

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0707842-0 A2**

(22) Data de Depósito: 14/02/2007  
(43) Data da Publicação: 10/05/2011  
(RPI 2105)



(51) *Int.Cl.:*  
C12N 15/11  
A61K 31/7088

(54) Título: **ÁCIDOS NUCLEÍCOS QUE SE LIGAM À MCP-1**

(30) Prioridade Unionista: 14/02/2006 EP 060029352,  
22/11/2006 EP 06024202.1

(73) Titular(es): Noxxon Pharma AG.

(72) Inventor(es): Christian Maasch, Dirk Eulberg, Florian  
Jarosch, Klaus Buchner, Sven Klussmann, Werner Purschke

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler &  
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007001294 de 14/02/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/093409 de 23/08/2007

(57) Resumo: ÁCIDOS NUCLEÍCOS QUE SE LIGAM À MCP-1. A presente invenção refere-se a um ácido nucleico, preferivelmente que se liga à MCP-1, selecionado a partir do grupo que compreende os ácidos nucleicos do tipo 1 A, os ácidos nucleicos do tipo 1 B, os ácidos nucleicos do tipo 2, os ácidos nucleicos do tipo 3, os ácidos nucleicos do tipo 4 e os ácidos nucleicos tendo uma sequência de ácidos nucleicos de acordo com quaisquer de SEQ. ID. N2: 87 a 115.



PI0707842-0

## Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "ÁCIDOS NUCLEÍCOS QUE SE LIGAM À MCP-1".

A presente invenção refere-se aos ácidos nucleicos que se ligam à MCP-1, e ao seu uso para a fabricação de um medicamento e um agente  
5 diagnóstico, respectivamente.

A MCP-1 humana (proteína quimiotática de monócitos 1; nomes alternativos, MCAF [fator quimiotático e ativador de monócitos]; CCL2; SMC-CF [célula do músculo liso-fator estimulador de colônia]; HC-11; LDCF; GDCF; TSG-8; SCYA2; A2; código de acesso do SwissProt, P13500) foi  
10 caracterizada por três grupos independentemente (Matsushima 1988; Rollins 1989; Yoshimura 1989). Ela consiste em 76 aminoácidos e caracteriza-se por um local de ligação à heparina como todas as quimiocinas. As duas ligações de dissulfeto intramoleculares conferem uma estrutura rígida, estável, à molécula. Além disso, a MCP-1 carrega um piroglutamato em sua  
15 extremidade de amino. Em Thr 71, está localizado um local de glicosilação ligado ao potencial O. Os membros adicionais da família de MCP existem tanto em seres humanos (MCP-2, -3, -4) quanto em camundongos (MCP-2, -3, -5). As proteínas humanas são aproximadamente 70% homólogas à MCP-1 humana.

20 A estrutura da MCP-1 foi resolvida por RMN (Handel 1996) e raio X (Lubkowski 1997). O monômero de MCP-1 tem a dobra de quimiocina típica, em que as cisteínas amino terminais são seguidas por uma longa seqüência que resulta em três folhas antiparalelas dobradas  $\beta$  em um motivo de estilo grego. A proteína termina em uma hélice  $\alpha$  que sobrepõe as três  
25 folhas  $\beta$  (código de acesso de dados de PDB IDOK).

Embora a estrutura tridimensional das formas de MCP-1 de diferentes espécies de mamíferos geralmente tenha sido mantida, a seqüência de aminoácidos não foi particularmente bem-conservada durante a evolução. Os resultados de alinhamento das seqüências demonstram 55%  
30 de similaridade global das seqüências entre a MCP-1 humana e de murino (também chamada JE) dentro dos primeiros 76 aminoácidos. Sem considerar a seqüência de aminoácidos, a MCP-1 de murino difere da

MCP-1 humana no tamanho molecular (125 aminoácidos) e no grau de glicosilação. A MCP-1 de murino contém um domínio carboxi terminal de 49 aminoácidos que não está presente na MCP-1 humana e não é requerido para a bioatividade *in vitro*. A MCP-1 humana compartilha a seguinte

5 porcentagem de aminoácidos idênticos com a MCP-1 de:

|    |                                                  |     |
|----|--------------------------------------------------|-----|
|    | • MCP-1 de <i>Macaca mulatta</i> (macaco Rhesus) | 97% |
|    | • MCP-1 de <i>Sus scrofa</i> (Porco)             | 79% |
|    | • <i>Equus caballus</i> (Cavalo)                 | 78% |
|    | • MCP-1 de <i>Canis familiaris</i> (Cão)         | 76% |
| 10 | • MCP-1 de <i>Oryctolagus cuniculus</i> (Coelho) | 75% |
|    | • <i>Bos Taurus</i> (Boi)                        | 72% |
|    | • MCP-3 de <i>Homo sapiens</i>                   | 71% |
|    | • Eotaxina de <i>Homo sapiens</i>                | 64% |
|    | • MCP-2 de <i>Homo sapiens</i>                   | 62% |
| 15 | • MCP-1 de <i>Mus musculus</i> (Camundongo)      | 55% |
|    | • MCP-1 de <i>Rattus norvegicus</i> (Rato)       | 55% |

Dado este alto grau de divergência, pode ser necessário gerar antagonistas de MCP-1 de roedores para o desempenho bem-sucedido dos estudos farmacológicos em modelos de roedores.

20 A MCP-1 é um atraente potente de monócitos/macrófagos, basófilos, células T ativadas, e células NK. Uma ampla variedade de tipos de células, tais como as células endoteliais, as células epiteliais, os fibroblastos, os ceratinócitos, as células sinoviais, as células mesangiais, os osteoblastos, as células do músculo liso, bem como uma grande quantidade de células de  
25 tumor, expressam a MCP-1 (Baggiolini 1994). A sua expressão é estimulada por diversos tipos de agentes pró-inflamatórios, tais como a IL-1 $\beta$ , o TNF- $\alpha$ , o IFN- $\gamma$ , o LPS (lipopolissacarídeo), e o GM-CSF.

Bastante incomum na rede desordenada de quimiocinas, a MCP-1 é altamente específica em seu uso de receptor, ligando-se somente  
30 ao receptor de quimiocina CCR2 com alta afinidade. Como todos os receptores de quimiocinas, o CCR2 é um GPCR (Dawson 2003). O CCR2 parece ser expresso em duas formas ligeiramente diferentes devido à

emenda alternativa dos mRNA que codificam as regiões carboxi terminais, CCR2a e CCR2b (Charo 1994). Estes receptores são expressos em monócitos, células precursoras mielóides e células T ativadas (Myeres 1995; Qin 1996). A constante de dissociação da MCP-1 para o receptor

5 transfectado nas células HEK-293 é 260 pM, que está em concordância com os valores medidos nos monócitos (Myers 1995; Van Riper 1993). A ativação do CCR2b nas células HEK-293 com a MCP-1 inibe a adenilil ciclase em uma concentração de 90 pM, e mobiliza o cálcio intracelular em concentrações ligeiramente mais elevadas, aparentemente independente da

10 hidrólise de fosfatidil inositol. Os efeitos sobre a adenilil ciclase e a liberação de cálcio intracelular são fortemente inibidos pela toxina da coqueluche, implicando o envolvimento das proteínas G heterotriméricas do tipo  $G_i$  na transdução de sinal (Myers 1995).

A MCP-1 está envolvida no recrutamento de monócitos nos

15 tecidos inflamados. Lá, os macrófagos residentes liberam quimiocinas, tais como a MCP-1 e outras, e citocinas como o TNF, a IL-1 $\beta$  e outros, que ativam as células endoteliais para expressar uma bateria de moléculas de adesão. O endotélio "grudento" resultante faz com que os monócitos no vaso sanguíneo rolem ao longo de sua superfície. Aqui, os monócitos encontram

20 a MCP-1 apresentada sobre a superfície endotelial, que se liga ao CCR2 sobre os monócitos e os ativa. Isto finalmente resulta na retenção firme, no espalhamento dos monócitos ao longo do endotélio, e na transmigração para o tecido circundante, onde os monócitos diferenciam-se em macrófagos e migram para o local de concentração máxima de MCP-1.

25 A MCP-1 é um membro da família de quimiocinas, que é uma família de moléculas principalmente básicas e estruturalmente relacionadas, que se ligam à heparina, pequenas (cerca de 8-14 kDa). Elas são formadas predominantemente nos tecidos inflamados e regulam o recrutamento, a ativação, e a proliferação de células sanguíneas brancas (leucócitos)

30 (Baggiolini 1994; Springer 1995; Schall 1994). As quimiocinas induzem seletivamente a quimiotaxia de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, macrófagos, mastócitos, células T e B. Além de seu efeito quimiotático, elas



podem exercer seletivamente outros efeitos em células responsivas, como alterações no formato da célula, aumento transiente na concentração de íons cálcio intracelulares livres, desgranulação, supra-regulação das integrinas, formação de lipídios bioativos, tais como leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos, ou explosão respiratória (liberação de espécie reativa de oxigênio para a destruição de organismos patogênicos ou células de tumor). Assim, pela provocação da liberação de mediadores pró-inflamatórios adicionais, da quimiotaxia e do extravasamento de leucócitos para os locais de infecção ou inflamação, as quimiocinas desencadeiam a escalada da resposta inflamatória.

Com base no arranjo dos primeiros dois de quatro resíduos de cisteína conservados, as quimiocinas são divididas em quatro classes: CC ou  $\beta$ -quimiocinas, em que as cisteínas estão em série, CXC ou  $\alpha$ -quimiocinas, onde elas são separadas por um resíduo de aminoácido adicional, XC ou  $\gamma$  quimiocinas, com a linfotactina como o único representante até o momento, que possuem somente uma ponte de dissulfeto, e quimiocinas CX3C, que se caracterizam por três resíduos de aminoácidos entre as cisteínas, com a fractalquina ligada à membrana como o único membro da classe conhecido até o momento (Bazan 1997).

As quimiocinas CXC atuam principalmente sobre os neutrófilos, em particular aquelas quimiocinas CXC que carregam a sequência de aminoácidos ELR sobre a sua extremidade de amino. Os exemplos de quimiocinas CXC que são ativas sobre os neutrófilos são a IL-8, as GRO $\alpha$ , - $\beta$ , e - $\gamma$ , a NAP-2, a ENA-78 e a GCP-2. As quimiocinas CC atuam sobre uma variedade maior de leucócitos, tais como monócitos, macrófagos, eosinófilos, basófilos, bem como linfócitos T e B (Oppenheim 1991, Baggiolini 1994; Miller 1992; Jose 1994; Ponath 1996a). Os exemplos destas são I-309; MCP-1, -2, -3, -4, MIP-1 $\alpha$  e - $\beta$ , RANTES, e eotaxina.

As quimiocinas atuam através de receptores que pertencem a uma superfamília de sete receptores acoplados à proteína G de transposição de transmembrana (GPCRs; Murphy 2000). Falando de um modo geral, as interações entre as quimiocinas e os receptores de quimiocinas tendem a

ser desordenadas pelo fato que uma quimiocina pode ligar muitos receptores de quimiocinas e, inversamente, um único receptor de quimiocina pode interagir com diversas quimiocinas. Alguns receptores conhecidos para as quimiocinas CC incluem o CCR1, que liga a MIP-1 $\alpha$  e a RANTES (Neote  
 5 1993; Gao 1993); o CCR2, que liga as quimiocinas que incluem as MCP-1, -2, -3, e -4 (Charo 1994; Myers 1995; Gong 1997; Garcia-Zepeda 1996); o CCR3, que liga as quimiocinas que incluem a eotaxina, a RANTES, e a MCP-3 (Ponath 1996b); o CCR4, que foi verificado sinalizar em resposta à MCP-1, à MIP-1 $\alpha$ , e à RANTES (Power 1995); e o CCR5, que mostrou  
 10 sinalizar em resposta às MIP-1 $\alpha$  e - $\beta$ , e à RANTES (Boring 1996; Raport 1996; Samson 1996).

Conforme acima mencionado, todos os quatro membros da família de MCP (1-4) se ligam ao CCR2, ao passo que a MCP-2, a MCP-3, e a MCP-4 podem também interagir com o CCR1 e o CCR3 (Gong 1997;  
 15 Heath 1997; Uguccioni 1997) e, no caso da MCP-2, o CCR5 (Ruffing 1998). Uma outra quimiocina CC que mostra alta homologia com a família de MCP é a eotaxina, que foi originalmente isolada do fluido de lavagem broncoalveolar retirado de porquinhos-da-índia sensibilizados, provocados com alérgenos (Jose 1994). Foi mostrado que a eotaxina é também capaz  
 20 de ativar o CCR2 (Martinelli 2001).

O problema que é a base da presente invenção é proporcionar um meio que interaja especificamente com a MCP-1. Mais especificamente, o problema que fundamenta a presente invenção é proporcionar um meio baseado em ácido nucléico que interaja especificamente com a MCP-1.

25 Um problema adicional fundamentando a presente invenção é proporcionar um meio para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença humana ou não-humana, pelo que a doença é caracterizada pela MCP-1 estando direta ou indiretamente envolvida no mecanismo patogenético de tal doença.

30 Um problema ainda adicional que é a base da presente invenção é proporcionar um meio para a fabricação de um agente diagnóstico para o tratamento de uma doença, pelo que a doença é caracterizada pela MCP-1

estando direta ou indiretamente envolvida no mecanismo patogênico de tal doença.

Estes e outros problemas que fundamentam a presente invenção são resolvidos pelo assunto das reivindicações independentes em anexo. As modalidades preferidas podem ser consideradas a partir das reivindicações dependentes.

O problema que fundamenta a presente invenção é também resolvido, em um primeiro aspecto, por um ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1, selecionado a partir do grupo que compreende os ácidos nucléicos do tipo 1A, os ácidos nucléicos do tipo 1B, os ácidos nucléicos do tipo 2, os ácidos nucléicos do tipo 3, os ácidos nucléicos do tipo 4 e os ácidos nucléicos tendo uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com quaisquer de SEQ. ID. Nº: 87 a 115.

Em um primeiro subaspecto do primeiro aspecto, o ácido nucléico do tipo 1A compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, uma terceira Caixa de extensão B3, uma quarta Caixa de extensão B4, uma quinta Caixa de extensão B5, uma sexta Caixa de extensão B6 e uma sétima Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a sétima Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de AGCRUG,

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma seqüência de nucleotídeos de CCCGGW,

a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma seqüência de nucleotídeos de GUR,

a quarta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüência de nucleotídeos de RYA,

a quinta Caixa de extensão B5 compreende uma seqüência de nucleotídeos de GGGGGRCGCGAYC

a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCAAUAAUG ou URYAWUUG, e

a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CRYGCU.

- 5 Em uma modalidade preferida do primeiro subaspecto  
a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de AGCGUG.

- Em uma modalidade do primeiro subaspecto  
a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência  
10 de nucleotídeos de CCCGGU.

Em uma modalidade do primeiro subaspecto  
a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma sequência de nucleotídeos de GUG.

- Em uma modalidade do primeiro subaspecto  
15 a quarta Caixa de extensão B4 compreende uma sequência de nucleotídeos de GUA.

Em uma modalidade do primeiro subaspecto  
a quinta Caixa de extensão B5 compreende uma sequência de nucleotídeos de GGGGGGCGCGACC.

- 20 Em uma modalidade do primeiro subaspecto  
a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de UACAUUUG.

- Em uma modalidade do primeiro subaspecto  
a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de  
25 nucleotídeos de CACGCU.

Em uma modalidade do primeiro subaspecto, o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 21.

- Em um segundo subaspecto do primeiro aspecto, o ácido  
30 nucléico do tipo 1B compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, uma terceira Caixa de extensão B3, uma quarta Caixa de extensão B4, uma quinta Caixa de

extensão B5, uma sexta Caixa de extensão B6 e uma sétima Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a sétima Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a  
5 hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de AGYRUG,

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CCAGCU ou CCAGY,

10 a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma sequência de nucleotídeos de GUG,

a quarta Caixa de extensão B4 compreende uma sequência de nucleotídeos de AUG,

a quinta Caixa de extensão B5 compreende uma sequência de  
15 nucleotídeos de GGGGGGCGCGACC

a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de CAUUUUA ou CAUUUA, e

a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CAYRCU.

20 Em uma modalidade do segundo subaspecto

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de AGCGUG.

Em uma modalidade do segundo subaspecto

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência  
25 de nucleotídeos de CCAGU.

Em uma modalidade do segundo subaspecto

a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de CAUUUUA.

Em uma modalidade do segundo subaspecto

30 a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CACGCU.

Em uma modalidade do segundo subaspecto, o ácido nucléico

compreende uma sequência de ácidos nucleicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 28 e SEQ. ID. Nº: 27.

Em um terceiro subaspecto do primeiro aspecto, o ácido nucleico do tipo 2 compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, e uma terceira Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a terceira Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende ACGCA, CGCA e GCA,

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CSUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGYGGCUC, e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende UGCGU, UGCG e UGC.

Em uma modalidade do terceiro subaspecto

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC.

Em uma modalidade do terceiro subaspecto

a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de ACGCA, e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCGU; ou

b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de CGCA, e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCG; ou

c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma

seqüência de nucleotídeos de GCA,

e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de UGC ou UGCG.

- 5                    Em uma modalidade do terceiro subaspecto  
a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCA.

- Em uma modalidade preferida do terceiro subaspecto  
a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência  
10 de nucleotídeos de UGCG.

                    Em uma modalidade do terceiro subaspecto, o ácido nucléico compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 37. , SEQ. ID. Nº: 116, SEQ. ID. Nº: 117 e SEQ. ID. Nº: 278.

- Em um quarto subaspecto do primeiro aspecto, o ácido nucléico  
15 do tipo 3 compreende, na direção 5'->3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2A, uma terceira Caixa de extensão B3, uma quarta Caixa de extensão B2B, uma quinta Caixa de extensão B4, uma sexta Caixa de extensão B5A, uma sétima Caixa de extensão B6, uma oitava Caixa de extensão B5B e uma nona Caixa de extensão B1B, pelo que  
20 a primeira Caixa de extensão B1A e a nona Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

- a segunda Caixa de extensão B2A e a quarta Caixa B2B  
opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização,  
25 forma-se uma estrutura de filamento duplo,

- a sexta Caixa de extensão B5A e a oitava Caixa B5B  
opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização,  
forma-se uma estrutura de filamento duplo,

- a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência  
30 de nucleotídeos que é selecionada a partir do grupo que compreende GURCUGC, GKSYGC, KBBSC e BNGC,

a segunda Caixa de extensão B2A compreende uma seqüência

de nucleotídeos de GKMGU,

a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma seqüência de nucleotídeos de KRRAR,

5 a quarta Caixa de extensão B2B compreende uma seqüência de nucleotídeos de ACKMC,

a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende CURYGA, CUWAUGA, CWRMGACW e UGCCAGUG,

10 a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma seqüência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GGY e CWGC,

a sétima Caixa de extensão B6 compreende uma seqüência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende YAGA, CKAU e CCUUUAU,

15 a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma seqüência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GCYR e GCWG, e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GCAGCAC, GCRSMC, GSVVM e GCNV.

20 Em uma modalidade do quarto subaspecto

a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma seqüência de nucleotídeos de GAGAA ou UAAAA

Em uma modalidade do quarto subaspecto

25 a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüência de nucleotídeos de CAGCGACU ou CAACGACU.

Em uma modalidade do quarto subaspecto

a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüência de nucleotídeos de CAGCGACU e a Caixa B3 compreende uma seqüência de nucleotídeos de UAAAA.

30 Em uma modalidade do quarto subaspecto

a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüência de nucleotídeos de CAACGACU e a Caixa B3 compreende uma seqüência de



nucleotídeos de GAGAA.

Em uma modalidade do quarto subaspecto

a sétima Caixa de extensão B6 compreende uma seqüência de nucleotídeos de UAGA.

5 Em uma modalidade do quarto subaspecto

a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GURCUGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCAGCAC; ou

10

b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GKSYGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCRSMC; ou

15

c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de KBBSC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GSVVM; ou

20

d) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de BNGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCNV.

25

Em uma modalidade preferida do quarto subaspecto

a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GUGCUGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCAGCAC; ou

30

b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma

seqüência de nucleotídeos de GUGCGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCGCAC; ou

5                   c)       a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de KKSSC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GSSMM; ou

10                  d)       a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de SNGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCNS.

15                  Em uma modalidade preferida adicional do quarto subaspecto a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GGGC,

e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GCCC.

20                  Em uma modalidade do quarto subaspecto, a segunda Caixa de extensão B2A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GKMGU e a quarta Caixa de extensão B2B compreende uma seqüência de nucleotídeos de ACKMC.

25                  Em uma modalidade preferida do quarto subaspecto, a segunda Caixa de extensão B2A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GUAGU e a quarta Caixa de extensão B2B compreende uma seqüência de nucleotídeos de ACUAC.

Em uma modalidade do quarto subaspecto

30                  a)       a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma seqüência de nucleotídeos de GGY,

e

a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCYR; ou

b) a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma sequência de nucleotídeos de CWGC,

5 e

a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCWG.

Em uma modalidade preferida do quarto subaspecto a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma sequência de nucleotídeos de GGC,

10 e

a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCCG.

Em uma modalidade mais preferida do quarto subaspecto, a sexta Caixa de extensão B5A hibridiza com os nucleotídeos GCY da oitava Caixa de extensão B5B.

Em uma modalidade do quarto subaspecto, o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 56.

20 Em uma modalidade do quarto subaspecto, o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos selecionada a partir do grupo que compreende as sequências de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 57 a 61, SEQ. ID. Nº: 67 a 71 e SEQ. ID. Nº: 73.

25 Em um quinto subaspecto do primeiro aspecto, o ácido nucléico do tipo 4 compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, uma terceira Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a terceira Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

30 a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende

AGCGUGDU, GCGCGAG, CSKSUU, GUGUU, e UGUU;

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende AGNDRDGBKGGURGYARGUAAAG, AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG e  
5 CAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAGA, e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GNCASGCU, CUCGCGUC, GRSMSG, GRCAC, e GGCA.

Em uma modalidade do quinto subaspecto

10 a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GUGUU,

e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GRCAC;

15 b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GCGCGAG,

e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CUCGCGUC; ou

20 c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de CSKSUU,

e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GRSMSG, ou

25 d) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de UGUU,

e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GGCA, ou

30 e) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de AGCGUGDU,

e

a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GNCASGCU.

Em uma modalidade preferida do quinto subaspecto, a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de CSKSUU e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GRSMSG.

Em uma modalidade mais preferida do quinto subaspecto, a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência de nucleotídeos de CCGCUU e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de GGGCGG.

Em uma modalidade do quinto subaspecto a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma seqüência de nucleotídeos de AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG.

Em uma modalidade do quinto subaspecto, o ácido nucléico compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 80.

Em uma modalidade do primeiro até o quinto subaspecto, o ácido nucléico é capaz de ligar a MCP-1, preferivelmente a MCP-1 humana.

Em uma modalidade do primeiro até o quinto subaspecto, o ácido nucléico é capaz de ligar uma quimiocina, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

Em uma modalidade do primeiro até o quinto subaspecto, o ácido nucléico é capaz de ligar uma quimiocina, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

Em uma modalidade do primeiro até o quinto subaspecto, o ácido nucléico é capaz de ligar a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina, a MCP-1 de porco e a MCP-1 humana.

Em uma modalidade do primeiro até o quinto subaspecto, o

ácido nucléico é capaz de ligar a MCP-1 humana.

Em uma modalidade preferida do primeiro até o quinto subaspecto, a MCP-1 tem uma seqüência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID Nº: 1.

5 O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um segundo aspecto por um ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1 de murino, pelo que o ácido nucléico compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 122, SEQ. ID. Nº: 253 e SEQ. ID. Nº: 254.

10 O problema que é a base da presente invenção é resolvido em um terceiro aspecto por um ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1 de murino, pelo que o ácido nucléico compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 127.

Em uma modalidade do segundo e do terceiro aspecto, a MCP-1 de murino compreende uma seqüência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID Nº: 2.

Em uma modalidade do primeiro até o terceiro aspecto, o ácido nucléico compreende uma modificação, pelo que a modificação é preferivelmente uma porção de alto peso molecular e/ou pelo que a modificação preferivelmente permite modificar as características do ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, do segundo e do terceiro aspecto em termos de tempo de residência no corpo do animal ou humano, preferivelmente no corpo humano.

Em uma modalidade preferida do primeiro até o terceiro aspecto, a modificação é selecionada a partir do grupo compreendendo uma porção de HES e uma porção de PEG.

Em uma modalidade mais preferida do primeiro até o terceiro aspecto, a modificação é uma porção de PEG consistindo em um PEG reto ou ramificado, pelo que o peso molecular da porção de PEG é preferivelmente de cerca de 20 a 120 kD, mais preferivelmente de cerca de 30 a 80 kD e mais preferivelmente ainda cerca de 40 kD.

Em uma modalidade mais preferida alternativa do primeiro até o

terceiro aspecto, a modificação é uma porção de HES, pelo que preferivelmente o peso molecular da porção de HES é de cerca de 10 a 130 kD, mais preferivelmente de cerca de 30 a 130 kD e mais preferivelmente ainda cerca de 100 kD.

5                Em uma modalidade do primeiro até o terceiro aspecto, a modificação é acoplada ao ácido nucléico via um ligante.

                 Em uma modalidade do primeiro até o terceiro aspecto, a modificação é acoplada ao ácido nucléico em seu nucleotídeo 5'-terminal e/ou seu nucleotídeo 3'-terminal e/ou a um nucleotídeo do ácido nucléico  
10                entre o nucleotídeo 5'-terminal e o nucleotídeo 3'-terminal.

                 Em uma modalidade do primeiro até o terceiro aspecto, os nucleotídeos do, ou os nucleotídeos que formam o, ácido nucléico são L-nucleotídeos.

                 Em uma modalidade do primeiro até o terceiro aspecto, o ácido  
15                nucléico é um L-ácido nucléico.

                 Em uma modalidade do primeiro até o terceiro aspecto, a porção do ácido nucléico capaz de ligar a MCP-1 consiste em L-nucleotídeos.

                 O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um quarto aspecto por uma composição farmacêutica compreendendo um  
20                ácido nucléico de acordo com o primeiro, o segundo e o terceiro aspecto e opcionalmente um constituinte adicional, pelo que o constituinte adicional é selecionado a partir do grupo que compreende excipientes farmacêuticamente aceitáveis, veículos farmacêuticamente aceitáveis e agentes farmacêuticamente ativos.

25                Em uma modalidade do quarto aspecto, a composição farmacêutica compreende um ácido nucléico de acordo com quaisquer do primeiro até o terceiro aspecto e um veículo farmacêuticamente aceitável.

                 O problema que é a base da presente invenção é resolvido em um quinto aspecto pelo uso de um ácido nucléico de acordo com o primeiro,  
30                o segundo e o terceiro aspecto, para a fabricação de um medicamento.

                 Em uma modalidade do quinto aspecto, o medicamento é para uso na medicina humana ou para uso na medicina veterinária.

O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um sexto aspecto pelo uso de um ácido nucléico de acordo com o primeiro, o segundo e o terceiro aspecto, para a fabricação de um meio diagnóstico.

Em uma modalidade do quinto aspecto e em uma modalidade do sexto aspecto, o medicamento e o meio diagnóstico, respectivamente, são para o tratamento e/ou a prevenção e a diagnose, respectivamente, de uma doença ou distúrbio selecionado a partir do grupo que compreende doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, encefalomielite auto-imune, acidente vascular cerebral, esclerose múltipla aguda e crônica, inflamação crônica, artrite reumatóide, doenças renais, reestenose, reestenose após angioplastia, reações alérgicas agudas e crônicas, reações imunológicas ou alérgicas primárias e secundárias, asma, conjuntivite, bronquite, câncer, aterosclerose, insuficiência cardíaca cardiovascular arteriosclerótica ou acidente vascular cerebral, psoríase, artrite psoriática, inflamação do sistema nervoso, dermatite atópica, colite, endometriose, uveíte, distúrbios da retina, incluindo a degeneração macular, o descolamento da retina, a retinopatia diabética, a retinopatia de prematuridade, a retinite pigmentosa, a vitreorretinopatia proliferativa, e a coriorretinopatia serosa central; fibrose pulmonar idiopática, sarcoidose, polimiosite, dermatomiosite, anulação da imunossupressão, reduzindo o risco de infecção, sepse, inflamação renal, glomerulonefrite, glomerulonefrite progressiva rápida, glomerulonefrite proliferativa, nefropatia diabética, nefropatia obstrutiva, necrose tubular aguda, e glomeruloesclerose difusa, lúpus eritematoso sistêmico, bronquite crônica, doença de Behcet, esclerose lateral amiotrófica (ALS), aterosclerose prematura após doença de Kawasaki, infarto do miocárdio, obesidade, doença crônica do fígado, doença de Peyronie, lesão do cordão espinhal aguda, transplante de pulmão ou rim, miocardite, mal de Alzheimer e neuropatia, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, câncer de bexiga, câncer ovariano, hamartoma, carcinoma colorretal, adenoma colônico, pancreatite, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD) e doenças inflamatórias dos intestinos, tais como a doença de Crohn ou a colite ulcerativa.

Sem desejar ligar-se a qualquer teoria, a adequabilidade dos



ácidos nucleicos da presente invenção para propósitos diagnósticos é principalmente baseada em um nível aumentado ou diminuído de quimiocina, pelo que tal quimiocina é selecionada a partir do grupo compreendendo a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3, mais especificamente a MCP-1.

5 Será reconhecido pela pessoa versada na técnica que a maioria das doenças antes mencionadas mostra tal nível aumentado ou diminuído de quimiocina.

O problema que é a base da presente invenção é resolvido em um sétimo aspecto por um complexo compreendendo uma quimiocina e um  
10 ácido nucleico de acordo com o primeiro, o segundo e o terceiro aspectos, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3, pelo que, de preferência, o complexo é um complexo cristalino.

Em uma modalidade do sétimo aspecto, a quimiocina é  
15 selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

Em uma modalidade do sétimo aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a  
20 MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um oitavo aspecto pelo uso de um ácido nucleico de acordo com o primeiro, o segundo e o terceiro aspectos, para a detecção de uma quimiocina, pelo  
25 que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

Em uma modalidade do oitavo aspecto, a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

30 Em uma modalidade do oitavo aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a

MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

O problema que é a base da presente invenção é resolvido em um nono aspecto por um método para a triagem de um antagonista de quimiocina ou um agonista de quimiocina, compreendendo as seguintes etapas:

- proporcionar um antagonista de candidato à quimiocina e/ou um agonista de candidato à quimiocina,
  - proporcionar um ácido nucléico de acordo com o primeiro, o segundo ou o terceiro aspecto,
  - proporcionar um sistema de teste que proporcione um sinal na presença de um antagonista de quimiocina e/ou um agonista de quimiocina, e
  - determinar se o antagonista de candidato à quimiocina é um antagonista de quimiocina e/ou se o agonista de candidato à quimiocina é um agonista de quimiocina,
- pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

Em uma modalidade do nono aspecto, a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

Em uma modalidade do nono aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um décimo aspecto, por um método para a triagem de um agonista de quimiocina e/ou um antagonista de quimiocina, compreendendo as seguintes etapas:

- proporcionar uma quimiocina imobilizada a uma fase, preferivelmente uma fase sólida,

- proporcionar um ácido nucléico de acordo com o primeiro, o segundo ou o terceiro aspecto, preferivelmente um ácido nucléico de acordo com o primeiro aspecto, o qual está rotulado,

5       - adicionar um agonista de candidato à quimiocina e/ou um antagonista de candidato à quimiocina, e

10       - determinar se o agonista de candidato à quimiocina é um agonista de quimiocina e/ou se o antagonista de candidato à quimiocina é um antagonista de quimiocina, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

Em uma modalidade do décimo aspecto, a determinação é realizada de modo tal que seja avaliado se o ácido nucléico é substituído pelo agonista de candidato à quimiocina ou por um antagonista de candidato à quimiocina.

15       Em uma modalidade do décimo aspecto, a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

20       Em uma modalidade do décimo aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

25       O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um décimo primeiro aspecto por um kit para a detecção de uma quimiocina, compreendendo um ácido nucléico de acordo com o primeiro, o segundo e o terceiro aspectos, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

30       Em uma modalidade do décimo primeiro aspecto, a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

Em uma modalidade do décimo primeiro aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo

que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um décimo segundo aspecto por um antagonista de quimiocina, obtenível pelo método de acordo com o décimo aspecto ou o nono aspecto, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

Em uma modalidade do décimo segundo aspecto, a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

Em uma modalidade do décimo segundo aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

O problema que fundamenta a presente invenção é resolvido em um décimo terceiro aspecto por um agonista de quimiocina, obtenível pelo método de acordo com o décimo aspecto ou o nono aspecto, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

Em uma modalidade do décimo terceiro aspecto, a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

Em uma modalidade do décimo terceiro aspecto, a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

Será reconhecido pela pessoa versada na técnica que um agonista de quimiocina e/ou um antagonista de quimiocina é preferivelmente um agonista e antagonista, respectivamente, abrangendo a respectiva

quimiocina conforme especificada neste documento. Desse modo, o agonista de quimiocina e o antagonista de quimiocina são, por exemplo, um agonista de MCP-1 e antagonista de MCP-1, respectivamente.

5 O problema que se baseia a presente invenção é resolvido em um décimo quarto aspecto por um método para a detecção do ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto, em uma amostra, pelo que o método compreende as etapas de:

a) proporcionar uma amostra contendo o ácido nucléico de acordo com a presente invenção;

10 b) proporcionar uma sonda de captura, pelo que a sonda de captura é pelo menos parcialmente complementar a uma primeira parte do ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto, e uma sonda de detecção, pelo que a sonda de detecção é pelo menos parcialmente complementar a uma segunda parte do ácido nucléico  
15 de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto, ou, alternativamente, a sonda de captura é pelo menos parcialmente complementar a uma segunda parte do ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto e a sonda de detecção é pelo menos parcialmente complementar à primeira parte do ácido nucléico  
20 de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto;

c) deixar que a sonda de captura e a sonda de detecção reajam simultaneamente ou em qualquer ordem seqüencialmente com o ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto ou parte dele;

25 d) opcionalmente detectar se a sonda de captura é hibridizada ou não com o ácido nucléico de acordo com o ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto proporcionado na etapa a); e

e) detectar o complexo formado na etapa c) consistindo no ácido  
30 nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo e terceiro aspecto, e na sonda de captura e na sonda de detecção.

