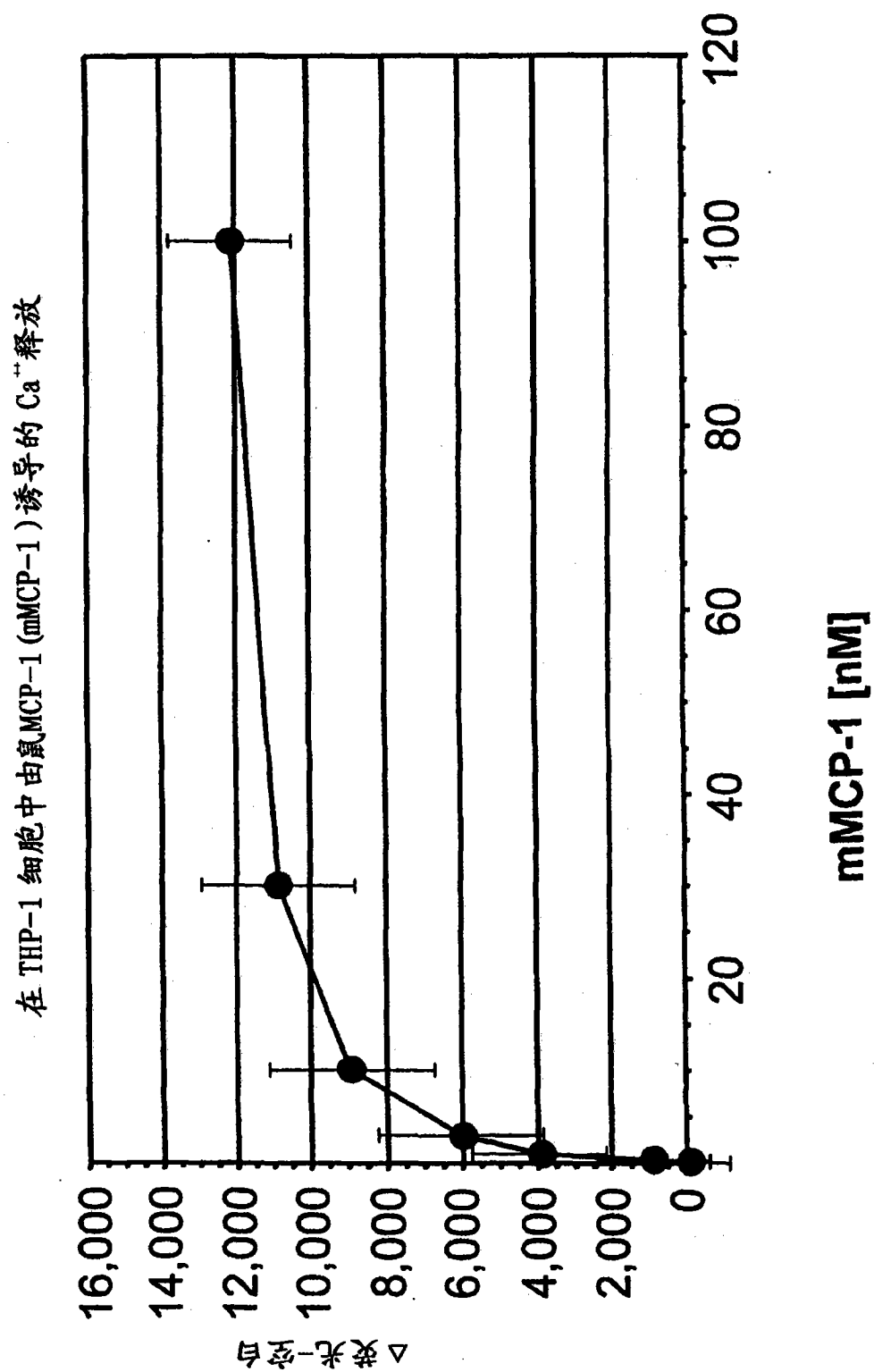


图 28

使用 THP-1 细胞的 mNOX-E36-3'PEG: Ca⁺⁺-释放测定法

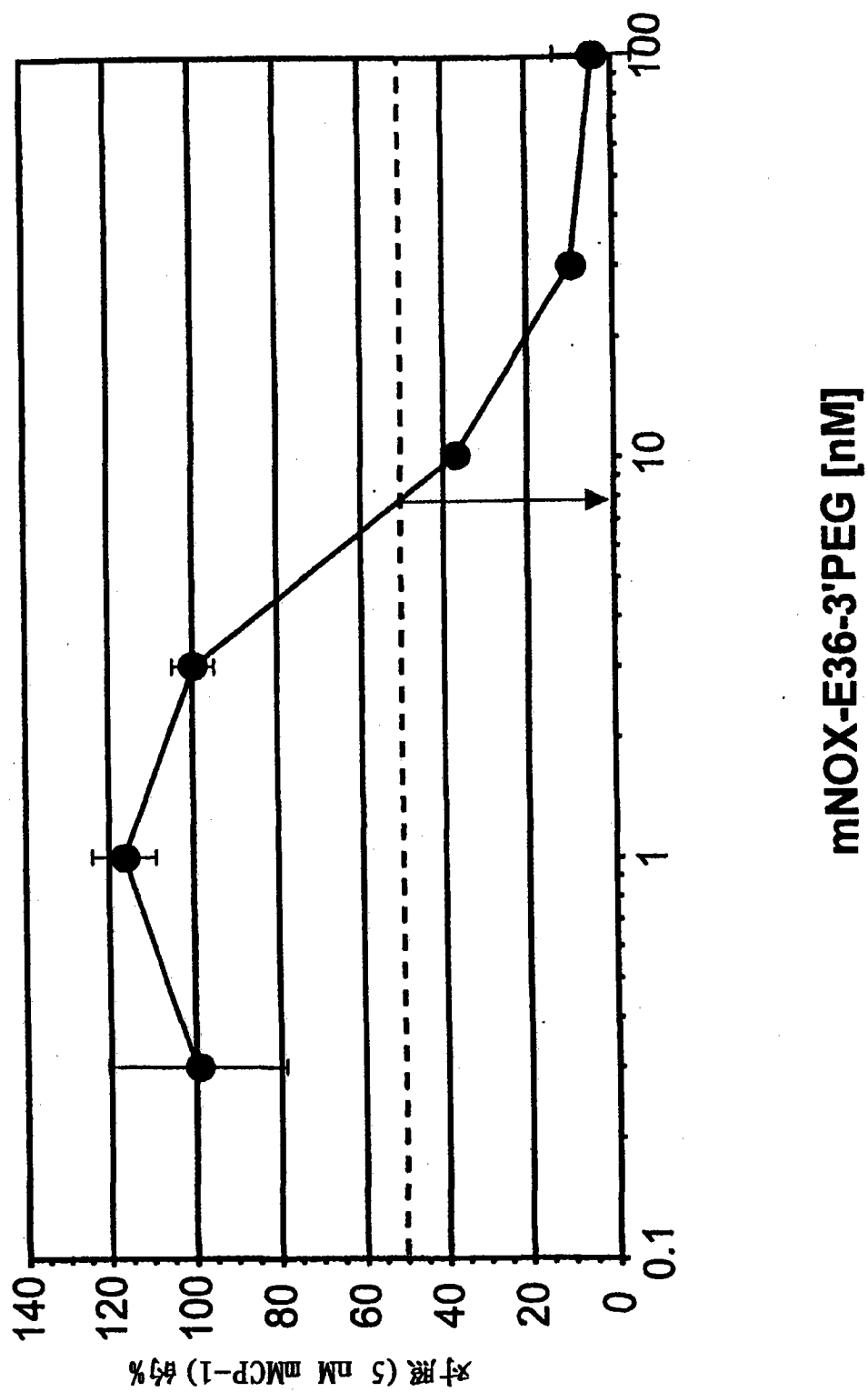


图 29

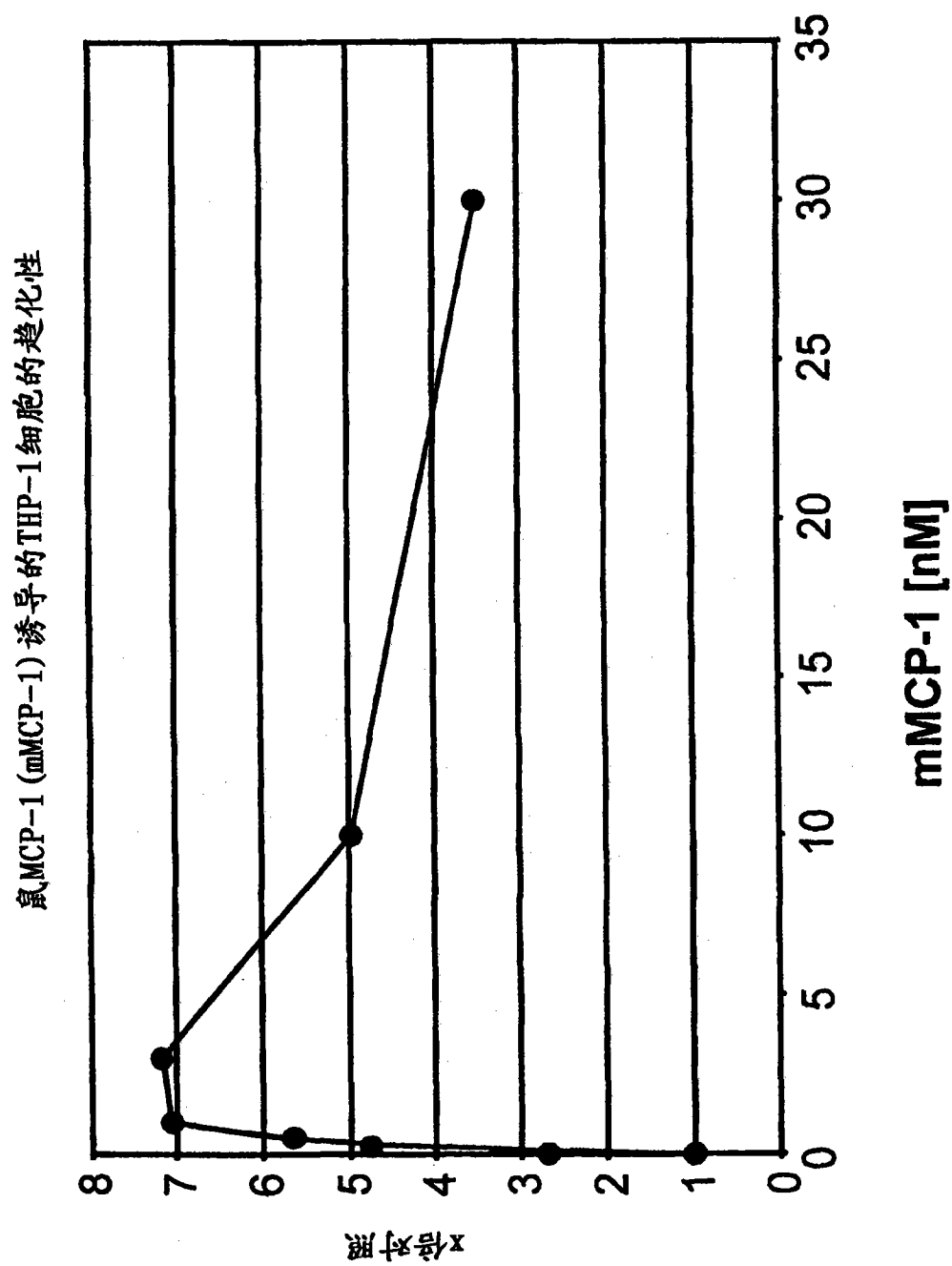


图 30