Em uma modalidade do décimo quarto aspecto, a sonda de

deteccção compreende um meio de detecção, e/ou pelo que a sonda de captura pode ser imobilizada a um suporte, preferivelmente um suporte sólido.

- 5 Em uma modalidade do décimo quarto aspecto, qualquer sonda de detecção que não seja parte do complexo é removida da reação, de modo que na etapa e) somente uma sonda de detecção que seja parte do complexo seja detectada.

- 10 Em uma modalidade do décimo quarto aspecto, a etapa e) compreende a etapa de comparar o sinal gerado pelo meio de detecção quando a sonda de captura e a sonda de detecção forem hibridizadas na presença do ácido nucléico de acordo com qualquer do primeiro, segundo ou terceiro aspecto ou parte dele, e na ausência do dito ácido nucléico ou parte dele.

- 15 Em uma modalidade do décimo quarto aspecto, o ácido nucléico a ser detectado é o ácido nucléico tendo uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com as SEQ. ID. Nºs: 37, 116, 117 ou 278, e a sonda de captura ou a sonda de detecção compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com a SEQ. ID. Nº: 255 ou a SEQ. ID. Nº: 256.

- 20 Em uma modalidade do décimo quarto aspecto, o ácido nucléico a ser detectado é o ácido nucléico tendo uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com as SEQ. ID. Nºs: 122, 253 ou 254, e a sonda de captura ou a sonda de detecção compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com a SEQ. ID. Nº: 281 e a SEQ. ID. Nº: 282.

- 25 O problema que fundamenta a presente invenção é também resolvido pelo assunto das reivindicações independentes anexadas. A modalidade preferida pode ser considerada a partir das reivindicações dependentes em anexo.

- 30 As características do ácido nucléico de acordo com a presente invenção, conforme descritas neste documento, podem ser entendidas em qualquer aspecto da presente invenção onde o ácido nucléico for usado, sozinho ou em qualquer combinação.

As MCP-1 humanas, bem como de murinos, são proteínas

básicas tendo a sequência de aminoácidos de acordo com as SEQ. ID. N<sup>os</sup>: 1 e 2, respectivamente.

5 A descoberta que poderiam ser identificados ácidos nucleicos curtos que se ligam com alta afinidade à MCP-1 é, a tal ponto, surpreendente, visto que Eaton et al. (1997) observaram que a geração de aptâmeros, isto é, Ácidos nucleicos D que se ligam a uma molécula-alvo, dirigidos para uma proteína básica, é, em geral, muito difícil porque este tipo de alvo produz uma razão de sinal para ruído alta, porém não-específica. Esta razão alta de sinal para ruído resulta da alta afinidade não-específica mostrada pelos ácidos nucleicos pelos alvos básicos, tais como a MCP-1.

10 Conforme resumido em mais detalhe nas reivindicações e no exemplo 1, os presentes inventores puderam mais surpreendentemente identificar diversas moléculas de ácidos nucleicos que se ligam à MCP-1, diferentes, pelo que a maioria dos ácidos nucleicos pôde ser caracterizada em termos de extensões de nucleotídeos, que são também referidas neste documento como Caixas. As diversas moléculas de ácidos nucleicos que se ligam à MCP-1 podem ser categorizadas com base nas ditas Caixas e em algumas características e elementos estruturais, respectivamente. As diversas categorias assim definidas são também referidas neste documento como tipos, e mais especificamente como tipo 1A, tipo 1B, tipo 2, tipo 3 e tipo 4.

25 Os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção também compreenderão ácidos nucleicos que são essencialmente homólogos às sequências particulares descritas neste documento. O termo substancialmente homólogos será entendido de modo tal que a homologia seja pelo menos 75%, preferivelmente 85%, mais preferivelmente 90% e mais preferivelmente ainda mais do que 95 %, 96 %, 97 %, 98 % ou 99%.

30 A porcentagem real de nucleotídeos homólogos presentes no ácido nucleico de acordo com a presente invenção dependerá do número total de nucleotídeos presentes no ácido nucleico. A porcentagem de modificação pode ser baseada no número total de nucleotídeos presentes no ácido nucleico.

A homologia pode ser determinada conforme sabido para a pessoa versada na técnica. Mais especificamente, um algoritmo de comparação de seqüências então calcula a porcentagem de identidade de seqüência para a(s) seqüência(s) de teste em relação à seqüência de referência, com base nos parâmetros designados do programa. A seqüência de teste é preferivelmente a seqüência ou a molécula de ácido nucléico que é dita para ser ou para ser testada, se ela for homóloga, e se for assim, até que proporção, a uma outra molécula de ácido nucléico, pelo que tal outra molécula de ácido nucléico é também referida como a seqüência de referência. Em uma modalidade, a seqüência de referência é uma molécula de ácido nucléico conforme descrita neste documento, mais preferivelmente uma molécula de ácido nucléico tendo uma seqüência de acordo com qualquer de SEQ. ID. N<sup>os</sup>: 10 a 129, 132 a 256 e 278 - 282. O alinhamento opcional das seqüências para comparação pode ser conduzido, por exemplo, pelo algoritmo de homologia local de Smith e Waterman (Smith e Waterman, 1981), pelo algoritmo de alinhamento de homologia de Needleman e Wunsch (Needleman e Wunsch, 1970), pelo método de busca por similaridade de Pearson e Lipman (Pearson e Lipman, 1988), por implementações computadorizadas destes algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, e TFASTA no Pacote de Softwares da Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis), ou por inspeção visual.

Um exemplo de um algoritmo que é adequado para determinar a porcentagem de identidade de seqüência é o algoritmo usado na ferramenta básica de busca de alinhamento local (doravante, "BLAST"), vide, por exemplo, Altschul et al. (Altschul et al. 1990 e Altschul et al., 1997). O software para efetuar as análises por BLAST está publicamente disponível através do National Center for Biotechnology Information (doravante, "NCBI"). Os parâmetros preestabelecidos usados na determinação da identidade de seqüência, usando o software disponível do NCBI, por exemplo, BLASTN (para as seqüências de nucleotídeos) e BLASTP (para as seqüências de aminoácidos), são descritos em McGinnis et al. (McGinnis et al., 2004).



O termo ácido nucléico inventivo ou ácido nucléico de acordo com a presente invenção também compreenderá aqueles ácidos nucléicos compreendendo as seqüências de ácidos nucléicos descritas neste documento ou parte delas, preferivelmente na medida em que os ácidos nucléicos ou as ditas partes estejam envolvidas na ligação à MCP-1. O termo ácido nucléico inventivo, conforme preferivelmente usado neste documento, também compreenderá em uma modalidade um ácido nucléico que seja adequado para ligar-se a qualquer molécula selecionada a partir do grupo compreendendo MCP-2, MCP-3, MCP-4, e eotaxina. Será reconhecido pelos versados na técnica que os ácidos nucléicos individuais de acordo com a presente invenção ligar-se-ão a uma ou a diversas de tais moléculas. Tal ácido nucléico é, em uma modalidade, uma das moléculas de ácido nucléico descritas neste documento, ou um derivado e/ou um metabólito dela, pelo que tal derivado e/ou metabólito são preferivelmente um ácido nucléico truncado, comparados às moléculas de ácidos nucléicos descritas neste documento. O truncamento pode estar relacionado a qualquer uma ou a ambas as extremidades dos ácidos nucléicos, conforme descrito neste documento. Também, o truncamento pode estar relacionado à seqüência interna de nucleotídeos do ácido nucléico, isto é, ele pode estar relacionado ao(s) nucleotídeo(s) entre o nucleotídeo 5' e 3' terminal, respectivamente. Além disso, o truncamento compreenderá a remoção de tão pouco quanto um único nucleotídeo da seqüência dos ácidos nucléicos descritos neste documento. O truncamento pode também estar relacionado a mais do que uma extensão do(s) ácido(s) nucléico(s) inventivo(s), pelo que a extensão pode ser tão pequena quanto um nucleotídeo de comprimento. A ligação do ácido nucléico de acordo com a presente invenção, preferivelmente a uma molécula selecionada a partir do grupo compreendendo a MCP-1, a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina, pode ser determinada pelos versados na técnica, usando experimentos de rotina ou por utilização ou adoção de um método como descrito neste documento, preferivelmente conforme descrito neste documento na parte de exemplos. Está dentro de uma modalidade da presente invenção, a não ser que

explicitamente indicado ao contrário, que sempre que for referido neste documento à ligação dos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção à, ou com a, MCP-1, isto se aplica também à ligação dos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção a, ou com, qualquer molécula selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1, a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina.

Os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção podem ser Ácidos nucléicos D ou L-ácidos nucléicos. De preferência, os ácidos nucléicos inventivos são L-ácidos nucléicos. Além disso, é possível que uma ou diversas partes do ácido nucléico estejam presentes como Ácidos nucléicos D ou pelo menos uma ou diversas partes dos ácidos nucléicos sejam L-ácidos nucléicos. O termo "parte" dos ácidos nucléicos significará tão pouco quanto um nucleotídeo. Tais ácidos nucléicos são geralmente referidos neste documento como D- e L-ácidos nucléicos, respectivamente. Portanto, em uma modalidade particularmente preferida, os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção consistem em L-nucleotídeos e compreendem pelo menos um D-nucleotídeo. Tal D-nucleotídeo está preferivelmente ligado a uma parte diferente das extensões que definem os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção, preferivelmente aquelas partes dele onde esteja envolvida uma interação com as outras partes do ácido nucléico. De preferência, tal D-nucleotídeo está ligado em uma extremidade de quaisquer das extensões e de qualquer ácido nucléico de acordo com a presente invenção, respectivamente. Em uma modalidade adicional preferida, tais D-nucleotídeos podem atuar como um espaçador ou um ligante, preferivelmente unindo as modificações, tais como PEG e HES, aos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção.

Está também dentro de uma modalidade da presente invenção que cada uma e quaisquer das moléculas de ácidos nucléicos, descritas neste documento em sua totalidade em termos de sua(s) seqüência(s) de ácidos nucléicos, estejam limitadas à(s) seqüência(s) de nucleotídeos particular(es). Em outras palavras, os termos "compreendendo" ou "compreende(m)" serão interpretados em tal modalidade no significado de

conter ou consistir em.

Está também dentro da presente invenção que os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção são parte de um ácido nucleico mais longo, pelo que este ácido nucleico mais longo compreende  
5 diversas partes, pelo que pelo menos tal parte é um ácido nucleico de acordo com a presente invenção, ou uma parte dele. A(s) outra(s) parte(s) destes ácidos nucleicos mais longos pode(m) ser um ou diversos Ácidos nucleicos D ou um ou diversos L-ácidos nucleicos. Qualquer combinação pode ser usada em conexão com a presente invenção. Esta(s) outra(s)  
10 parte(s) do ácido nucleico mais longo, sozinhas ou consideradas conjuntamente, em sua totalidade ou em uma combinação particular, pode(m) exibir uma função que seja diferente de ligação, preferivelmente de ligação à MCP-1. Uma função possível é permitir a interação com outras moléculas, pelo que tais outras moléculas preferivelmente são diferentes da  
15 MCP-1, tal como, por exemplo, para a imobilização, a reticulação, a detecção ou a amplificação. Em uma modalidade adicional da presente invenção, os ácidos nucleicos de acordo com a invenção compreendem, como porções individuais ou combinadas, diversos dos ácidos nucleicos da presente invenção. Tal ácido nucleico compreendendo diversos dos ácidos  
20 nucleicos da presente invenção também está incluído pelo termo ácido nucleico mais longo.

Os L-ácidos nucleicos como usados neste documento são ácidos nucleicos consistindo em L-nucleotídeos, de preferência consistindo completamente em L-nucleotídeos.

25 Os Ácidos nucleicos D como usados neste documento são ácidos nucleicos consistindo em D-nucleotídeos, de preferência consistindo completamente em D-nucleotídeos.

Os termos ácido nucleico e molécula de ácido nucleico são usados neste documento em um modo intercambiável, se não explicitamente  
30 indicado ao contrário.

Também, se não indicado ao contrário, qualquer sequência de nucleotídeos é apresentada neste documento na direção 5' → 3'.

Independente de se o ácido nucléico inventivo consiste em D-nucleotídeos, L-nucleotídeos ou uma combinação de ambos, com a combinação sendo, por exemplo, uma combinação aleatória ou uma seqüência definida de extensões consistindo em pelo menos um L-nucleotídeo e pelo menos um Ácido nucléico D, o ácido nucléico pode consistir em desoxirribonucleotídeo(s), ribonucleotídeo(s) ou combinações deles.

Projetar os ácidos nucléicos inventivos como L-ácido nucléico é vantajoso por diversas razões. Os L-ácidos nucléicos são enantiômeros de ácidos nucléicos de ocorrência natural. Os Ácidos nucléicos D, entretanto, não são muito estáveis em soluções aquosas e, particularmente, em sistemas biológicos ou amostras biológicas, devido à ampla presença de nucleases. As nucleases de ocorrência natural, particularmente as nucleases de células animais, não são capazes de degradar os L-ácidos nucléicos. Por causa disto, a meia-vida biológica do L-ácido nucléico é significativamente aumentada em tal sistema, incluindo o corpo animal e humano. Devido à ausência de capacidade de degradar do L-ácido nucléico, nenhum produto de degradação da nuclease é gerado e, assim, nenhum efeito colateral que surja dele observado. Este aspecto delimita o L-ácido nucléico efetivamente de todos os outros compostos que são usados na terapia de doenças e/ou distúrbios que envolvam a presença de MCP-1. Os L-ácidos nucléicos que especificamente se ligam a uma molécula-alvo através de um mecanismo diferente do emparelhamento de bases de Watson Crick, ou os aptâmeros que consistem parcial ou completamente em L-nucleotídeos, particularmente com aquelas partes do aptâmero estando envolvidas na ligação do aptâmero à molécula-alvo, são também chamados "spiegelmeros".

Está também dentro da presente invenção que os ácidos nucléicos inventivos, também referidos neste documento como ácidos nucléicos de acordo com a invenção, independente se eles estão presentes como Ácidos nucléicos D, L-ácidos nucléicos ou D, L-ácidos nucléicos, ou se eles são o DNA ou o RNA, podem estar presentes como ácidos nucléicos de fita simples ou de filamento duplo. Tipicamente, os ácidos nucléicos

inventivos são ácidos nucleicos de fita simples, os quais exibem estruturas secundárias definidas, devidas à seqüência primária e podem, assim, também formar estruturas terciárias. Os ácidos nucleicos inventivos, entretanto, podem também ser de filamento duplo no significado que dois  
5 filamentos, que são complementares ou parcialmente complementares uma a outra, são hibridizadas uma com a outra. Isto confere estabilidade ao ácido nucleico, o que, em particular, será vantajoso se o ácido nucleico estiver presente na forma D de ocorrência natural, em vez da forma L.

Os ácidos nucleicos inventivos podem ser modificados. Tais  
10 modificações podem estar relacionadas ao nucleotídeo individual do ácido nucleico e são bastante conhecidas na técnica. Os exemplos para tal modificação são descritos, entre outros, em Venkatesan (2003); Kusser (2000); Aurup (1994); Cummins (1995); Eaton (1995); Green (1995); Kawasaki (1993); Lesnik (1993); e Miller (1993). Tal modificação pode ser  
15 um átomo de H, um átomo de F ou o grupo O-CH<sub>3</sub> ou o grupo NH<sub>2</sub> na posição 2' do nucleotídeo individual do qual consiste o ácido nucleico. Também, o ácido nucleico de acordo com a presente invenção pode compreender pelo menos um nucleotídeo de LNA. Em uma modalidade, o ácido nucleico de acordo com a presente invenção consiste nos  
20 nucleotídeos de LNA.

Em uma modalidade, os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção podem ser um ácido nucleico de múltiplas partes. Um ácido nucleico de múltiplas partes, conforme usado neste documento, é um ácido nucleico que consiste em pelo menos dois filamentos de ácido  
25 nucleico. Estas pelo menos dois filamentos de ácido nucleico formam uma unidade funcional, pelo que a unidade funcional é um ligante para uma molécula-alvo. As pelo menos dois filamentos de ácido nucleico podem ser derivadas de quaisquer dos ácidos nucleicos inventivos, por clivagem do ácido nucleico para gerar dois filamentos ou por síntese de um ácido  
30 nucleico correspondendo a uma primeira parte do ácido nucleico inventivo, isto é, global, e de um outro ácido nucleico correspondendo à segunda parte do ácido nucleico global. É para ser reconhecido que tanto a clivagem

quanto a síntese podem ser aplicadas para gerar um ácido nucléico de múltiplas partes onde houver mais do que dois filamentos, como exemplificado acima. Em outras palavras, as pelo menos dois filamentos de ácido nucléico são tipicamente diferentes de dois filamentos que são complementares e hibridizam uma com a outra, embora possa existir certo grau de complementaridade entre as diversas partes do ácido nucléico.

Finalmente, está também dentro da presente invenção que seja obtida uma estrutura inteiramente fechada, isto é, circular, para os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção, isto é, que os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção sejam fechados, preferivelmente através de uma ligação covalente, pelo que mais preferivelmente tal ligação covalente é feita entre a extremidade 5' e a extremidade 3' das seqüências de ácidos nucléicos, como descritas neste documento.

Os presentes inventores descobriram que os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção exibem uma faixa de valores de  $K_D$  muito favorável.

Uma possibilidade de determinar a constante de ligação é o uso do assim chamado dispositivo biacore, que é também conhecido para alguém versado na técnica. A afinidade, como usada neste documento, foi também medida pelo uso do "ensaio de co-imunoprecipitação", como descrito nos exemplos. Uma medida apropriada para expressar a intensidade da ligação entre o ácido nucléico de acordo com a presente invenção ao alvo, o qual é, no presente caso, a MCP-1, e o assim chamado valor de  $K_D$ , o qual, como do mesmo modo também o método para a sua determinação, é conhecido para alguém versado na técnica.

Os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção são caracterizados por certo valor de  $K_D$ . De preferência, o valor de  $K_D$  mostrado pelos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção está abaixo de 1  $\mu M$ . Um valor de  $K_D$  de cerca de 1  $\mu M$  é dito ser caracterizado por uma ligação não-específica de um ácido nucléico a um alvo. Conforme será reconhecido por alguém na técnica, o valor de  $K_D$  de um grupo de

compostos, tal como os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção, está dentro de certa faixa. O  $K_D$  acima mencionado de cerca de 1  $\mu M$  é um limite superior preferido para o valor de  $K_D$ . O limite inferior preferido para o  $K_D$  dos ácidos nucleicos que se ligam ao alvo pode ser

5 cerca de 10 picomolares ou maior. Está dentro da presente invenção que os valores de  $K_D$  dos ácidos nucleicos individuais que se ligam à MCP-1 estão preferivelmente dentro desta faixa. As faixas preferidas podem ser definidas escolhendo-se qualquer primeiro numero dentro desta faixa e qualquer

10 segundo número dentro desta faixa. Os valores superiores preferidos são 250 nM e 100 nM, os valores inferiores preferidos são 50 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM e 10 pM.

As moléculas de ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção podem ter qualquer comprimento, desde que elas ainda sejam capazes de ligar-se à molécula-alvo. Será reconhecido na técnica que

15 existem comprimentos preferidos dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção. Tipicamente, o comprimento é entre 15 e 120 nucleotídeos. Será reconhecido pelos versados na técnica que qualquer número inteiro entre 15 e 120 é um comprimento possível para os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção. As faixas mais preferidas

20 para o comprimento dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção são os comprimentos de cerca de 20 a 100 nucleotídeos, cerca de 20 a 80 nucleotídeos, cerca de 20 a 60 nucleotídeos, cerca de 20 a 50 nucleotídeos e cerca de 30 a 50 nucleotídeos.

Está dentro da presente invenção que os ácidos nucleicos

25 descritos neste documento compreendem uma porção que preferivelmente é uma porção de alto peso molecular e/ou que preferivelmente permite modificar as características do ácido nucleico em termos de, entre outros, tempo de residência no corpo do animal, preferivelmente no corpo humano. Uma modalidade particularmente preferida de tal modificação é a

30 PEGuilação e a HESilação dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção. Conforme usado aqui, PEG significa poli(etileno glicol) e HES hidroxietil amido. A PEGuilação, como preferivelmente usada neste

documento, é a modificação de um ácido nucléico de acordo com a presente invenção, pelo que tal modificação consiste em uma porção de PEG que é unida a um ácido nucléico de acordo com a presente invenção. A HESilação, como preferivelmente usada neste documento, é a modificação de um ácido nucléico de acordo com a presente invenção, pelo que tal modificação consiste em uma porção de HES que é unida a um ácido nucléico de acordo com a presente invenção. Estas modificações, bem como o processo de modificar um ácido nucléico usando tal modificação, são descritas no pedido de patente europeu EP 1 306 382, cuja descrição é incorporada com o presente em sua totalidade, por referência.

De preferência, o peso molecular de uma modificação consistindo em, ou compreendendo, uma porção de alto peso molecular é cerca de 2.000 a 200.000 Da, preferivelmente 20.000 a 120.000 Da, particularmente no caso do PEG sendo tal porção de alto peso molecular, e é preferivelmente cerca de 3.000 a 180.000 Da, mais preferivelmente de 5.000 a 130.000 Da, particularmente no caso do HES sendo tal porção de alto peso molecular. O processo de modificação com HES é, por exemplo, descrito no pedido de patente alemão DE 1 2004 006 249.8, cuja descrição é, com o presente, incorporada em sua totalidade, por referência.

Está dentro da presente invenção que um ou outro de PEG e HES possa ser usado como uma forma linear ou ramificada, como adicionalmente descrito nos pedidos de patentes WO2005074993 e PCT/EP02/11950. Tal modificação pode, em princípio, ser feita nas moléculas de ácidos nucléicos da presente invenção em qualquer posição delas. De preferência, tal modificação é feita no nucleotídeo 5' terminal, no nucleotídeo 3' terminal e/ou em qualquer nucleotídeo entre o nucleotídeo em 5' e o nucleotídeo em 3' da molécula de ácido nucléico.

A modificação, e preferivelmente a porção de PEG e/ou de HES, pode ser unida à molécula de ácido nucléico da presente invenção diretamente ou através de um ligante. Está também dentro da presente invenção que a molécula de ácido nucléico de acordo com a presente invenção compreende uma ou mais modificações, preferivelmente uma ou



mais porções de PEG e/ou de HES. Em uma modalidade, a molécula ligadora individual une mais do que uma porção de PEG ou porção de HES a uma molécula de ácido nucléico de acordo com a presente invenção. O ligante usado em conexão com a presente invenção pode, ele próprio, ser linear ou ramificado. Este tipo de ligantes é conhecido para aqueles versados na técnica e é adicionalmente descrito nos pedidos de patentes WO2005074993 e PCT/EP02/11950.

Sem desejar ligar-se a qualquer teoria, parece que pela modificação dos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção com uma porção de alto peso molecular, tal como um polímero, e mais particularmente os polímeros descritos neste documento, os quais são, de preferência, fisiologicamente aceitáveis, a cinética de excreção é alterada. Mais particularmente, parece que devido ao peso molecular aumentado de tais ácidos nucléicos inventivos modificados e devido aos ácidos nucléicos não estarem sujeitos ao metabolismo, particularmente quando na forma L, a excreção de um corpo de animal, preferivelmente de um corpo de mamífero, e mais preferivelmente de um corpo humano, é aumentada. Como a excreção ocorre tipicamente via os rins, os presentes inventores assumem que a taxa de filtração glomerular do ácido nucléico assim modificado é significativamente reduzida, comparado aos ácidos nucléicos não tendo este tipo de modificação de alto peso molecular, o que resulta em um aumento no tempo de residência no corpo. Em conexão com isto, é particularmente notável que, apesar de tal modificação de alto peso molecular, a especificidade do ácido nucléico de acordo com a presente invenção não é afetada em um modo prejudicial. Até tal ponto, os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção têm características surpreendentes - o que normalmente não pode ser esperado dos compostos farmacologicamente ativos - de modo que uma formulação farmacêutica que proporcione uma liberação continuada não é necessariamente requerida para proporcionar uma liberação continuada. De preferência, os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção, em sua forma modificada compreendendo uma porção de alto peso molecular, podem, como tais, já ser usados como uma

formulação de liberação continuada. Até tal ponto, a(s) modificação(ões) das moléculas de ácidos nucleicos como descritas aqui e as moléculas de ácidos nucleicos assim modificadas e qualquer composição compreendendo as mesmas podem proporcionar uma farmacocinética e uma biodistribuição singular, preferivelmente controlada, delas. Isto também inclui o tempo de residência em circulação e a distribuição para os tecidos. Tais modificações são adicionalmente descritas no pedido de patente PCT/EP02/11950.

Entretanto, está também dentro da presente invenção que os ácidos nucleicos descritos neste documento não compreendem nenhuma modificação e particularmente nenhuma modificação de alto peso molecular, tal como a PEGuilação ou a HESilação. Tal modalidade é particularmente preferida quando o ácido nucleico mostrar distribuição preferencial para qualquer órgão ou tecido-alvo no corpo. Os agentes de ácidos nucleicos com tal perfil distributivo permitiriam o estabelecimento de concentrações locais efetivas no tecido-alvo, ao mesmo tempo mantendo a concentração sistêmica baixa. Isto permitiria o uso de baixas doses, o que não somente é benéfico a partir de um ponto de vista econômico, como também reduz a exposição desnecessária dos outros tecidos ao agente de ácido nucleico, assim reduzindo o risco potencial de efeitos colaterais.

Os ácidos nucleicos inventivos, os quais são também referidos neste documento como os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção, e/ou os antagonistas de acordo com a presente invenção podem ser usados para a geração ou a fabricação de um medicamento. Tal medicamento ou uma composição farmacêutica de acordo com a presente invenção contém pelo menos um dos ácidos nucleicos inventivos, opcionalmente junto com mais compostos farmaceuticamente ativos, pelo que o ácido nucleico inventivo preferivelmente atua como o composto farmaceuticamente ativo propriamente dito. Tais medicamentos compreendem, nas modalidades preferidas, pelo menos um veículo farmaceuticamente aceitável. Tal veículo pode ser, por exemplo, a água, o tampão, a PBS, a solução de glicose, preferivelmente uma solução balanceada de sal de glicose a 5%, o amido, o açúcar, a gelatina ou

qualquer outra substância veículo aceitável. Tais veículos são geralmente conhecidos para alguém versado na técnica. Será reconhecido pela pessoa versada na técnica que quaisquer modalidades, uso e aspectos, ou relacionados ao, medicamento da presente invenção são também aplicáveis à composição farmacêutica da presente invenção e vice-versa.

A indicação, as doenças e os distúrbios para o tratamento e/ou a prevenção, dos quais os ácidos nucleicos, as composições farmacêuticas e os medicamentos de acordo com, ou preparados de acordo com, a presente invenção, resultam a partir do envolvimento, direto ou indireto, da MCP-1 no mecanismo patogênético respectivo. Entretanto, também aquelas indicações, doenças e distúrbios podem ser tratados e prevenidos no mecanismo patogênético do qual a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e/ou a eotaxina estão direta ou indiretamente envolvidas. É óbvio para aqueles versados na técnica que podem ser usados, até tal ponto, particularmente aqueles ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção, isto é, para as doenças que envolvam, no sentido mais amplo, a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina, que interagem e se ligam, respectivamente, à ou com a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina, respectivamente.

Mais especificamente, tais usos originam-se, entre outros, do padrão de expressão da MCP-1, o que sugere que ela desempenha funções nas doenças humanas que são caracterizadas por infiltração de células mononucleares. Tal infiltração de células está presente em muitas doenças inflamatórias e auto-imunes. Em modelos de animais, a MCP-1 mostrou ser expressa no cérebro após isquemia focal (Kim 1995; Wang 1995) e durante a encefalomielite auto-imune experimental (Hulkower 1993; Ransohoff 1993; Banisori 2005). A MCP-1 pode ser uma quimiocina importante que direciona as células mononucleares no processo da doença ilustrado por estes modelos de animais, tal como o acidente vascular cerebral e a esclerose múltipla.

Um grande corpo de evidência argumenta em favor de uma função única do eixo MCP-1/CCR2 na quimiotaxia de monócitos e, assim, na inflamação crônica: (i) os camundongos deficientes de MCP-1 ou CCR2

mostram resposta quimiotática de macrófagos marcadamente reduzida, enquanto de outro modo pareceriam normais (Kuziel 1997; Kurihara 1997; Boring 1997; Lu 1998). (ii), apesar da redundância funcional com outras quimiocinas *in vitro*, a perda da função efetora da MCP-1 sozinha é

5 suficiente para prejudicar o tráfego em diversos modelos inflamatórios (Lloyd 1997; Furuichi 2003; Egashira 2002; Galasso 2000; Ogata 1997; Kennedy 1998; Gonzalo 1998; Kitamoto 2003). (iii), os níveis de MCP-1 são elevados em muitas doenças inflamatórias. Na realidade, a MCP-1 é acreditada

10 desempenhar uma função em muitas doenças com e sem um componente inflamatório óbvio, tais como a artrite reumatóide (Koch 1992; Hosaka 1994; Akahoshi 1993; Harigai 1993; Rollins 1996), a doença renal (Wada 1996; Viedt 2002), a reestenose após angioplastia (Economou 2001), a alergia e a asma (Alam 1996; Holgate 1997; Gonzalo 1998), o câncer (Salcedo 2000; Gordillo 2004), a aterosclerose (Nelken 1991; Yla-Herttuala 1991; Schwartz

15 1993; Takeya 1993; Boring 1998), a psoríase (Vestergaard 2004), a inflamação do sistema nervoso (Huang 2001), a dermatite atópica (Kaburagi 2001), a colite (Okuno 2002), a endometriose (Jolicoeur 2001), a uveíte (Tuailon 2002), os distúrbios da retina (Nakazawa 2007), a fibrose pulmonar idiopática e a sarcoidose (Iyonaga 1994) e a polimiosite/dermatomiosite (De

20 Bleecker 2002).

A intervenção terapêutica com os agentes anti-MCP-1 - ou os antagonistas de CCR2 - afetaria o tráfego em excesso de monócitos inflamatórios, porém pode escassear o tráfego basal de fagócitos, desse modo evitando a imunossupressão geral e o risco aumentado de infecções

25 (Dawson 2003).

Adicionalmente, com base no conhecimento crescente sobre os mecanismos moleculares do processo inflamatório e da interação de mediadores da inflamação localmente secretados, identificaram-se novos alvos para a terapia das doenças renais (Holdsworth 2000; Segerer 2000).

30 Um destes alvos, para os quais existem dados sólidos sobre a expressão e os estudos de intervenção com antagonistas específicos em modelos de animais apropriados, é a MCP-1. Esta proteína tem uma função amplamente

não redundante para o recrutamento de células imunes para locais da inflamação renal. A infiltração de células imunes no rim é acreditada ser um mecanismo principal de dano renal estrutural e declínio da função renal no desenvolvimento de diversas formas de doença dos rins.

5            Todos os tipos de células renais podem expressar as quimiocinas, incluindo a MCP-1, com o estímulo *in vitro* (Segerer 2000); há uma longa lista de estímulos que desencadeiam a expressão da MCP-1 *in vitro*, incluindo as citocinas, os radicais de oxigênio, os complexos imunes, e os mediadores de lipídios.

10           Nos rins saudáveis de ratos e camundongos, a MCP-1 não é expressa, porém é prontamente supra-regulada durante o curso de modelos de rodentes agudos e crônicos de inflamação renal, incluindo a glomerulonefrite complexa imune, a glomerulonefrite progressiva rápida, a glomerulonefrite proliferativa, a nefropatia diabética, a nefropatia obstrutiva,  
15           ou a necrose tubular aguda (Segerer 2000; Anders 2003). Os dados de expressão para a MCP-1 de fato correlacionam-se bem com a expressão respectiva verificada nas biopsias renais humanas (Rovin 1994; Cockwell 1998, Wada 1999). Além disso, a expressão renal em rins humanos está associada com a atividade da doença e declina quando a terapia apropriada  
20           induziu a remissão da doença (Amann 2003).

              A infiltração de células mononucleares glomerulares está associada com o desenvolvimento de uma glomeruloesclerose difusa em pacientes com nefropatia diabética. A MCP-1 desempenha uma função importante no recrutamento e no acúmulo de monócitos e linfócitos dentro  
25           do glomérulo (Banba 2000; Morii 2003).

              A MCP-1 produzida localmente parece estar particularmente envolvida na iniciação e na progressão do dano tubulointersticial, conforme documentado em experimentos usando camundongos transgênicos com nefrite induzida por soro nefrotóxico (NSN). A MCP-1 foi principalmente  
30           detectada em células endoteliais vasculares, células epiteliais tubulares e células mononucleares infiltradas nas lesões intersticiais. A ativação mediada pela MCP-1 das células epiteliais tubulares está consistente com a

noção que a MCP-1 contribui para a inflamação tubulointersticial, uma característica distintiva da doença renal progressiva (Wada 2001; Viedt 2002).

Devido à homologia entre a MCP-1, por um lado, e a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina, por outro lado, os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção, pelo menos aqueles deles que interagem com, ou se ligam à, a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e eotaxina, respectivamente, podem tipicamente ser usados para o tratamento, a prevenção e/ou a diagnose de qualquer doença onde a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina, respectivamente, estejam, direta ou indiretamente, envolvidas. Envolvida, conforme preferivelmente usado neste documento, significa que se a molécula respectiva que está envolvida na doença for impedida de exercer uma, diversas ou todas as suas funções em conexão com o mecanismo patogénico que fundamenta a doença, a doença será curada ou o seu grau diminuído ou o seu surto impedido; pelo menos os sintomas ou qualquer indicador de tal doença serão aliviados e melhorados, respectivamente, de modo tal que os sintomas e o indicador, respectivamente, sejam idênticos ou próximos ao(s) observado(s) em um paciente que não sofre da doença ou não corre o risco de desenvolver tal doença.

Obviamente, porque os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção que se ligam à MCP-1 interagem com a, ou se ligam à, MCP-1 humana ou de murino, uma pessoa versada geralmente entenderá que os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção que se ligam à MCP-1 podem facilmente ser usados para o tratamento, a prevenção e/ou a diagnose de qualquer doença conforme descrita neste documento de seres humanos e animais.

Estes membros da família de proteína quimiotática de monócitos (MCP), isto é, a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina, desse modo, compartilham um alto grau de similaridade de sequência com a MCP-1. Embora não exclusivamente, a eotaxina, as MCP-2, -3, e -4 interagem via o CCR3, o receptor de quimiocina característico sobre os eosinófilos humanos

(Heath 1997). O receptor CCR3 é supra-regulado em condições neoplásticas, tais como o linfoma de células T cutâneo (Kleinhans 2003), o glioblastoma (Kouno 2004), ou o carcinoma de células renais (Johrer 2005).

5 Mais especificamente, os níveis aumentados de eotaxina estão diretamente associados com o diagnóstico de asma e a função do pulmão comprometida (Nakamura 1999). A expressão elevada da eotaxina em locais de inflamação alérgica foi observada em asmáticos tanto atópicos quanto não atópicos (Ying 1997; Ying 1999). Também, os mRNAs que codificam para as MCP-2 e -4 são constitutivamente expressos em uma variedade de  
10 tecidos; as suas funções fisiológicas nestes contextos, entretanto, são desconhecidas. Os níveis de MCP-2 no plasma são elevados na sepse juntamente com a MCP-1 (Bossink 1995); a expressão da MCP-3 ocorre em asmáticos (Humbert 1997). Finalmente, a MCP-4 pode ser encontrada na superfície luminal de vasos ateroscleróticos (Berkhout 1997).

15 Desse modo, a doença e/ou os distúrbios e/ou as condições de doença para o tratamento e/ou a prevenção dos quais pode ser usado o medicamento de acordo com a presente invenção incluem, porém não estão limitados às, doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, encefalomielite auto-imune, acidente vascular cerebral, esclerose múltipla aguda e crônica,  
20 inflamação crônica, artrite reumatóide, doenças renais, reestenose, reestenose após angioplastia, reações alérgicas agudas e crônicas, reações imunológicas ou alérgicas primárias e secundárias, asma, conjuntivite, bronquite, câncer, aterosclerose, insuficiência cardíaca cardiovascular arteriosclerótica ou acidente vascular cerebral, psoríase, artrite psoriática,  
25 inflamação do sistema nervoso, dermatite atópica, colite, endometriose, uveíte, distúrbios da retina, incluindo a degeneração macular, o descolamento da retina, a retinopatia diabética, a retinopatia de prematuridade, a retinite pigmentosa, a vitreorretinopatia proliferativa, e a coriorretinopatia serosa central; fibrose pulmonar idiopática, sarcoidose,  
30 polimiosite, dermatomiosite, anulação da imunossupressão, reduzindo o risco de infecção, sepse, inflamação renal, glomerulonefrite, glomerulonefrite progressiva rápida, glomerulonefrite proliferativa, nefropatia diabética,

nefropatia obstrutiva, necrose tubular aguda, e glomeruloesclerose difusa, lúpus eritematoso sistêmico, bronquite crônica, doença de Behcet, esclerose lateral amiotrófica (ALS), aterosclerose prematura após doença de Kawasaki, infarto do miocárdio, obesidade, doença crônica do fígado, doença de

5 Peyronie, lesão do cordão espinhal aguda, transplante de pulmão ou rim, miocardite, mal de Alzheimer, e neuropatia, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, câncer de bexiga, câncer ovariano, hamartoma, carcinoma colorretal, adenoma colônico, pancreatite, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD) e doenças inflamatórias dos intestinos, tais como a doença

10 de Crohn ou a colite ulcerativa.

Em uma modalidade adicional, o medicamento compreende um agente farmacologicamente ativo adicional. Tais compostos farmacologicamente ativos adicionais são, entre outros, porém não limitados a eles, aqueles sabidos controlar a pressão sanguínea e o diabetes, tais

15 como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ACE) e os bloqueadores do receptor de angiotensina. O composto farmacologicamente ativo adicional pode ser, em uma modalidade adicional, também um daqueles compostos que reduzem a infiltração de células imunes em locais de inflamação crônica ou geralmente suprimem a resposta imune excessiva

20 que está presente em indicações inflamatórias crônicas e que resulta no dano do tecido. Tais compostos podem ser, porém não estão limitados aos, esteróides e supressores imunes e são preferivelmente selecionados a partir do grupo que compreende os corticosteróides, como a prednisona, a metilprednisolona, a hidrocortisona, a dexametasona, e os

25 imunossupressores gerais, tais como a ciclofosfamida, a ciclosporina, o clorambucil, a azatioprina, o tacrolimus ou o micofenolato mofetil. Adicionalmente, os bloqueadores mais específicos da co-estimulação das células T, por exemplo, os bloqueadores de CD154 ou CD40 ou CD28 ou CD86 ou CD80; ou os agentes de redução das células T e/ou B, como um

30 agente anti-CD20, são úteis em modalidades adicionais. Finalmente, o agente farmacologicamente ativo adicional pode ser um modulador da atividade de qualquer outra quimiocina, o qual pode ser um agonista ou



antagonista de quimiocina ou um agonista ou antagonista de receptor de quimiocina. Alternativa, ou adicionalmente, tal agente farmacologicamente ativo adicional é um ácido nucléico adicional de acordo com a presente invenção. Alternativamente, o medicamento compreende pelo menos um

5 ácido nucléico que se liga a uma molécula-alvo diferente da MCP-1 ou exibe uma função que seja diferente daquela dos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção.

Está dentro da presente invenção que o medicamento é alternativa ou adicionalmente usado, em princípio, para a prevenção de

10 quaisquer das doenças descritas em conexão com o uso do medicamento para o tratamento das ditas doenças. Os marcadores respectivos, portanto, isto é, para as doenças respectivas, são conhecidos para aqueles versados na técnica. De preferência, o marcador respectivo é a MCP-1. Alternativa e/ou adicionalmente, o marcador respectivo é selecionado a partir do grupo

15 que compreende a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e a eotaxina. Ainda um grupo adicional de marcadores é selecionado a partir do grupo que compreende os anticorpos auto-reativos no plasma, tais como, por exemplo, os anticorpos anti-dsDNA ou o fator reumatóide.

Em uma modalidade do medicamento da presente invenção, tal

20 medicamento é para uso em combinação com outros tratamentos para quaisquer das doenças descritas neste documento, particularmente aquelas para as quais o medicamento da presente invenção é para ser usado.

A "terapia de combinação" (ou "co-terapia") inclui a administração de um medicamento da invenção e pelo menos um segundo

25 agente, como parte de um regime de tratamento específico pretendido para proporcionar o efeito benéfico a partir da ação em conjunto destes agentes terapêuticos, isto é, o medicamento da presente invenção e o dito segundo agente. O efeito benéfico da combinação inclui, porém não está limitado à ação farmacocinética ou farmacodinâmica em conjunto que resulta da

30 combinação dos agentes terapêuticos. A administração destes agentes terapêuticos em combinação tipicamente é efetuada durante um período de tempo definido (normalmente minutos, horas, dias ou semanas, dependendo

da combinação selecionada).

A "terapia de combinação" pode ser, porém geralmente não é, pretendida incluir a administração de dois ou mais destes agentes terapêuticos como parte de regimes separados de monoterapia que incidental e arbitrariamente resultam nas combinações da presente invenção. A "terapia de combinação" é pretendida incluir a administração destes agentes terapêuticos em um modo seqüencial, ou seja, onde cada agente terapêutico é administrado em um tempo diferente, bem como a administração destes agentes terapêuticos, ou pelo menos dois dos agentes terapêuticos, em um modo substancialmente simultâneo. A administração substancialmente simultânea pode ser efetuada, por exemplo, através de administração a um paciente de uma cápsula individual tendo uma razão fixa de cada agente terapêutico, ou em cápsulas individuais, múltiplas, para cada um dos agentes terapêuticos.

A administração seqüencial ou substancialmente simultânea de cada agente terapêutico pode ser efetuada por qualquer rota apropriada, incluindo, porém não limitada às rotas tópicas, rotas orais, rotas intravenosas, rotas intramusculares, e absorção direta através de tecidos da membrana mucosa. Os agentes terapêuticos podem ser administrados por rotas iguais ou por rotas diferentes. Por exemplo, um primeiro agente terapêutico da combinação selecionada pode ser administrado por injeção, enquanto os outros agentes terapêuticos da combinação podem ser administrados topicamente.

Alternativamente, por exemplo, todos os agentes terapêuticos podem ser administrados topicamente ou todos os agentes terapêuticos podem ser administrados por injeção. A seqüência na qual são administrados os agentes terapêuticos não é estreitamente crítica, a não ser que de outro modo observado. A "terapia de combinação" também pode incluir a administração dos agentes terapêuticos conforme descritos acima em combinação adicional com outros ingredientes biologicamente ativos. Onde a terapia de combinação adicionalmente compreender um tratamento que não seja por fármaco, o tratamento que não é por fármaco pode ser

conduzido em qualquer tempo adequado, desde que seja atingido um efeito benéfico a partir da ação em conjunto da combinação dos agentes terapêuticos e o tratamento que não é por fármaco. Por exemplo, nos casos apropriados, o efeito benéfico ainda é atingido quando o tratamento que não é por fármaco for removido de modo temporário da administração dos agentes terapêuticos, talvez por dias ou mesmo por semanas.

Conforme resumido em termos gerais acima, o medicamento de acordo com a presente invenção pode ser administrado, em princípio, em qualquer forma conhecida para aqueles versados na técnica. Uma rota preferida de administração é a administração sistêmica, mais preferivelmente a administração parenteral, preferivelmente por injeção. De modo alternativo, o medicamento pode ser administrado localmente. As outras rotas de administração compreendem a intramuscular, a intraperitoneal, e a subcutânea, a peroral, a intranasal, a intratraqueal ou a pulmonar, com preferência dada à rota de administração que seja menos invasiva, ao mesmo tempo assegurando a eficiência.

A administração parenteral é geralmente usada para as injeções e as infusões subcutâneas, intramusculares ou intravenosas. Adicionalmente, uma abordagem para a administração parenteral emprega a implantação de um sistema de liberação lenta ou de liberação continuada, o qual assegura que um nível constante de dosagem seja mantido, que é bastante conhecido para o versado na técnica.

Além disso, os medicamentos preferidos da presente invenção podem ser administrados na forma intranasal, via uso tópico de veículos, inalantes intranasais adequados, ou via rotas transdérmicas, usando aquelas formas de emplastos transdérmicos de pele bastante conhecidos para aqueles versados na técnica. Para ser administrada na forma de um sistema de distribuição transdérmica, a administração da dosagem, obviamente, será contínua, em vez de intermitente, por todo o regime de dosagem. As outras preparações tópicas preferidas incluem os cremes, os ungüentos, as loções, os sprays de aerossóis e os géis, onde a concentração de ingrediente ativo tipicamente variaria de 0,01% a 15%, p/p ou p/v.

O medicamento da presente invenção geralmente compreenderá uma quantidade efetiva do(s) componente(s) ativo(s) da terapia, porém não limitado(s) a uma molécula de ácido nucléico da presente invenção, dissolvida ou dispersa em um meio farmacêuticamente aceitável. Os meios  
5 ou os veículos farmacêuticamente aceitáveis incluem quaisquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes isotônicos e retardadores da absorção e similares. O uso de tais meios e agentes para substâncias ativas farmacêuticas é bastante conhecido na técnica. Podem também ser incorporados  
10 ingredientes ativos suplementares no medicamento da presente invenção.

Em um aspecto adicional, a presente invenção está relacionada a uma composição farmacêutica. Tal composição farmacêutica compreende pelo menos um dos ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção e preferivelmente um veículo farmacêuticamente aceitável. Tal veículo pode  
15 ser qualquer veículo ou qualquer aglutinante usado e/ou conhecido na técnica. Mais particularmente, tal aglutinante ou veículo é qualquer aglutinante ou veículo conforme discutido em conexão com a fabricação do medicamento descrito neste documento. Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende um agente farmacêuticamente ativo  
20 adicional.

A preparação de um medicamento e de uma composição farmacêutica será conhecida para aqueles versados na técnica levando em consideração a presente descrição. Tipicamente, tais composições podem ser preparadas como injetáveis, como soluções ou suspensões líquidas;  
25 formas sólidas adequadas para solução em, ou suspensão em, líquido antes da injeção; como comprimidos ou outros sólidos para a administração oral; como cápsulas de liberação com o tempo; ou em qualquer outra forma atualmente usada, incluindo os colírios, os cremes, as loções, as pomadas, os inalantes e similares. O uso de formulações estéreis, tais como as loções  
30 à base de solução salina, por cirurgiões, médicos ou profissionais da saúde, para tratar uma área particular no campo de operação, pode também ser particularmente útil. As composições podem também ser distribuídas via

microdispositivo, micropartícula ou esponja.

Com a formulação, um medicamento será administrado em um modo compatível com a formulação de dosagem, e em tal quantidade conforme for farmaceuticamente efetiva. As formulações são facilmente administradas em uma variedade de formas de dosagens, tais como o tipo de soluções injetáveis descritas acima, porém as cápsulas de liberação de fármacos e similares podem também ser empregadas.

Neste contexto, a quantidade de ingrediente ativo e o volume da composição a ser administrada dependem do indivíduo ou do paciente a ser tratado. As quantidades específicas de composto ativo requerido para a administração dependem do julgamento do profissional e são peculiares para cada indivíduo.

Tipicamente se utiliza um volume mínimo de um medicamento requerido para dispersar os compostos ativos. Os regimes adequados para a administração são também variáveis, porém seriam tipificados administrando inicialmente o composto e monitorando os resultados e então dando doses controladas adicionais em intervalos adicionais.

Por exemplo, para a administração oral na forma de um comprimido ou cápsula (por exemplo, uma cápsula gelatinosa), o componente de fármaco ativo, isto é, uma molécula de ácido nucléico da presente invenção e/ou qualquer agente farmaceuticamente ativo adicional, também referido neste documento como agente(s) terapêutico(s) ou composto(s) ativo(s), pode ser combinado com um veículo inerte, farmaceuticamente aceitável, não tóxico, oral, tal como o etanol, o glicerol, a água e similar. Além disso, quando desejado ou necessário, os aglutinantes, os lubrificantes, os agentes desintegrantes, e os agentes corantes adequados podem também ser incorporados na mistura. Os aglutinantes adequados incluem o amido, o silicato de magnésio alumínio, a pasta de amido, a gelatina, a metilcelulose, a carboximetilcelulose sódica e/ou a polivinilpirrolidona, os açúcares naturais, tais como a glicose ou a beta-lactose, os adoçantes de milho, as gomas naturais e sintéticas, tais como a acácia, o tragacanto ou o alginato de sódio, o polietileno glicol, as ceras, e

similares. Os lubrificantes usados nestas formas de dosagens incluem o oleato de sódio, o estearato de sódio, o estearato de magnésio, o benzoato de sódio, o acetato de sódio, o cloreto de sódio, a sílica, o talco, o ácido esteárico, o seu sal de magnésio ou cálcio e/ou o polietileno glicol, e  
5 similares. Os desintegrantes incluem, sem limitação, o amido, a metil celulose, o ágar, a bentonita, os amidos de goma xantana, o ágar, o ácido algínico ou o seu sal sódico, ou as misturas efervescentes, e similares. Os diluentes incluem, por exemplo, a lactose, a dextrose, a sacarose, o manitol, o sorbitol, a celulose e/ou a glicina.

10 O medicamento da invenção pode também ser administrado em tais formas de dosagens orais como comprimidos ou cápsulas de liberação com o tempo e de liberação continuada, pílulas, pós, grânulos, elixires, tinturas, suspensões, xaropes e emulsões. Os supositórios são vantajosamente preparados a partir de emulsões ou suspensões graxas.

15 A composição farmacêutica ou o medicamento pode ser esterilizado e/ou conter adjuvantes, tais como agentes conservantes, estabilizantes, umidificantes ou emulsificantes, promotores de solução, sais para regular a pressão osmótica e/ou tampões. Além disso, eles podem também conter outras substâncias terapeuticamente valiosas. As  
20 composições são preparadas de acordo com métodos convencionais de mistura, granulação, ou revestimento, e tipicamente contêm cerca de 0,1% a 75%, preferivelmente cerca de 1% a 50%, do ingrediente ativo.

As composições líquidas, particularmente injetáveis, podem, por exemplo, ser preparadas por dissolução, dispersão, etc. O composto ativo é  
25 dissolvido em, ou misturado com, um solvente farmacêuticamente puro, tal como, por exemplo, a água, a solução salina, a dextrose aquosa, o glicerol, o etanol, e similares, para, desse modo, formar a solução ou a suspensão injetável. Adicionalmente, podem ser formuladas formas sólidas adequadas para dissolução em líquido antes da injeção.

30 Para as composições sólidas, os excipientes incluem os graus farmacêuticos de manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, sacarina sódica, talco, celulose, glicose, sacarose, carbonato de magnésio, e

similares. O composto ativo definido acima pode ser também formulado como supositórios, usando, por exemplo, os polialquilenos glicóis, por exemplo, o propileno glicol, como o veículo. Em algumas modalidades, os supositórios são vantajosamente preparados a partir de emulsões ou suspensões graxas.

Os medicamentos e as moléculas de ácidos nucleicos, respectivamente, da presente invenção podem também ser administrados na forma de sistemas de distribuição de lipossomos, tais como as pequenas vesículas unilamelares, as grandes vesículas unilamelares e as vesículas multilamelares. Os lipossomos podem ser formados a partir de uma variedade de fosfolipídios, contendo colesterol, estearilamina ou fosfatidil colinas. Em algumas modalidades, um filme de componentes lipídicos é hidratado com uma solução aquosa do fármaco para formar a camada lipídica que encapsula o fármaco, o que é bem conhecido para o versado na técnica. Por exemplo, as moléculas de ácidos nucleicos descritas neste documento podem ser proporcionadas como um complexo com um composto lipofílico ou composto de alto peso molecular, não imunogênico, construído usando métodos conhecidos na técnica. Adicionalmente, os lipossomos podem conter tais moléculas de ácidos nucleicos sobre a sua superfície, para alvejar e carregar agentes citotóxicos internamente para mediar a morte celular. Um exemplo de complexos associados com ácidos nucleicos é proporcionado na Patente U.S. Nº 6.011.020.

Os medicamentos e as moléculas de ácidos nucleicos, respectivamente, da presente invenção podem também ser acoplados com polímeros solúveis como veículos de fármacos alvejáveis. Tais polímeros podem incluir a polivinilpirrolidona, o copolímero de pirano, o poliidroxiopropilmetacrilamida-fenol, o poliidroxiethylaspanamidafenol, ou a polietilenoóxido-polilisina substituída com resíduos de palmitoila. Além disso, os medicamentos e as moléculas de ácidos nucleicos, respectivamente, da presente invenção podem ser acoplados a uma classe de polímeros biodegradáveis, úteis em obter a liberação controlada de um fármaco, por exemplo, o poli(ácido láctico), a poliépsilon capro lactona, o poliidroxi ácido

butírico, os poliortoésteres, os poliacetais, os polidiidropiranos, os policianoacrilatos e os copolímeros em blocos reticulados ou anfipáticos de hidrogéis.

5 Se desejado, a composição farmacêutica e o medicamento, respectivamente, a serem administrados podem também conter pequenas quantidades de substâncias auxiliares não tóxicas, tais como agentes umidificantes ou emulsificantes, agentes de tamponamento de pH, e outras substâncias, tais como, por exemplo, o acetato de sódio, e o oleato de trietanolamina.

10 O regime de dosagem que utiliza as moléculas de ácidos nucléicos e os medicamentos, respectivamente, da presente invenção é selecionado de acordo com uma variedade de fatores, incluindo o tipo, a espécie, a idade, o peso, o sexo e a condição médica do paciente; a gravidade da condição a ser tratada; a rota de administração, a função renal  
15 e hepática do paciente; e o aptâmero particular ou o seu sal empregado. Um médico ou veterinário comumente versado pode prontamente determinar e prescrever a quantidade efetiva do fármaco requerido para prevenir, deter ou parar o progresso da condição.

Os níveis efetivos no plasma do ácido nucléico de acordo com a  
20 presente invenção preferivelmente variam de 500 fM a 500  $\mu$ M no tratamento de quaisquer das doenças descritas neste documento.

As moléculas de ácidos nucléicos e os medicamentos, respectivamente, da presente invenção podem preferivelmente ser administrados em uma única dose diária, de dois em dois ou de três em três  
25 dias, semanalmente, de duas em duas semanas, em uma dose única mensal ou de três em três meses.

Está dentro da presente invenção que o medicamento, conforme descrito neste documento, constitui a composição farmacêutica descrita neste documento.

30 Em um aspecto adicional, a presente invenção está relacionada a um método para o tratamento de um paciente que esteja necessitado de tal tratamento, pelo que o método compreende a administração de uma



quantidade farmacologicamente ativa de pelo menos um dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção. Em uma modalidade, o paciente sofre de uma doença ou corre o risco de desenvolver tal doença, pelo que a doença é quaisquer daquelas descritas neste documento, particularmente

5 quaisquer daquelas doenças descritas em conexão com o uso de quaisquer dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção para a fabricação de um medicamento.

É para ser entendido que o ácido nucleico e também os antagonistas de acordo com a presente invenção podem ser usados não

10 somente como um medicamento ou para a fabricação de um medicamento, porém também para propósitos cosméticos, particularmente em relação ao envolvimento da MCP-1 em lesões da pele regionais inflamadas. Portanto, uma condição ou doença adicional para o tratamento ou a prevenção da qual podem ser usados o ácido nucleico, o medicamento e/ou a composição

15 farmacêutica de acordo com a presente invenção é as lesões da pele regionais inflamadas.

Conforme preferivelmente usado neste documento, um agente diagnóstico ou meio diagnóstico é adequado para detectar, direta ou indiretamente, a MCP-1, preferivelmente a MCP-1 conforme descrita neste

20 documento, e mais preferivelmente a MCP-1 conforme descrita neste documento em conexão com os diversos distúrbios e doenças descritos neste documento. Entretanto, até o ponto em que as moléculas de ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção estão também se ligando a quaisquer, algumas ou todas de MCP-2, MCP-3, MCP-4 e eotaxina, tais

25 moléculas de ácidos nucleicos podem também ser usadas para a diagnose de doenças e distúrbios, respectivamente, cujo mecanismo patogênico está direta ou indiretamente ligado ou associado com a superexpressão ou a superatividade com a MCP-2, a MCP-3, a MCP-4 e/ou a eotaxina. O diagnóstico é adequado para a detecção e/ou o acompanhamento de

30 quaisquer dos distúrbios e doenças, respectivamente, descritos neste documento. Tal detecção é possível através da ligação dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção à MCP-1. Tal ligação pode ser direta ou

indiretamente detectada. Os métodos e os meios respectivos são conhecidos para aqueles versados na técnica. Entre outros, os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção podem compreender um rótulo que permite a detecção dos ácidos nucleicos de acordo com a

5 presente invenção, preferivelmente do ácido nucleico ligado à MCP-1. Tal rótulo é preferivelmente selecionado a partir do grupo que compreende rótulos radioativos, enzimáticos e fluorescentes. Em princípio, todos os ensaios conhecidos desenvolvidos para anticorpos podem ser adotados para os ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção, considerando que o

10 anticorpo de ligação ao alvo é substituído por um ácido nucleico de ligação ao alvo. Nos ensaios de anticorpos usando anticorpos de ligação a alvos não rotulados, a detecção é preferivelmente feita por um anticorpo secundário, o qual é modificado com rótulos radioativos, enzimáticos e fluorescentes e se liga ao anticorpo de ligação ao alvo em seu fragmento Fc. No caso de um

15 ácido nucleico, preferivelmente um ácido nucleico de acordo com a presente invenção, o ácido nucleico é modificado com tal rótulo, pelo que preferivelmente tal rótulo é selecionado a partir do grupo que compreende biotina, Cy-3 e Cy-5, e tal rótulo é detectado por um anticorpo dirigido contra tal rótulo, por exemplo, um anticorpo antibiotina, um anticorpo anti-Cy3 ou

20 um anticorpo anti-Cy5, ou - no caso que o rótulo é a biotina - o rótulo é detectado por estreptavidina ou avidina, que naturalmente se ligam à biotina. Tal anticorpo, estreptavidina ou avidina, por sua vez, é preferivelmente modificada com um rótulo respectiva, por exemplo, um rótulo radioativo, enzimático ou fluorescente (como um anticorpo secundário).

25 Em uma modalidade adicional, as moléculas de ácidos nucleicos de acordo com a invenção são detectadas ou analisadas por um segundo meio de detecção, onde o dito meio de detecção é um rótulo molecular. A metodologia de rótulo molecular é conhecida para as pessoas versadas na técnica. Em resumo, as sondas de ácidos nucleicos, que são também

30 referidas como rótulos moleculares, são um complemento invertido para a amostra de ácidos nucleicos a ser detectada e hibridizam por causa disto com uma parte da amostra de ácido nucleico a ser detectada. Com a ligação

à amostra de ácido nucléico, os grupos fluorfóricos do rótulo molecular são separados, o que resulta em uma alteração do sinal de fluorescência, preferivelmente uma alteração na intensidade. Esta alteração correlaciona-se com a quantidade de amostra de ácidos nucléicos presente.

- 5                   Será reconhecido que a detecção da MCP-1 usando os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção particularmente permitirá a detecção da MCP-1 como definida neste documento.

Em conexão com a detecção da MCP-1, um método preferido compreende as seguintes etapas:

- (a)               proporcionar uma amostra que é para ser testada quanto à presença de MCP-1,
- b) proporcionar um ácido nucléico de acordo com a presente invenção,
- c) reagir a amostra com o ácido nucléico, preferivelmente em um
- 15   vaso de reação pelo que a etapa (a) pode ser efetuada antes da etapa (b), ou a etapa (b) pode ser efetuada antes da etapa (a).

- Em uma modalidade preferida, proporciona-se uma etapa d) adicional, a qual consiste na detecção da reação da amostra com o ácido nucléico. De preferência, o ácido nucléico da etapa b) é imobilizado a uma
- 20   superfície. A superfície pode ser a superfície de um vaso de reação, tal como um tubo de reação, uma cavidade de uma placa, ou a superfície de um dispositivo contido em tal vaso de reação, tal como, por exemplo, uma conta. A imobilização do ácido nucléico à superfície pode ser feita por
- 25   qualquer meio conhecido para aqueles versados na técnica, incluindo, porém não limitado às ligações não-covalentes ou covalentes. De preferência, a ligação é estabelecida via uma ligação química covalente entre a superfície e o ácido nucléico. Entretanto, está também dentro da presente invenção que o ácido nucléico seja indiretamente imobilizado a uma superfície, pelo que tal imobilização indireta envolve o uso de um
- 30   componente adicional ou um par de pares de interação. Tal componente adicional é preferivelmente um composto que especificamente interage com o ácido nucléico a ser imobilizado, o qual é também referido como par de

interação, e assim media a ligação do ácido nucléico à superfície. O par de interação é preferivelmente selecionado a partir do grupo que compreende ácidos nucléicos, polipeptídeos, proteínas e anticorpos. De preferência, o par de interação é um anticorpo, mais preferivelmente um anticorpo monoclonal.

- 5 Alternativamente, o par de interação é um ácido nucléico, preferivelmente um ácido nucléico funcional. Mais preferivelmente, tal ácido nucléico funcional é selecionado a partir do grupo que compreende aptâmeros, "spiegelmeros", e ácidos nucléicos que sejam pelo menos parcialmente complementares ao ácido nucléico. Em uma modalidade alternativa adicional,
- 10 a ligação do ácido nucléico à superfície é mediada por um par de interação de múltiplas partes. Tal par de interação de múltiplas partes é preferivelmente um par de pares de interação ou um par de interação consistindo em um primeiro membro e um segundo membro, pelo que o primeiro membro é compreendido pelo, ou está unido ao, ácido nucléico e o
- 15 segundo membro está unido à, ou compreendido pela, superfície. O par de interação de múltiplas partes é preferivelmente selecionado a partir do grupo de pares de pares de interação compreendendo a biotina e a avidina, a biotina e a estreptavidina, e a biotina e a neutravidina. De preferência, o primeiro membro do par de pares de interação é a biotina.

- 20 Um resultado preferido de tal método é a formação de um complexo imobilizado de MCP-1 e o ácido nucléico, pelo que mais preferivelmente o dito complexo é detectado. Está dentro de uma modalidade que a MCP-1 é detectada a partir do complexo.

- Um meio de detecção respectivo, o qual está de acordo com esta exigência, é, por exemplo, qualquer meio de detecção que seja
- 25 específico para aquela(s) parte(s) da MCP-1. Um meio de detecção particularmente preferido é um meio de detecção que é selecionado a partir do grupo que compreende ácidos nucléicos, polipeptídeos, proteínas e anticorpos, cuja geração é conhecida para aqueles versados na técnica.

- 30 O método para a detecção da MCP-1 também compreende que a amostra é removida do vaso de reação, o qual tenha preferivelmente sido usado para efetuar a etapa c).

O método compreende, em uma modalidade adicional, também a etapa de imobilizar um par de interação da MCP-1 sobre uma superfície, preferivelmente uma superfície como definida acima, pelo que o par de interação é como definido neste documento, e preferivelmente como acima descrito em conexão com o método respectivo, e mais preferivelmente compreende os ácidos nucleicos, os polipeptídeos, as proteínas e os anticorpos em suas diversas modalidades. Nesta modalidade, um meio de detecção particularmente preferido é um ácido nucleico de acordo com a presente invenção, pelo que tal ácido nucleico pode preferivelmente estar rotulado ou não-rotulado. Caso tal ácido nucleico esteja rotulado, ele pode direta ou indiretamente ser detectado. Tal detecção pode também envolver o uso de um segundo meio de detecção, o qual é, preferivelmente, também selecionado a partir do grupo que compreende os ácidos nucleicos, os polipeptídeos, as proteínas e as modalidades nas diversas modalidades descritas neste documento. Tais meios de detecção são preferivelmente específicos para o ácido nucleico de acordo com a presente invenção. Em uma modalidade mais preferida, o segundo meio de detecção é um rótulo molecular. O ácido nucleico, ou o segundo meio de detecção, ou ambos podem compreender, em uma modalidade preferida, um rótulo de detecção. O rótulo de detecção é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a biotina, um rótulo de bromo-desoxiuridina, um rótulo de digoxigenina, um rótulo de fluorescência, um rótulo de UV, um radiorrótulo, e uma molécula quelante. Alternativamente, o segundo meio de detecção interage com o rótulo de detecção, a qual está preferivelmente contida pelo, é compreendida pelo, ou está unida ao, ácido nucleico. As combinações particularmente preferidas são como se segue:

o rótulo de detecção é a biotina e o segundo meio de detecção é um anticorpo dirigido contra a biotina, ou onde

o rótulo de detecção é a biotina e o segundo meio de detecção é uma avidina ou uma molécula que carrega a avidina, ou onde

o rótulo de detecção é a biotina e o segundo meio de detecção é uma estreptavidina ou uma molécula que carrega a estreptavidina, ou onde

o rótulo de detecção é a biotina e o segundo meio de detecção é uma neutravidina ou uma molécula que carrega a neutravidina, ou

onde o rótulo de detecção é uma bromo-dessoxiuridina e o segundo meio de detecção é um anticorpo dirigido contra a bromo-dessoxiuridina, ou onde

o rótulo de detecção é uma digoxigenina e o segundo meio de detecção é um anticorpo dirigido contra a digoxigenina, ou onde

o rótulo de detecção é um quelante e o segundo meio de detecção é um radionuclídeo, pelo que é preferido que o dito rótulo de detecção seja unido ao ácido nucléico. É para ser reconhecido que este tipo de combinação é também aplicável à modalidade onde o ácido nucléico está unido à superfície. Em tal modalidade, é preferido que o rótulo de detecção seja unido ao par de interação.

Finalmente, está também dentro da presente invenção que o segundo meio de interação é detectado usando um terceiro meio de detecção, preferivelmente o terceiro meio de detecção é uma enzima, mais preferivelmente mostrando uma reação enzimática na detecção do segundo meio de detecção, ou o terceiro meio de detecção é um meio para a detecção de radiação, mais preferivelmente radiação emitida por um radionuclídeo. De preferência, o terceiro meio de detecção está especificamente detectando e/ou interagindo com o segundo meio de detecção.

Também na modalidade com um par de interação da MCP-1 sendo imobilizado sobre uma superfície e o ácido nucléico de acordo com a presente invenção sendo preferivelmente adicionado ao complexo formado entre o par de interação e a MCP-1, a amostra pode ser removida da reação, mais preferivelmente do vaso de reação onde a etapa c) e/ou a d) são efetuadas.

Em uma modalidade, o ácido nucléico de acordo com a presente invenção compreende uma porção de fluorescência e, pela qual, a fluorescência da porção de fluorescência é diferente da formação de complexo entre o ácido nucléico e a MCP-1 e a MCP-1 livre.

Em uma modalidade adicional, o ácido nucléico é um derivado do ácido nucléico de acordo com a presente invenção, pelo que o derivado do ácido nucléico compreende pelo menos um derivado fluorescente de adenosina substituindo a adenosina. Em uma modalidade preferida, o  
5 derivado fluorescente de adenosina é a etenoadenosina.

Em uma modalidade adicional, o complexo consistindo no derivado do ácido nucléico de acordo com a presente invenção e a MCP-1 é detectado usando fluorescência.

Em uma modalidade do método, cria-se um sinal na etapa (c) ou  
10 na etapa (d) e preferivelmente o sinal está correlacionado com a concentração de MCP-1 na amostra.

Em um aspecto preferido, os ensaios podem ser efetuados em placas de 96 cavidades, onde os componentes são imobilizados nos vasos de reação, conforme descrito acima, e as cavidades atuando como vasos de  
15 reação.

Será reconhecido pelos versados na técnica que o que tinha sido dito acima também se aplica à MCP-2, à MCP-3, à MCP-4 e/ou à eotaxina, pelo menos até o ponto em que os ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção estão também se ligando à, ou com a, MCP-2-, MCP-3,  
20 MCP-4 e/ou eotaxina.