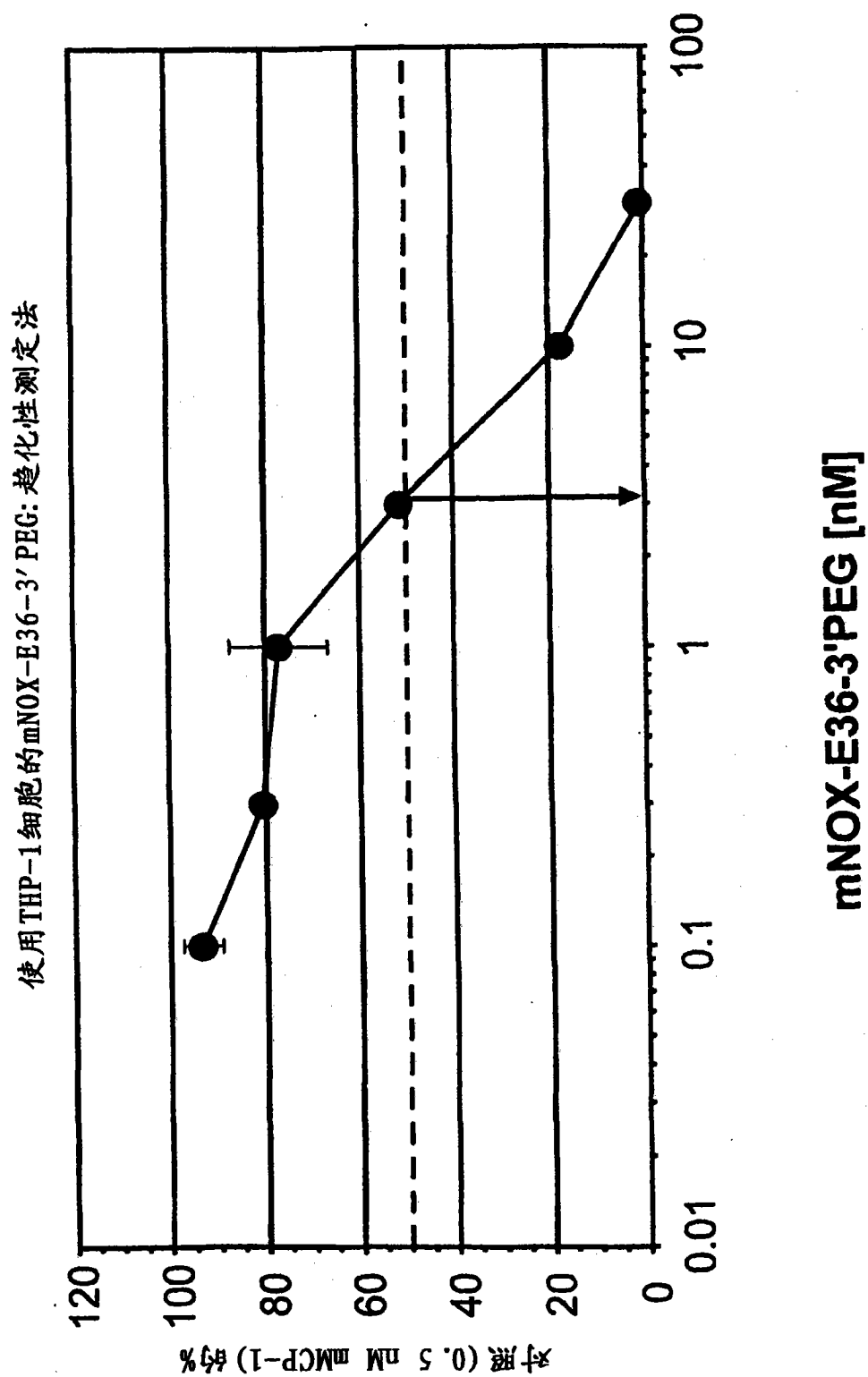
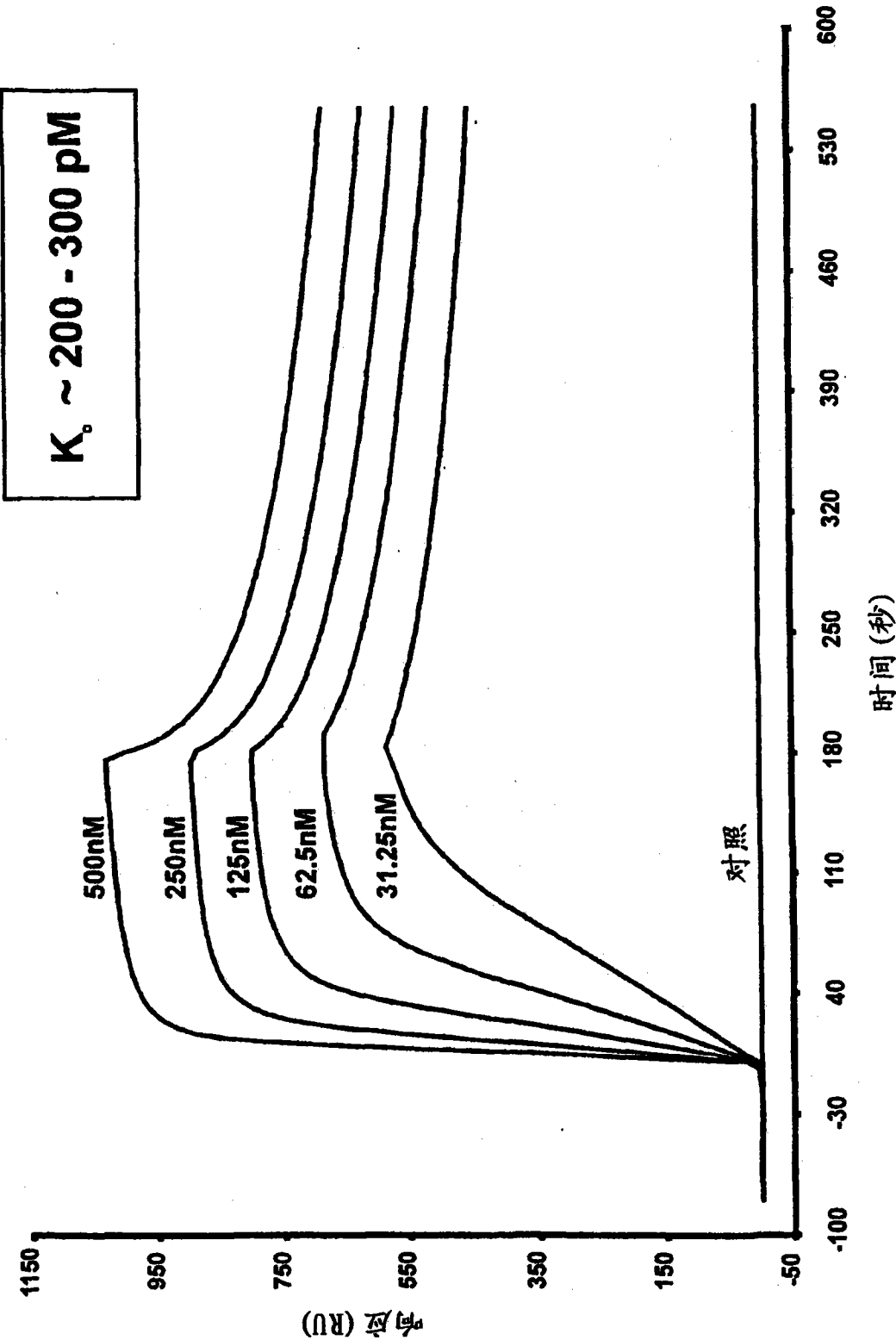


图 31



D-metabotropic glutamate receptor 3 (D-MCP-1) 与 D-metabotropic glutamate receptor 3 (D-MCP-1) 结合的动力学