O ácido nucléico inventivo pode adicionalmente ser usado como material de partida para o projeto de fármacos. Basicamente, existem duas abordagens possíveis. Uma abordagem é a triagem das bibliotecas de compostos, considerando que tais bibliotecas de compostos são  
25 preferivelmente bibliotecas de compostos de baixos pesos moleculares. Em uma modalidade, a triagem é uma triagem de altos rendimentos. De preferência, a triagem de altos rendimentos é a avaliação rápida, eficiente, de tentativas e erros, dos compostos em um ensaio baseado em alvo. No melhor caso, as análises são conduzidas por uma medição colorimétrica. As  
30 bibliotecas como usadas em conexão com isto são conhecidas para alguém versado na técnica.

Alternativamente, o ácido nucléico de acordo com a presente

invenção pode ser usado para o projeto racional de fármacos. De preferência, o projeto racional de fármacos é o projeto de uma estrutura farmacêutica de exemplo. Começando a partir da estrutura tridimensional do alvo, a qual é tipicamente identificada por métodos tais como a cristalografia de raios X ou a espectroscopia de ressonância magnética nuclear, usam-se programas de computador para buscar banco de dados contendo estruturas de muitos compostos químicos diferentes. A seleção é feita por um computador, os compostos identificados podem subsequente ser testados no laboratório.

10 O projeto racional de fármacos pode iniciar a partir de quaisquer dos ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção e envolve uma estrutura, preferivelmente uma estrutura tridimensional, a qual é similar à estrutura dos ácidos nucleicos inventivos ou idêntica às partes mediadoras de ligação da estrutura dos ácidos nucleicos inventivos. Em qualquer caso, tal estrutura ainda mostra uma característica de ligação igual ou similar aos ácidos nucleicos inventivos. Em uma etapa adicional ou como uma etapa alternativa no projeto racional de fármacos, a estrutura preferivelmente tridimensional destas partes dos ácidos nucleicos que se ligam ao neurotransmissor é imitada por grupos químicos que são diferentes dos nucleotídeos e dos ácidos nucleicos. Por este mimetismo, um composto diferente dos ácidos nucleicos pode ser projetado. Tal composto é preferivelmente uma pequena molécula ou um peptídeo.

No caso da triagem das bibliotecas de compostos, tal como por utilização de um ensaio competitivo, o qual é conhecido para alguém versado na técnica, podem ser encontrados análogos de MCP-1, agonistas de MCP-1 ou antagonistas de MCP-1 apropriados. Tais ensaios competitivos podem ser configurados como se segue. O ácido nucleico inventivo, preferivelmente um "spiegelmero", o qual é um L-ácido nucleico que se liga a um alvo, é acoplado a uma fase sólida. Para identificar os análogos de MCP-1, a MCP-1 rotulada pode ser adicionada ao ensaio. Um análogo potencial competiria com as moléculas de MCP-1 que se ligam ao "spiegelmero", o que acompanharia uma diminuição no sinal obtido pelo rótulo respectivo.



A triagem por agonistas ou antagonistas pode envolver o uso de um ensaio de cultura de células, como conhecido para aqueles versados na técnica.

O kit de acordo com a presente invenção pode compreender pelo menos um ou diversos dos ácidos nucleicos inventivos. Adicionalmente, 5 o kit pode compreender pelo menos um ou diversos controles positivos ou negativos. Um controle positivo pode, por exemplo, ser a MCP-1, particularmente aquela contra a qual o ácido nucleico inventivo é selecionado ou à qual ele se liga, preferivelmente, na forma líquida. Um controle negativo pode, por exemplo, ser um peptídeo, o qual é definido em 10 termos de propriedades biofísicas similares á MCP-1, porém que não é reconhecido pelos ácidos nucleicos inventivos. Além disso, o dito kit pode compreender um ou diversos tampões. Os diversos ingredientes podem estar contidos no kit na forma secada ou liofilizada ou dissolvidos em um líquido. O kit pode compreender um ou diversos recipientes, os quais, por 15 sua vez, contêm um ou diversos ingredientes do kit. Em uma modalidade adicional, o kit compreende uma instrução ou folheto de instrução que fornece ao usuário informação sobre como usar o kit e os seus diversos ingredientes.

A determinação farmacêutica e bioanalítica do ácido nucleico de 20 acordo com a presente invenção é basicamente para a avaliação de seu perfil farmacocinético e biodinâmico em diversas singularidades, tecidos e órgãos do corpo humano e não humano. Para tal propósito, podem ser usados quaisquer dos métodos de detecção descritos neste documento e conhecidos para uma pessoa versada na técnica. Em um aspecto adicional 25 da presente invenção, proporciona-se um ensaio de hibridização em sanduíche para a detecção do ácido nucleico de acordo com a presente invenção. Dentro do ensaio de detecção, usam-se uma sonda de captura e uma sonda de detecção. A sonda de captura é complementar à primeira parte e a sonda de detecção à segunda parte do ácido nucleico de acordo 30 com a presente invenção. Ambas, a sonda de captura e de detecção, podem ser formadas por nucleotídeos de DNA, nucleotídeos de DNA modificados, nucleotídeos de RNA modificados, nucleotídeos de RNA, nucleotídeos de

LNA e/ou nucleotídeos de PNA.

Portanto, a sonda de captura compreende uma extensão de sequência complementar à extremidade de 5' do ácido nucléico de acordo com a presente invenção e a sonda de detecção compreende uma extensão de sequência complementar à extremidade de 3' do ácido nucléico de acordo com a presente invenção. Neste caso, a sonda de captura é imobilizada a uma superfície ou matriz, via sua extremidade de 5', pelo que a sonda de captura pode ser imobilizada diretamente na sua extremidade de 5' ou via um ligante entre a sua extremidade de 5' e a superfície ou matriz. Entretanto, em princípio, o ligante pode ser ligado a cada nucleotídeo da sonda de captura. O ligante pode ser formado por ligantes hidrofílicos de versado na técnica ou por nucleotídeos de D-DNA, nucleotídeos de D-DNA modificados, nucleotídeos de D-RNA, nucleotídeos de D-RNA modificados, nucleotídeos de D-LNA, nucleotídeos de PNA, nucleotídeos de L-RNA, nucleotídeos de L-DNA, nucleotídeos de L-RNA modificados, nucleotídeos de L-DNA modificados e/ou nucleotídeos de L-LNA.

Alternativamente, a sonda de captura compreende uma extensão de sequência complementar à extremidade de 3' do ácido nucléico de acordo com a presente invenção e a sonda de detecção compreende uma extensão de sequência complementar à extremidade de 5' do ácido nucléico de acordo com a presente invenção. Neste caso, a sonda de captura é imobilizada a uma superfície ou matriz, via sua extremidade de 3', pelo que a sonda de captura pode ser imobilizada diretamente na sua extremidade de 3' ou via um ligante entre a sua extremidade de 3' e a superfície ou matriz. Entretanto, em princípio, o ligante pode ser ligado a cada nucleotídeo da extensão de sequência que é complementar ao ácido nucléico de acordo com a presente invenção. O ligante pode ser formado por ligantes hidrofílicos de versado na técnica ou por nucleotídeos de D-DNA, nucleotídeos de D-DNA modificados, nucleotídeos de D-RNA, nucleotídeos de D-RNA modificados, nucleotídeos de D-LNA, nucleotídeos de PNA, nucleotídeos de L-RNA, nucleotídeos de L-DNA, nucleotídeos de L-RNA modificados, nucleotídeos de L-DNA modificados e/ou nucleotídeos de L-LNA.

O número de nucleotídeos da sonda de captura e de detecção que podem hibridizar com o ácido nucléico de acordo com a presente invenção é variável e pode ser dependente do número de nucleotídeos da sonda de captura e/ou da de detecção e/ou do ácido nucléico de acordo com a presente invenção propriamente dito. O número total de nucleotídeos da sonda de captura e da de detecção que podem hibridizar com o ácido nucléico de acordo com a presente invenção deve ser o número máximo de nucleotídeos que é compreendido pelo ácido nucléico de acordo com a presente invenção. O número mínimo de nucleotídeos (2 a 10 nucleotídeos) da sonda de detecção e de captura deve permitir a hibridização com a extremidade de 5' ou a extremidade de 3', respectivamente, do ácido nucléico de acordo com a presente invenção. Para obter especificidade e seletividade altas entre o ácido nucléico de acordo com a presente invenção e os outros ácidos nucléicos que ocorrem nas amostras que são analisadas, o número total de nucleotídeos da sonda de captura e de detecção deve ser o número máximo de nucleotídeos que é compreendido pelo ácido nucléico de acordo com a presente invenção.

Além disso, a sonda de detecção preferivelmente carrega uma molécula de marcador ou rótulo que pode ser detectado conforme anteriormente descrito neste documento. O rótulo ou a molécula de marcador pode, em princípio, ser ligada a cada nucleotídeo da sonda de detecção. De preferência, o rótulo ou o marcador está localizado na extremidade de 5' ou na extremidade de 3' da sonda de detecção, pelo que pode ser inserido um ligante entre os nucleotídeos dentro da sonda de detecção que são complementares ao ácido nucléico de acordo com a presente invenção, e o rótulo. O ligante pode ser formado por ligantes hidrofílicos de versados na técnica ou por nucleotídeos de D-DNA, nucleotídeos de D-DNA modificados, nucleotídeos de D-RNA, nucleotídeos de D-RNA modificados, nucleotídeos de D-LNA, nucleotídeos de PNA, nucleotídeos de L-RNA, nucleotídeos de L-DNA, nucleotídeos de L-RNA modificados, nucleotídeos de L-DNA modificados e/ou nucleotídeos de L-LNA.

A detecção do ácido nucléico de acordo com a presente

invenção pode ser realizada como se segue: O ácido nucléico de acordo com a presente invenção hibridiza, com uma de suas extremidades, com a sonda de captura e, com a outra extremidade, com a sonda de detecção. Depois, a sonda de detecção não-ligada é removida, por exemplo, através

5 de uma ou diversas etapas de lavagem. A quantidade de sonda de detecção ligada que preferivelmente carrega um rótulo ou molécula de marcador pode ser medida subsequente.

Conforme preferivelmente usado neste documento, o termo tratamento compreende, em uma modalidade preferida, adicional ou

10 alternativamente, a prevenção e/ou o acompanhamento.

Conforme preferivelmente usados aqui, os termos doença e distúrbio serão usados em um modo intercambiável, se não indicado ao contrário.

Conforme usado aqui, o termo compreender é preferivelmente

15 não pretendido para limitar o assunto seguido ou descrito por tal termo. Entretanto, em uma modalidade alternativa, o termo compreender será entendido no significado de conter e, desse modo, como limitando o assunto seguido ou descrito por tal termo.

As diversas SEQ.ID. Nos, a natureza química das moléculas de

20 ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção e das moléculas-alvo MCP-1 como usadas neste documento, a sua sequência real e o número de referência interna são resumidos na tabela a seguir.

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Sequência                                                                                                                                 | Referência Interna                                                             |
|---------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | L-Proteína | QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKE<br>AVIFKTIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQTQTPKT                                                          | MCP-1 humana,<br>huMCP-1, CCL2                                                 |
| 2       | L-proteína | QPDVAVNAPLTCCYSFTSKMIPMSRLESYKRITSSRCPKE<br>AVVFVTKLKREVCADPKKEWVQTYIKNLDRNQMRSEPT<br>TLFKTASALRSSAPLNVKLTRKSEANASTTFSTTSSTSV<br>GVTSVTVN | MCP-1 de<br>camundongo,<br>mCCL2, mMCP-1,<br>MCP-1 de murino<br>(Mus musculus) |
| 3       | L-proteína | QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKE<br>AVIFKTIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQIQTPKP                                                          | MCP-1 de<br>macaco(Macaca                                                      |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                                                                                    | Referência Interna                            |
|---------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|         |            |                                                                                                              | mulatta)                                      |
| 4       | L-proteína | QPDAINSPVTCCYTLTSKKISMQRMSYRRVTSSKCPKE<br>AVIFKTIAGKEICAEPKQKWVQDSISHLDKKNQTPKP                              | Nox-1 de porco<br>(Sus scrofa)                |
| 5       | L-proteína | QPDAIISPVTCCYTLTNKKISIQRLASYKRVTSKCPKEAV<br>IFKTVLNKEICADPKQKWVQDSMAHLDKKSQTQTA                              | MCP-1 de cão<br>(Canis familiaris)            |
| 6       | L-proteína | QPDVNSPVTCCYFTNTKISVKRLMSYRRINSTKCPKE<br>AVIFMTKLAKGICADPKQKWVQDAIANLDKKMQTPKTLT<br>SYSTTQEHTTNLSSTRTPSTTTSL | MCP-1 de coelho<br>(Oryctolagus<br>cuniculus) |
| 7       | L-proteína | QPVGINTSTCCYRFINKKIPKQRLESYRRITSSHCPRE<br>AVIFKTKLDKEICADPTQKWVQDFMKHLDKKTQTPKL                              | MCP-3 humana,<br>CCL7, huMCP-3                |
| 8       | L-proteína | GPASVPTTCCFNLANRKIPLQRLESYRRITSGKCPQKAVI<br>FKTKLAKDICADPKKKWVQDSMKYLDQKSPTPKP                               | eotaxina<br>humana/CCL11                      |
| 9       | L-proteína | QPDSVSIPITCCFNVINRKIPIQRLESYTRITNIQCPKEAVIF<br>KTKRGKEVCADPKERWVRDSMKHLDQIFQNLKP                             | MCP-2 humana,<br>CCL8, huMCP-2                |
| 10      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGACGCGACCUGC<br>AAUAAUGCACGCU                                                          | 169-B1trc                                     |
| 11      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGACGCGACCUGC<br>AAUUGCACGCU                                                            | 169-F3trc                                     |
| 12      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGACGCGACCUGU<br>AAUAAUGCACGCU                                                          | 169-C1trc                                     |
| 13      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGACGCGACCUGC<br>AAUAAUGCACGCU                                                          | 169-A3trc                                     |
| 14      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUAGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AAUAAUGCACGCU                                                          | 169-B2trc                                     |
| 15      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGUAGGGGGGCGCGAUCUAC<br>AAUUGCACGCU                                                            | 176-B12trc                                    |
| 16      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGACAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AUUUGCACGCU                                                            | 176-D9trc                                     |
| 17      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGU<br>AUUUGCACGCU                                                            | 176-B10trc                                    |
| 18      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGC                                                                           | 169-F2trc                                     |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                         | Referência Interna |
|---------|------------|---------------------------------------------------|--------------------|
|         |            | AAUAAUGCACGCU                                     |                    |
| 19      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AAUUGCACGCU | 176-B9trc          |
| 20      | L-RNA      | AGCAUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AUUUGCAUGCU | 176-H9trc          |
| 21      | L-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGUAGGGGGGCGCGACCUAC<br>AUUUGCACGCU | 176-E10trc         |
| 22      | L-RNA      | AGUGUGCCAGCUGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAU<br>UUUACACACU  | 176-G9trc          |
| 23      | L-RNA      | AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACACACU   | 176-F9trc          |
| 24      | L-RNA      | AGUGUGCGAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACAUACU   | 176-C11trc         |
| 25      | L-RNA      | AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACAUACU   | 176-E11trc         |
| 26      | L-RNA      | AGUAUGCCAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUUU<br>ACAUACU    | 176-D10trc         |
| 27      | L-RNA      | AGUGUGCCAGUGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACACACU   | 176-H10trc         |
| 28      | L-RNA      | AGCGUGCCAGUGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACACGCU   | 176-C9trc          |
| 29      | L-RNA      | ACGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGG<br>CUCUGCGU   | 180-B1-001         |
| 30      | L-RNA      | ACGCACCUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGG<br>CUCUGCGC   | 180-A4-002         |
| 31      | L-RNA      | ACGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGG<br>CUCUGCGU   | 180-D1-002         |
| 32      | L-RNA      | GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCGU     | 180-D1-011         |
| 33      | L-RNA      | ACGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGG<br>CUCUGC     | 180-D1-012         |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                              | Referência Interna      |
|---------|------------|--------------------------------------------------------|-------------------------|
| 34      | L-RNA      | GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGC            | 180-D1-018              |
| 35      | L-RNA      | CGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGC<br>UCUGCGU         | 180-D1-034              |
| 36      | L-RNA      | CGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGC<br>UCUGCG          | 180-D1-035              |
| 37      | L-RNA      | GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCG           | 180-D1-036 =<br>NOX-E36 |
| 38      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUGAACAGCCG<br>AAUGCUGGCAGCAC    | 178-A8                  |
| 39      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUGAACAGCCU<br>AAUGCUGGCAGCAC    | 178-F7                  |
| 40      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUGAACAGCCG<br>AAUGCUGGCAGCAC    | 178-G7                  |
| 41      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAAAAACUACUGCCAGUGGGUCA<br>GAGCUAGCAGCAC   | 178-C6                  |
| 42      | L-RNA      | GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | 178-E7                  |
| 43      | L-RNA      | GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | 178-G6                  |
| 44      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUGAACAGCCUA<br>AUGCUGGCAGCAC    | 178-A7                  |
| 45      | L-RNA      | GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | 178-C7                  |
| 46      | L-RNA      | GUGCUGCGGCGUGAAAAACGCCCUGCGACUGCCCU<br>UUAUGCAGGCAGCAC | 178-E5                  |
| 47      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAAAAACUACCAACGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC   | 181-F1                  |
| 48      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAAAGACUACCUGUGACAGCCGA<br>AUGCUGGCAGCAC   | 181-B2                  |
| 49      | L-RNA      | GUACUGCGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAG                   | 181-C2                  |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Sequência                                             | Referência Interna |
|---------|------------|-------------------------------------------------------|--------------------|
|         |            | AGCCGGCAGCAC                                          |                    |
| 50      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC  | 178-A6             |
| 51      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACAGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC  | 178-D6             |
| 52      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC  | 178-D5             |
| 53      | L-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC | 181-A2             |
| 54      | L-RNA      | GGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACUGGCUAG<br>AGCCGGCAGCC    | 178-D5-020         |
| 55      | L-RNA      | GGCGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACUGGCUAGA<br>GCCGGCGCC      | 178-D5-027         |
| 56      | L-RNA      | GUGCGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACUGGCUAG<br>AGCCGGCGCAC    | 178-D5-030         |
| 57      | L-RNA      | GUGCGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAG<br>AGCCGGCGCAC   | 181-A2-002         |
| 58      | L-RNA      | GUGCCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGGCAC     | 181-A2-004         |
| 59      | L-RNA      | GUGGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCCAC     | 181-A2-005         |
| 60      | L-RNA      | GU'CGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCGAC    | 181-A2-006         |
| 61      | L-RNA      | UGCGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCGCA     | 181-A2-007         |
| 62      | L-RNA      | GCUGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCAGC     | 181-A2-008         |
| 63      | L-RNA      | GCUGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCAGC     | 181-A2-011         |
| 64      | L-RNA      | GGUGCGUAGUGAGAAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCACC     | 181-A2-012         |



| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                       | Referência Interna |
|---------|------------|-------------------------------------------------|--------------------|
| 65      | L-RNA      | UGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGC—CA | 181-A2-015         |
| 66      | L-RNA      | GCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCGC  | 181-A2-016         |
| 67      | L-RNA      | GUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCAC  | 181-A2-017         |
| 68      | L-RNA      | GGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCCC  | 181-A2-018         |
| 69      | L-RNA      | GAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCUC  | 181-A2-019         |
| 70      | L-RNA      | CGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCCG  | 181-A2-020         |
| 71      | L-RNA      | CCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCGG  | 181-A2-021         |
| 72      | L-RNA      | CAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCUG  | 181-A2-022         |
| 73      | L-RNA      | CUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCAG  | 181-A2-023         |
| 74      | L-RNA      | AGCGUGUUAGUGAAGUGGGUGGCAGGUAAAGGACA<br>CGCU     | 184-B8trc          |
| 75      | L-RNA      | AGCGUGGUAGCGGUGUGGGUGGUAGGUAAAGGCC<br>ACGCU     | 184-C6trc          |
| 76      | L-RNA      | AGCGUGAUAGAAGAGCGGGUGGUAGGUAAAGGUCA<br>GGCU     | 184-H5trc          |
| 77      | L-RNA      | AGCGUGUUAGGUAGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACA<br>CGCU     | 184-A7trc          |
| 78      | L-RNA      | AGCGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACAC<br>GCU      | 187-A5trc          |
| 79      | L-RNA      | AGCGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCAC<br>GCU      | 187-H5trc          |
| 80      | L-RNA      | CCGCUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCGG               | 174-D4-004         |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                                | Referência Interna |
|---------|------------|----------------------------------------------------------|--------------------|
| 81      | L-RNA      | GCGCGAGCAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAGACUCG<br>CGUC              | 166-A4-002         |
| 82      | L-RNA      | CGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACACG                       | 187-A5trc-001      |
| 83      | L-RNA      | GUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACAC                         | 187-A5trc-002      |
| 84      | L-RNA      | CGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCACG                       | 187-H5trc-002      |
| 85      | L-RNA      | GUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCAC                         | 187-H5trc-003      |
| 86      | L-RNA      | UGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCA                           | 187-H5trc-004      |
| 87      | L-RNA      | GGACGAGAGUGACAAAUGAUUAACCUCUGACUAA<br>CGCUGCGGGCGACAGG   | 177-B3             |
| 88      | L-RNA      | GGACCUAUCGCUAAGACAACGCGCAGUCUACGGGA<br>CAUUCUCCGCGGACAGG | 177-C1             |
| 89      | L-RNA      | GGACAAUUGUUACCCCCGAGAGAGACAAAUGAGACA<br>ACCUCCUGAAGACAGG | 177-C2             |
| 90      | L-RNA      | GGACGAAAGUGAGAAAUGAUACAACCUCUGUUGCU<br>GCGAAUCCGGACAGG   | 177-E3             |
| 91      | L-RNA      | GGACGUAAAAGACGCUACCCGAAAGAAUGUCAGGAG<br>GGUAGACCGACAGG   | 177-D1             |
| 92      | L-RNA      | GGACUAGAAACUACAAUAGCGGCCAGUUGCACCGC<br>GUUAUCAACGACAGG   | 177-E1             |
| 93      | L-RNA      | GGACUAGUCAGCCAGUGUGUAUAUCGGACGCGGGU<br>UUAUUUACUGACAGG   | 177-A1             |
| 94      | L-RNA      | GGACUGUCCGAGUGUGAAACUCCCCGAGACCGCC<br>AGAAGCGGGGACAGG    | 177-G3             |
| 95      | L-RNA      | GGACUUCUAUCCAGGUGGGUGGUAGUAUGUAAAGA<br>GAUAGAAGUGACAGG   | 177-C3             |
| 96      | L-RNA      | GGACGAGAGCGAACAAUGAUUAACCUCUGACGGA<br>AAGAGAUCCGACAGG    | 177-A2             |
| 97      | L-RNA      | CCUGUGCUACACGCAGUAAGAAGUGAACGUUCAGU<br>AUGUGUGCACAGG     | 170-E4trc          |
| 98      | L-RNA      | CGUGAGCCAGGCACCGAGGGCGUUAACUGGCUGAU<br>UGGACACGACAGG     | 166-D2trc          |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                             | Referência Interna |
|---------|------------|-------------------------------------------------------|--------------------|
| 99      | L-RNA      | CGUGAACAUCAAGCUAAGCGGGGCUGUUGGUUGC<br>UUGGCCCCGCCACG  | 174-A2trc          |
| 100     | L-RNA      | CGUGCAGAGAGAGACCAACCACGUAAAAUCAACCUA<br>AUGGGCCGCACG  | 174-E2trc          |
| 101     | L-RNA      | CGUGCAGAGAGAGACCAACCACGUAAAAUCAACCUA<br>AUGGGCCGCACG  | 183-G3trc          |
| 102     | L-RNA      | CGUGAACAUUCAAGCUAAGCGGGGCUGUUGGUUGC<br>UUGGCCCCGCCACG | 183-B2trc          |
| 103     | L-RNA      | CGUGCCGAGGCGGCGACCAGCGUUACUUAGAGAGG<br>CUUUGGCACCACG  | 166-B2trc          |
| 104     | L-RNA      | CGUGAUAAACAGCCGUCGGUCAAGAAAACAAAGUUCG<br>GGCGGCCGCACG | 166-G3trc          |
| 105     | L-RNA      | CGUGGGUGGCGCACCGAGGGCGAAAAGCCACCAGU<br>AAAGAUAGACCG   | 166-D1trc          |
| 106     | L-RNA      | CGUGUGAUCUCCUUUGGGGUGAUUAGCUUAGAGAC<br>UUCCCCACACG    | 183-H2trc          |
| 107     | L-RNA      | GCACCUUCGCCUAAUACACGUGCCGGCUAGCUAAU<br>ACUCGUCCGC     | 167-A7trc          |
| 108     | L-RNA      | GCACGACUUGGGCGACCAGUGAUACUUAGAGAGCA<br>AGUCGUCCGC     | 167-C7trc          |
| 109     | L-RNA      | GCGCGCGCUCAGUAAGAAAUUGAAAGUUCAGAAUG<br>UCGUCGCGC      | 167-B5trc          |
| 110     | L-RNA      | AGUGUGUGGCAGGCUAAGGAGAUUUCGAGACCA<br>CGCU             | 184-D7trc          |
| 111     | L-RNA      | AGUGUGUGGCAGACUAUGGAUAGACUCCGAGACCA<br>CGCU           | 184-D6trc          |
| 112     | L-RNA      | AGCGUGAGGCGACCAGCGGAUUACUUAGAGAGUCA<br>CGCU           | 184-E5trc          |
| 113     | L-RNA      | AGCGUGAAGGGGACCAGCGUUACUUACAGAGUUCA<br>CGCU           | 184-G6trc          |
| 114     | L-RNA      | AGCGUGUGAUGUAUGUAGCACCGUAUCAGAGGACA                   | 184-B7trc          |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                                      | Referência Interna       |
|---------|------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------|
|         |            | CGCU                                                           |                          |
| 115     | L-RNA      | AGCGUGAGGCGACCCGUGUUUCGUAGAGAGUCACG<br>CU                      | 184-B6trc                |
| 116     | L-RNA      | 5'PEG-<br>GCACGUCCCUCACCGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCG          | NOX-E36-5'PEG            |
| 117     | L-RNA      | GCACGUCCCUCACCGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCG-3'PEG              | NOX-E36-3'PEG            |
| 118     | L-RNA      | GAGAUGGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCC<br>CUUUGAUGAAUCCGCGGCCAUUC | 188-A3-001               |
| 119     | L-RNA      | GAUGGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCU<br>UUGAUGAAUCCGCGGCCAUUC   | 188-A3-004               |
| 120     | L-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCAUUC      | 188-A3-005               |
| 121     | L-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCAUU       | 188-A3-006               |
| 122     | L-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCA         | 188-A3-007 =<br>mNOX-E36 |
| 123     | L-RNA      | GCUGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>UGGUUGUCACCAGC           | 189-G7-001               |
| 124     | L-RNA      | CUGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>GGUUGUCACCAG              | 189-G7-002               |
| 125     | L-RNA      | UGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUG<br>GUUGUCACCA               | 189-G7-003               |
| 126     | L-RNA      | GCCGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>UGGUUGUCACCGGC           | 189-G7-007               |
| 127     | L-RNA      | GCCGGCUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>UGGUUGUCGCCGGC           | 189-G7-008               |
| 128     | L-RNA      | GCGCGUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>GGUUGUCCGCGC              | 189-G7-010               |
| 129     | L-RNA      | GGGCCUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU                              | 189-G7-012               |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                                                                                 | Referência Interna                      |
|---------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|         |            | GGUUGUCGGCCC                                                                                              |                                         |
| 130     | D-proteína | Biotina-<br>QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKE<br>AVIFKTIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQTQTPKT              | D-MCP-1 humana<br>biotinilada           |
| 131     | D-proteína | Biotina-<br>QPDVAVNAPLTCCYSFTSKMIPMSRLESYKRITSSRCPKE<br>AVVFVTKLKREVCADPKKEWVQTYIKNLDRNQMRSEP-<br>Biotina | D-MCP-1 de<br>camundongo<br>biotinilada |
| 132     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGACGCGACCUGC<br>AAUAAUGCACGCU                                                       | 169-B1trc                               |
| 133     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGACGCGACCUGC<br>AAUUGCACGCU                                                         | 169-F3trc                               |
| 134     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGACGCGACCUGU<br>AAUAAUGCACGCU                                                       | 169-C1trc                               |
| 135     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGACGCGACCUGC<br>AAUAAUGCGCGCU                                                       | 169-A3trc                               |
| 136     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUAGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AAUAAUGCACGCU                                                       | 169-B2trc                               |
| 137     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGUAGGGGGGCGCGAUCUAC<br>AAUUGCACGCU                                                         | 176-B12trc                              |
| 138     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGACAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AUUUGCACGCU                                                         | 176-D9trc                               |
| 139     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGU<br>AUUUGCACGCU                                                         | 176-B10trc                              |
| 140     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGAGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AAUAAUGCACGCU                                                       | 169-F2trc                               |
| 141     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AAUUGCACGCU                                                         | 176-B9trc                               |
| 142     | D-RNA      | AGCAUGCCCGGUGUGGCAGGGGGGCGCGACCUGC<br>AUUUGCAUGCU                                                         | 176-H9trc                               |
| 143     | D-RNA      | AGCGUGCCCGGUGUGGUAGGGGGGCGCGACCUAC                                                                        | 176-E10trc                              |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                        | Referência Interna |
|---------|------------|--------------------------------------------------|--------------------|
|         |            | AUUUGCACGCU                                      |                    |
| 144     | D-RNA      | AGUGUGCCAGCUGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAU<br>UUUACACACU | 176-G9trc          |
| 145     | D-RNA      | AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACACACU  | 176-F9trc          |
| 146     | D-RNA      | AGUGUGCGAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACAUACU  | 176-C11trc         |
| 147     | D-RNA      | AGUGUGCCAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACAUACU  | 176-E11trc         |
| 148     | D-RNA      | AGUAUGCCAGCGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUUU<br>ACAUACU   | 176-D10trc         |
| 149     | D-RNA      | AGUGUGCCAGUGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACACACU  | 176-H10trc         |
| 150     | D-RNA      | AGCGUGCCAGUGUGAUGGGGGGGCGCGACCCAUU<br>UUACACGCU  | 176-C9trc          |
| 151     | D-RNA      | ACGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGG<br>CUCUGCGU  | 180-B1-001         |
| 152     | D-RNA      | ACGCACCUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGG<br>CUCUGCGC  | 180-A4-002         |
| 153     | D-RNA      | ACGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGG<br>CUCUGCGU  | 180-D1-002         |
| 154     | D-RNA      | GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCGU    | 180-D1-011         |
| 155     | D-RNA      | ACGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGG<br>CUCUGC    | -D1-012            |
| 156     | D-RNA      | GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGC      | -D1-018            |
| 157     | D-RNA      | CGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGC<br>UCUGCGU   | -D1-034            |
| 158     | D-RNA      | CGCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGC<br>UCUGCG    | -D1-035            |

| Seq.-ID | A/Peptideo | Seqüência                                              | Referência Interna          |
|---------|------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 159     | D-RNA      | GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCG           | 180-D1-036, (D-<br>)NOX-E36 |
| 160     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCG<br>AAUGCUGGCAGCAC  | -A8                         |
| 161     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCU<br>AAUGCUGGCAGCAC  | -F7                         |
| 162     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAAUGACAGCCG<br>AAUGCUGGCAGCAC  | -G7                         |
| 163     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAAAAACUACUGCCAGUGGGUCA<br>GAGCUAGCAGCAC   | -C6                         |
| 164     | D-RNA      | GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | -E7                         |
| 165     | D-RNA      | GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | -G6                         |
| 166     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGGAAGACUACCUAUGACAGCCUA<br>AUGCUGGCAGCAC   | -A7                         |
| 167     | D-RNA      | GUGCUGCGGAGUUAAAAACUCCCUAAGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | -C7                         |
| 168     | D-RNA      | GUGCUGCGGCGUGAAAAACGCCCUGCGACUGCCCU<br>UUAUGCAGGCAGCAC | -E5                         |
| 169     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAAAAACUACCAACGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC   | -F1                         |
| 170     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAAAGACUACCUUGACAGCCGA<br>AUGCUGGCAGCAC    | -B2                         |
| 171     | D-RNA      | GUACUGCGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUAG<br>AGCCGGCAGCAC   | -C2                         |
| 172     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAACGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC   | -A6                         |
| 173     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACAGGCCA<br>GAGCCGGCAGCAC   | -D6                         |
| 174     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAAAAACUACCAGCGACUGGCUA                    | 178-D5                      |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                            | Referência Interna |
|---------|------------|------------------------------------------------------|--------------------|
|         |            | GAGCCGGCAGCAC                                        |                    |
| 175     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUA<br>GAGCCGGCAGCAC | 181-A2             |
| 176     | D-RNA      | GGCUGCGUAGUUAACAAACUACCAGCGACUGGCUAG<br>AGCCGGCAGCC  | 178-D5-020         |
| 177     | D-RNA      | GGCGCGUAGUUAACAAACUACCAGCGACUGGCUAGA<br>GCCGGCGCC    | 178-D5-027         |
| 178     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUUAACAAACUACCAGCGACUGGCUAG<br>AGCCGGCGCAC | 178-D5-030         |
| 179     | D-RNA      | GUGCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAG<br>AGCCGGCGCAC  | 181-A2-002         |
| 180     | D-RNA      | GUGCCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGGCAC     | 181-A2-004         |
| 181     | D-RNA      | GUGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCCAC     | 181-A2-005         |
| 182     | D-RNA      | GUGCUGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCGAC     | 181-A2-006         |
| 183     | D-RNA      | UGCUGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCGCA      | 181-A2-007         |
| 184     | D-RNA      | GCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCAGC     | 181-A2-008         |
| 185     | D-RNA      | GCUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCAGC     | 181-A2-011         |
| 186     | D-RNA      | GGUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGA<br>GCCGGCACC     | 181-A2-012         |
| 187     | D-RNA      | UGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCCA       | 181-A2-015         |
| 188     | D-RNA      | GCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCGC       | 181-A2-016         |
| 189     | D-RNA      | GUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCAC       | 181-A2-017         |



| Seq.-ID | V/Peptídeo | Seqüência                                      | Referência Interna |
|---------|------------|------------------------------------------------|--------------------|
| 190     | D-RNA      | GGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCCC | 181-A2-018         |
| 191     | D-RNA      | GAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCUC | 181-A2-019         |
| 192     | D-RNA      | CGGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCCG | 181-A2-020         |
| 193     | D-RNA      | CCGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCGG | -A2-021            |
| 194     | D-RNA      | CAGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCUG | -A2-022            |
| 195     | D-RNA      | CUGCGUAGUGAGAAACUACCAACGACUGGCUAGAG<br>CCGGCAG | -A2-023            |
| 196     | D-RNA      | AGCGUGUUAGUGAAGUGGGUGGCAGGUAAAGGACA<br>CGCU    | -B8trc             |
| 197     | D-RNA      | AGCGUGGUAGCGGUGUGGGUGGUAGGUAAAGGCC<br>ACGCU    | -C6trc             |
| 198     | D-RNA      | AGCGUGAUAGAAGAGCGGGUGGUAGGUAAAGGUCA<br>GGCU    | -H5trc             |
| 199     | D-RNA      | AGCGUGUUAGGUAGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACA<br>CGCU    | -A7trc             |
| 200     | D-RNA      | AGCGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACAC<br>GCU     | -A5trc             |
| 201     | D-RNA      | AGCGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCAC<br>GCU     | -H5trc             |
| 202     | D-RNA      | CCGCUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGGCGG             | -D4-004            |
| 203     | D-RNA      | GCGCGAGCAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAGACUCG<br>CGUC    | -A4-002            |
| 204     | D-RNA      | CGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACACG             | -A5trc-001         |
| 205     | D-RNA      | GUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGACAC               | -A5trc-002         |
| 206     | D-RNA      | CGUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCACG             | -H5trc-002         |
| 207     | D-RNA      | GUGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCAC               | -H5trc-003         |

| Seq.-ID | V/Peptídeo | Sequência                                                 | Referência Interna |
|---------|------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| 208     | D-RNA      | UGUUAGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAGGGCA                            | -H5trc-004         |
| 209     | D-RNA      | GGACGAGAGUGACAAAUGAUUAUAACCUCCUGACUAA<br>CGCUGCGGGCGACAGG | -B3                |
| 210     | D-RNA      | GGACCUAUCGCUAAGACAACGCGCAGUCUACGGGA<br>CAUUCUCCGCGGACAGG  | -C1                |
| 211     | D-RNA      | GGACAAUUGUUACCCCCGAGAGAGACAAAUGAGACA<br>ACCUCCUGAAGACAGG  | -C2                |
| 212     | D-RNA      | GGACGAAAGUGAGAAAUGAUACAACCUCCUGUUGCU<br>GCGAAUCCGGACAGG   | -E3                |
| 213     | D-RNA      | GGACGUAAAAGACGCUACCCGAAAGAAUGUCAGGAG<br>GGUAGACCGACAGG    | 177-D1             |
| 214     | D-RNA      | GGACUAGAAACUACAAUAGCGGCCAGUUGCACCGC<br>GUUAUCAACGACAGG    | 177-E1             |
| 215     | D-RNA      | GGACUAGUCAGCCAGUGUGUAUAUCGGACGCGGGU<br>UUAUUUACUGACAGG    | 177-A1             |
| 216     | D-RNA      | GGACUGUCCGGAGUGUGAAACUCCCCGAGACCGCC<br>AGAAGCGGGGACAGG    | 177-G3             |
| 217     | D-RNA      | GGACUUCUAUCCAGGUGGGUGGUAGUAUGUAAAGA<br>GAUAGAAGUGACAGG    | 177-C3             |
| 218     | D-RNA      | GGACGAGAGCGAACAUGAUUAUAACCUCCUGACGGA<br>AAGAGAU CGACAGG   | 177-A2             |
| 219     | D-RNA      | CCUGUGCUACACGCAGUAAGAAGUGAACGUUCAGU<br>AUGUGUGCACAGG      | 170-E4trc          |
| 220     | D-RNA      | CGUGAGCCAGGCACCGAGGGCGUUAACUGGCUGAU<br>UGGACACGACACG      | 166-D2trc          |
| 221     | D-RNA      | CGUGAACAUGCAAGCUAAGCGGGGCUGUUGGUUGC<br>UUGGCCCCGCCACG     | 174-A2trc          |
| 222     | D-RNA      | CGUGCAGAGAGAGACCAACCACGUAAAAUCAACCUA<br>AUGGGCCGCACG      | 174-E2trc          |
| 223     | D-RNA      | CGUGCAGAGAGAGACCAACCACGUAAAAUCAACCUA<br>AUGGGCCGCACG      | 183-G3trc          |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                              | Referência Interna |
|---------|------------|--------------------------------------------------------|--------------------|
| 224     | D-RNA      | CGUGAACAUUCAAGCUAAGCGGGGCUGUUGGUUGC<br>UUGGCCCCGCCACG  | 183-B2trc          |
| 225     | D-RNA      | CGUGCCGAGGCGGCGACCAGCGUUACUUAGAGAGG<br>CUUUGGCACCACG   | 166-B2trc          |
| 226     | D-RNA      | CGUGAUAAACAGCCGUCGGUCAAGAAAACAAAGUUCG<br>GGCGGCGCACG   | 166-G3trc          |
| 227     | D-RNA      | CGUGGGUGGCGCACCGAGGGCGAAAAGCCACCAGU<br>AAAGAUAGACCG    | 166-D1trc          |
| 228     | D-RNA      | CGUGUGAUCUCCUUUGGGUGAUUAGCUUAGAGAC<br>UUCCCACACG       | 183-H2trc          |
| 229     | D-RNA      | GCACCUUCGCCUAAUACACGUGCCGGCUAGCUAAU<br>ACUCGUCCGC      | 167-A7trc          |
| 230     | D-RNA      | GCACGACUUGGGCGACCAGUGAUACUUAGAGAGCA<br>AGUCGUCGGC      | 167-C7trc          |
| 231     | D-RNA      | GCGCGCGCUCAGUAAGAAAUUGAAAGUUCAGAAUG<br>UCGUCGCGC       | 167-B5trc          |
| 232     | D-RNA      | AGUGUGUGGCAGGCUAAGGAGAUUUUCCGAGACCA<br>CGCU            | 184-D7trc          |
| 233     | D-RNA      | AGUGUGUGGCAGACUAUGGAUAGACUCCGAGACCA<br>CGCU            | -D6trc             |
| 234     | D-RNA      | AGCGUGAGGCGACCAGCGGAUUACUUAGAGAGUCA<br>CGCU            | -E5trc             |
| 235     | D-RNA      | AGCGUGAAGGGGACCAGCGUUACUUACAGAGUUCA<br>CGCU            | -G6trc             |
| 236     | D-RNA      | AGCGUGUGAUGUAUGUAGCACCGUAUCAGAGGACA<br>CGCU            | -B7trc             |
| 237     | D-RNA      | AGCGUGAGGCGACCCGUGUUUCGUAGAGAGUCACG<br>CU              | -B6trc             |
| 238     | D-RNA      | 5'PEG-<br>GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCG | X-E36-5'PEG        |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                                                      | Referência Interna            |
|---------|------------|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| 239     | D-RNA      | GCACGUCCCCUACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCU<br>CUGCG-3'PEG                             | X-E36-3'PEG                   |
| 240     | D-RNA      | GAGAUGGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCC<br>CUUUGAUGAAUCCGCGGCCAUUC                 | -A3-001                       |
| 241     | D-RNA      | GAUGGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCCU<br>UUGAUGAAUCCGCGGCCAUUC                  | -A3-004                       |
| 242     | D-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCAUUC                     | -A3-005                       |
| 243     | D-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCAUU                      | -A3-006                       |
| 244     | D-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCA                        | 188-A3-007 = (D-)<br>mNOX-E36 |
| 245     | D-RNA      | GCUGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>UGGUUGUCACCAGC                           | -G7-001                       |
| 246     | D-RNA      | CUGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUU<br>GGUUGUCACCAG                             | -G7-002                       |
| 247     | D-RNA      | UGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUUG<br>GUUGUCACCA                               | -G7-003                       |
| 248     | D-RNA      | GCCGGUUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>UGGUUGUCACCGGC                           | -G7-007                       |
| 249     | D-RNA      | GCCGGCUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGU<br>UGGUUGUCGCCGGC                           | -G7-008                       |
| 250     | D-RNA      | GCGCGUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUU<br>GGUUGUCCGCGC                             | -G7-010                       |
| 251     | D-RNA      | GGGCCUACCGAGGGGGCGUCGUUGGAGUUUGGUU<br>GGUUGUCGGCCC                             | -G7-012                       |
| 252     | L-Proteína | QPDVNAPLTCCYSFTGKMIPMSRLENYKRITSSRCPK<br>AVVFVTKLKREICADPNKEWVQKYIRKLDQNQVRSET | P-1 de rato                   |
| 253     | L-RNA      | 5'PEG-<br>GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCA              | mNOX-E36-<br>5'PEG            |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                                                                  | Referência Interna                  |
|---------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 254     | L-RNA      | GGCGACAUUGGUUGGGCAUGAGGCGAGGCCCUUU<br>GAUGAAUCCGCGGCCA-3'PEG                               | mNOX-E36-<br>3'PEG                  |
| 255     | L-DNA      | 5'-GAGGGACGTGC-(Espaçador18)2-NH4+ -3'                                                     | NOX-E36 Sonda<br>de captura         |
| 256     | L-DNA      | 5'- Biotina-(Espaçador18)2-CGCAGAGCC                                                       | NOX-E36 Sonda<br>de detecção (-ion) |
| 257     | L-Proteína | KSMQVPFSRCCFSFAEQEIPLRAILCYRNTSSICSNEGLI<br>FKLKRKKEACALDTVGWVQRHRKMLRHCPKSRK              | CCL1/I-309                          |
| 258     | L-Proteína | SLAADTPTACCFYSYTSRQIPQNFIADYFETSSQCSKPGVI<br>FLTKRSRQVCADPSEEWVQKYVSDLELSA                 | CCL3/MIP-1α                         |
| 259     | L-Proteína | APMGSDPPTACCFYSYARKLPRNFVVDYYETSSLCSQP<br>AVVFQTKRSKQVCADPSESWWQEYVYDLELN                  | CCL4/MIP-1β                         |
| 260     | L-Proteína | SPYSSDTTPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAV<br>VFVTRKNRQVCANPEKKWVREYINSLEMS                   | CCL5/RANTES                         |
| 261     | L-Proteína | FN PQGLAQPDALNPSTCCFTFSSKKISLQRLKSYVITTS<br>RCPQKAVIFRTKLGKEICADPKEKWVQNYMKHLGRKAH<br>TLKT | CCL13/MCP-4                         |
| 262     | L-Proteína | TKTESSSRGPYHPSECCFTYTTYKIPRQIRIMDYETNSQ<br>CSKPGIVFITKRGHSVCTNPSPDKWVQDYIKDMKEN            | CCL14/HCC-1                         |
| 263     | L-Proteína | ASVATELRCQCLQTLQGIHPKNIQSVNVKSPGPHCAQTE<br>VIATLKNGRKACLNPAPIVKKIIIEKMLNSDKSN              | CXCL1/GROα                          |
| 264     | L-Proteína | APLATELRCQCLQTLQGIHLKNIQSVKVKSPGPHCAQTE<br>VIATLKNGQKACLNPAKPMVKKIIIEKMLKNGKSN             | CXCL2/GROβ                          |
| 265     | L-Proteína | ASVATELRCQCLQTLQGIHLKNIQSVNVRSPGPHCAQTE<br>VIATLKNGKACLNPAKPMVQKIIIEKILNKGSTN              | CXCL3/GROγ                          |
| 266     | L-Proteína | EAEEDGDLQCLCVKTTSQVRPRHITSLEVIKAGPHCPTA<br>QLIATLKNGRKICLDLQAPLYKKIIKKLLES                 | CXCL4/PF4                           |
| 267     | L-Proteína | GPAAAVLRELRCVCLQTTQGVHPKMISNLQVFAIGPQCS<br>KVEVVASLKNGKEICLDPEAPFLKKVIQKILDGGNKEN          | CCL5/ENA-78                         |
| 268     | L-Proteína | GPVSAVLTELRCCLRVTLRVNPKTIGKLQVFPAGPQCS<br>KVEVVASLKNGKQVCLDPEAPFLKKVIQKILDSGNKKN           | CCL6/GCP-2                          |

| Seq.-ID | A/Peptídeo | Seqüência                                                                                                      | Referência Interna              |
|---------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 269     | L-Proteína | SSTKGQTKRNLAKGKEESLSDLYAELRCMCIKTTSGIH<br>PKNIQSLEVIGKGTHCNQVEVIATLKDGRKICLDPDAPRI<br>KKIVQKKLAGDESAD          | CL7/NAP-2                       |
| 270     | L-Proteína | EGAVLPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPH<br>CANTEIIVKLSDGRELCCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENS                           | CL8/IL-8                        |
| 271     | L-Proteína | TPVVRKGRCSCISTNQGTIHLQSLKDLKQFAPSPSCEKIE<br>IIATLKNQVQTCCLNPDSADVKELIKKEKQVSQKKKQKN<br>GKKHQKKKVLKVRKSQRSRQKKT | CL9/MIG                         |
| 272     | L-Proteína | VPLSRTVRCTCISISNPVNPRSLEKLEIPASQFCPRVEII<br>ATMKKKGEKRCCLNPESKAIKNLLKAVSKERSKRSP                               | CL10/IP-10                      |
| 273     | L-Proteína | FPMFKRGRCLCIGPGVKAVKVADIEKASIMYPSNNCDKI<br>EVIITLKENKGQRCLNPKSKQARLIKKVERKNF                                   | CL11/I-TAC                      |
| 274     | L-Proteína | KPVLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIV<br>ARLKNNNRQVCIDPKLKWIEYLEKALNKRFBM                                     | CL12α/SDF-1α                    |
| 275     | L-Proteína | KPVLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIV<br>ARLKNNNRQVCIDPKLKWIEYLEKALNKRFBM                                     | CL12β/SDF-1β                    |
| 276     | L-Proteína | QHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAII<br>LETRQHRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNG                               | CL1/Fractalcina                 |
| 277     | L-Proteína | VGSEVSDKRTCVSLLTQRLPVSRIKTYTITEGSLRAVIFIT<br>KRGLKVCADPQATWVRDVVRSMRKSNTNRNNMIQTKP<br>TGTOQSTNTAVTLTG          | CL1/Linfotactina                |
| 278     | L-RNA      | 5'-Biotina-GCACGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAG<br>CCGUGGCUCUGCG                                                        | X-E36 biotinilada               |
| 279     | L-RNA      | 5'-UAAGGAAACUCGGUCUGAUGCGGU<br>AGCGCUGUGCAGAGCU                                                                | C                               |
| 280     | L-RNA      | 5'-PEG-UAAGGAAACUCGGUCUGAUGCGGU<br>AGCGCUGUGCAGAGCU-3'                                                         | C-PEG                           |
| 281     | L-DNA      | 5'-CCAATGTCGCC-(Espaçador18)2-NH4+ -3'                                                                         | OX-E36 Sonda de captura         |
| 282     | L-DNA      | 5'- Biotin-(Espaçador18)2-CGCAGAGCC                                                                            | OX-E36 Sonda de detecção (-íon) |

| Seq.-ID | A/Peptídeo  | Seqüência                                                                                                                                   | Referência Interna                 |
|---------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 283     | L- proteína | QPDAINSPVTCCYTFTGKKISSQRLGSKRVTSKCPKE<br>AVIFKTILAKEICADPEQKWVQDAVKQLDKKAQTPKP                                                              | P-1 de cavalo<br>(Equus caballus)  |
| 284     | L- proteína | QPDAINSQVACCYTFNSKKISMQRMLNYRRVTSSKCPK<br>EAVIFKTILGKELCADPKQKWVQDSINYLNKKNQTPKP                                                            | P-1 bovina (Bos<br>Taurus)         |
| 285     | L- proteína | QPDVAVNAPLTCCYSFTGKMIPMSRLENYKRITSSRCPKE<br>AVVFVTKLKREICADPNKEWVQKYIRKLDQNQVRSETTV<br>FYKIASTLRTSAPLNVNLTHKSEANASTLFSTTTSSSTSVE<br>VTSMTEN | P-1 de rato (Rattus<br>norvegicus) |

A presente invenção é adicionalmente ilustrada pelas figuras, pelos exemplos e pela listagem de seqüências a partir dos quais podem ser consideradas características, modalidades e vantagens adicionais, onde

A Figura 1 mostra um alinhamento de seqüências de ligantes de RNA relacionados que se ligam à MCP-1 humana, indicando o motivo de seqüência ("Tipo 1A") que é, em uma modalidade preferida, em sua totalidade, essencial para a ligação à MCP-1 humana;

A Figura 2 mostra um alinhamento de seqüências de ligantes de RNA relacionados que se ligam à MCP-1 humana, indicando o motivo de seqüência ("Tipo 1B") que é, em uma modalidade preferida, em sua totalidade, essencial para a ligação à MCP-1 humana, e os derivados de ligantes de RNA 180-D1-002;

A Figura 3 mostra um alinhamento de seqüências de ligantes de RNA relacionados que se ligam à MCP-1 humana, indicando o motivo de seqüência ("Tipo 2") que é, em uma modalidade preferida, em sua totalidade, essencial para a ligação à MCP-1 humana;

A Figura 4 mostra um alinhamento de seqüências de ligantes de RNA relacionados que se ligam à MCP-1 humana, indicando o motivo de seqüência ("Tipo 3") que é, em uma modalidade preferida, em sua totalidade, essencial para a ligação à MCP-1 humana;

A Figura 5 mostra os derivados de ligantes de RNA 178-D5 e 181-A2 (ligantes de RNA da MCP-1 humana de motivo de seqüência "Tipo 3");

A Figura 6 mostra um alinhamento de seqüências de ligantes de RNA relacionados que se ligam à MCP-1 humana, indicando o motivo de seqüência ("Tipo 4") que é, em uma modalidade preferida, em sua totalidade, essencial para a ligação à MCP-1 humana (outras seqüências);

5 A Figura 7 mostra uma tabela de seqüências de diversos ligantes de RNA diferentes que se ligam à MCP-1 humana que não podem estar relacionados aos motivos de seqüências de ligação à MCP-1 "Tipo 1A", "Tipo 1B", "Tipo 2", "Tipo 3" ou "Tipo 4";

A Figura 8 mostra os alinhamentos dos derivados do ligante de RNA 188-A3-001 e do 189-G7-001 que se ligam à MCP-1 de murino;

A Figura 9 mostra o resultado de uma análise da ligação do aptâmero D-NOX-E36 à  $\alpha$ -MCP-1 humana biotinilada, na temperatura ambiente e a 37°C, representada como a ligação do aptâmero pela concentração de  $\alpha$ -MCP-1 humana biotinilada;

15 A Figura 10 mostra o resultado de uma análise da ligação do aptâmero  $\alpha$ -mNOX-E36 à  $\alpha$ -MCP-1 de murino biotinilada, a 37°C, representada como a ligação do aptâmero pela concentração de  $\alpha$ -MCP-1 de murino biotinilada;

A Figura 11 mostra a liberação de  $\text{Ca}^{++}$  induzida pela MCP-1 em células THP-1, enquanto que a curva de resposta à dose para a MCP-1 humana era obtida, indicando uma concentração semi-efetiva ( $\text{EC}_{50}$ ) de aproximadamente 3 nM, representada como a diferença na fluorescência para o branco pela concentração de MCP-1 humana;

25 A Figura 12 mostra a eficácia do "spiegelmero" NOX-E36 em um ensaio de liberação de cálcio; as células foram estimuladas com 3 nM de MCP-1 humana, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" NOX-E36, representada como a porcentagem do controle pela concentração de NOX-E36;

30 A Figura 13 mostra a eficácia do "spiegelmero" mNOX-E36 em um ensaio de liberação de cálcio; as células foram estimuladas com 5 nM de MCP-1 de murino, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" mNOX-E36, representada como a porcentagem do controle



pela concentração de mNOX-E36;

A Figura 14 mostra a quimiotaxia induzida pela MCP-1 humana das células THP-1, enquanto que, após 3 horas de migração das células THP-1 para diversas concentrações de MCP-1, obteve-se uma curva de resposta à dose para a MCP-1, representada como o aumento de X vezes comparado ao controle pela concentração de MCP-1 humana;

A Figura 15 mostra a eficácia do "spiegelmero" NOX-E36 em um ensaio de quimiotaxia; as células foram deixadas migrar para 0,5 nM de MCP-1 humana, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" NOX-E36, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" NOX-E36;

A Figura 16 mostra a eficácia do "spiegelmero" mNOX-E36 em um ensaio de quimiotaxia; as células foram deixadas migrar para 0,5 nM de MCP-1 de murino, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" NOX-E36, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" mNOX-E36;

A Figura 17 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando o valor de  $K_D$  do "spiegelmero" NOX-E36 que se liga à MCP-1 humana, a qual foi imobilizada sobre um chip de sensor PioneerF1 por procedimento de acoplamento de amina, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 18 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando a ligação do "spiegelmero" NOX-E36 às proteínas da família de MCP humana (huMCP-1, huMCP-2, huMCP-3) e à eotaxina humana, que foram imobilizadas por procedimento de acoplamento de amina sobre um chip de sensor PioneerF1 e um CM4, respectivamente, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 19 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando a ligação do "spiegelmero" NOX-E36 à MCP-1 de diferentes espécies (MCP-1 canina, MCP-1 de macaco, MCP-1 humana, MCP-1 de porco, MCP-1 de coelho, MCP-1 de camundongo, MCP-1 de rato), considerando que as diferentes formas da MCP-1 foram imobilizadas por procedimento de acoplamento de amina sobre os chips de sensor PioneerF1 e CM4,

respectivamente, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 20 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando o valor de  $K_D$  do "spiegelmero" 181-A2-018 que se liga à MCP-1 humana, a qual foi imobilizada sobre um chip de sensor CM4 por procedimento de acoplamento de amina, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 21 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando a ligação do "spiegelmero" 181-A2-018 às proteínas da família de MCP humana (huMCP-1, huMCP-2, huMCP-3) e à eotaxina humana, que foram imobilizadas por procedimento de acoplamento de amina sobre um chip de sensor PioneerF1 e um CM4, respectivamente, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 22 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando a ligação do "spiegelmero" 181-A2-018 à MCP-1 de diferentes espécies (MCP-1 canina, MCP-1 de macaco, MCP-1 humana, MCP-1 de porco, MCP-1 de coelho, MCP-1 de camundongo, MCP-1 de rato), considerando que as diferentes formas da MCP-1 foram imobilizadas por procedimento de acoplamento de amina sobre os chips de sensor PioneerF1 e CM4, respectivamente, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 23 mostra um alinhamento Clustal W da MCP-1 a partir de diferentes espécies de mamíferos, bem como da MCP-2 humana, da MCP-3, e da eotaxina (Posições 1-76 somente);

A Figura 24A mostra uma tabela resumindo a especificidade de ligação de NOX-E36 e 181-A2-018 com relação à MCP-1 de diferentes espécies de mamíferos, bem como MCP-2 humana, MCP-3, e eotaxina;

A Figura 24B mostra uma tabela resumindo a seletividade de NOX-E36, como determinada por análise de Biacore, pelo que o NOX-E36 biotinilado foi imobilizado sobre uma superfície do chip de sensor e a ligação de um painel de diversas quimiocinas CC e CXC ao NOX-E36 foi analisada;

A Figura 24C mostra a análise cinética de NOX-E36 interagindo com as quimiocinas, como determinada por análise de Biacore, pelo que as quimiocinas foram imobilizadas covalentemente sobre uma superfície do chip de sensor CM5 e diversas concentrações do NOX-E36 foram injetadas

e o comportamento de ligação do NOX-E36 foi analisado usando o software BiaEvaluation;

5 A Figura 24D mostra a curva de resposta à dose da quimiotaxia do estímulo das células THP-1 com a MIP-1 $\alpha$  com uma concentração semi-efetiva de cerca de 0,2 nM;

A Figura 24E mostra a Inibição da quimiotaxia induzida pela MIP-1 $\alpha$  pelo NOX-E36. O NOX-E36 não teve nenhuma influência sobre a quimiotaxia induzida pela MIP1 $\alpha$  das células THP-1;

10 A Figura 25 mostra a eficácia do "spiegelmero" NOX-E36-3'-PEG em um ensaio de liberação de cálcio; as células foram estimuladas com 3 nM de MCP-1 humana, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades de "spiegelmero" NOX-E36-3'-PEG, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" NOX-E36-3'-PEG;

15 A Figura 26 mostra a eficácia do "spiegelmero" NOX-E36-3'-PEG em um ensaio de quimiotaxia; as células foram deixadas migrar para 0,5 nM de MCP-1 humana, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" NOX-E36-3'-PEG, representada como a porcentagem do controle pela concentração de NOX-E36-3'-PEG;

20 A Figura 27A mostra a eficácia do "spiegelmero" NOX-E36-5'-PEG em um ensaio de liberação de cálcio; as células foram estimuladas com 3 nM de MCP-1 humana, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades de "spiegelmero" NOX-E36-5'-PEG, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" NOX-E36-5'-PEG;

25 A Figura 27B mostra a eficácia do "spiegelmero" NOX-E36-5'-PEG em um ensaio de quimiotaxia; as células foram deixadas migrar para 0,5 nM de MCP-1 humana, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" NOX-E36-5'-PEG, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" NOX-E36-5'-PEG;

30 A Figura 28 mostra a liberação de Ca<sup>++</sup> induzida pela MCP-1 de murino em células THP-1, enquanto que uma curva de resposta à dose para a MCP-1 de murino era obtida, indicando uma concentração semi-efetiva (EC<sub>50</sub>) de aproximadamente 5 nM, representada como a diferença na

fluorescência para o branco pela concentração de MCP-1 de murino;

A Figura 29 mostra a eficácia do "spiegelmero" anti-MCP-1 de murino mNOX-E36-3'-PEG em um ensaio de liberação de cálcio; as células foram estimuladas com 3 nM de MCP-1 de murino, pré-incubada a 37°C com  
5 diversas quantidades do "spiegelmero" mNOX-E36-3'-PEG, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" mNOX-E36-3'-PEG;

A Figura 30 mostra a quimiotaxia induzida pela MCP-1 de murino das células THP-1, enquanto que, após 3 horas de migração das  
10 células THP-1 para diversas concentrações de mMCP-1, obteve-se uma curva de resposta à dose para a mMCP-1, representada como o aumento de X vezes comparado ao controle pela concentração de MCP-1 de murino;

A Figura 31 mostra a eficácia do "spiegelmero" anti-MCP-1 de murino mNOX-E36-3'-PEG em um ensaio de quimiotaxia; as células foram  
15 deixadas migrar para 0,5 nM de MCP-1 de murino, pré-incubada a 37°C com diversas quantidades do "spiegelmero" mNOX-E36-3'-PEG, representada como a porcentagem do controle pela concentração do "spiegelmero" antimurino mNOX-E36-3'-PEG;

A Figura 32 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando o  
20 valor de  $K_D$  do aptâmero  $\alpha$ -mNOX-E36 que se liga à  $\alpha$ -MCP-1 de murino, a qual foi imobilizada sobre um chip de sensor PioneerF1 por procedimento de acoplamento de amina, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 33 mostra o sensorgrama Biacore 2000 indicando a  
ligação do aptâmero  $\alpha$ -mNOX-E36 à  $\alpha$ -MCP-1 humana e à  $\alpha$ -MCP-1 de  
25 murino, considerando que as duas formas diferentes de  $\alpha$ -MCP-1 foram imobilizadas por procedimento de acoplamento de amina sobre os chips de sensor PioneerF1 e CM4, respectivamente, representada como a resposta (RU) pelo tempo;

A Figura 34 mostra as seções renais de camundongos  
30 MRL<sup>lpr/lpr</sup> de 24 semanas de idade, coloridas com ácido periódico Schiff (PAS), anticorpos para Mac-2 (macrófagos) e CD3 (células T), conforme indicado; as imagens são representativas para 7-12 camundongos em cada

grupo (ampliação do original PAS: x 100, insertos de PAS: x 400, Mac2: x 400, CD3: x 100);

5 A Figura 35 mostra uma tabela ilustrando os parâmetros de função renal e as verificações histológicas nos diferentes grupos de camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> de 24 semanas de idade;

A Figura 36 mostra a quantificação das alterações histológicas por morfometria efetuada sobre seções coloridas com prata de camundongos de todos os grupos; A, o índice de volume intersticial; B, o índice de dilatação tubular, e C, o índice de dano de célula tubular foram  
10 calculados como a porcentagem de campo de alta energia e são expressos como a média  $\pm$  SEM;

A Figura 37 mostra a sobrevivência dos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> dos diversos grupos de tratamento como calculada por análise de Kaplan-Meier;

15 A Figura 38 mostra a expressão de mRNA renal para as quimiocinas CC CCL2 e CCL5, como determinada por RT-PCR em tempo real, usando RNA renal total reunido de 5 camundongos de cada grupo, com o que os níveis de RNA para cada grupo de camundongos são expressos por expressão de rRNA de 18S respectiva;

20 A Figura 39 mostra a redução da patologia do pulmão por tratamento com mNOX-E36-3'PEG; o tecido do pulmão foi preparado a partir de todos os grupos em 24 semanas de idade e classificado de modo semiquantitativo; o tratamento com mNOX-E36 e mNOX-E36-3'PEG reduziu a inflamação peribronquiolar nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>; as imagens são  
25 representativas para 7-11 camundongos em cada grupo; ampliação do original x 100;

A Figura 40 mostra as manifestações de lúpus cutâneo dos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> em 24 semanas de idade, as quais tipicamente ocorreram na área facial ou do pescoço (camundongo da esquerda), as  
30 quais foram menos comuns nos camundongos tratados com "spiegelmero" anti-mCCL2 (camundongo da direita);

A Figura 41 mostra as verificações no soro e histológicas em

camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> em 24 semanas de idade;

A Figura 42 mostra a farmacocinética dos "spiegelmeros" anti-mCCL2 peguilados e não-peguilados no plasma, durante o estudo, indicada como a concentração do "spiegelmero" mNOX-E36 no plasma como uma  
5 função do tempo;

A Figura 43 mostra a citometria de fluxo para o CCR2 na medula óssea e no sangue periférico em camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> de 24 semanas de idade, tratados com veículo ou com mNOX-E36-3'PEG; os dados são mostrados como a porcentagem média de células positivas para  
10 CCR2  $\pm$  SEM, na medula óssea ou no sangue periférico, em 5 camundongos de cada grupo;

A Figura 44 mostra os níveis de CCL2 no soro em camundongos 1K db/db tratados com PoC-PEG (barras brancas) e com mNOX-E36-3'PEG (mNOX-E36-P) (barras pretas), como determinados por  
15 ELISA em diferentes pontos de tempo, conforme indicados; os dados são a média  $\pm$  SEM; \*,  $p < 0,05$  mNOX-E36-3'PEG (mNOX-E36-P) vs. PoC-PEG;

A Figura 45 mostra o número infiltrado de células positivas para Mac-2 e Ki-67 nos glomérulos e no interstício de camundongos db/db não tratados ou tratados com POC-PEG ou preferivelmente mNOX-E36-3'PEG;

20 A Figura 46 mostra a glomeruloesclerose diabética em camundongos db/db de 6 meses; as seções renais dos camundongos dos diferentes grupos foram coloridas com ácido periódico Schiff e 15 glomérulos de cada secção renal foram classificados quanto à proporção de glomeruloesclerose; as imagens mostram os glomérulos representativos,  
25 graduados para as classificações respectivas, conforme indicadas, ampliação do original 400 x; o gráfico ilustra a porcentagem média de cada classificação  $\pm$  SEM a partir de todos os camundongos em cada grupo ( $n = 7 - 10$ ); \*,  $p < 0,05$  para os camundongos 1K db/db tratados com mNOX-E36-3'PEG (mNOX-E36-P) vs. PoC-PEG (PoC-P);

30 A Figura 47 mostra a taxa de filtração glomerular (GFR) nos camundongos 1K db/db de 6 meses de idade, tratados com mNOX-E36-3'PEG (mNOX-E36-P) e com PoC-PEG (PoC-P); a GFR foi determinada por

cinética de depuração de FITC-inulina nos grupos de camundongos 1K db/db tratados com PoC-PEG e mNOX-E36-3'PEG no final do estudo;

A Figura 48 mostra a atrofia tubular e o volume intersticial de camundongos db/db de 6 meses de idade; as imagens das seções renais coloridas com prata ilustram os rins representativos a partir dos respectivos grupos (ampliação do original 100x); os valores representam a média  $\pm$  SEM do respectivo índice de análise morfométrica a partir de 7 - 10 camundongos em cada grupo; \*,  $p < 0,05$  para os camundongos 2K db/db vs. BKS do tipo selvagem; #,  $p < 0,05$  para os camundongos db/db 1K vs. 2K; <sup>†</sup>,  $p < 0,05$  para os camundongos 1K db/db tratados com mNOX-E36-3'PEG (mNOX-E36-PEG) vs. PoC-PEG;

A Figura 49 mostra a expressão do mRNA renal para CCL2 de camundongos db/db, como determinada por RT-PCR em tempo real usando o RNA renal total reunido de 6 - 10 camundongos de cada grupo; os níveis de mRNA para cada grupo de camundongos são expressos por expressão de rRNA de 18 S respectiva; e

A Figura 50 mostra a expressão de CCL2 em rins de camundongos db/db, como determinada por imunocoloração; as imagens ilustram as seções representativas dos rins de camundongos de 6 meses de idade dos grupos respectivos, como indicados (ampliação do original, 200 x).

### **Exemplo 1 - Ácidos nucleicos que ligam a MCP-1 humana**

Usando a  $\alpha$ -MCP-1 humana biotinilada como um alvo, diversos ácidos nucleicos que se ligam à MCP-1 humana puderam ser gerados, cujas seqüências de nucleotídeos são representadas nas Figuras 1 até 7. Os ácidos nucleicos foram caracterizados no nível de aptâmero, isto é, Ácido nucleico D usando ensaios de co-imunoprecipitação competitiva ou direta com a  $\alpha$ -MCP-1 humana biotinilada (Exemplo 4), ou no nível de "spiegelmero", isto é, L-ácido nucleico com a configuração natural da MCP-1 (L-McP) por medição da ressonância plasmônica de superfície usando um instrumento Biacore 2000 (Exemplo 7), um ensaio de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  em cultura de células *in vitro* (Exemplo 5), ou um ensaio de quimiotaxia *in vitro* (Exemplo 6).