图 32

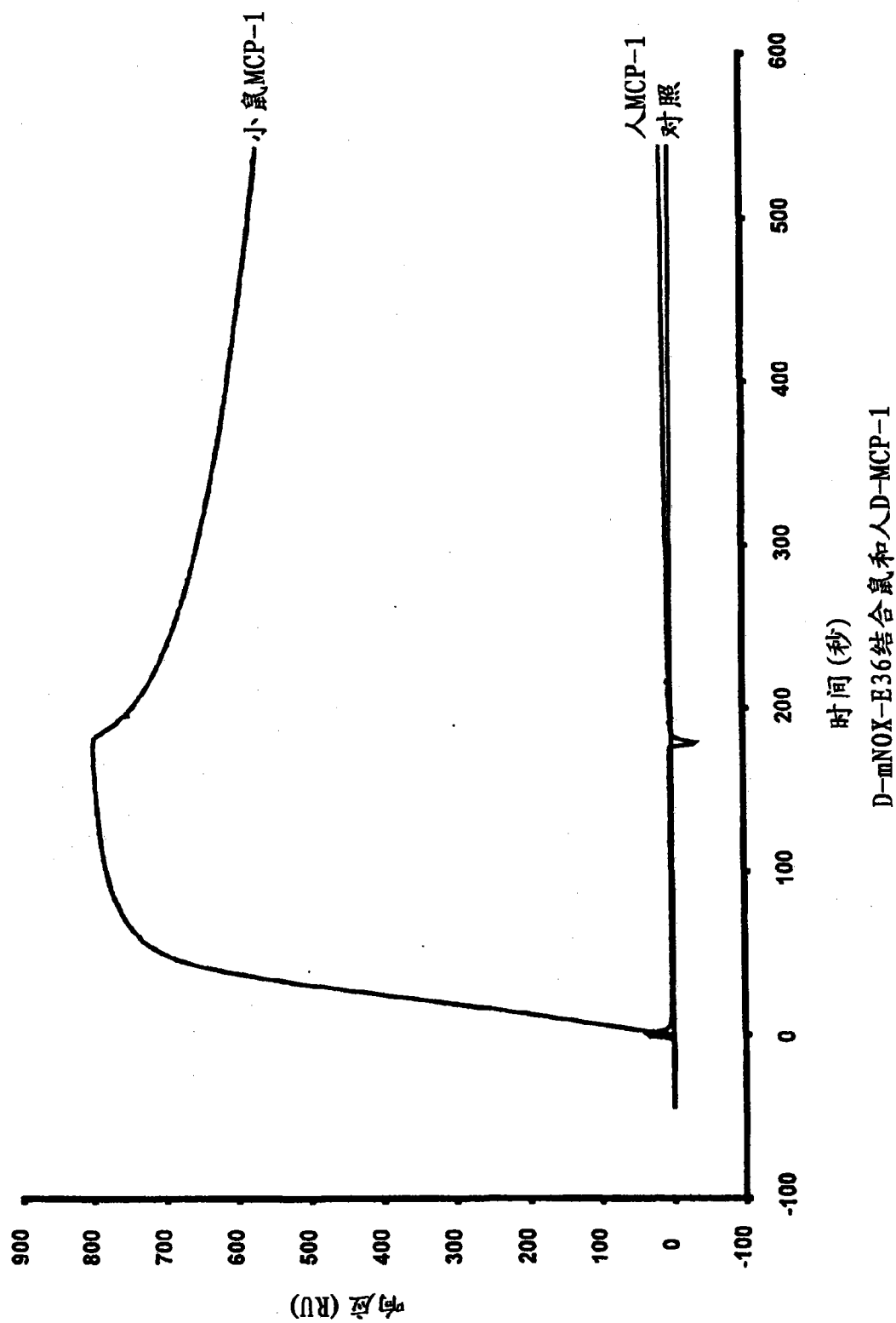


图 33

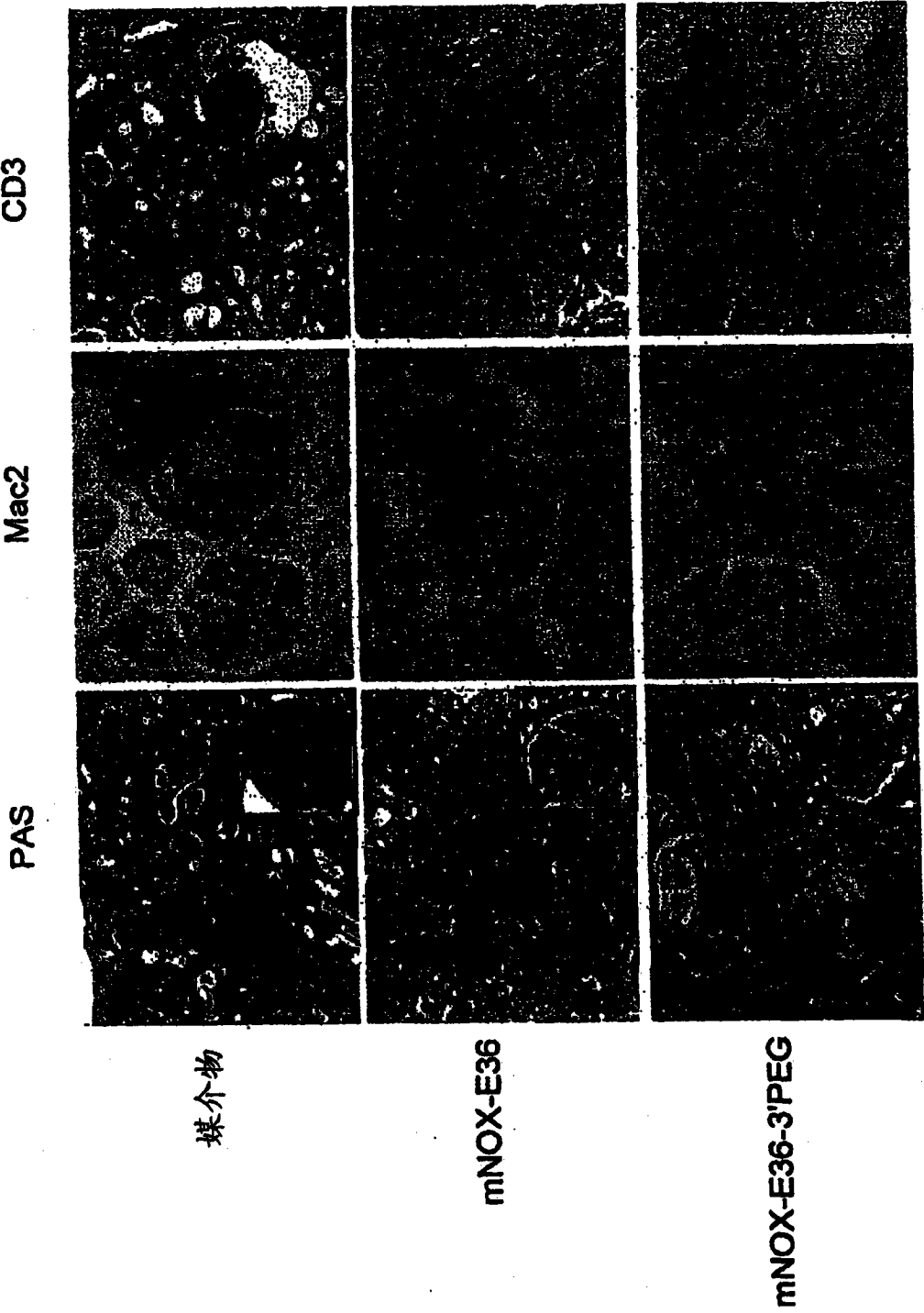


图 34

肾病患者	媒介物	PoC	mNOX-E36	PoC-PEG	mNOX-E36-3'PEG
GFR [μ l/分钟]	179 $\pm$ 41	200 $\pm$ 49	245 $\pm$ 69	157 $\pm$ 74	293 $\pm$ 72
U白蛋白/肌酐酞比率	15.6 $\pm$ 10.1	4.3 $\pm$ 1.4	6.8 $\pm$ 1.8	3.8 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.7
IgG ₁ [肾小球得分]	1.5 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.5
IgG _{2a} [肾小球得分]	0.9 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.3
活性指数 [得分]	17.4 $\pm$ 4.9	17.8 $\pm$ 4.2	10.3 $\pm$ 5.0*	17.4 $\pm$ 2.7	9.4 $\pm$ 4.2*
慢性指数 [得分]	6.0 $\pm$ 2.0	7.2 $\pm$ 2.6	2.6 $\pm$ 2.5	5.4 $\pm$ 1.0	1.6 $\pm$ 1.8*
Mac-2+ [细胞/肾小球]	13.4 $\pm$ 2.0	12.6 $\pm$ 0.9	8.5 $\pm$ 2.3*	13.6 $\pm$ 2.3	8.2 $\pm$ 3.5*
Mac-2+ [细胞/hpf]	20.3 $\pm$ 8.1	20.6 $\pm$ 6.7	10.8 $\pm$ 5.1	19.3 $\pm$ 3.7	7.7 $\pm$ 4.0*
CD3+ [细胞/hpf]	44.6 $\pm$ 14.7	39.4 $\pm$ 7.5	23.8 $\pm$ 10.2	36.2 $\pm$ 3.1	19.0 $\pm$ 8.0*
肺损伤 [得分]	1.6 $\pm$ 0.8	1.6 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.5*	1.4 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.5*
皮肤损害 [小鼠的%]	60	60	28	80	28

U白蛋白/肌酐酞比率=以 μ g/mg表示的尿白蛋白/肌酐酞比率，
值为平均值 $\pm$ SEM; *p<0.05, 镜像异构体对各自的PoC对照

图 35

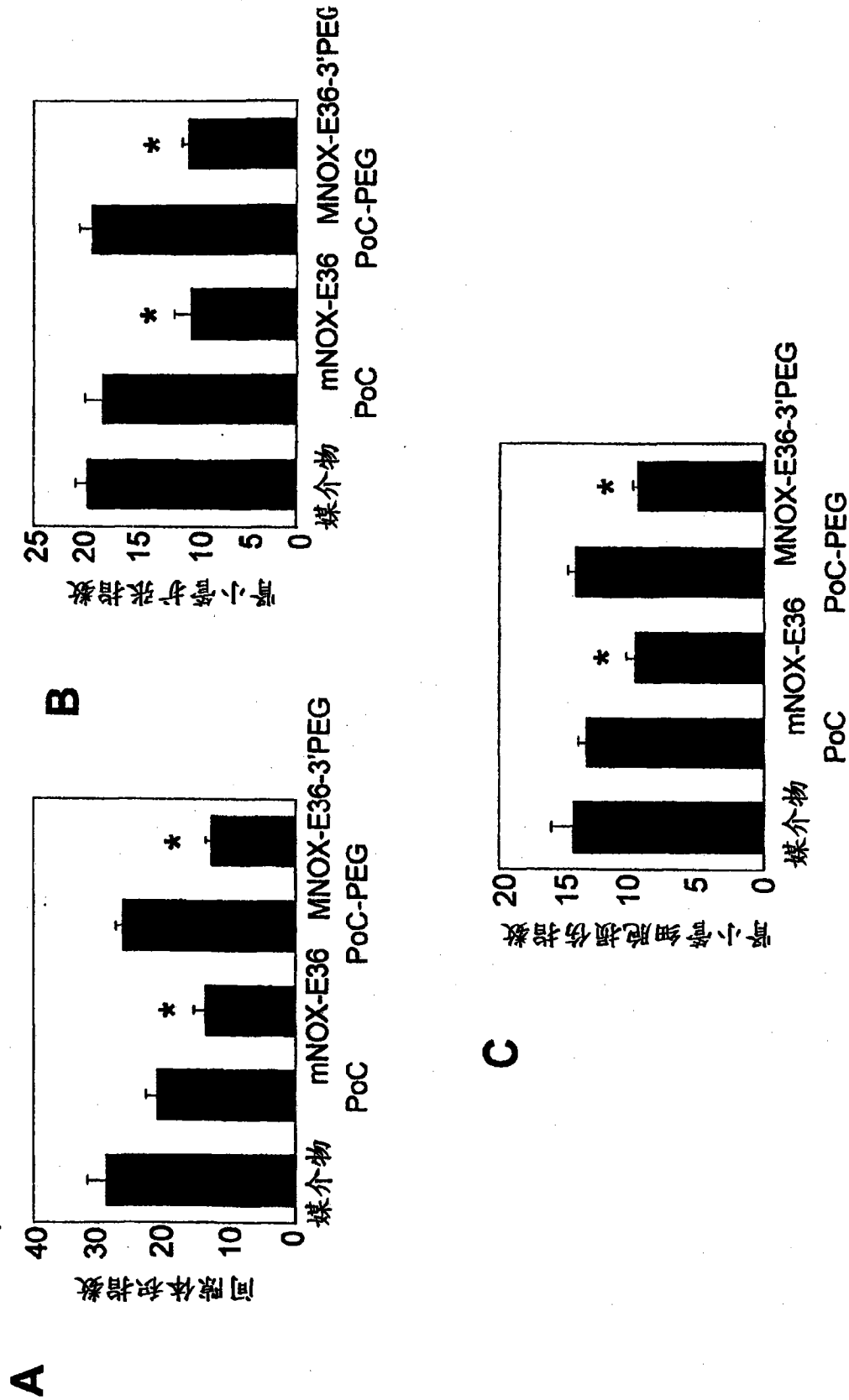


图 36

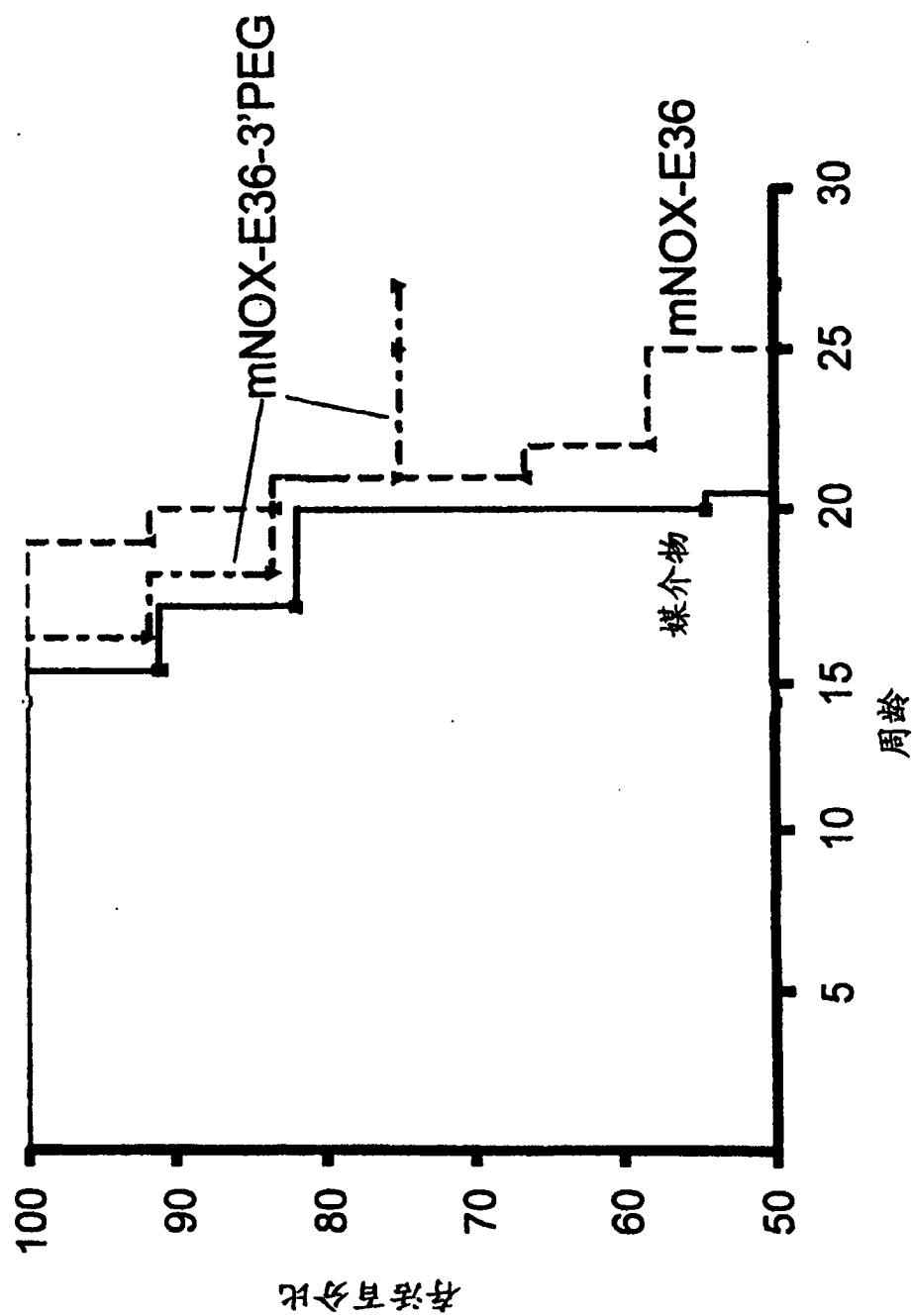


图 37

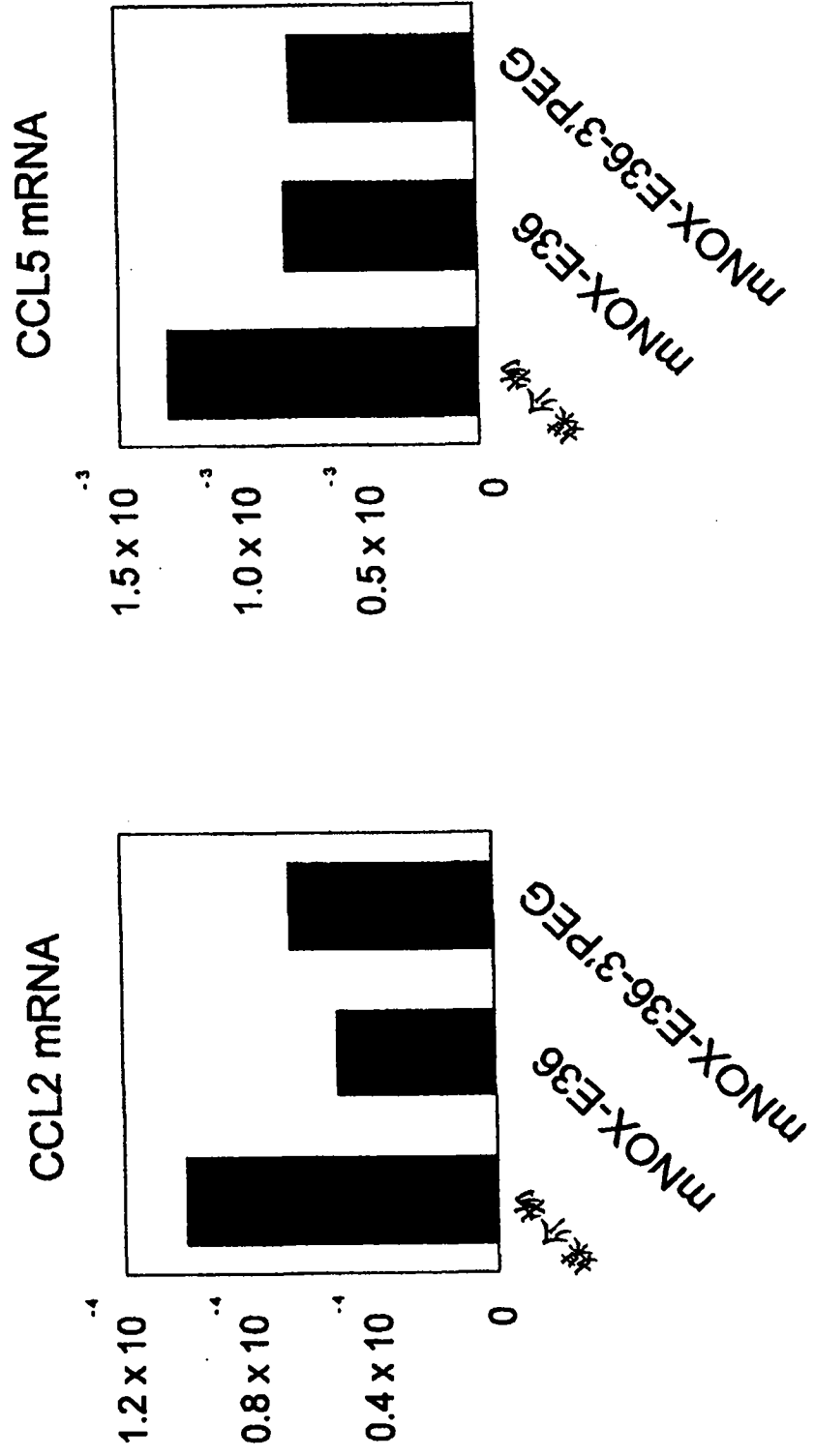


图 38

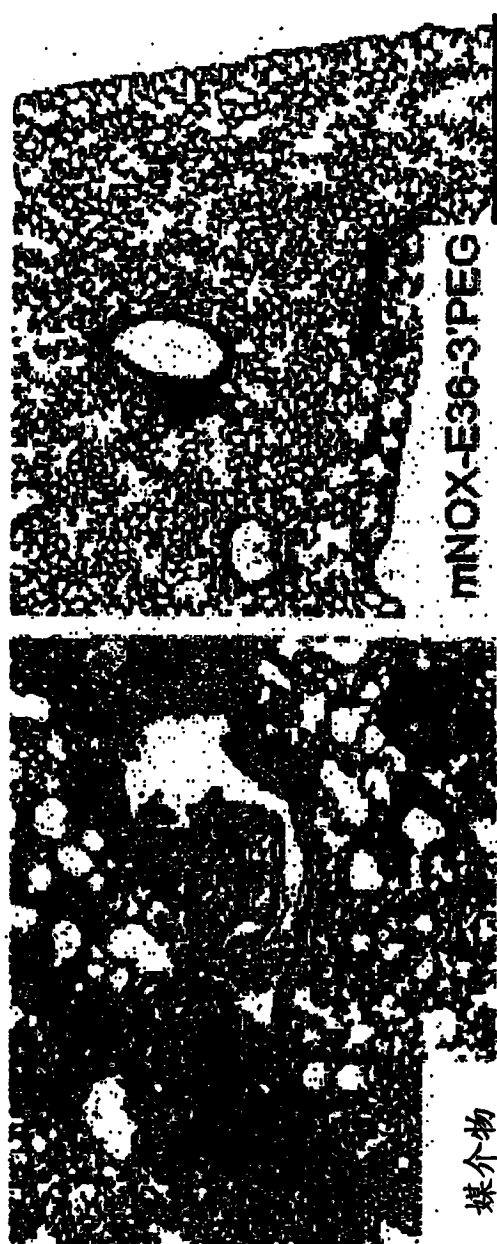


图 39

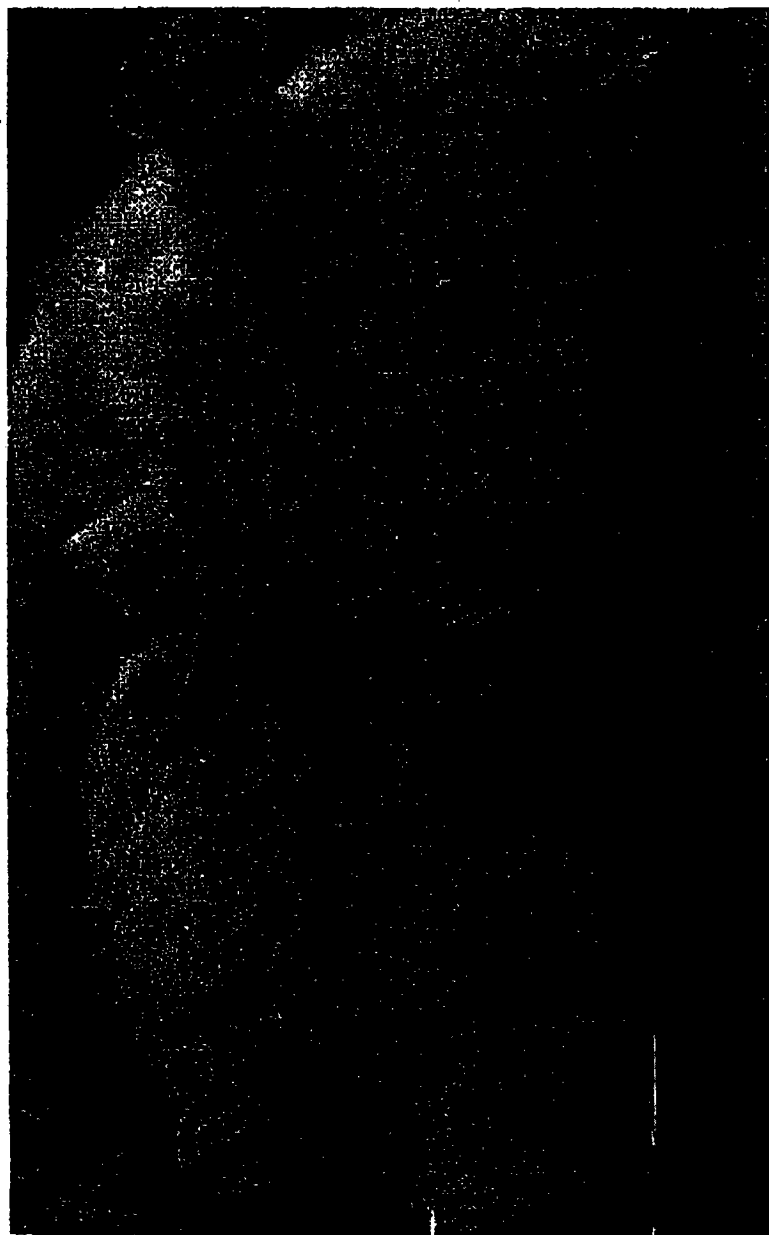


图 40

	媒介物	PoC	mNOX-E36	PoC-PEG	mNOX-E36-3'PEG
淋巴组织增生					
脾重量[% BW]	1.8±0.4	2.0±0.2	1.6±0.4	1.7±0.1	1.6±0.3
LN重量[% BW]	2.3±0.7	1.8±0.1	1.7±0.3	1.7±0.2	1.7±0.7
血清抗 dsDNA					
IgG ₁ [μg/ml]	11.7±3.6	7.5±2.8	11.7±3.4	8.2±1.2	6.6±1.2
IgG _{2a} [μg/ml]	2.0±0.3	1.9±0.3	2.1±0.1	2.0±0.2	1.9±0.2
IgG _{2b} [μg/ml]	17.6±5.6	18.9±5.2	22.6±3.3	28.3±2.5	20.6±3.8
LN=肠系膜淋巴结团块, 值为平均值±SEM					