As moléculas de ácidos nucléicos assim geradas exibem diferentes motivos de seqüências, quatro tipos principais são definidos nas Figuras 1 e 2 (Tipo 1A / 1B), na Figura 3 (Tipo 2), nas Figuras 4 e 5 (Tipo 3), e na Figura 6 (Tipo 4). Os ácidos nucléicos adicionais que se ligam à MCP-1, os quais não podem estar relacionados um ao outro e aos motivos de seqüências diferentes descritos neste documento, são listados na Figura 7. Para a definição dos motivos de seqüências de nucleotídeos, usam-se as abreviações da IUPAC para os nucleotídeos ambíguos:

|    |   |            |                  |
|----|---|------------|------------------|
|    | S | forte      | G ou C;          |
| 10 | W | fraco      | A ou U;          |
|    | R | purina     | G ou A;          |
|    | Y | pirimidina | C ou U;          |
|    | K | ceto       | G ou U;          |
|    | M | imino      | A ou C;          |
| 15 | B | não A      | C ou U ou G;     |
|    | D | não C      | A ou G ou U;     |
|    | H | não G      | A ou C ou U;     |
|    | V | não U      | A ou C ou G;     |
|    | N | tudo       | A ou G ou C ou U |

20 Se não indicado ao contrário, qualquer seqüência de aminoácidos ou seqüência de extensões e caixas, respectivamente, é indicada na direção 5' → 3'.

#### ***Ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1A (Figura 1)***

Conforme representado na Figura 1, todas as seqüências de ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1A compreendem diversas extensões ou caixas de seqüências, pelo que as caixas **B1A** e **B1B** são as extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar uma com a outra. Entretanto, tal hibridização não é necessariamente dada na molécula conforme realmente presente sob condições fisiológicas. As caixas **B2**, **B3**, **B4**, **B5** e a caixa **B6** são flanqueadas pela caixa **B1A** e pela caixa **B1B**.

Os ácidos nucléicos foram caracterizados no nível de aptâmero usando ensaios de co-imunoprecipitação direta e competitiva com a  $\alpha$ -MCP-1



humana biotinizada, para graduá-los com relação ao seu comportamento de ligação (Exemplo 4). As seqüências selecionadas foram sintetizadas como "spiegelmero" (Exemplo 3) e foram testadas usando a configuração natural da MCP-1 (L-McP) em um ensaio de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  em cultura de células *in vitro* (Exemplo 5).

As seqüências das caixas definidas podem ser diferentes entre os ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1A, o que influencia a afinidade de ligação à MCP-1. Com base na análise da ligação dos diferentes ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1, resumidos como **ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1A**, as caixas **B1A**, **B2**, **B3**, **B4**, **B5**, **B6** e **B1B** e as suas seqüências de nucleotídeos, como descritas no que se segue, são individualmente, e mais preferivelmente, em sua totalidade, essenciais para a ligação à MCP-1:

- as caixas **B1A** e **B1B** são as extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar uma com a outra; onde **B1A** é **AGCRUG**, preferivelmente **AGCGUG**; e onde **B1B** é **CRYGCU**, preferivelmente **CACGCU**;

- caixa **B2**, a qual é **CCCGGW**, preferivelmente **CCCGGU**;

- caixa **B3**, a qual é **GUR**, preferivelmente **GUG**;

- caixa **B4**, a qual é **RYA**, preferivelmente **GUA**;

- caixa **B5**, a qual é **GGGGGRCGCGAYC**, preferivelmente **GGGGGGCGCGACC**;

- caixa **B6**, a qual é **UGCAAUAAUG** ou **URYAWUUG**, preferivelmente **UACAUUUG**;

Conforme representado na Figura 1, a molécula de ácido nucléico referida como 176-E10trc tem a melhor afinidade de ligação à MCP-1 (como aptâmero no ensaio de co-imunoprecipitação com uma  $K_D$  de 5 nM e também como "spiegelmero" com uma  $IC_{50}$  de 4 - 5 nM no ensaio de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  em cultura de células *in vitro*) e, portanto, pode constituir a seqüência otimizada e a combinação otimizada de elementos da seqüência **B1A**, **B2**, **B3**, **B4**, **B5**, **B6** e **B1B**.

#### **Ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1B (Figura 2)**

Conforme representado na Figura 2, todas as seqüências do

Tipo 1B compreendem diversas extensões ou caixas de seqüências, pelo que as caixas **B1A** e **B1B** são as extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar uma com a outra, e as caixas **B2**, **B3**, **B4**, **B5** e a caixa **B6** são flanqueadas pela caixa **B1A** e pela caixa **B1B**. Entretanto, tal hibridização

5 não é necessariamente dada na molécula conforme realmente presente sob condições fisiológicas.

Os ácidos nucléicos foram caracterizados no nível de aptâmero usando os ensaios de co-imunoprecipitação direta e competitiva com a D-MCP-1 humana biotinilada, para graduá-los com relação ao seu

10 comportamento de ligação (Exemplo 4). As seqüências selecionadas foram sintetizadas como "spiegelmero" (Exemplo 3) e foram testadas usando a configuração natural da MCP-1 (L-McP) em um ensaio de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  em cultura de células *in vitro* (Exemplo 5).

As seqüências das caixas definidas podem ser diferentes entre

15 os ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1B, o que influencia a afinidade de ligação à MCP-1. Com base na análise da ligação dos diferentes ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1, resumidos como **ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 1B**, as caixas **B1A**, **B2**, **B3**, **B4**, **B5**, **B6** e **B1B** e as suas seqüências de nucleotídeos, como descritas no que

20 se segue, são individualmente, e mais preferivelmente, em sua totalidade, essenciais para a ligação à MCP-1:

- as caixas **B1A** e **B1B** que podem hibridizar uma com a outra; onde **B1A** é **AGYRUG**, preferivelmente **AGCGUG**; e onde **B1B** é **CAYRCU**, preferivelmente **CACGCU**;
- 25 • caixa **B2**, a qual é **CCAGCU** ou **CCAGY**, preferivelmente **CCAGU**;
- caixa **B3**, a qual é **GUG**;
- caixa **B4**, a qual é **AUG**;
- caixa **B5**, a qual é **GGGGGGCGCGACC**;
- 30 • caixa **B6**, a qual é **CAUUUUA** ou **CAUUUA**, preferivelmente **CAUUUUA**;

Conforme representado na Figura 2, o ácido nucléico referido

como 176-C9trc tem a melhor afinidade de ligação à MCP-1 (como aptâmero no ensaio de co-imunoprecipitação com uma  $K_D$  de 5 nM e também como "spiegelmero" com uma  $IC_{50}$  de 4 - 5 nM no ensaio de liberação de  $Ca^{++}$  em cultura de células *in vitro*) e, portanto, pode constituir a seqüência otimizada e a combinação otimizada de elementos da seqüência **B1A**, **B2**, **B3**, **B4**, **B5**, **B6** e **B1B**.

### **Ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 2 (Figura 3)**

Conforme representado na Figura 3, todas as seqüências do Tipo 2 compreendem diversas extensões ou caixas de seqüências, pelo que as caixas **B1A** e **B1B** são as extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar uma com a outra, e a caixa **B2** é o elemento de seqüência central. Entretanto, tal hibridização não é necessariamente dada na molécula conforme realmente presente sob condições fisiológicas.

Os ácidos nucléicos foram caracterizados no nível de aptâmero usando os ensaios de co-imunoprecipitação direta e competitiva com a D-MCP-1 humana biotinizada, para graduá-los com relação ao seu comportamento de ligação (Exemplo 4). As seqüências selecionadas foram sintetizadas como "spiegelmero" (Exemplo 3) e foram testadas usando a configuração natural da MCP-1 (L-McP) nos ensaios de liberação de  $Ca^{++}$  em cultura de células *in vitro* (Exemplo 5) ou de quimiotaxia *in vitro* (Exemplo 6).

As seqüências das caixas definidas podem ser diferentes entre os ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 3, o que influencia a afinidade de ligação à MCP-1. Com base na análise da ligação dos diferentes ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1, resumidos como **ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 2**, as caixas **B1A**, **B2**, e **B1B** e as suas seqüências de nucleotídeos, como descritas no que se segue, são individualmente, e mais preferivelmente, em sua totalidade, essenciais para a ligação à MCP-1:

- caixas **B1A** e **B1B**, extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar uma com a outra; onde **B1A** é **ACGCA** e **B1B** é **UGCGU**, ou **B1A** é **CGCA** e **B1B** é **UGCG**, ou **B1A** é **GCA** e **B1B** é **UGCG** ou **UGC**; preferivelmente **B1A** é **GCA** e **B1B** é **UGCG**;

• caixa B2, CSUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGYGGCUC,  
preferivelmente CGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC

Conforme representado na Figura 3, o ácido nucléico referido como 180-D1-002, bem como os derivados de 180-D1-002, como o 180-D1-011, o 180-D1-012, o 180-D1-035, e o 180-D1-036 (= NOX-E36), têm a melhor afinidade de ligação à MCP-1 como aptâmero no ensaio de co-  
imunoprecipitação direta ou competitiva, com uma  $K_D$  de  $< 1$  nM e, portanto, pode constituir a sequência otimizada e a combinação otimizada dos elementos da sequência B1A, B2, e B1B.

Para a molécula de ácido nucléico D-NOX-E36 (D-180-D1-036; SEQ.ID Nº: 159), uma constante de dissociação ( $K_D$ ) de  $890 \pm 65$  pM, na temperatura ambiente (TA), e de  $146 \pm 13$  pM, a  $37^\circ\text{C}$ , foi determinada (Exemplo 4; Figura 9). O "spiegelmero" respectivo NOX-E36 (180-D1-036; SEQ.ID Nº: 37) exibiu uma concentração inibitória ( $IC_{50}$ ) de 3 - 4 nM em um ensaio de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  *in vitro* (Exemplo 5; Figura 12) e de cerca de 0,5 nM em um ensaio de quimiotaxia *in vitro* (Exemplo 6; Figura 15). Para os derivados PEGuilados de NOX-E36, NOX-E36-3'PEG e NOX-E36-5'PEG, as  $IC_{50}$ s de cerca de 3 nM foram determinadas no ensaio de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  (Exemplo 5, Figura 25 e Figura 27A) e  $< 1$  nM no ensaio de quimiotaxia (Exemplo 6; Figura 26 e Figura 27B).

#### ***Ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 3 (Figuras 4+5)***

Conforme representado nas Figuras 4 e 5, todas as seqüências do Tipo 3 compreendem diversas extensões ou caixas de seqüências, pelo que três pares de caixas são característicos para os ***ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 3***. Ambas as caixas B1A e B1B, bem como as caixas B2A e B2B, bem como as caixas B5A e B5B contêm a capacidade de hibridizar uma com a outra. Entretanto, tal hibridização não é necessariamente dada na molécula conforme realmente presente sob condições fisiológicas. Os nucleotídeos de não-hibridização estão localizados entre estes elementos de seqüência potencialmente hibridizados, definidos como caixa B3, caixa B4 e caixa B6.

Os ácidos nucléicos foram caracterizados no nível de aptâmero

usando os ensaios de co-imunoprecipitação direta e competitiva com a MCP-1 humana biotinilada, para graduá-los com relação ao seu comportamento de ligação (Exemplo 4). As seqüências selecionadas foram sintetizadas como "spiegelmero" (Exemplo 3) e foram testadas usando a  
 5 configuração natural da MCP-1 (L-McP) nos ensaios de quimiotaxia *in vitro* (Exemplo 6) ou via medições por Biacore (Exemplo 7).

As seqüências das caixas definidas podem ser diferentes entre os ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 3, o que influencia a afinidade de ligação à MCP-1. Com base na análise da ligação dos  
 10 diferentes ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1, resumidos como **ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 3**, as caixas **B1A**, **B2A**, **B3**, **B2B**, **B4**, **B5A**, **B6**, **B5B**, **B1B** e as suas seqüências de nucleotídeos, como descritas no que se segue, são individualmente, e mais preferivelmente, em sua totalidade, essenciais para a ligação à MCP-1:

- 15 • caixas **B1A** e **B1B**, extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar uma com a outra; onde **B1A** é **GURCUGC** e **B1B** é **GCAGCAC**; preferivelmente **B1A** é **GUGCUGC** e **B1B** é **GCAGCAC**;  
 ou **B1A** é **GKSYGC** e **B1B** é **GCRSMC**; preferivelmente **B1A** é **GUGCGC** e **B1B** é **GCGCAC**;  
 20 ou **B1A** é **KBBSC** e **B1B** é **GSVVM**; preferivelmente **B1A** é **KKSSC** e **B1B** é **GSSMM**;  
 ou **B1A** é **BNGC** e **B1B** é **GCVV**; preferivelmente **B1A** é **SNGC** e **B1B** é **GCNS**; mais preferivelmente **B1A** é **GGGC** e **B1B** é **GCCC**;

- caixas **B2A** e **B2B**, extensões que podem hibridizar uma com a  
 25 outra; onde **B2A** é **GKMGU** e **B2B** é **ACKMC**; preferivelmente **B2A** é **GUAGU** e **B2B** é **ACUAC**;

- caixa **B3**, a qual é **KRRAR**, preferivelmente **UAAAA** ou **GAGAA**;

- caixa **B4**, a qual é **CURYGA** ou **CUWAUGA** ou **CWRMGACW**  
 30 ou **UGCCAGUG**, preferivelmente **CAGCGACU** ou **CAACGACU**;

- **B5A** e **B5B**, extensões que podem hibridizar uma com a outra; onde **B5A** é **GGY** e **B5B** é **GCYR**, considerando que **GCY** pode hibridizar

com os nucleotídeos de **B5A**; ou **B5A** é **CWGC** e **B5B** é **GCWG**; preferivelmente **B5A** é **GGC** e **B5B** é **GCCG**;

•caixa **B6**, a qual é: **YAGA** ou **CKAAU** ou **CCUUUAU**, preferivelmente **UAGA**.

5           Conforme representado nas Figuras 4 e 5, o ácido nucléico referido como 178-D5 e o seu derivado 178-D5-030, e também 181-A2 com os seus derivados 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, e 181-A2-023 têm a melhor afinidade de ligação à MCP-1. 178-D5 e 178-D5-  
10 030 foram avaliados como aptâmeros nos ensaios de co-imunoprecipitação direta ou competitiva (Exemplo 4) com uma  $K_D$  de aproximadamente 500 pM. Na mesma configuração experimental, 181-A2 foi determinado com uma  $K_D$  de aproximadamente 100 pM. Através de análise por Biacore (Exemplo 7), a  $K_D$  de 181-A2 e de seus derivados para a MCP-1 foi determinada ser 200 -  
15 300 pM. Nos ensaios de liberação de  $Ca^{++}$  e de quimiotaxia com as culturas de células (Exemplos 5 e 6, respectivamente), para ambos 178-D5 e 181-A2, mediu-se uma  $IC_{50}$  de aproximadamente 500 pM. Portanto, 178-D5 e também 181-A2 e os seus derivados podem constituir a seqüência otimizada e a combinação otimizada de elementos da seqüência **B1A**, **B2A**, **B3**, **B2B**,  
20 **B4**, **B5A**, **B6**, **B5B** e **B1B**.

#### **Ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 4 (Figura 6)**

Conforme representado na Figura 6, todas as seqüências do Tipo 4 compreendem diversas seqüências, extensões ou caixas, pelo que as caixas **B1A** e **B1B** são as extensões 5' e 3' terminais que podem hibridizar  
25 uma com a outra, e a caixa **B2** é o elemento de seqüência central.

Os ácidos nucléicos foram caracterizados no nível de aptâmero usando os ensaios de co-imunoprecipitação direta com a  $\alpha$ -MCP-1 humana biotinilada, para graduá-los com relação ao seu comportamento de ligação (Exemplo 4). As seqüências selecionadas foram sintetizadas como  
30 "spiegelmero" (Exemplo 3) e foram testadas usando a configuração natural da MCP-1 (L-McP) em um ensaio de liberação de  $Ca^{++}$  em cultura de células *in vitro* (Exemplo 5) e/ou ensaio de quimiotaxia (Exemplo 6).

As seqüências das caixas definidas podem diferir entre os ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 4, o que influencia a afinidade de ligação à MCP-1. Com base na análise da ligação dos diferentes ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1, resumidos como **ácidos**

5 **nucléicos que se ligam à MCP-1 do Tipo 4**, as caixas **B1A**, **B2**, e **B1B** e as suas seqüências de nucleotídeos, como descritas no que se segue, são individualmente, e mais preferivelmente, em sua totalidade, essenciais para a ligação à MCP-1:

- caixas **B1A** e **B1B**, extensões 5' e 3' terminais que podem
- 10 hibridizar uma com a outra; onde **B1A** é **AGCGUGDU** e **B1B** é **GNCASGCU**; ou **B1A** é **GCGCGAG** e **B1B** é **CUCGCGUC**; ou **B1A** é **CSKSUU** e **B1B** é **GRSMMSG**; ou **B1A** é **GUGUU** e **B1B** é **GRCAC**; ou **B1A** é **UGUU** e **B1B** é **GGCA**; preferivelmente **B1A** é **CSKSUU** e **B1B** é **GRSMMSG**; mais preferido **B1A** é **CCGCUU** e **B1B** é **GGGCGG**; e
- 15• caixa **B2**, a qual é AGNDRDGBKGGURGYARGUAAAAG ou AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAAG ou CAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAAGA, preferivelmente AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAAG

20 Conforme representado na Figura 6., o ácido nucléico referido como 174-D4-004 e 166-A4-002 tem a melhor afinidade de ligação à MCP-1 (como "spiegelmero" com uma IC<sub>50</sub> de 2 - 5 nM no ensaio de liberação de Ca<sup>++</sup> em cultura de células *in vitro*) e pode, portanto, constituir a seqüência otimizada e a combinação otimizada dos elementos da seqüência **B1A**, **B2**, e **B1B**.

25 Adicionalmente, 29 outros ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1 foram identificados, os quais não podem ser descritos por uma combinação de elementos da seqüência de nucleotídeos, como foi mostrado para os Tipos 1 - 4 dos ácidos nucléicos que se ligam à MCP-1. Estas seqüências são listadas na Figura 7.

30 É para ser entendido que quaisquer das seqüências mostradas nas Figuras 1 até 7 são ácidos nucléicos de acordo com a presente invenção, incluindo aquelas formas truncadas deles, porém também incluindo aquelas

formas estendidas deles, sob a condição, entretanto, que as moléculas de ácidos nucleicos assim truncadas e estendidas, respectivamente, ainda sejam capazes de ligar-se ao alvo.

### **Exemplo 2: Ácidos nucleicos que ligam a MCP-1 de murino**

5 Utilizando a D-MCP-1 de murino biotinilada como um alvo, puderam ser geradas diversas moléculas de ácidos nucleicos que se ligam a ela. O resultado de uma análise da seqüência destas moléculas de ácidos nucleicos pode ser inferido a partir da Figura 8.

Os ácidos nucleicos foram caracterizados no nível de aptâmero  
10 usando o ensaio de co-imunoprecipitação utilizando a D-MCP-1 de murino biotinilada, para graduá-los com relação ao seu comportamento de ligação (Exemplo 4). As seqüências selecionadas foram sintetizadas como "spiegelmero" (Exemplo 3) e foram testadas usando a configuração natural da MCP-1 (L-McP) em um ensaio de liberação de  $Ca^{++}$  em cultura de células  
15 *in vitro* (Exemplo 5) e de quimiotaxia (Exemplo 6).

Conforme representado na Figura 8, o D-188-A3-001 e o D-189-G7-001 e os seus derivados ligam a D-MCP-1 com  $K_D$  subnanomolar no ensaio de co-imunoprecipitação (Figura 8).

Para o D-mNOX-E36 (= D-188-A3-007; SEQ.ID Nº: 244), uma  
20 constante de dissociação ( $K_D$ ) de 0,1 - 0,2 nM, a 37°C, foi determinada (Exemplo 4; Figura 10). O "spiegelmero" respectivo mNOX-E36 (188-A3-007; SEQ.ID Nº: 122) exibiu uma concentração inibitória ( $IC_{50}$ ) de aproximadamente 12 nM em um ensaio de liberação de  $Ca^{++}$  *in vitro* (Exemplo 5; Figura 13) e de aproximadamente 7 nM em um ensaio de  
25 quimiotaxia *in vitro* (Exemplo 6; Figura 16). Para o derivado PEGuilado de mNOX-E36, mNOX-E36-3'PEG (SEQ.ID Nº: 254), as  $IC_{50}$ 's de aproximadamente 8 nM foram determinadas no ensaio de liberação de  $Ca^{++}$  (Exemplo 5, Figura 29) e aproximadamente 3 nM no ensaio de quimiotaxia (Exemplo 6; Figura 31).

30 É para ser entendido que quaisquer das seqüências mostradas nas Figuras 1 até 7 são ácidos nucleicos de acordo com a presente invenção, incluindo aquelas formas truncadas deles, porém também incluindo aquelas



formas estendidas deles, sob a condição, entretanto, que as moléculas de ácidos nucleicos assim truncadas e estendidas, respectivamente, ainda sejam capazes de ligar-se ao alvo.

### **Exemplo 3: Síntese e derivação de Aptâmeros e "spiegelmeros"**

#### **5 Síntese em pequena escala**

Os Aptâmeros e os "spiegelmeros" foram produzidos por síntese em fase sólida com um sintetizador ABI 394 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), usando a química de 2'TBDMS RNA fosforamidita (M.J. Damha, K.K. Ogilvie, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 20 *Protocols for oligonucleotides and analogs*, ed. S. Agrawal, páginas 81-114, Humana Press Inc. 1993). As rA(N-Bz)-, rC(Ac)-, rG(N-ibu)-, e rU- fosforamiditas na configuração D e L foram adquiridas da ChemGenes, Wilmington, MA. Os Aptâmeros e os "spiegelmeros" foram purificados por eletroforese em gel.

#### **Síntese em grande escala mais modificação**

15 O "spiegelmero" NOX-E36 foi produzido por síntese em fase sólida com um sintetizador ÄktaPilot100 (Amersham Biosciences; General Electric Healthcare, Freiburg), usando a química de 2'TBDMS RNA fosforamidita (M.J. Damha, K.K. Ogilvie, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 20 *Protocols for oligonucleotides and analogs*, ed. S. Agrawal, páginas 81-  
20 114, Humana Press Inc. 1993). As L-rA(N-Bz)-, L-rC(Ac)-, L-rG(N-ibu)-, e L-rU- fosforamiditas foram adquiridas da ChemGenes, Wilmington, MA. O 5'-amino-modificador foi adquirido da American International Chemicals Inc. (Framingham, MA, EUA). A síntese do "spiegelmero" não modificado foi iniciada sobre o tamanho de poro de CPG modificado com L-riboG 1000 Å  
25 (Link Technology, Glasgow, UK); para o "spiegelmero" modificado com 3'-NH<sub>2</sub>, usou-se 3'-Aminomodificador-CPG, 1000 Å (ChemGenes, Wilmington, MA). Para o acoplamento (15 min. por ciclo), usou-se 0,3 M de benziltiotetrazol (CMS-Chemicals, Abingdon, UK) em acetonitrila, e 3,5 equivalentes da solução a 0,1 M de fosforamidita respectiva em acetonitrila.  
30 Usou-se um ciclo de oxidação-capeamento. Os solventes e os reagentes padrões adicionais para a síntese de oligonucleotídeos foram adquiridos da Biosolve (Valkenswaard, NL). O "spiegelmero" foi sintetizado DMT-ON; após

a desproteção, ele foi purificado via RP-HPLC preparativa (Wincott F. et al. (1995) *Nucleic Acids Res* 23:2677), usando o meio Source15RPC (Amersham). O grupo 5'DMT foi removido com ácido acético a 80% (30 min. na TA). Subseqüentemente, a solução aquosa a 2 M de NaOAc foi  
 5 adicionada e o "spiegelmero" foi dessalinizado por filtração de fluxo tangencial usando uma membrana de celulose regenerada de 5 K (Millipore, Bedford, MA).

### PEGuilação de NOX-E36

Para prolongar o tempo de residência no plasma do  
 10 "spiegelmero" *in vivo*, o "spiegelmero" NOX-E36 foi acoplado covalentemente a uma porção de polietileno glicol (PEG) de 40 kDa na extremidade de 3' ou na extremidade de 5'.

### 3'-PEGuilação de NOX-E36

Para a PEGuilação (quanto a detalhes técnicos do método para  
 15 a PEGuilação, vide o pedido de patente europeu EP 1 306 382), o "spiegelmero" modificado com 3'-amino purificado foi dissolvido em uma mistura de H<sub>2</sub>O (2,5 ml), DMF (5 ml), e tampão A (5 ml: preparado por mistura de ácido cítrico • H<sub>2</sub>O [7 g], ácido bórico [3,54 g], ácido fosfórico [2,26 ml], e NaOH a 1 M [343 ml] e adição de H<sub>2</sub>O até um volume final de 1  
 20 l; o pH = 8,4 foi ajustado com HCl a 1 M).

O pH da solução de "spiegelmero" foi levado para 8,4 com NaOH a 1 M. Então, o éster de PEG-NHS de 40 kDa (Nektar Therapeutics, Huntsville, AL) foi adicionado, a 37°C, a cada 30 min., em quatro porções de 0,6 equivalente, até um rendimento máximo de 75 a 85% ser atingido. O pH  
 25 da mistura de reação foi mantido a 8 - 8,5 com NaOH a 1 M durante a adição do éster de PEG-NHS.

A mistura de reação foi combinada com 4 ml de solução de uréia (8 M), 4 ml de tampão A, e 4 ml de tampão B (acetato de trietilamônio a 0,1 M em H<sub>2</sub>O) e aquecida para 95°C por 15 min.. O "spiegelmero" PEGuilado  
 30 foi então purificado por RP-HPLC com o meio Source 15RPC (Amersham), usando um gradiente de acetonitrila (tampão B; tampão C: acetato de trietilamônio a 0,1 M em acetonitrila). O PEG em excesso eluiu em 5% de

tampão C, o "spiegelmero" PEGuilado em 10 - 15% de tampão C. As frações de produto com uma pureza de >95% (como avaliada por HPLC) foram combinadas e misturadas com 40 ml de NaOAc a 3 M. O "spiegelmero" PEGuilado foi dessalinizado por filtração de fluxo tangencial (membrana de  
5 celulose regenerada de 5 K, Millipore, Bedford, MA).

#### 5'-PEGuilação de NOX-E36

Para a PEGuilação (quanto a detalhes técnicos do método para a PEGuilação, vide o pedido de patente europeu EP 1 306 382), o "spiegelmero" modificado com 5'-amino purificado foi dissolvido em uma  
10 mistura de H<sub>2</sub>O (2,5 ml), DMF (5 ml), e tampão A (5 ml: preparado por mistura de ácido cítrico • H<sub>2</sub>O [7 g], ácido bórico [3,54 g], ácido fosfórico [2,26 ml], e NaOH a 1 M [343 ml] e adição de água até um volume final de 1 l; o pH = 8,4 foi ajustado com HCl a 1 M).

O pH da solução de "spiegelmero" foi levado para 8,4 com  
15 NaOH a 1 M. Então, o éster de PEG-NHS de 40 kDa (Nektar Therapeutics, Huntsville, AL) foi adicionado, a 37°C, a cada 30 min., em seis porções de 0,25 equivalente, até um rendimento máximo de 75 a 85% ser atingido. O pH da mistura de reação foi mantido a 8 - 8,5 com NaOH a 1 M durante a adição do éster de PEG-NHS.

20 A mistura de reação foi combinada com 4 ml de solução de uréia (8 M), e 4 ml de tampão B (acetato de trietilamônio a 0,1 M em H<sub>2</sub>O) e aquecida para 95°C por 15 min.. O "spiegelmero" PEGuilado foi então purificado por RP-HPLC com o meio Source 15RPC (Amersham), usando um gradiente de acetonitrila (tampão B; tampão C: acetato de trietilamônio a  
25 0,1 M em acetonitrila). O PEG em excesso eluiu em 5% de tampão C, o "spiegelmero" PEGuilado em 10 - 15% de tampão C. As frações de produto com uma pureza de >95% (como avaliada por HPLC) foram combinadas e misturadas com 40 ml de NaOAc a 3 M. O "spiegelmero" PEGuilado foi dessalinizado por filtração de fluxo tangencial (membrana de celulose  
30 regenerada de 5 K, Millipore, Bedford, MA).

#### Exemplo 4: Determinação das Constantes de Ligação (Ensaio de Co-Imunoprecipitação)

##### Ensaio de co-imunoprecipitação direta

A afinidade dos aptâmeros pela  $\alpha$ -MCP-1 foi medida em um formato de ensaio de co-imunoprecipitação, a 20 ou 37°C, respectivamente. Os aptâmeros foram rotulados com 5'-fosfato pela T4 polinucleotídeo cinase (Invitrogen, Karlsruhe, Alemanha), usando o ATP rotulado com [ $\gamma$ - $^{32}$ P] (Hartmann Analytic, Braunschweig, Alemanha). A radioatividade específica dos aptâmeros rotulados era 200.000 - 800.000 cpm/pmol. Os aptâmeros foram incubados após a des- e a renaturação em concentração de 20 pM, a 37°C, em tampão de seleção (Tris-HCl a 20 mM pH 7,4; NaCl a 137 mM; KCl a 5 mM; MgCl<sub>2</sub> a 1 mM; CaCl<sub>2</sub> a 1 mM; 0,1% [p/vol] de Tween-20), juntamente com quantidades variadas de  $\alpha$ -MCP-1 biotinilada, por 4 - 12 horas, para atingir o equilíbrio em baixas concentrações. O tampão de seleção foi suplementado com 10  $\mu$ g/ml de soro albumina humana (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), e 10  $\mu$ g/ml de RNA de levedura (Ambion, Austin, EUA), para impedir a adsorção de pares de ligação com as superfícies dos artigos plásticos usados ou da matriz de imobilização. A faixa de concentrações da  $\alpha$ -MCP-1 biotinilada foi ajustada de 8 pM até 100 nM; o volume total de reação era 1 ml. O peptídeo e os complexos de peptídeo-aptâmero foram imobilizados sobre 1,5  $\mu$ l de partículas de Estreptatvidina Ultralink Plus (Pierce Biotechnology, Rockford, EUA) que tinham sido pré-equilibradas com tampão de seleção e ressuspensas novamente em um volume total de 6  $\mu$ l. As partículas foram mantidas em suspensão por 30 min., na temperatura respectiva, em um termomisturador. A radioatividade imobilizada foi quantificada em um contador de cintilação após remoção do sobrenadante e lavagem apropriada. A porcentagem de ligação foi representada graficamente contra a concentração de  $\alpha$ -MCP-1 biotinilada e as constantes de dissociação foram obtidas usando os algoritmos de softwares (GRAFIT; Software Erithacus; Surrey U.K.) assumindo uma estequiometria de 1:1.

### Ensaio de co-imunoprecipitação competitiva

Para comparar os diferentes aptâmeros que se ligam à  $\alpha$ -MCP-1, efetuou-se um ensaio de classificação competitiva. Para este propósito, o aptâmero mais afim foi rotulado radioativamente (vide acima) e serviu como referência. Após a des- e a renaturação, ele foi incubado a 37°C com  $\alpha$ -MCP-1 biotinizada, em 1 ml de tampão de seleção, em condições que resultaram em aproximadamente 5 - 10% de ligação ao peptídeo, após imobilização e lavagem sobre agarose de NeutrAvidina ou Estreptavidina Ultralink Plus (ambas da Pierce), sem competição. Um excesso das variantes de aptâmeros de D-RNA não rotulados, des- e renaturados, foi adicionado a diferentes concentrações (por exemplo, 2, 10, e 50 nM), com o aptâmero de referência rotulado, para correr paralelamente às reações de ligação. Os aptâmeros a serem testados competiram com o aptâmero de referência pela ligação ao alvo, assim diminuindo o sinal de ligação em dependência de suas características de ligação. O aptâmero que foi verificado ser o mais efetivo neste ensaio pôde então servir como uma nova referência para a análise comparativa de mais variantes de aptâmeros.

### Exemplo 5: Determinação da Concentração Inibitória em um Ensaio de Liberação de $\text{Ca}^{++}$

As células THP-1 (DSMZ, Braunschweig) foram cultivadas durante a noite, em uma densidade de células de  $0,3 \times 10^6/\text{ml}$ , a 37°C e 5% de  $\text{CO}_2$ , em meio RPMI 1640, com GlutaMAX (Invitrogen), que continha, além disso, 10% de soro de bezerro fetal, 50 unidades/ml de penicilina, 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de estreptomicina e 50  $\mu\text{M}$  de  $\beta$ -mercaptoetanol.

Os "spiegelmeros" foram incubados juntamente com a MCP-1 humana recombinante (Bachem) em solução de sal balanceada de Hanks (HBSS), contendo 1 mg/ml de soro albumina bovina, 5 mM de probenecid e 20 mM de HEPES (HBSS+), por 15 a 60 min., a 37°C, em uma placa de 96 tubos, de baixo contorno, de 0,2 ml ("solução de estimulação").

Para a carga com o corante indicador de cálcio, as células foram centrifugadas a  $300 \times g$  por 5 min., suspensas novamente em 4 ml de solução de corante indicador (10  $\mu\text{M}$  de fluo-4 [Molecular Probes], 0,08% de

pluronic 127 [Molecular Probes] em HBSS+) e incubadas por 60 min., a 37°C. Após isso, 11 ml de HBSS+ foram adicionados e as células foram centrifugadas conforme acima descrito, lavadas uma vez com 15 ml de HBSS+ e então suspensas novamente em HBSS+ para dar uma densidade  
5 de células de  $1,1 \times 10^6/\text{ml}$ . 90  $\mu\text{l}$  desta suspensão de células foram adicionados a cada cavidade de uma placa de 96 cavidades, preta.

A medição dos sinais de fluorescência foi feita em um comprimento de ondas de excitação de 485 nm e um comprimento de ondas de emissão de 520 nm, em uma leitora de placas de multidetecção Fluostar  
10 Optima (BMG). Para a medição em paralelo das diversas amostras, as cavidades de uma fileira (perpendicular) de uma placa de 96 cavidades foram registrados juntos. As primeiras três leituras, com uma defasagem de 4 s, foram feitas para a determinação da linha de base. Então, o registro foi interrompido e a placa foi movida do instrumento. Usando uma pipeta de  
15 múltiplos canais, 10  $\mu\text{l}$  da solução de estimulação foram adicionados aas cavidades, então a placa foi movida para o instrumento novamente e a medição foi continuada. No total, foram efetuados 20 registros com intervalos de tempo de 4 segundos.