图 41

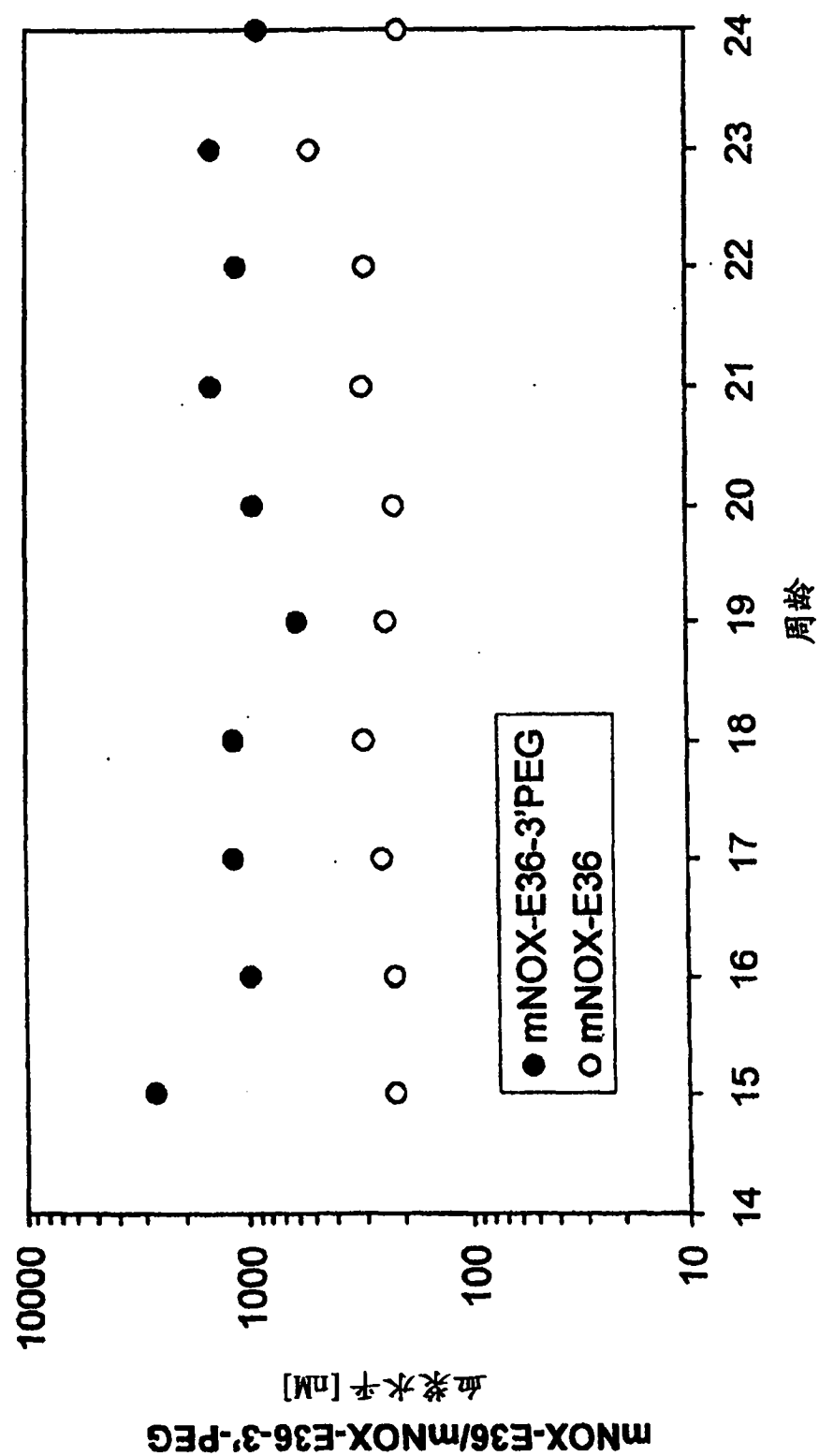


图 42

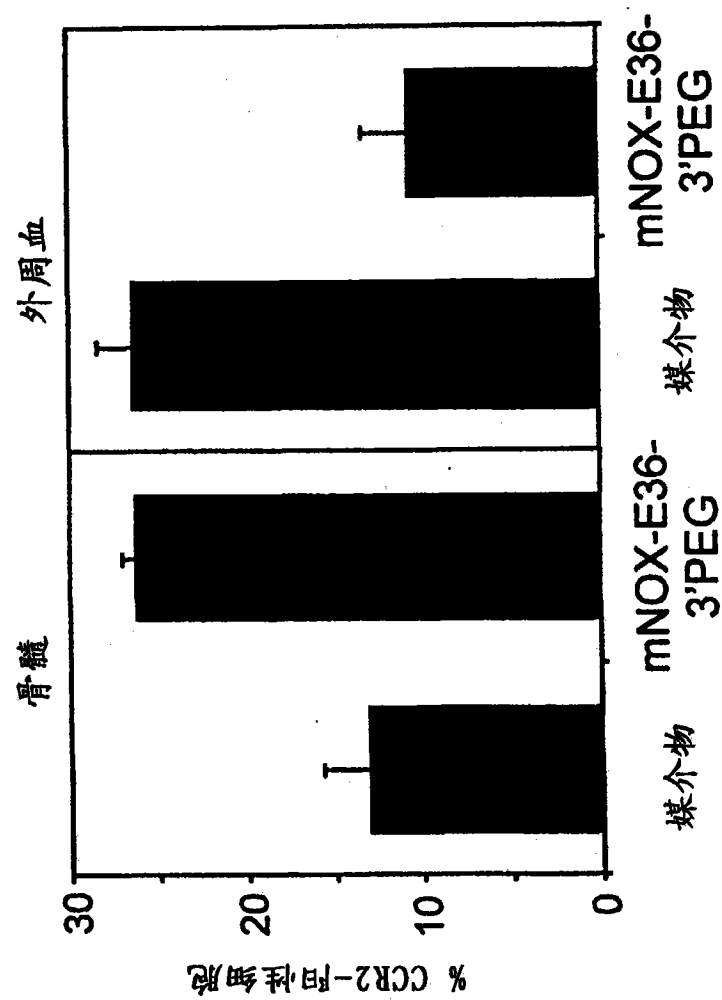


图 43

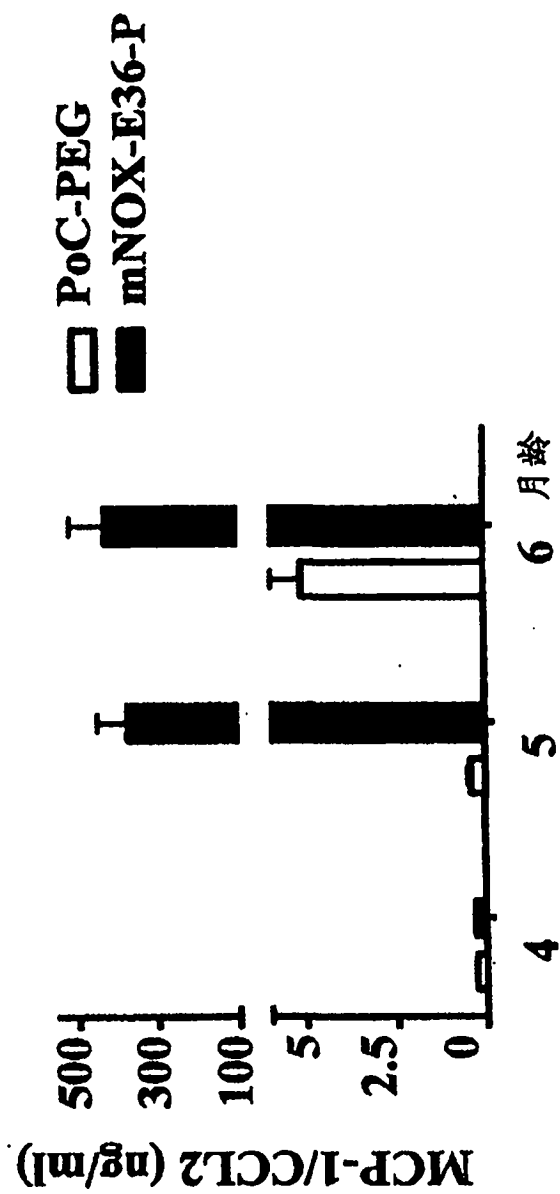


图 44

		2K		1K	
		野生型	db/db	db/db	db/db
		nil	nil	nil	PoC-PEG mNOX-E36-3'PEG
细胞应答[细胞/肾小球或hpf]					
肾小球的	Mac-2+细胞	0.3±0.1	1.8±0.2	5.0±0.7 [*]	5.9±0.4
	Ki-67+细胞	0.7±0.1	0.9±0.2	2.4±0.2 [*]	3.1±0.3
间质的		Mac-2+细胞	3.2±0.3	8.6±1.0	19.2±2.8 [*]
					23.8±3.3
					12.3±1.2 [#]

值为平均值±SEM; ^{*}, p<0.05 1K db/db vs 2K db/db; [#], p<0.05 mNOX-E36-3'PEG vs. PoC-PEG

图 45

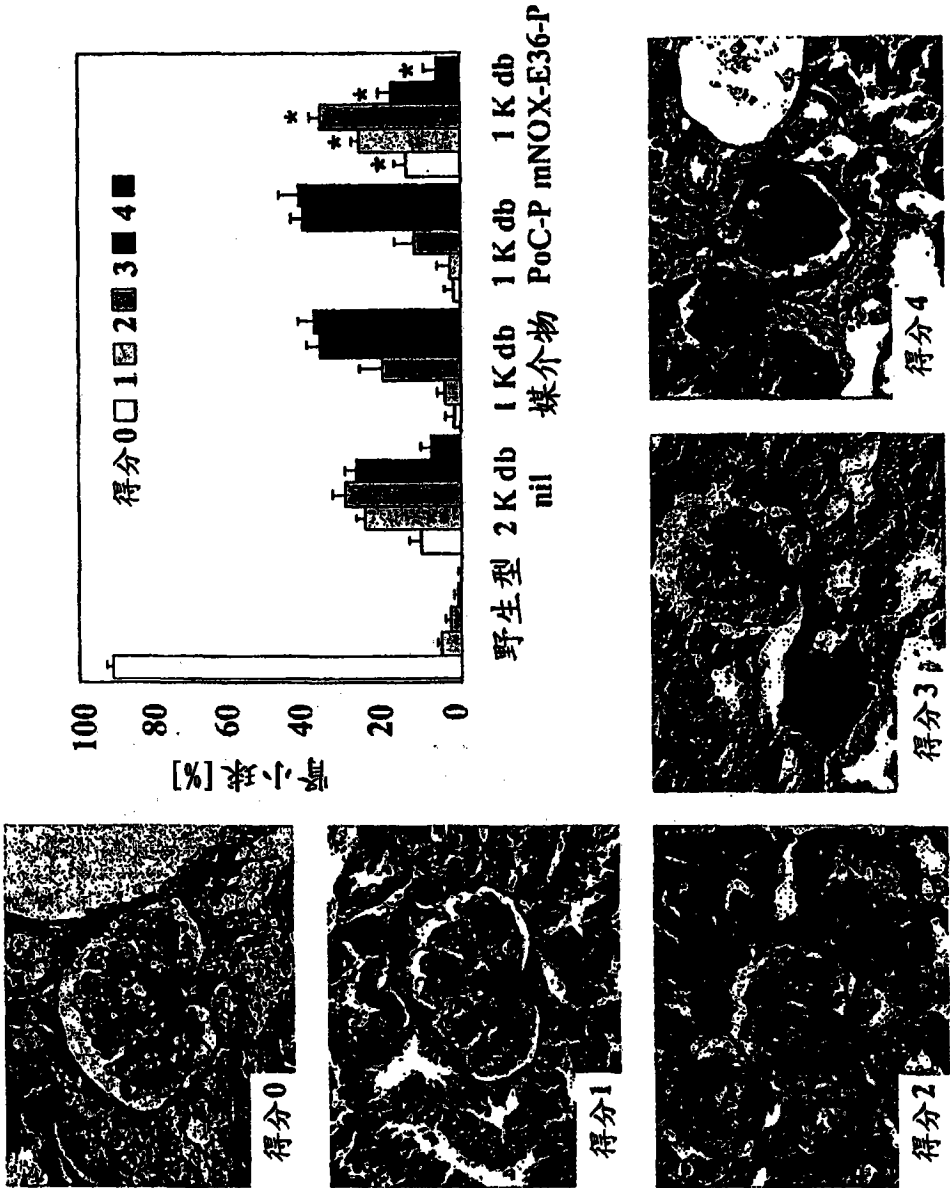


图 46

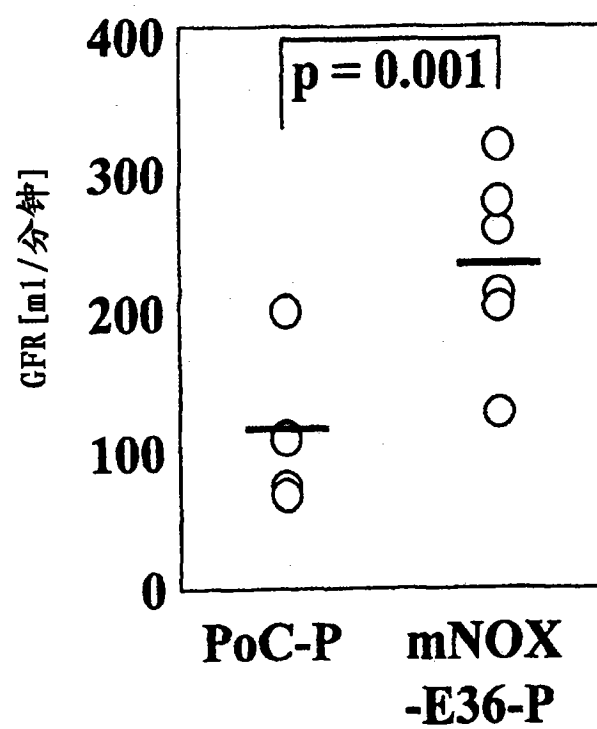


图 47

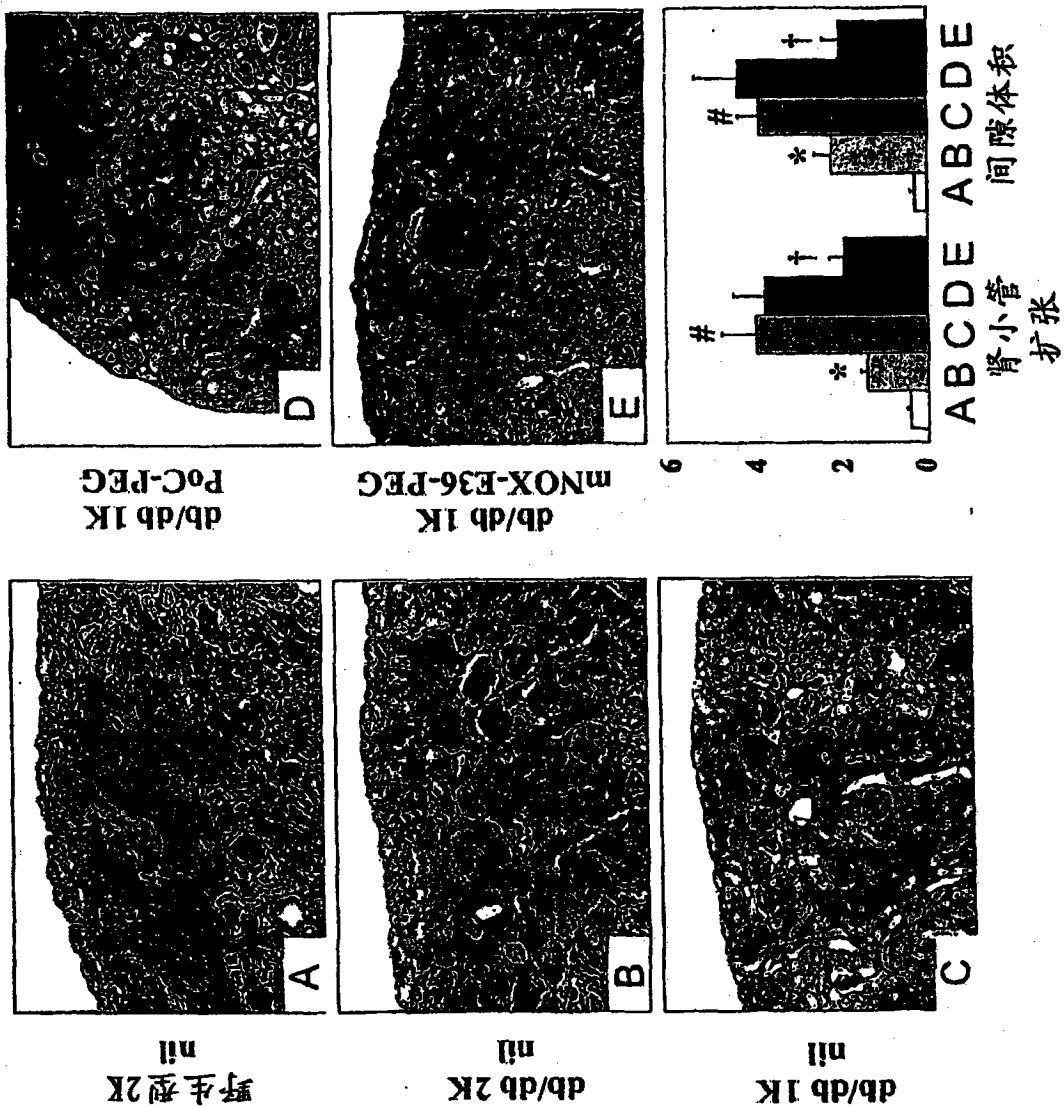


图 48

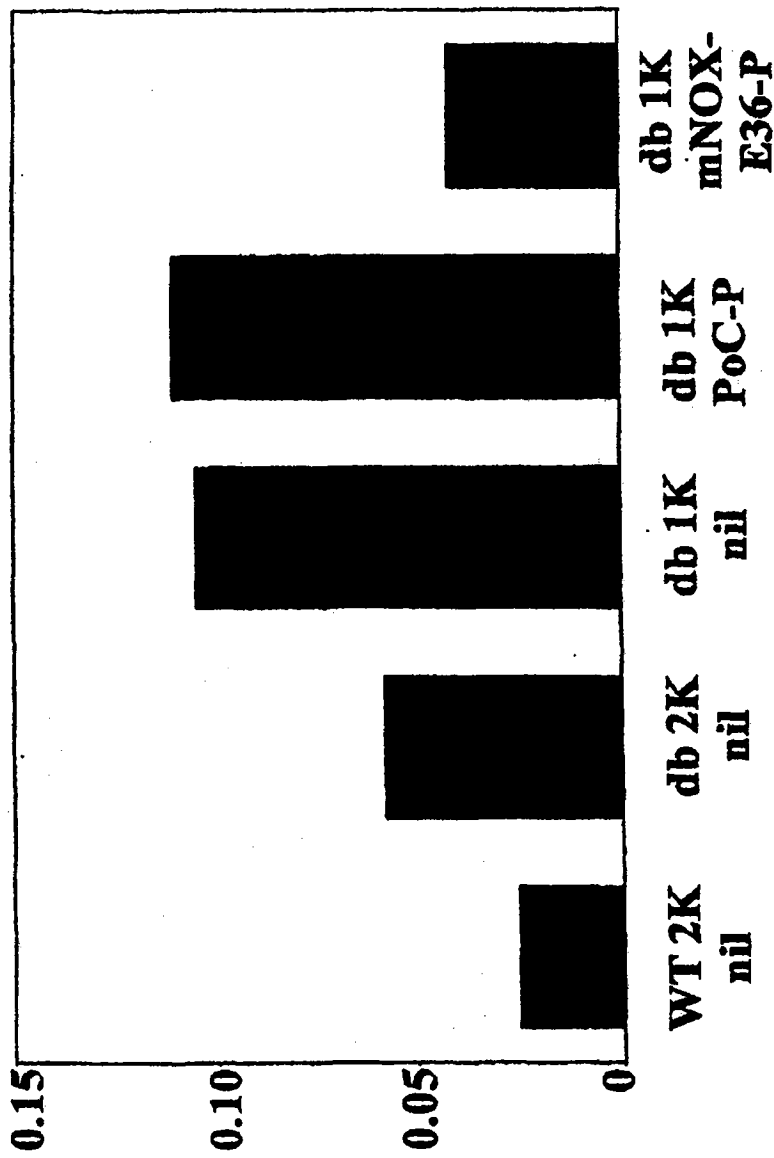


图 49

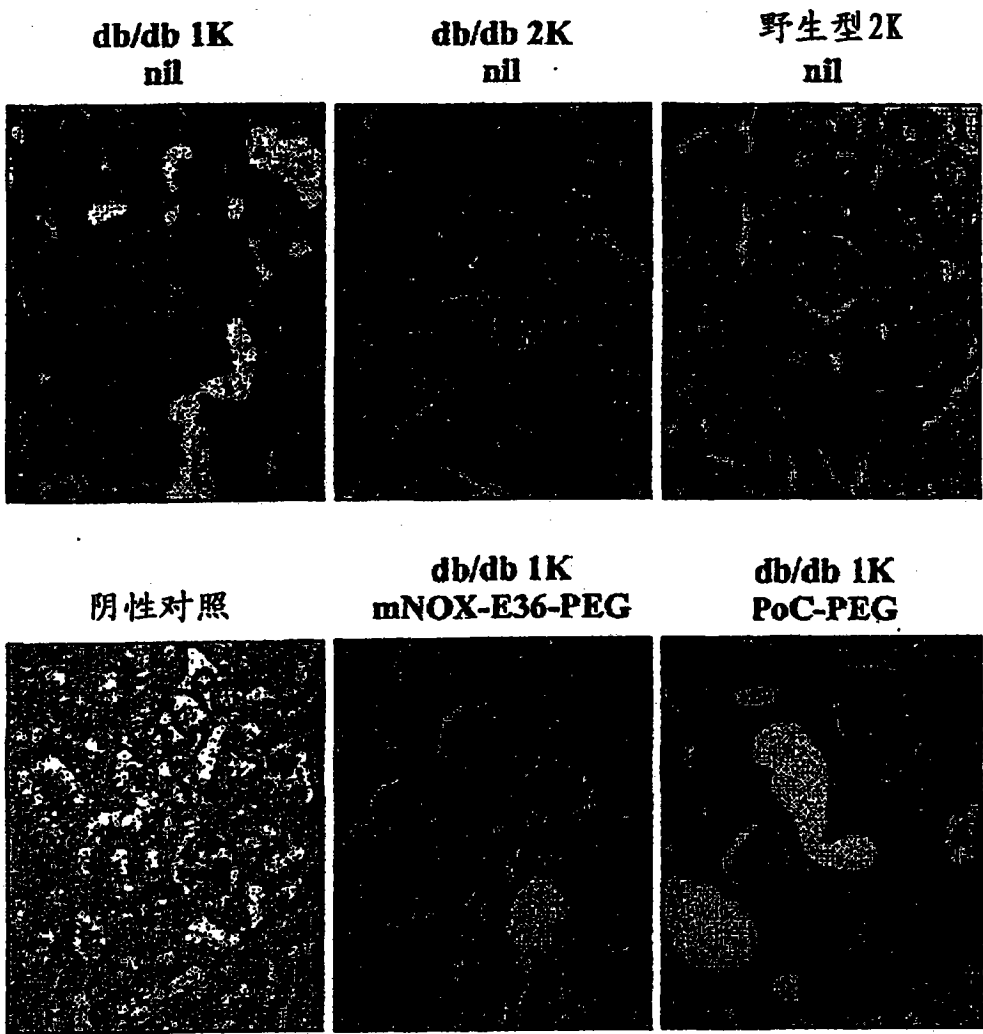


图 50