Para cada cavidade, a diferença entre a fluorescência máxima e  
20 o valor de linha de base foi determinada e representada graficamente contra a concentração de MCP-1 ou, nos experimentos sobre a inibição da liberação de cálcio pelos "spiegelmeros", contra a concentração de "spiegelmero".

#### **Determinação da concentração semi-efetiva máxima ( $\text{EC}_{50}$ ) para a MCP- 25 1 humana**

Após a estimulação das células THP-1 com as diversas concentrações de hMCP-1 e a representação gráfica da diferença entre os sinais máximos e da linha de base, uma curva de resposta à dose para a MCP-1 humana foi obtida, indicando uma concentração semi-efetiva ( $\text{EC}_{50}$ )  
30 de cerca de 2 - 4 nM (Figura 11). Esta concentração foi usada para os experimentos adicionais sobre a inibição da liberação de  $\text{Ca}^{++}$  pelos "spiegelmeros".

### **Determinação da concentração semi-efetiva máxima (EC<sub>50</sub>) para a MCP-1 de murino**

Após a estimulação das células THP-1 com as diversas concentrações de mMCP-1 e a representação gráfica da diferença entre os sinais máximos e da linha de base, uma curva de resposta à dose para a MCP-1 de murino foi obtida, indicando uma concentração semi-efetiva (EC<sub>50</sub>) de cerca de 5 nM (Figura 28). Esta concentração foi usada para os experimentos adicionais sobre a inibição da liberação de Ca<sup>++</sup> pelos "spiegelmeros".

### **Exemplo 6: Determinação da Concentração Inibitória em um Ensaio de Quimiotaxia**

As células THP-1, desenvolvidas conforme descrito acima, foram centrifugadas, lavadas uma vez em HBH (HBSS, contendo 1 mg/ml de soro albumina bovina e 20 mM de HEPES) e suspensas novamente a  $3 \times 10^6$  células/ml. 100 µl desta suspensão foram adicionados aos insertos Transwell com poros de 5 µm (Corning, nº 3421). Nos compartimentos inferiores, a MCP-1 foi pré-incubada juntamente com os "spiegelmeros" em diversas concentrações, em 600 µl de HBH, a 37°C, por 20 a 30 min., antes da adição das células. As células foram deixadas migrar a 37°C por 3 horas. Após isso, os insertos foram removidos e 60 µl de resazurina a 440 µM (Sigma) em solução salina tamponada com fosfato foram adicionados aos compartimentos inferiores. Após incubação a 37°C por 2,5 horas, a fluorescência foi medida em um comprimento de ondas de excitação de 544 nm e um comprimento de ondas de emissão de 590 nm, em uma leitora de placas de multidetecção Fluostar Optima (BMG).

### **Determinação da concentração semi-efetiva máxima (EC<sub>50</sub>) para a MCP-1 humana**

Após 3 horas de migração das células THP-1 para as diversas concentrações de MCP-1 humana, obteve-se uma curva de resposta à dose para a MCP-1 humana, indicando uma concentração efetiva máxima de cerca de 1 nM e ativação reduzida nas concentrações mais elevadas (Figura 14). Para os experimentos adicionais sobre a inibição da quimiotaxia pelos

"spiegelmeros", utilizou-se uma concentração de MCP-1 de 0,5 nM.

### **Determinação da concentração semi-efetiva máxima (EC<sub>50</sub>) para a MCP-1 de murino**

Após 3 horas de migração das células THP-1 para as diversas concentrações de MCP-1 de murino, obteve-se uma curva de resposta à dose para a MCP-1 de murino, indicando uma concentração efetiva máxima de cerca de 1 - 3 nM e ativação reduzida nas concentrações mais elevadas (Figura 30). Para os experimentos adicionais sobre a inibição da quimiotaxia pelos "spiegelmeros", utilizou-se uma concentração de MCP-1 de murino de 0,5 nM.

### **Exemplo 7: Análise da Ligação por Medição da Ressonância Plasmônica de Superfície**

#### 7.1 Avaliação da especificidade de NOX-E36, 181-A2-018 e mNOX-E36

O instrumento Biacore 2000 (Biacore AB, Uppsala, Suécia) foi usado para analisar a ligação dos ácidos nucleicos à MCP-1 humana e proteínas relacionadas. Quando o acoplamento era para ser atingido via grupos amina, as proteínas foram dialisadas contra a água, por 1 - 2 h (ésteres de celulose mistos VSWP da Millipore; tamanho do poro, 0,025 µm), para remover as aminas interferentes. Os chips de sensor PioneerF1 ou CM4 (Biacore AB) foram ativados antes do acoplamento da proteína por uma injeção de 35 µl de uma diluição a 1:1 de NHS a 0,4 M e EDC a 0,1 M, em um fluxo de 5 µl/min.. A quimiocina foi então injetada em concentrações de 0,1 - 1,5 µg/ml, em um fluxo de 2 µl/min., até que a resposta do instrumento estivesse na faixa de 1000 - 2000 RU (unidades relativas). Os ésteres de NHS não-reagidos foram desativados por injeção de 35 µl de solução de cloridrato de etanolamina (pH 8,5), em um fluxo de 5 µl/min. O chip de sensor foi iniciado duas vezes com tampão de ligação e equilibrado a 10 µl/min., por 1 - 2 horas, até que a linha de base parecesse estável. Para todas as proteínas, os parâmetros cinéticos e as constantes de dissociação foram avaliados por uma série de injeções de "spiegelmeros", em concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, e 0 nM em tampão de seleção (Tris-HCl, 20 mM; NaCl, 137 mM; KCl, 5 mM; CaCl<sub>2</sub>, 1 mM;



MgCl<sub>2</sub>, 1 mM; Tween20, 0,1% [p/v]; pH 7,4). Em todos os experimentos, a análise foi efetuada a 37°C, usando o comando Kinject que define um tempo de associação de 180 e um tempo de dissociação de 360 segundos, em um fluxo de 10 µl/min.. A análise dos dados e o cálculo das constantes de dissociação (K<sub>D</sub>) foram feitos com o software BIAevaluation 3.0 (BIACORE AP, Uppsala, Suécia), usando o algoritmo de adaptação estequiométrica Langmuir 1:1.

#### 7.1.1 NOX-E36 e 181-A2-018 (ácidos nucléicos específicos para a MCP-1 humana)

10                Somente para a MCP-1 humana, todos os sensorgramas são representados (Figuras 17 e 20, respectivamente); para as outras proteínas; somente o sensorgrama obtido com a concentração de "spiegelmero" de 125 nM é mostrado no interesse de clareza (Figuras 18/19 e 21/22).

15                Análise da interação entre NOX-E36•hMCP-1: a MCP-1 humana recombinante foi imobilizada sobre um chip de sensor PioneerF1, seguindo as recomendações do fabricante (procedimento de acoplamento de amina), até que uma resposta do instrumento de 1381 RU (unidades relativas) fosse estabelecida. A constante de dissociação (K<sub>D</sub>) determinada para a ligação do NOX-E36 à MCP-1 humana foi cerca de 890 pM (Figura 17).

20                Análise da interação entre 181-A2-018•hMCP-1: a MCP-1 humana recombinante foi imobilizada sobre um chip de sensor CM4, seguindo as recomendações do fabricante (procedimento de acoplamento de amina), até que uma resposta do instrumento de 3111 RU (unidades relativas) fosse estabelecida. A constante de dissociação (K<sub>D</sub>) determinada para a ligação do 181-A2-018 à MCP-1 humana foi cerca de 370 pM (Figura 20).

25                Para determinar a especificidade do NOX-E36 e do 181-A2-018, diversas proteínas da família de MCP-1 humana e também a eotaxina humana foram imobilizadas sobre um chip de sensor PioneerF1 e um CM4  
30                (hMCP-1, 1754 RU; hMCP-2, 1558 RU; hMCP-3, 1290 RU; eotaxina, 1523 RU). A análise cinética revelou que o NOX-E36 se liga à eotaxina e à hMCP-2 com constantes de dissociação (K<sub>D</sub>) de 5 - 10 nM; a hMCP-3 não foi

reconhecida (Figuras 18 e 24A). O 181-A2-018, em contraste, liga a eotaxina, a hMCP-2 e a hMCP-3, porém com afinidade ligeiramente menor (10 - 20 nM; Figuras 21 e 24A).

A reatividade cruzada entre as espécies de NOX-E36 e 181-A2-018 foi avaliada usando MCP-1 imobilizada por acoplamento de amino de ser humano (1460 RU), macaco (1218 RU), porco (1428 RU), cão (1224 RU), coelho (1244 RU), rato (1267 RU), e camundongo (1361 RU), sobre um chip de sensor PioneerF1 e um CM4. A análise cinética revelou que o NOX-E36 liga-se à MCP-1 humana, de macaco, de porco, e de cão com constantes de dissociação ( $K_D$ ) comparáveis de 0,89 - 1,2 nM, enquanto que a MCP-1 de camundongo, de rato e de coelho não foi reconhecida (Figuras 19 e 24A). O 181-A2-018 se liga à MCP-1 humana e de macaco com constantes de dissociação ( $K_D$ ) comparáveis de 0,5-0,6 nM, enquanto que a MCP-1 de porco, de coelho e de cão é ligada com afinidade muito menor. A MCP-1 de rato e de camundongo não foi reconhecida pelo NOX-A2-018 (Figuras 22 e 24A).

As seqüências e também o grau de homologia em por cento de aminoácidos idênticos entre a proteína MCP-1 de diferentes espécies e as proteínas humanas estreitamente relacionadas são representados na Figura 23; os valores de  $K_D$  calculados para o NOX-E36 e o 181-A2-018 são mostrados no formato de tabelas, na Figura 24A.

#### 7.1.2 mNOX-E36 (ácido nucléico específico para a MCP-1 de murino)

Para analisar o comportamento de ligação do mNOX-E36, 3759 RU da  $\alpha$ -MCP-1 de murina biotinilada sintética (célula de fluxo 3) e 3326 RU de  $\alpha$ -MCP-1 humana biotinilada (célula de fluxo 4) foram imobilizados sobre um chip de sensor conjugado à Estreptavidina (Biacore AB, Freiburg, Alemanha), respectivamente. As soluções de aptâmero mNOX-E36 (D-RNA) de 500, 250, 125, 62,5, 31,25, e 0 nM foram injetadas usando o comando Kinject que define um tempo de associação de 180 s e um tempo de dissociação de 360 s. A célula de fluxo 1 foi usada como tampão e controle de matriz de dextrana (Biacore superfície de SA-Chip), enquanto que sobre a célula de fluxo 2, um D-peptídeo não-específico foi imobilizado para

determinar a ligação não-específica do aptâmero. A Figura 32 mostra um sensorgrama da cinética de  $\alpha$ -NOX-E36 para a ligação à  $\alpha$ -MCP-1 de murino com uma constante de dissociação ( $K_D$ ) calculada de 200 - 300 pM. O  $\alpha$ -NOX-E36 não liga a  $\alpha$ -MCP-1 humana (Figura 33); no interesse de clareza, somente o sensorgrama obtido com 125 nM de "spiegelmero" é mostrado.

### 7.2 Avaliação da seletividade do NOX-E36

A seletividade do NOX-E36 foi avaliada por análise de ressonância plasmônica de superfície, através de imobilização do NOX-E36 5'biotinilado sobre uma Estreptavidina (SA-Chip). 352 RU de NOX-E36 sobre a célula de fluxo (FC) 1 e uma quantidade igual de "spiegelmero" de controle não-funcional, biotinilado, 5' terminal (POC) sobre a FC 2 foram imobilizados por ligação de estreptavidina/biotina. A FC3 foi usada como controle de superfície para determinar a ligação não-específica à superfície do sensor de dextrana-SA.

100 nM de um painel de quimiocinas humanas a partir de todos os quatro subgrupos (CC, CXC, CX<sub>3</sub>C, e XC) foram injetados por 360 s e os complexos foram deixados dissociar por 360 s, em um fluxo de 10  $\mu$ l/min. e 37°C. As unidades de resposta após a associação (Resp. 1; grau de interação) e após a dissociação (Resp. 2, afinidade de interação) foram representadas graficamente. Após cada injeção, a superfície do chip foi regenerada com uns 240 s de cloreto de sódio a 1 M com 0,1% de Tween; os "spiegelmeros" imobilizados foram subsequentelemente deixados dobrar por 2 minutos em condições fisiológicas (tampão de corrida). A injeção de cada quimiocina foi repetida 3 vezes. A CXCL1, a CXCL2, a CXCL6 e a CXCL9 mostraram ligação não-específica aos ácidos ribonucleicos e à superfície de dextrana do chip. A ligação específica com alta afinidade ao NOX-E36 imobilizado somente pôde ser detectada para CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL11/eotaxina, CCL3/MIP1 $\alpha$ , e CXCL7/NAP-2 (Figura 24B). A verificação que a MCP-2 e a eotaxina estão ligadas pelo NOX-E36 não é surpreendente, devido à homologia relativamente alta entre estas quimiocinas e a MCP-1 de 62 e 70%, para os positivos inesperados CCL3/MIP-1 $\alpha$  e CXCL7/NAP-2, os testes *in vitro* quanto à inibição funcional

foram efetuados ou estão atualmente sendo estabelecidos, respectivamente.

Finalmente, os parâmetros cinéticos da interação entre NOX-E36 e CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL11/eotaxina, CCL3/MIP1 $\alpha$ , CXCL7/NAP-2, CCL7/MCP-3 e CCL13/MCP-4 foram determinados no sistema "invertido". Aqui, as quimiocinas foram imobilizadas e o NOX-E36 livre foi injetado (quanto ao protocolo detalhado, vide 7.1). Os dados cinéticos são resumidos na Figura 24C.

### 7.3 Avaliação da Funcionalidade anti-MIP-1 $\alpha$ *in vitro*

As medições por Biacore mostraram reatividade cruzada do NOX-E36 com a MIP-1 $\alpha$ . Empregando-se um ensaio *in vitro* à base de cultura de células, funcional, deve ser checado se a mera ligação por Biacore do NOX-E36 à MIP-1 $\alpha$  também se traduz em funcionalidade, por exemplo, antagonismo.

Para obter isto, os experimentos de quimiotaxia com as células THP-1 foram efetuados, que podem ser estimulados por MIP-1 $\alpha$ . As células THP-1, desenvolvidas conforme descrito acima, foram centrifugadas, lavadas uma vez em HBH (HBSS, contendo 1 mg/ml de soro albumina bovina e 20 mM de HEPES) e suspensas novamente a  $3 \times 10^6$  células/ml. 100  $\mu$ l desta suspensão foram adicionados aos insertos Transwell com poros de 5  $\mu$ m (Corning, nº 3421). Nos compartimentos inferiores, a MIP-1 $\alpha$  foi pré-incubada juntamente com os "spiegelmeros" em diversas concentrações, em 600  $\mu$ l de HBH, a 37°C, por 20 a 30 min., antes da adição das células. As células foram deixadas migrar a 37°C por 3 horas. Após isso, os insertos foram removidos e 60  $\mu$ l de resazurina a 440  $\mu$ M (Sigma) em solução salina tamponada com fosfato foram adicionados aos compartimentos inferiores. Após incubação a 37°C por 2,5 horas, a fluorescência foi medida em um comprimento de ondas de excitação de 544 nm e um comprimento de ondas de emissão de 590 nm, em uma leitora de placas de multidetecção Fluostar Optima (BMG).

Após 3 horas de migração das células THP-1 para as diversas concentrações de MIP-1 $\alpha$  humana, obteve-se uma curva de resposta à dose para a MIP-1 $\alpha$  humana, indicando uma concentração semi-efetiva máxima

de cerca de 1 nM e ativação reduzida nas concentrações mais elevadas (Figura 24D). Para os experimentos adicionais sobre a inibição da quimiotaxia pelos "spiegelmeros", utilizou-se uma concentração de MIP-1 $\alpha$  de 0,5 nM.

- 5 Os experimentos para a determinação da inibição da quimiotaxia pelo NOX-E36 foram efetuados com um estímulo de 0,5 nM de MIP-1 $\alpha$ . Pôde ser claramente mostrado que o NOX-E36 não inibe a quimiotaxia induzida pela MIP-1 $\alpha$  até a concentração mais alta testada de 1  $\mu$ M de MIP-1 $\alpha$ . Como controle positivo, o experimento respectivo com a MCP-1 como  
10 estímulo foi efetuado em paralelo (Figura 24E).

**Exemplo 8: Terapia da doença similar ao lúpus em camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> com o "spiegelmero" anti-mMCP-1**

- O bloqueio dos mediadores pró-inflamatórios tornou-se uma abordagem bem-sucedida para o tratamento de inflamação crônica  
15 (Steinman 2004). Além do TNF e das interleucinas, as quimiocinas CC são candidatas importantes para o antagonismo específico, porque as quimiocinas CC mediam o recrutamento de leucócitos a partir do espaço intravascular para os locais de inflamação (Baggiolini 1998, Luster 2005). Há uma evidência muito forte que a MCP-1 (= CCL2) e o seu receptor de  
20 quimiocina respectivo CCR2 desempenham uma função crucial na lesão do tecido auto-imune, tal como as manifestações clínicas de lúpus eritematoso sistêmico (Gerard e Rollins 2001). Por exemplo, os camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> deficientes para o gene *Ccl2* ou o *Ccr2* são protegidos da auto-imunidade similar ao lúpus (Perez de Lema 2005, Tesch 1999). Portanto, o eixo  
25 CCL2/CCR2 pode representar um alvo terapêutico promissor, por exemplo, a nefrite por lúpus. Na realidade, a terapia de gene retardada ou a transferência de células transfectadas, ambas resultando na produção *in situ* de uma MCP-1 truncada com NH<sub>2</sub>, marcadamente reduziram a lesão ao tecido auto-imune nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>. Entretanto, tais abordagens  
30 experimentais não podem ser usadas em seres humanos por causa da produção de antagonista irreprimível e da formação de tumor (Hasegawa 2003, Shimizu 2004). Portanto, permanece necessário desenvolver novos

antagonistas de CCL2 com perfis favoráveis de farmacocinética *in vivo*. Neste exemplo, mostra-se que o bloqueio da CCL2 de murino com o "spiegelmero" anti-mCCL2 mNOX-E36 ou mNOX-E36-3'PEG seria adequado para o tratamento de nefrite por lúpus e outras manifestações de doença de lúpus eritematoso sistêmico. O início tardio da terapia com o "spiegelmero" mCCL2 efetivamente melhora a nefrite por lúpus, a peribronquite auto-imune, e a doença da pele similar ao lúpus em camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>, independente de qualquer problema anterior associado com o bloqueio de CCL2/CCR2 terapêutico.

#### 10 *Animais e Protocolo Experimental*

Os camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> fêmeos de dez semanas de idade foram obtidos de Harlan Winkelmann (Borchen, Alemanha) e mantidos sob condições normais de alojamento em um ciclo de luz e escuridão de 12 horas. Água e comida padrão (Ssniff, Soest, Alemanha) estavam disponíveis *ad libitum*. Na idade de 14 semanas, os grupos de 12 camundongos receberam injeções subcutâneas dos "spiegelmeros" em 5 % de glicose (volume de injeção, 4 ml/kg), três vezes por semana, como se segue: mNOX-E36, 1,5 µmol/kg; mNOX-E36-3'PEG, 0,9 µmol/kg; "spiegelmero" de controle não-funcional PoC (5'-UAAGGAAACUCGGUCUGAUGCGGU AGCGCUGUGCAGAGCU-3'), 1,9 µmol/kg; PoC-PEG, 0,9 µmol/kg; veículo (5 % de glicose). Os níveis no plasma de mNOX-E36 e mNOX-E36-3'PEG foram determinados a partir das amostras de sangue retiradas semanalmente do seio retroorbital, 3 ou 24 horas após a injeção, respectivamente. Os níveis de "spiegelmero" nas amostras de plasmas foram determinados por uma modificação do método de hibridização em sanduíche conforme descrito no Exemplo 8. Os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical no final de 24 semanas de idade.

#### *Avaliação do lúpus sistêmico*

As lesões da pele foram registradas por um escore semiquantitativo (Schwartz 2005). A razão em peso de baço e o volume dos linfonodos mesentéricos para o peso total do corpo foram calculados como marcadores da síndrome linfoproliferativa associada ao lúpus. As

amostras de sangue e urina foram coletadas de cada animal, no final do período de estudo, por sangramento do plexo venoso retroorbital, sob anestesia geral com éter inalado. As amostras de sangue e urina foram coletadas de cada animal no final do estudo e a razão de albumina/creatina e os títulos de isótipos de IgG de auto-anticorpos paraa dsDNA no soro foram determinados conforme anteriormente descrito (Pawar 2006). A taxa de filtração glomerular (GFR) foi determinada em 24 semanas pela cinética de depuração de FITC-inulina no plasma (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), 5, 10, 15, 20, 35, 60, e 90 minutos após uma única injeção de bolo (Qi 2004). A fluorescência foi determinada com excitação a 485 nm e leitura em emissão a 535 nm. A GFR foi calculada com base em um modelo de dois compartimentos, usando um software de adaptação à curva de regressão não-linear (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Os níveis de citocinas no soro foram determinados usando kits comerciais de ELISA para IL-6, IL-12p40 (OptEiA, BD Pharmingen), e IFN- $\alpha$  (PBL Biomedical Labs, EUA). A partir de todos os camundongos, os rins e os pulmões foram fixados em formalina tamponada a 10%, processados, e incrustados em parafina. As seções de 5  $\mu$ m para as colorações com prata e ácido periódico-Schiff foram preparadas seguindo protocolos de rotina (Anders 2002). A gravidade das lesões renais foi graduada usando os índices para atividade e cronicidade, conforme descritos para a nefrite por lúpus humana (Austin 1984), e a morfometria da lesão intersticial renal foi conduzida conforme anteriormente descrito (Anders 2002). A gravidade da inflamação peribronquial foi graduada de modo semiquantitativo de 0-4. Para a imunocoloração, as seções de tecidos fixados em formalina e incrustados em parafina foram removidas da cera e hidratadas novamente. A peroxidase endógena foi bloqueada por peróxido de hidrogênio a 3 % e a recuperação do antígeno foi efetuada em Solução de Recuperação de Antígeno (Vector, Burlingame, CA) em um forno de autoclave. A biotina foi bloqueada usando o Kit de bloqueio de Avidina/Biotina (Vector). As lâminas foram incubadas com os anticorpos primários por uma hora, seguidos pelos anticorpos secundários biotinilados (anti-IgG de rato, Vector), e o reagente ABC

(Vector). As lâminas foram lavadas em solução salina tamponada com fosfato entre as etapas de incubação. A 3'3'Diaminobenzidina (DAB, Sigma, Taufkirchen, Alemanha) com reforço de metal foi usada como sistema de detecção, resultando em um produto de cor preta. O verde de metila foi usado como um contracorante, as lâminas foram desidratadas e montadas em Histomount (Zymed Laboratories, San Francisco, CA). Os seguintes anticorpos primários foram usados: anti-Mac2 em rato (macrófagos, Cederlane, Ontario, Canadá, 1:50), anti-CD3 de camundongo (1:100, clone 500A2, BD), anti-IgG<sub>1</sub> de camundongo (1:100, M32015, Caltag Laboratories, Burlingame, CA, EUA), anti-IgG<sub>2a</sub> de camundongo (1:100, M32215, Caltag), anti-C3 de camundongo (1:200, GAM/C3c/FITC, Nordic Immunological Laboratories, Tilburg, Países Baixos). Os controles negativos incluíram a incubação com um anticorpo de isótipo respectivo. Para a análise quantitativa, as células glomerulares foram contadas em 15 glomérulos corticais por secção. Os depósitos de Ig e C3c glomerulares foram classificados de 0-3 sobre as 15 seções glomerulares corticais.

#### *Preparação do RNA e RT-PCR quantitativa em tempo real (TaqMan)*

O tecido renal de cada camundongo foi congelado rapidamente em nitrogênio líquido e armazenado a -80°C. A partir de cada animal, a preparação de RNA renal total e a transcrição reversa foram efetuadas conforme descrito (Anders 2002). O iniciadores e as sondas eram da PE Biosystems, Weiterstadt, Alemanha. Os iniciadores usados (300 nM), usados para a detecção de *rRNA* de *Ccl2*, *Ccl5* e *18S*, eram o reagente do ensaio TaqMan pré-desenvolvido da PE Biosystems.

#### *Citometria de fluxo*

As amostras totais de sangue e medula óssea foram obtidas a partir dos camundongos de todos os grupos, no final do estudo. A citometria de fluxo foi efetuada usando uma máquina FACScalibur e o anticorpo anti-mCCR2 MC21 anteriormente caracterizado (Mack 2001). O anticorpo anti-IgG de rato biotinilado (BD Biosciences) foi usado para a detecção. Uma IgG<sub>2b</sub> de rato (BD Biosciences) foi usada como um controle de isótipo.



### *Análise estatística*

Os dados foram expressos como a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM). A comparação entre os grupos foi efetuada usando ANOVA de apenas uma variável. A correção de Posthoc Bonferroni foi usada para  
5 comparações múltiplas. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado indicar significado estatístico.

### *Ensaio de Hibridização em Sanduíche*

A quantidade de "spiegelmero" nas amostras foi quantificada por um ensaio de hibridização em sanduíche, com base em um ensaio como  
10 descrito por Drolet et al. 2000 (*Pharm Res* 17:1503). As amostras de sangue foram coletadas em paralelo para acompanhar a depuração de NOX-E36 no plasma. Os tecidos selecionados foram preparados para determinar as concentrações de "spiegelmero".

### Preparação da placa de hibridização

15 O "spiegelmero" mNOX-E36 foi quantificado usando um ensaio de hibridização em sanduíche não-validado. Resumidamente, a sonda de captura de mNOX-E36 (Seq.ID.: 281) foi imobilizada em placas de 96 cavidades DNA-BIND brancas (Corning Costar, Wiesbaden, Alemanha), a 0,75 mM, em fosfato de sódio a 0,5 M, EDTA a 1 mM, pH 8,5, durante a  
20 noite, a 4°C. As cavidades foram lavados duas vezes e bloqueados com 0,5% p/v de BSA em fosfato de sódio a 0,25 M, EDTA a 1 mM, pH 8,5, por 3 h, a 37°C, lavados novamente e armazenados a 4°C até o uso. Antes da hibridização, as cavidades foram pré-aquecidos para 37°C e lavados duas vezes com tampão de lavagem pré-aquecido (3 $\times$ SSC, 0,5% [p/v] de dodecil  
25 sarcosinato de sódio, pH 7,0; antecipadamente um estoque de 20 $\times$  [NaCl a 3 M, Na<sub>3</sub>Citrato a 0,3 M] é preparado sem a lauroilsarcosina de sódio e diluído de forma correspondente).

### Preparação da amostra

Todas as amostras foram testadas em duplicata. As amostras  
30 plasmáticas foram descongeladas sobre gelo, redemoinhadas e giradas brevemente em uma centrífuga de tampo de mesa esfriada. Os homogeneizados de tecido foram congelados na TA e centrifugados 5 min.

em uma velocidade máxima e na TA. Somente 5 µl de cada amostra foram removidos para o ensaio, e mais tarde retornados para o freezer para a armazenagem. As amostras foram diluídas com tampão de hibridização (sonda de detecção de mNOX-E36 a 8 nM [Seq.ID:282] em tampão de lavagem), na TA, de acordo com o seguinte esquema:

|         |                 |                                    |
|---------|-----------------|------------------------------------|
| 1:30    | 5 µl de amostra | + 145 µl de tampão de hibridização |
| 1:300   | 20 µl 1:30      | + 180 µl de tampão de hibridização |
| 1:3000  | 20 µl 1:300     | + 180 µl de tampão de hibridização |
| 1:30000 | 20 µl 1:3000    | + 180 µl de tampão de hibridização |

Todas as diluições da amostra foram testadas. O padrão de mNOX-E36 foi diluído em série até uma curva de calibração de ponto 8, alcançando a faixa de 0-4 nM. Nenhuma amostra de QC foi preparada e testada. O padrão de calibração era idêntico àquele das amostras em estudo.

#### Hibridização e detecção

As amostras foram aquecidas por 10 min. a 95°C e esfriadas para 37°C. Os complexos de "spiegelmero"/sonda de detecção foram anelados às sondas de captura imobilizadas, por 30 min., a 37°C. Os "spiegelmeros" não-ligados foram removidos por lavagem duas vezes com tampão de lavagem e 1× TBST (Tris-Cl a 20 mM, NaCl a 137 mM, 0,1% Tween 20, pH 7,5), respectivamente. Os complexos hibridizados foram detectados por estreptavidina fosfatase alcalina diluídas 1:5000 em 1× TBST, por 1 h, na temperatura ambiente. Para remover o conjugado não-ligado, as cavidades foram lavados novamente com 1× TBST e Tris-Cl a 20 mM, MgCl<sub>2</sub> a 1 mM, pH 9,8 (duas vezes cada). As cavidades foram finalmente enchedos com 100 ml de substrato de CSDP (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemanha) e incubados por 45 min. na temperatura ambiente. A quimioluminescência foi medida sobre uma leitora de microplacas FLUOstar Optima (BMG Labtechnologies, Offenburg, Alemanha).

#### Análise dos dados

Foram usadas as seguintes diluições das amostras testadas para a análise quantitativa de dados:

plasma de EDTA de rato 1:2000

O dado obtido a partir do grupo de veículo (não foi administrado nenhum "spiegelmero") foi subtraído como sinal de fundo.

O ensaio de hibridização em sanduíche, conforme descrito neste documento, também funciona em um modo similar para os "spiegelmeros" NOX-36, NOX-E36-5'-PEG e NOX-E36-3'-PEG, pelo que a sonda de captura de NOX-E36 respectiva (Seq.ID:255) e a sonda de detecção de NOX-E36 respectiva (Seq.ID:256) têm de ser usadas (dados não mostrados).

### Resultados

*O mNOX-E36-3'PEG melhora a sobrevivência e a doença do rim em camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>*

Os camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> fêmeos desenvolveram e subseqüentemente morreram de glomerulonefrite proliferativa de complexo imune com similaridades impressionantes à nefrite por lúpus proliferativa difusa em seres humanos. Neste projeto de estudo terapêutico, os camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> tratados foram tratados com "spiegelmero" anti-mCCL2 peguado e não-peguido, "spiegelmero" de controle ("PoC") peguado e não-peguido ou veículo a partir da semana 14 até 24 de idade. Neste ponto de tempo, os camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> tratados com veículo, PoC ou PoC-PEG mostraram glomerulonefrite proliferativa difusa, caracterizada por infiltração de macrófagos glomerulares e um infiltrado misto de células inflamatórias periglomerulares e intersticiais consistindo em macrófagos positivos para Mac2 glomerulares e intersticiais e linfócitos positivos para CD3 intersticiais (Figuras 34 e 35). O mNOX-E36-3'PEG melhorou o índice de atividade e cronicidade da nefrite por lúpus e também os marcadores antes mencionados da inflamação renal (Figura 35). A molécula não-peguida mNOX-E36 foi menos efetiva sobre o índice de cronicidade e as contagens de macrófagos e células T intersticiais (Figura 35). A doença do rim crônica avançada foi adicionalmente ilustrada por atrofia tubular e áreas confluentes de fibrose intersticial nos camundongos tratados com veículo, PoC, e PoC-PEG (Figura 34). Aplicando-se a morfometria para quantificar estas alterações, verificou-se que o mNOX-E36 peguido e não-peguido reduziu o volume intersticial, o dano da célula tubular, e a dilatação tubular,

todos sendo marcadores da gravidade e do prognóstico de doença de rim crônica (Figura 36). O mNOX-E36-3'PEG, porém não o mNOX-E36 não-peguido, melhorou a mortalidade em 50% (Figura 37). Assim, o mNOX-E36-3'PEG pode reduzir o número de infiltrados de macrófagos e células T renais e melhorar a nefrite por lúpus e a sobrevivência (renal) dos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>. Para estudar se o tratamento com mNOX-E36 e mNOX-E36-3'PEG afeta a inflamação intra-renal nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>, a RT-PCR em tempo real foi efetuada para avaliar os níveis de expressão das quimiocinas pró-inflamatórias CCL2 e CCL5, as quais foram anteriormente mostradas serem progressivamente supra-reguladas nos rins dos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> durante a progressão da doença renal (Perez de Lema 2001). O tratamento com mNOX-E36 e mNOX-E36-3'PEG a partir da semana 14 até 24 de idade reduziu a expressão renal do mRNA de CCL2 e CCL5, comparado aos controles tratados com veículo (Figura 38).

#### 15 *Os "spiegelmeros" anti-CCL2 reduzem a lesão do tecido auto-imune extra-renal nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>*

A pele e os pulmões são também comumente afetados de lesão do tecido auto-imune nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>. Nos camundongos tratados com veículo, a doença do pulmão auto-imune foi caracterizada por infiltrados de células inflamatórias peribroquiolares e perivasculares moderados e as lesões da pele foram observadas em 60% dos camundongos (Figuras 39, 40 e 35). O mNOX-E36 e o mNOX-E36-3'PEG ambos reduziram a inflamação peribronquial e a doença da pele, comparados aos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> tratados com veículo, PoC, e PoC-PEG, respectivamente (Figuras 39, 40 e 35). Portanto, os efeitos dos "spiegelmeros" específicos para CCL2 não estão limitados à nefrite por lúpus, porém estendem-se até outras manifestações de lesão do tecido auto-imune nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>.

#### 25 *mNOX-E36 e a síndrome linfoproliferativa, auto-anticorpos para dsDNA, e níveis de citocina no soro nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>*

Os camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> fêmeos desenvolvem uma síndrome linfoproliferativa caracterizada por forte esplenomegalia e volumes de

linfonodos cervicais, axilares, inguinais, e mesentéricos. O mNOX-E36 e o mNOX-E36-3'PEG ambos não tiveram nenhum efeito sobre o peso dos baços e dos linfonodos nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> (Figura 41). A auto-imunidade nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> é caracterizada pela produção de auto-anticorpos contra múltiplos antígenos nucleares, incluindo o dsDNA. Nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> de 24 semanas de idade, os auto-anticorpos de IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2a</sub>, IgG<sub>2b</sub> para dsDNA no soro estavam presentes em altos níveis. O mNOX-E36 e o mNOX-E36-3'PEG ambos não tiveram nenhum efeito sobre cada um destes auto-anticorpos para DNA (Figura 41). A doença similar ao lúpus nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> tratados com veículo foi caracterizada por níveis elevados no soro de IFN- $\alpha$ , IL-12p40, e IL-6. O mNOX-E36 e o mNOX-E36-3'PEG ambos não tiveram nenhum efeito sobre cada um destes mediadores inflamatórios (Figura 41). Assim, ambas as variantes de mNOX-E36 não afetam a linfoproliferação, a produção de IgG anti-dsDNA, e os níveis de citocinas no soro nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>.