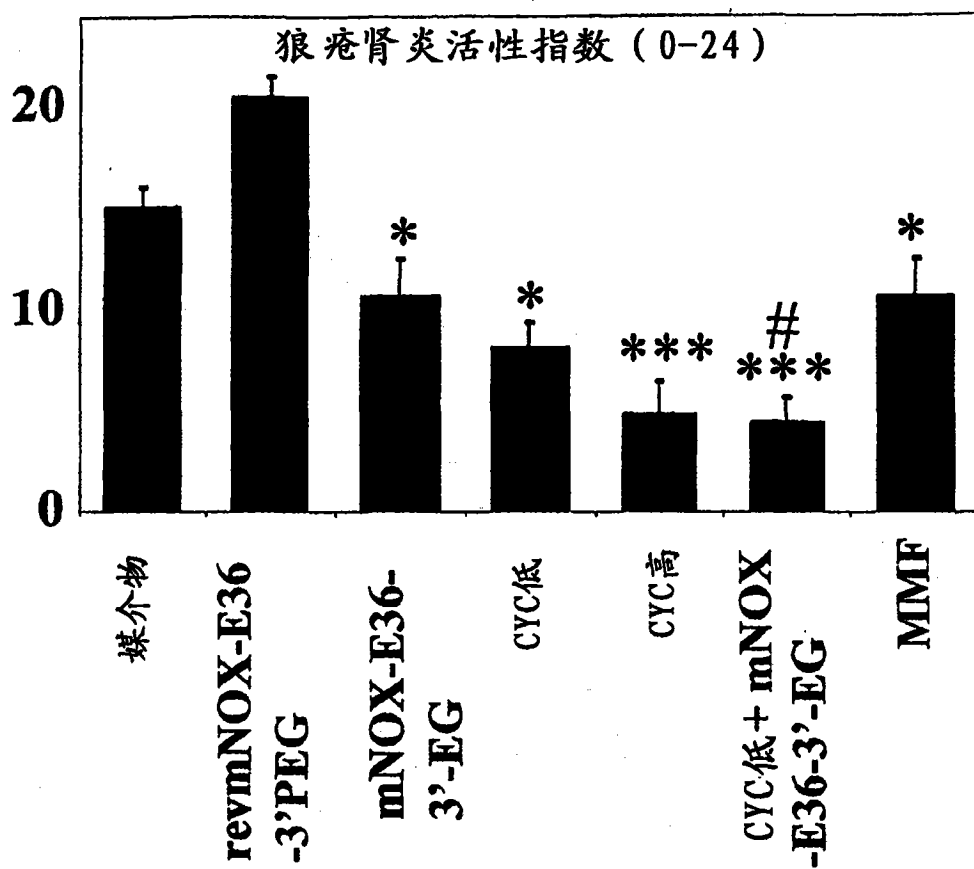


图 51A

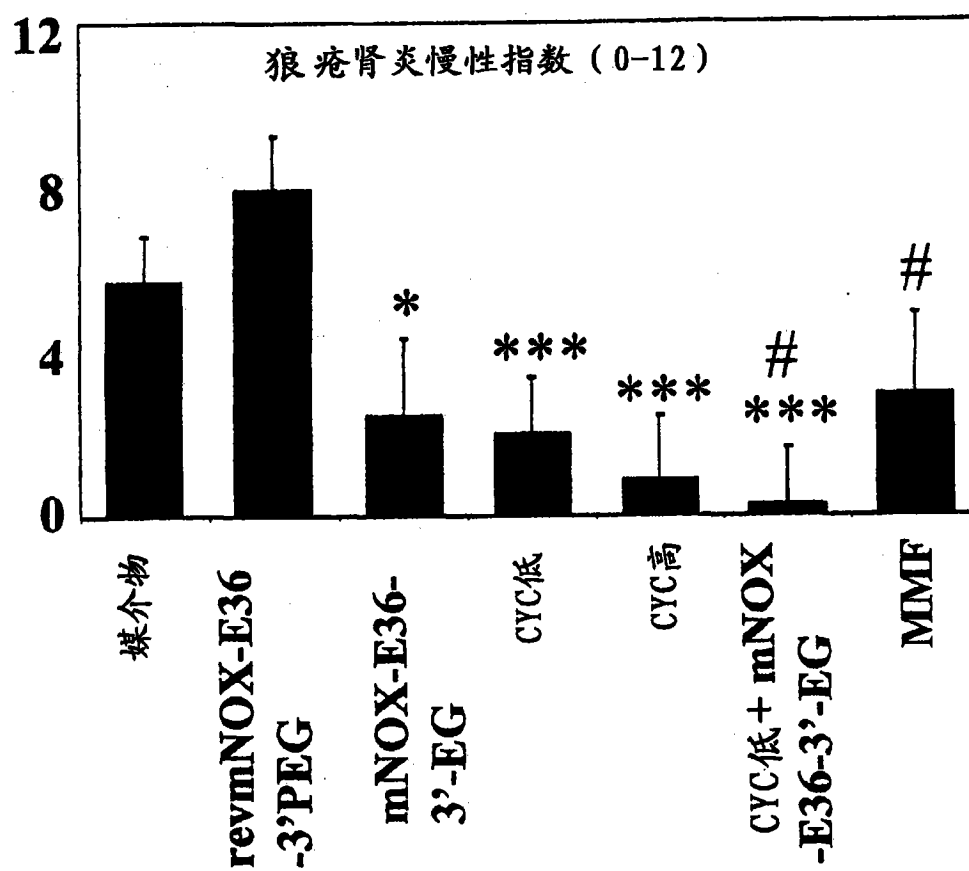


图 51B

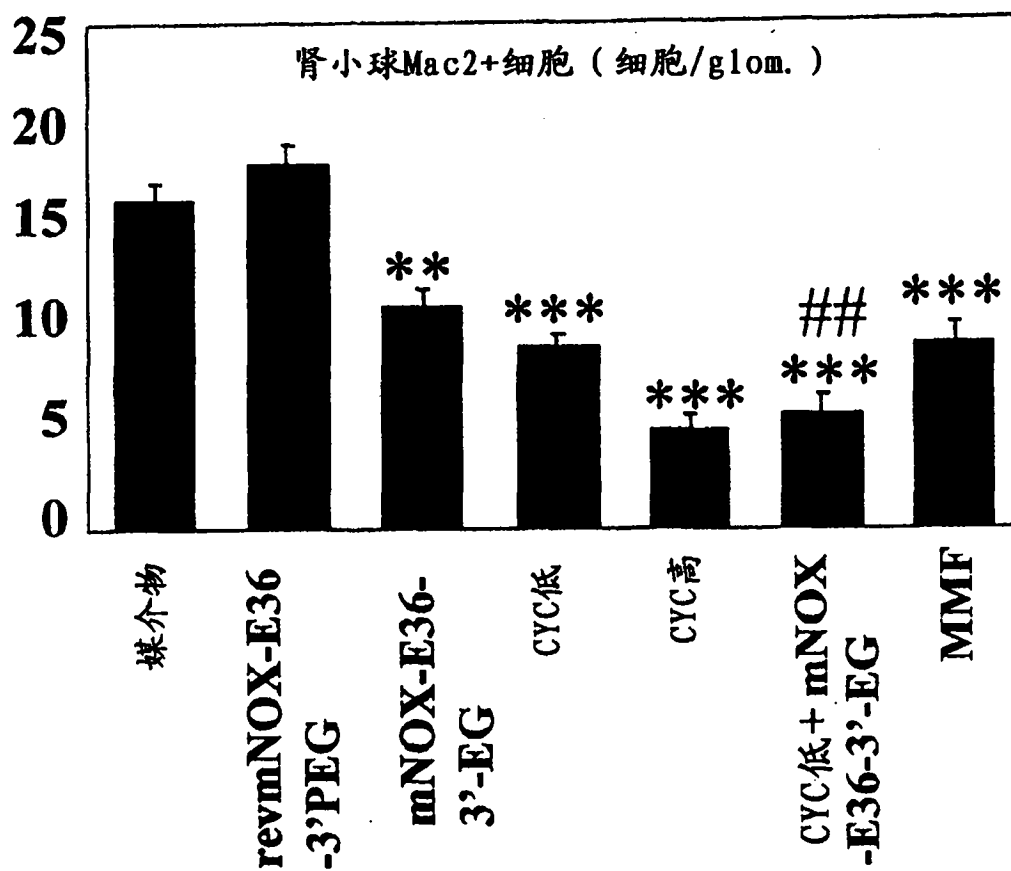


图 51C

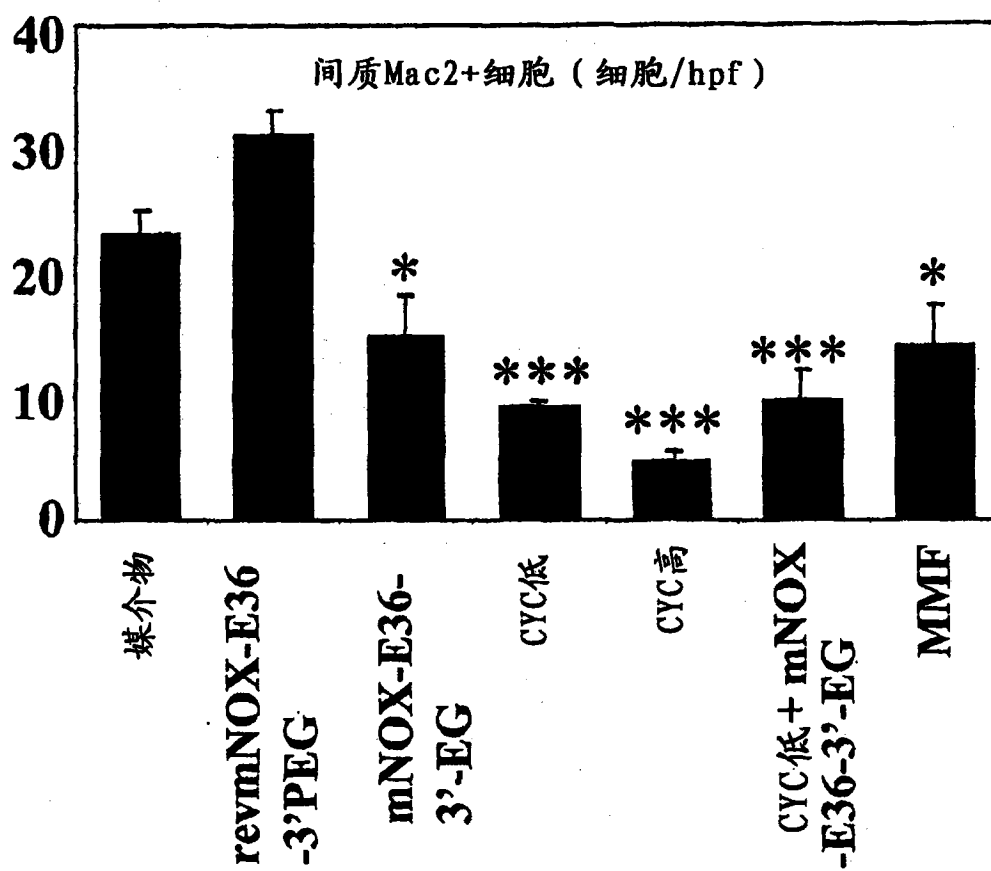


图 51D

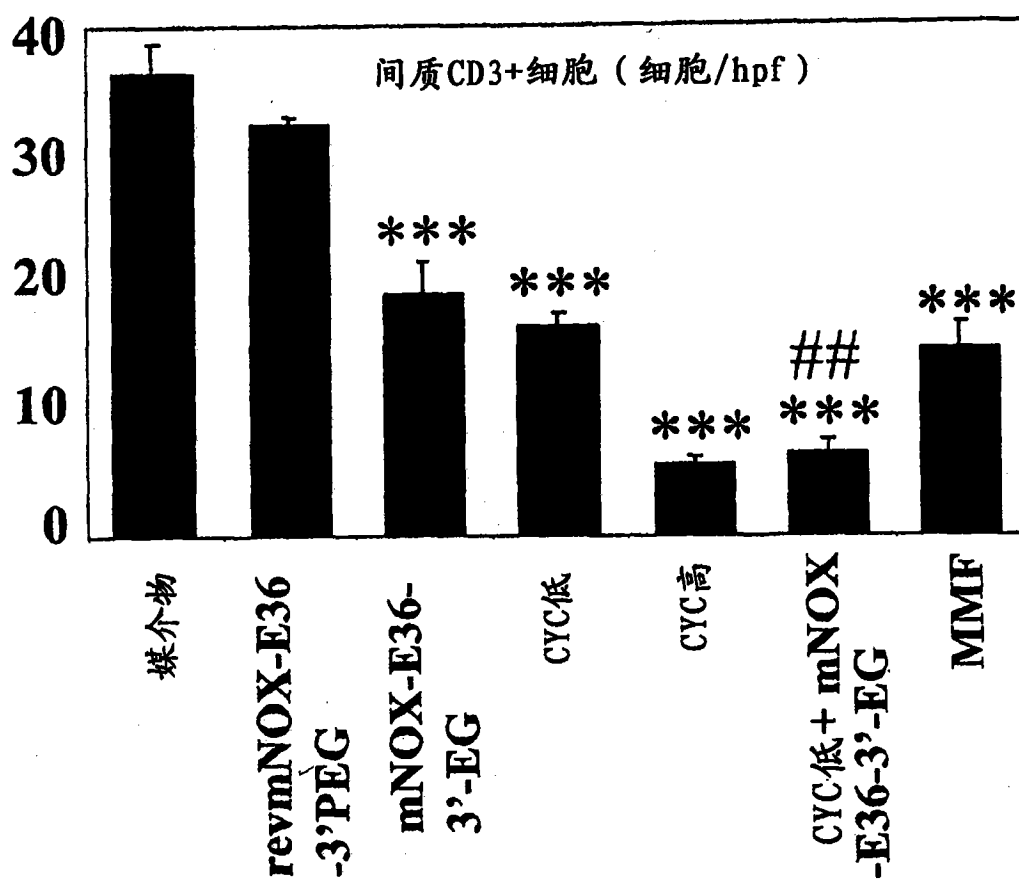


图 51E

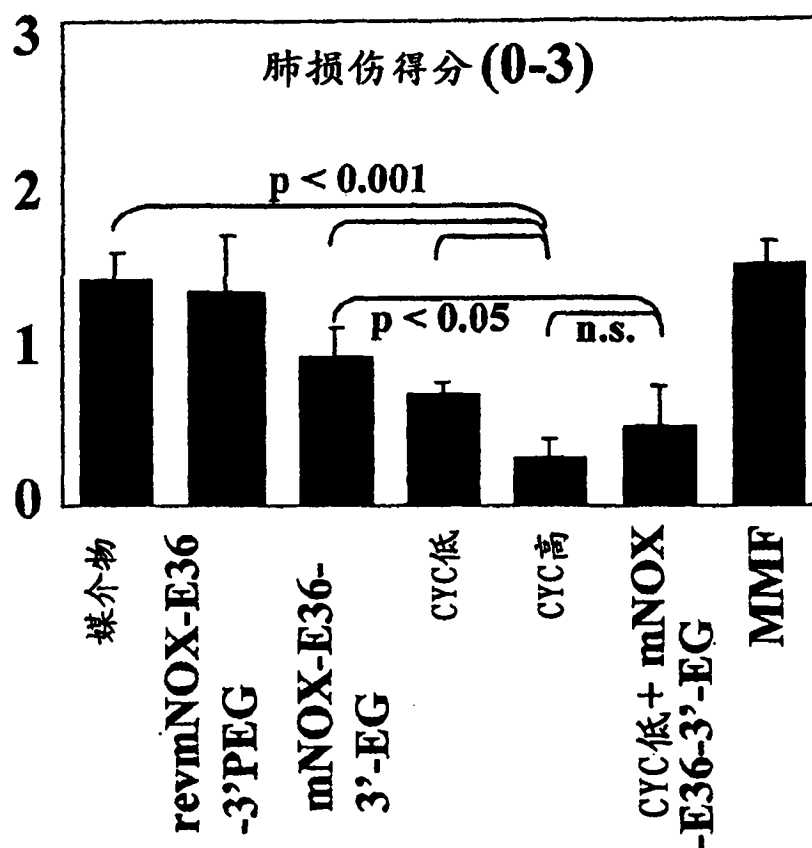


图 52

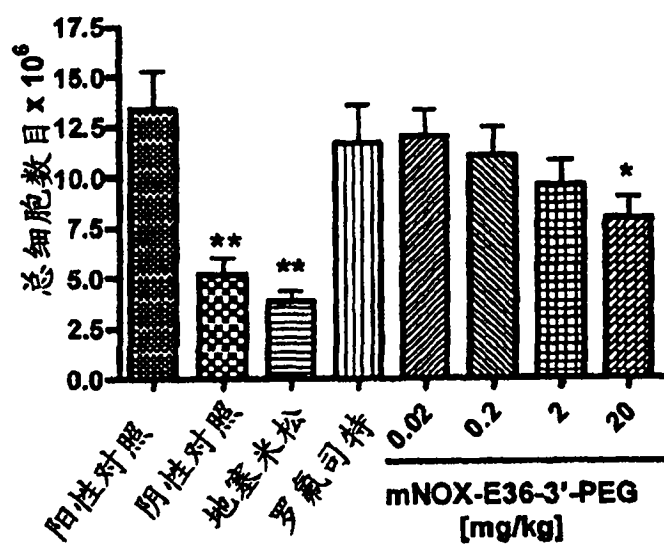


图 53A

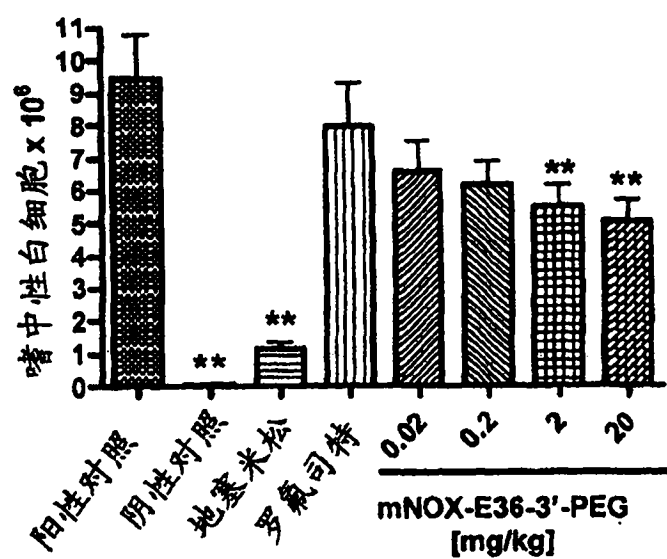


图 53B

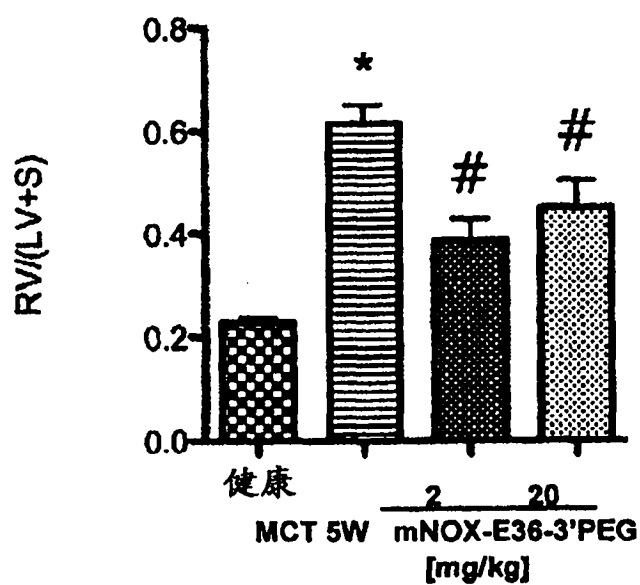


图 54A

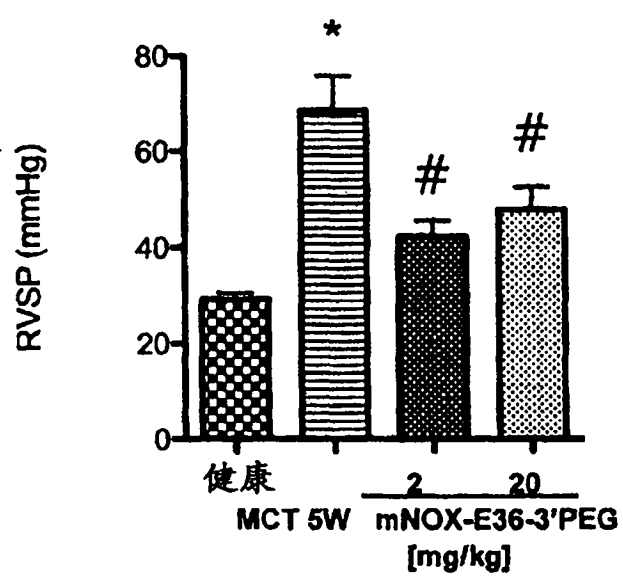


图 54B