*Níveis de mNOX-E36 e mNOX-E36-3'PEG no plasma em camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>*

Os níveis de mNOX-E36 e mNOX-E36-3'PEG no plasma foram determinados em intervalos semanais, para monitorar a exposição ao fármaco durante a doença do rim progressiva dos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>. Os níveis médios no plasma de mNOX-E36 3 h após a injeção e de mNOX-E36-3'PEG 24 h após a injeção eram aproximadamente 300 nM e 1  $\mu$ M por todo o estudo, respectivamente (Figura 42). Assim, a peguilação aumentou os níveis de mNOX-E36 no plasma e a doença do rim progressiva nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> não modulou a farmacocinética de ambos os "spiegelmeros".

*O mNOX-E36-3'PEG bloqueia a emigração de monócitos a partir da medula óssea*

A emigração de monócitos a partir da medula óssea durante a infecção bacteriana foi mostrada envolver o receptor de quimiocina CCR2 (Serbina 2006), porém a função da CCL2 no contexto de auto-imunidade permanece hipotética. Portanto, examinou-se a população de monócitos

positivos para CCR2 no sangue periférico e nas medulas ósseas em camundongos de grupos tratados com mNOX-E36-3'PEG e veículo de camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup> de 24 semanas de idade. O tratamento com mNOX-E36-3'PEG aumentou a porcentagem de células positivas para CCR2 na medula óssea de 13% para 26%, enquanto que ele reduziu esta população no sangue periférico de 26 % para 11 % (Figura 43). Estes dados suportam uma função da CCL2 para a evasão de células positivas para CCR2 a partir da medula óssea, durante a doença auto-imune dos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>.

### Sumário

Aplicando-se a tecnologia de "spiegelmeros", criou-se um antagonista de mCCL2 novo e específico, o qual bloqueia potentemente a mCCL2 *in vitro* e *in vivo*. Na realidade, o início tardio do tratamento com o "spiegelmero" de CCL2 melhorou marcadamente a lesão avançada do tecido auto-imune similar ao lúpus nos camundongos MRL<sup>lpr/lpr</sup>. Estes dados suportam uma função central para a CCL2 no dano do tecido inflamatório crônico e identificam os "spiegelmeros" de CCL2 como uma nova substância terapêutica para a lesão do tecido auto-imune.

### Exemplo 9: Terapia da nefropatia diabética em camundongos diabéticos nefrectomizados unilateralmente com o "spiegelmero" anti-mMCP-1

A nefropatia diabética permanece uma causa principal de doença renal em estágio final, porque o alvejamento dos patomecanismos dependentes de angiotensina nem sempre impede a progressão da doença (Zimmet 2001; Ritz 1999; United States Renal Data System 2004; Svensson 2003). Portanto, são requeridas outras estratégias de tratamento a acrescentar ao armamento terapêutico para a nefropatia diabética.

Os dados de estudos experimentais recentes relacionam a progressão da nefropatia diabética à inflamação intra-renal (Galkina 2006; Mora 2005; Meyer 2003; Tuttle 2005). Por exemplo, o micofenolato mofetil, o metotrexato ou a irradiação reduz a excreção urinária de albumina, e a glomerulosclerose em ratos com nefropatia diabética induzida por estreptozotocina (Yozai 2005; Utimura 2003). Mesmo assim, os mecanismos

moleculares e celulares da inflamação intra-renal na nefropatia diabética permanecem insatisfatoriamente caracterizados. Os pacientes com nefropatia diabética têm níveis aumentados no soro de marcadores de fase aguda da inflamação, porém isto pode não representar a inflamação intra-renal (Dalla Vestra 2005; Navarro 2003). Os pacientes com nefropatia diabética excretam altos níveis da proteína quimiotática de monócitos 1 quimiocina CC (MCP-1/CCL2) na urina, o que pode ser mais específico para a inflamação intra-renal (Morii 2003; Tashiro 2002; Takebayashi 2006). Na realidade, a MCP-1/CCL2 é expressa pelas células mesangiais humanas, expostas a altas concentrações de glicose ou aos produtos finais de glicação avançada (Ihm 1998; Yamagishi 2002). A CCL2 está envolvida no processo complexo de múltiplas etapas de recrutamentos de leucócitos a partir dos compartimentos intravasculares para extravasculares, isto é, glomérulos e o interstício renal (Baggiolini 1998). Na realidade, os infiltrados de macrófagos são uma verificação comum em glomeruloesclerose diabética e lesão tubulointersticial humanas e experimentais (Bohle 1991; Furuta 1993; Chow 2007). Os camundongos diabéticos do tipo 1 ou do tipo 2 deficientes de *Ccl2* têm contagens menores de macrófagos glomerulares, o que está associado em menos lesão glomerular (Chow 2004; Chow 2006). Nestes estudos, demonstrou-se também o papel funcional da CCL2 para a patologia glomerular de nefropatia diabética do tipo 1 e do tipo 2. Portanto, a CCL2 pode representar um alvo terapêutico potencial para a nefropatia diabética, e os antagonistas de CCL2 adequados, com perfis farmacocinéticos favoráveis, devem ser validados neste contexto da doença. Neste exemplo, nós relatamos os efeitos do "spiegelmero" anti-CCL2 PEGuilado mNOX-E36-3'PEG em camundongos db/db diabéticos do tipo 2 com nefropatia diabética avançada. Nós mostramos que um "spiegelmero" anti-CCL2 seria adequado para o tratamento de nefropatia diabética.

#### *Animais e Protocolo Experimental*

Os camundongos machos de 5 semanas de idade, C57BLKS db/db ou C57BLKS do tipo selvagem, foram obtidos de Taconic (Ry, Dinamarca) e alojados em gaiolas de topo de filtro com um ciclo de

escuridão/luz de 12 horas e acesso não limitado ao alimento e à água pela duração do estudo. As gaiolas, a fundação, os pequenos ninhos, o alimento, e a água foram esterilizados por autoclave antes do uso. Na idade de 6 semanas, a uninefrectomia (camundongos "1K") ou a cirurgia simulada (camundongos "2K") foi efetuada através de uma incisão de 1 cm no flanco, conforme anteriormente descrito em camundongos db/db e do tipo selvagem (Bower 1980). Nos camundongos dos grupos de cirurgia simulada, o rim foi deixado in situ. 10 semanas mais tarde, na idade de 4 meses, os camundongos db/db 1K foram divididos em dois grupos que receberam, três vezes por semana, injeções subcutâneas com mNOX-E36-3'PEG ou PoC-PEG em 5% de glicose (dose, 0,9  $\mu$ mol/kg; volume de injeção, 1 ml/kg). O tratamento foi continuado por 8 semanas (até a idade de 6 meses), quando os animais foram sacrificados e os tecidos foram obtidos para a avaliação histopatológica. Todos os procedimentos experimentais tinham sido aprovados pelas autoridades de governo locais.

#### *Avaliação da nefropatia diabética*

Todos os estudos imunoistológicos foram efetuados sobre seções incrustadas em parafina, conforme descrito (Anders 2002). Os seguintes anticorpos foram usados como anticorpos primários: anti-Mac2 em rato (macrófagos glomerulares, Cederlane, Ontário, Canadá, 1:50), anti-Ki-67 (proliferação de células, Dianova, Hamburg, Alemanha, 1:25). Para a avaliação histopatológica, a partir de cada camundongo, as partes dos rins foram fixadas em 10% de formalina em solução salina tamponada com fosfato e incrustadas em parafina. As seções de 3  $\mu$ m foram coloridas com reagente de ácido periódico-Schiff ou prata seguindo as instruções do fornecedor (Bio-Optica, Milano, Itália). As lesões escleróticas glomerulares foram avaliadas usando um escore semiquantitativo, por um observador às cegas, como se segue: 0 = nenhuma lesão, 1 = < 25 % esclerótica, 2 = 25-49% esclerótica, 3 = 50-74 % esclerótica, 4 = 75-100% esclerótica, respectivamente. 15 glomérulos foram analisados por secção. Os índices para o volume intersticial e a dilatação tubular foram determinados por sobreposição de uma grade de 100 pontos sobre 10 campos corticais de



não-sobreposição, conforme descrito anteriormente (Anders 2002). As contagens de células intersticiais foram determinadas em 15 campos de alta energia (hpf, 400 x) por um observador às cegas. A preparação de RNA e a RT-PCR quantitativa (TaqMan) em tempo real foram feitas a partir de glomérulos desparafinizados. Após incubação em tampão de lise (Tris-HCl a 10 mM, EDTA a 0,1 mM, 2 % de SDS e 20 µg/ml de proteinase K), por 16 h, a 60°C, efetuou-se a extração de RNA à base de fenol-clorofórmio. O RNA glomerular foi dissolvido em 10 µl de água sem RNase. A transcrição reversa e a RT-PCR em tempo real a partir do RNA total do órgão e glomerular foram efetuadas conforme descrito (Anders 2002, Cohen 2002). Os controles consistindo em ddH<sub>2</sub>O eram negativos para os genes-alvo e de manutenção. O iniciador de oligonucleotídeo (300 nM) e as sondas (100 nM) para o rRNA de mCcl2, Gapdh, e 18 S eram reagentes do ensaio TaqMan pré-desenvolvidos da PE. Os iniciadores e as sondas eram da ABI Biosystems, Weiterstadt, Alemanha. A taxa de filtração glomerular (GFR) foi determinada por cinética de depuração de FITC-inulina no plasma (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), 5, 10, 15, 20, 35, 60, e 90 minutos após uma única injeção de bolo (Qi 2004). A fluorescência foi determinada com excitação a 485 nm e leitura em emissão a 535 nm. A GFR foi calculada com base em um modelo de dois compartimentos, usando um software de adaptação à curva de regressão não-linear (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Todos os dados são apresentados como a média ± SEM. A comparação dos grupos foi efetuada usando ANOVA e a correção de post-hoc Bonferroni foi usada para múltiplas comparações. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado indicar significado estatístico.

### **Resultados**

*O mNOX-E36-3'PEG reduz as contagens de macrófagos glomerulares e a glomeruloesclerose global em camundongos db/db nefrectomizados unilateralmente*

Quando a ausência de CCL2 funcional estiver associada com o recrutamento diminuído de macrófagos glomerulares nos camundongos db/db (Chow 2007) e o mNOX-E36-3'PEG for capaz de bloquear o recrutamento de

macrófagos mediado pela CCL2 *in vitro* e *in vivo*, o mNOX-E36-3'PEG deve prejudicar o recrutamento de macrófagos renal nos camundongos db/db com nefropatia diabética do tipo 2 avançada. Para testar esta hipótese, foram iniciadas injeções subcutâneas com mNOX-E36-3'PEG ou PoC-PEG na idade de 4 meses em camundongos db/db unilateralmente nefrectomizados ("1K"). O tratamento foi continuado por 8 semanas, quando os tecidos foram coletados para a avaliação da nefropatia diabética. Durante este período, o tratamento com mNOX-E36-3'PEG não afetou significativamente as contagens de sangue branco ou plaquetas, os níveis de glicose no sangue ou o peso do corpo, que eram ambos marcadamente elevados em todos os grupos de camundongos db/db em comparação com os camundongos BLKS não-diabéticos (dados não mostrados). De modo interessante, o mNOX-E36-3'PEG aumentou os níveis no soro de CCL2 nos camundongos 1K db/db, indicando que o antagonista de CCL2 mantém a CCL2 na circulação (Figura 44). Consistente com nossa hipótese, o mNOX-E36-3'PEG reduziu significativamente o número de macrófagos glomerulares em 40%, comparado aos camundongos db/db tratados com PoC-PEG ou veículo, associado com menores números de células que se proliferam positivas para Ki-67 dentro do glomérulo nos camundongos db/db tratados com mNOX-E36-3'PEG (Figura 45). Estas verificações estavam associadas com uma melhora significativa da glomeruloesclerose diabética global nos camundongos 1K db/db (Figura 46). Na realidade, o tratamento com mNOX-E36-3'PEG reduziu a glomeruloesclerose diabética nos camundongos 1K db/db até o grau de glomeruloesclerose presente nos camundongos db/db não-nefrectomizados ("2K"), de idade correspondente (Figura 46). Estas verificações mostram que o bloqueio retardado do recrutamento de macrófagos glomerulares dependente de CCL2 com o mNOX-E36-3'PEG impede a glomeruloesclerose diabética global nos camundongos db/db diabéticos do tipo 2.

#### *O mNOX-E36-3'PEG melhora a GFR nos camundongos 1K db/db*

Os efeitos benéficos do tratamento com mNOX-E36-3'PEG sobre a glomeruloesclerose diabética nos camundongos 1K db/db devem estar associados com uma GFR melhor. Foi analisada a cinética de

- depuração de FITC-inulina como um marcador da GFR em camundongos db/db (Qi 2004). Em comparação com uma GFR normal de cerca de 250 ml/min. nos camundongos db/db (Qi 2004), foi verificado uma GFR reduzida de  $112 \pm 23$  ml/min. nos camundongos 1K db/db de 6 meses de idade,
- 5 injetados com PoC-PEG (Figura 47). O tratamento com mNOX-E36-3'PEG melhorou significativamente a GFR para  $231 \pm 30$  ml/min. nos camundongos 1K db/db ( $p < 0,001$ ), sugerindo que o bloqueio do recrutamento de macrófagos glomerulares dependente da CCL2 pode também melhorar a função renal nos camundongos diabéticos do tipo 2.
- 10 *O mNOX-E36-3'PEG reduz as contagens de macrófagos intersticiais e a lesão tubulointersticial em camundongos 1K db/db*
- A nefropatia diabética avançada em seres humanos está associada com números significativos de macrófagos intersticiais e lesão tubulointersticial (Bohle 1991). Nos camundongos 2K db/db, os infiltrados de
- 15 macrófagos intersticiais e a lesão tubulointersticial significativa não ocorrem antes de 8 meses de idade (Chow 2007). A uninefrectomia antecipada acelera o desenvolvimento de patologia tubulointersticial nos camundongos db/db (Ninichuk 2005), assim nós quantificamos os macrófagos intersticiais, a dilatação tubular e o volume intersticial como marcadores do dano
- 20 tubulointersticial em camundongos de todos os grupos, em 6 meses de idade. Neste ponto de tempo, os camundongos 1K db/db revelaram números aumentados de macrófagos intersticiais e elevações significativas de dilatação tubular e volume intersticial, comparados aos camundongos 2K db/db (Figura 45, Figura 48). O tratamento com mNOX-E36-3'PEG reduziu
- 25 os números de macrófagos intersticiais em 53 % e também a dilatação tubular e o volume intersticial nos camundongos 1K db/db (Figura 45, Figura 48). Assim, o bloqueio do recrutamento de macrófagos renais dependente da CCL2 também impede a lesão tubulointersticial nos camundongos db/db diabéticos do tipo 2.
- 30 *O mNOX-E36-3'PEG reduz a expressão renal de Ccl2 nos camundongos 1K db/db*

Os infiltrados de macrófagos aumentam as respostas

inflamatórias na lesão do tecido, por exemplo, a expressão local da CCL2. Foi, portanto, formulada uma hipótese que a diminuição relacionada ao mNOX-E36-3'PEG nos macrófagos renais estaria associada com menos expressão da CCL2 renal. Foi usada a RT-PCR em tempo real para

5 quantificar a expressão do mRNA da CCL2 nos camundongos db/db. O mNOX-E36-3'PEG reduziu os níveis de mRNA da CCL2 nos rins dos camundongos 1K db/db de 6 meses de idade, comparados aos camundongos tratados com PoC-PEG de idade correspondente (Figura 49). Para avaliar adicionalmente a expressão espacial da CCL2, foi efetuada a

10 imunocoloração para a proteína CCL2 sobre as seções renais. Nos camundongos 1K db/db, a expressão da CCL2 foi marcadamente aumentada nos glomérulos, túbulos, e células intersticiais, comparados aos camundongos 2K db/db ou 2K do tipo selvagem (Figura 50). O mNOX-E36-3'PEG reduziu marcadamente a coloração para a CCL2 em todos estes

15 compartimentos, em comparação com os camundongos 1K db/db tratados com veículo ou PoC-PEG. Estes dados indicam que o bloqueio do recrutamento de macrófagos renais dependente da CCL2 com o mNOX-E36-3'PEG reduz a expressão local da CCL2 nos camundongos 1K db/db.

### Sumário

20 O conceito que a inflamação contribui para a progressão da nefropatia diabética humana torna-se cada vez mais aceito (Tuttle 2005), levando a MCP-1/CCL2 como um alvo potencial para tratar esta doença no foco. Neste exemplo, foi mostrado que o tratamento de camundongos diabéticos nefrectomizados unilateralmente com o mNOX-E36-3'PEG

25 reduziu os números de macrófagos glomerulares (e intersticiais) em 6 meses de idade, associados com menos células glomerulares que se proliferam. Além disso, a expressão renal/glomerular do mRNA da CCL2 foi marcadamente reduzida com o tratamento por mNOX-E36-3'PEG. Ademais, os números mais baixos de macrófagos glomerulares e células glomerulares

30 que se proliferam no grupo de terapia estavam associados com a proteção da glomeruloesclerose global e com uma melhora significativa da taxa de filtração glomerular. Os efeitos benéficos do mNOX-E36-3'PEG sobre a

patologia glomerular e a função renal nos camundongos diabéticos estão consistentes com aqueles estudos que usaram outros antagonistas de CCL2 em outros modelos de lesão glomerular (Lloyd 1997, Hasegawa 2003, Tang 1996, Wenzel 1997, Fujinaka 1997, Schneider 1999). Notadamente, o início retardado do bloqueio da CCL2 também reduziu os números de macrófagos intersticiais estando associados com menos patologia tubulointersticial nos camundongos 1K db/db.

Juntos, estes dados validam a CCL2 como um alvo terapêutico promissor para a nefropatia diabética e sugerem que iniciar o bloqueio da CCL2 com um "spiegelmero" - mesmo em um estágio avançado da doença - pode ainda ser protetor.

### Referências

O dado bibliográfico completo dos documentos descritos aqui, cuja descrição é incorporada por referência, se não indicado ao contrário, é como se segue.

- 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
- 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 $\alpha$  in bronchoalveolar lavage fluid of allergic asthmatic patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **153**:1398
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990). Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* **215**(3):403-10.
- 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.* 1 de set.;**25**(17):3389-402.
- Amann B, Tinzmann R, Angelkort B (2003). ACE inhibitors improve diabetic nephropathy through suppression of renal MCP-1. *Diabetes Care* **26**:2421
- 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
- Anders HJ, Vielhauer V, Schlöndorff D (2003). Chemokines and chemokine  
5 receptors are involved in the resolution or progression of renal disease. *Kidney Int.* **63**:401
- Aurup H et al. (1994). *Nucleic Acids Res* **22**:20
- Austin HA 3<sup>o</sup>, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TT, Balow JE (1984). Diffuse proliferative lupus nephritis: identification of specific pathologic  
10 features affecting renal outcome. *Kidney Int.* **25**:689
- Baggiolini M, Dewald B, Moser B (1994). Interleukin-8 and related chemotactic cytokines – CXC and CC chemokines. *Adv. Immunol.* **55**:97
- Baggiolini M (1998). Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* **392**:565
- Banba N, Nakamura T, Matsumura M, Kuroda H, Hattori Y, Kasai K (2000).  
15 Possible relationship of monocyte chemoattractant protein-1 with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* **58**:684
- Banisor I, Leist TP, Kalman B (2005). Involvement of  $\beta$ -chemokines in the development of inflammatory demyelination. *J. Neuroinflammation* **2**:7
- Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, Greaves DR,  
20 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
- Bohle A, Wehrmann M, Bogenschutz O, Batz C, Muller CA, Muller GA (1991). The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy.  
25 Investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis. *Pathol. Res. Pract.* **187**:251
- 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.*  
30 *Invest.* **100**:2552
- Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF (1998). Decreased lesion formation in CCR2<sup>-/-</sup> mice reveals a role for chemokines in the initiation of

- atherosclerosis. *Nature* **394**:894
- Boring L, Gosling J, Monteclaro FS, Lusis AJ, Tsou CL, Charo IF (1996). Molecular cloning and functional expression of murine JE (monocyte chemoattractant protein 1) and murine macrophage inflammatory protein
- 5 1alpha receptors: evidence for two closely linked C-C chemokine receptors on chromosome 9. *J. Biol. Chem.* **271**:7551
- Bossink AW, Paemen L, Jansen PM, Hack CE, Thijs LG, Van Damme J (1995). Plasma levels of the chemokines monocyte chemotactic proteins-1 and -2 are elevated in human sepsis. *Blood* **86**:3841
- 10 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
- Charo IF, Myers SJ, Herman A, Franci C, Connolly AJ, Coughlin SR (1994). Molecular cloning and functional expression of two monocyte
- 15 chemoattractant protein 1 receptors reveals alternative splicing of the carboxyl-terminal tails. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **91**:2752
- 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.
- 20 *Diabetologica* **50**:471
- 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
- Chow F, Ozols E, Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC, Tesch GH (2004).
- 25 Macrophages in mouse type 2 diabetic nephropathy: Correlation with diabetic state and progressive renal injury. *Kidney Int.* **65**:116
- Cockwell P, Howie AJ, Adu D, Savage CO (1998). *In situ* analysis of C-C chemokine mRNA in human glomerulonephritis. *Kidney Int.* **54**:827
- Cohen CD, Gröne HJ, Gröne EF, Nelson PJ, Schlöndorff D, Kretzler M
- 30 (2002). Laser microdissection and gene expression analysis on formaldehyde-fixed archival tissue. *Kidney Int.* **61**:125
- Cummins LL et al. (1995). *Nucleic Acids Res* **23**:2019

- 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
- 5 Dawson J, Miltz W, Mir AK, Wiessner C (2003). Targeting monocyte chemoattractant protein-1 signalling in disease. *Expert Opin. Ther. Targets* **7**:35
- De Bleecker JL, De Paepe B, Vanwalleghem IE, Schroder JM (2002). Differential expression of chemokines in inflammatory myopathies. *Neurology* **58**:1779
- 10 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 factor aptamer (NX1838) following injection into the vitreous humor of rhesus monkeys. *Pharm. Res.* **17**:1503
- 15 Eaton BE et al. (1995). *Chem Biol* **2**:633
- Eaton BE, Gold L, Hicke BJ, Janjic N, Jucker FM, Sebosta DP, Tarasow TM, Willis MC, Zichi DA (1997). *Bioorg Med Chem* **5**:1087
- 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
- 20 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
- 25 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
- 30 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
- Furuta T, Saito T, Ootaka T, Soma J, Obara K, Abe K, Yoshinaga K (1993).  
 5 The role of macrophages in diabetic glomerulosclerosis. *Am. J. Kidney Dis.* **21**:480
- 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
- 10 Galkina E, Ley K (2006). Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* **17**:368-377
- 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
- 15 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.*  
 20 **157**:5613
- Gerard C, Rollins, BJ. Chemokines and disease. *Nat. Immunol.* **6**:1182
- 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
- 25 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
- Gordillo GM, Onat D, Stockinger M, Roy S, Atalay M, Beck FM, Sen CK  
 30 (2004). A key angiogenic role of monocyte chemoattractant protein-1 in hemangioendothelioma proliferation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **287**:C866
- Green LS et al. (1995). *Chem Biol* **2**:683

- Handel TM, Domaille PJ (1996). Heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) NMR assignments and solution structure of the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) dimer. *Biochemistry* **35**:6569
- Harigai M, Harai M, Yoshimura T, Leonard EJ, Inoue K, Kashiwazaki S (1993).  
 5 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
- 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  
 10 monocyte chemoattractant protein 1 ameliorates the initiation and progression of lupus nephritis and renal vasculitis in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum.* **48**:2555
- Heath H, Qin S et al. (1997). Chemokine receptor usage by human eosinophils. The importance of CCR3 demonstrated using an antagonistic  
 15 monoclonal antibody. *J Clin Invest* **99**:178
- Holdsworth SR, Kitching AR, Tipping PG (2000). Chemokines as therapeutic targets in renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **9**:505
- Holgate ST, Bodey KS, Janezic A, Frew AJ, Kaplan AP, Teran LM (1997).  
 20 Release of RANTES, MIP-1 $\alpha$ , and MCP-1 into asthmatic airways following endobronchial allergen challenge. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **156**:1377
- Hosaka S et al. (1994). *Clin Exp Immunol* **97**:451
- 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  
 25 response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Exp. Med.* **193**:713
- 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  
 30 encephalomyelitis. *J. Immunol.* **150**:2525
- 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

- 5 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
- 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
- 10 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
- 15 Jolicoeur 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
- Jose PJ, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Walsh DT, Moqbel R, Totty NF, Truong O, Hsuan JJ, Williams TJ. Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. *J. Exp. Med.* **179**:881
- 20 Kaburagi Y, Shimada Y, Nagaoka T, Hasegawa M, Takehara K, Sato S (2001). Enhanced production of CC-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , and eotaxin) in patients with atopic dermatitis. *Arch. Dermatol. Res.* **293**:350
- 25 Kawasaki AM et al. (1993). *J Med Chem* **36**:831
- 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 $\alpha$  and monocyte chemotactic protein-1. *J. Neuroimmunol.* **91**:98
- 30 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
- Kitamoto S, Egashira K (2003). Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy for cardiovascular diseases. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* **1**:393
- Kleinhans M, Tun-Kyi A, Gilliet M, Kadin ME, Dummer R, Burg G, e Nestle FO (2003). Functional expression of the eotaxin receptor CCR3 in CD30+ cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* **101**:1487
- 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
- Kouno J, Nagai H, Nagahata T, Onda M, Yamaguchi H, Adachi K, Takahashi H, Teramoto A, e Emi M (2004). Up-regulation of CC chemokine, CCL3L1, and receptors, CCR3, CCR5 in human glioblastoma that promotes cell growth. *J Neurooncol* **70**:301
- 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
- Kusser W (2000). *J Biotechnol* **74**:27-38
- 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
- Lesnik EA et al. (1993). *Biochemistry* **32**:7832
- 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
- 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

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

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

- 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

- 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

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.

- 20 Meyer TW (2003). Immunosuppression for diabetic glomerular disease? *Kidney Int.* **63**:377

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

- 25 Miller LE et al. (1993). *J Physiol* **469**:213

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

- 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

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
- 5 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
- 10 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
- 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
- 15 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
- Needleman e Wunsch (1970), A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J Mol Biol.* **48**(3):443-20 53.
- Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN (1991). Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J. Clin. Invest.* **88**:1121
- 25 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
- 30 Ninichuk V, Gross O, Reichel C, Khandoga A, Pawar RD, Ciubar R, Segerer S, Belemmezova E, Radomska E, Luckow B, de Lema GP, Murphy PM, Gao JL, Henger A, Kretzler M, Horuk R, Weber M, Krombach F, Schlondorff 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

- 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
- Okuno T, Andoh A, Bamba S, Araki Y, Fujiyama Y, Fujiyama M, Bamba T (2002). Interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  induce chemokine and matrix metalloproteinase gene expression in human colonic subepithelial myofibroblasts. *Scand. J. Gastroenterol.* **37**:317
- Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K (1991). Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu. Rev. Immunol.* **9**:617
- Pawar RD, Patole PS, Zecher D, Segerer S, Kretzler M, Schlöndorff D, Anders HJ (2006). Toll-like receptor-7 modulates immune complex glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **17**:141
- Pearson & Lipman (1988), Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* **85**: 2444
- 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
- Perez de Lema G, Maier H, Nieto E, Vielhauer V, Luckow B, Mampaso F, Schlöndorff D. 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
- 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
- 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

- Power CA, Meyer A, Nemeth K, Bacon KB, Hoogewerf 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
- 5 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
- Qin S, LaRosa G, Campbell JJ, Smith-Heath H, Kassam N, Shi X, Zeng L, Buthcher EC, Mackay CR (1996). Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 receptors on subsets of T cells: correlation with
- 10 transendothelial chemotactic potential. *Eur. J. Immunol.* **26**:640
- Ransohoff RM et al. (1993). *FASEB J* **7**:592
- Raport CJ, Gosling J, Schweickart VL, Gray PW, Charo IF (1996). Molecular cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine
- 15 receptor (CCR5) for RANTES, MIP-1 $\beta$ , and MIP-1 $\alpha$ . *J. Biol. Chem.* **271**:17161
- Ritz E, Rychlik I, Locatelli F, Halimi S (1999). End-stage renal failure in type 2 diabetes: A medical catastrophe of worldwide dimensions. *Am. J. Kidney Dis.* **34**:795-808
- 20 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
- Rollins BJ (1996). Monocyte chemoattractant protein 1: a potential regulator of monocyte recruitment in inflammatory disease. *Mol. Med. Today* **2**:198
- Rovin BH, Rumancik M, Tan L, Dickerson J (1994). Glomerular expression of
- 25 monocyte chemoattractant protein-1 in experimental and human glomerulonephritis. *Lab. Invest.* **71**:536
- Ruffing N, Sullivan N, et al. (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
- 30 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
- 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
- 5 Schall TJ, Bacon KB (1994). Chemokines, leukocyte trafficking, and inflammation. *Curr. Opin. Immunol.* **6**:865
- 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
- 10 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<sup>lpr</sup> mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**:3264
- Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA (1993). A modern view of atherogenesis. *Am. J. Cardiol.* **71**:9B
- 15 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
- 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
- 20 Smith e Waterman (1981), *Adv. Appl. Math.* **2**: 482
- Springer TA (1995). Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu. Rev. Physiol.* **57**:827
- 25 Steinman L (2004). Immune therapy for autoimmune diseases. *Science* **305**:212
- 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*
- 30

Care 26:2903

- 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
- 5 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
- Tang WW, Qi M, Warren JS (1996). Monocyte chemoattractant protein 1  
10 mediates glomerular macrophage infiltration in anti-GBM Ab GN. *Kidney Int.* 50:665
- 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  
15 renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J. Clin. Lab. Anal.* 16:1
- 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
- 20 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
- Tuttle KR (2005). Linking metabolism and immunology: diabetic nephropathy is an inflammatory disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16:1537
- 25 Ugucioni M, Mackay CR et al. (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
- United States Renal Data System (2004). Annual data report: Incidence and prevalence 2004. *Am. J. Kidney Dis.* 45:S77
- 30 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

- 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
- 5 Venkatesan N et al. (2003). *Curr Med Chem* **10**:1973
- 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
- 10 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
- 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,
- 15 Yokoyama H (1999). MIP-1 $\alpha$  and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions in human crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* **56**:995
- Wada T, Yokoyama H, Matsushima K, Kobayashi KI (2001). Chemokines in renal diseases. *Int. Immunopharmacol.* **1**:637
- Wada T, Yokoyama H, Furuichi K, Kobayashi KI, Harada K, Naruto M, Su SB,
- 20 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
- Wang X, Yue TL, Barone FC, Feuerstein GZ (1995). Monocyte chemoattractant protein-1 messenger RNA expression in rat ischemic cortex.
- 25 *Stroke* **26**:661
- 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
- 30 Yamagishi S, Inagaki Y, Okamoto T, Amano S, Koga K, Takeuchi M, Makita Z (2002). Advanced glycation end product-induced apoptosis and overexpression of vascular endothelial growth factor and monocyte

- chemoattractant protein-1 in human-cultured mesangial cells. *J. Biol. Chem.* **277**:20309
- 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).  
 5 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
- Ying S, Meng Q, Zeibecoglou K, Robinson DS, Macfarlane A, Humbert M,  
 10 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
- Yla-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Sarkioja T, Yoshimura T, Leonard  
 15 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
- Yoshimura T, Robinson EA, Tanaka S, Appella E, Leonard EJ (1989).  
 Purification and amino acid analysis of two human monocyte  
 20 chemoattractants produced by phytohemagglutinin-stimulated human blood mononuclear leukocytes. *J. Immunol.* **142**:1956
- 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.*  
 25 *Soc. Nephrol.* **16**:3326
- Zimmet P, Alberti KG, Shaw J (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* **414**:782

As características da presente invenção, descritas no relatório descritivo, nas reivindicações e/ou nos desenhos, podem tanto  
 30 separadamente quanto em qualquer combinação delas ser importantes para a realização da invenção nas suas diversas formas.

Listagem de Sequência

&lt;110&gt; NOXXON Pharma AG

&lt;120&gt; MCP-1 binding nucleic acids

&lt;130&gt; N 10056 PCT

5 &lt;160&gt; 285

&lt;170&gt; PatentIn version 3.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 76

&lt;212&gt; PRT

10 &lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 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

15 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

20 Asp His Leu Asp Lys Gln Thr Gln Thr Pro Lys Thr

65 70 75

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

25 &lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 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

30 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  
 5 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  
 10 115 120 125  
 <210> 3  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> Maca mulatta  
 15 <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  
 20 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  
 25 65 70 75  
 <210> 4  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> Sus scrofa  
 30 <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  
 5 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  
 10 <211> 76  
     <212> PRT  
     <213> Canis familiaris  
     <400> 5  
 Gln Pro Asp Ala Ile Ile Ser Pro Val Thr Cys Cys Tyr Thr Leu Thr  
 15 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  
 20 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  
 25 <211> 102  
     <212> PRT  
     <213> Oryctolagus cuniculus  
     <400> 6  
 Gln Pro Asp Ala Val Asn Ser Pro Val Thr Cys Cys Tyr Thr Phe Thr  
 30 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  
 5 Ala Asn Leu Asp Lys Lys Met Gln Thr Pro Lys Thr Leu Thr Ser Tyr  
 65 70 75 80  
 Ser Thr Thr Gln Glu His Thr Thr Asn Leu Ser Ser Thr Arg Thr Pro  
 85 90 95  
 Ser Thr Thr Thr Ser Leu  
 10 100  
 <210> 7  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 15 <400> 7  
 Gln Pro Val Gly Ile Asn Thr Ser Thr Thr Cys Cys Tyr Arg Phe Ile  
 1 5 10 15  
 Asn Lys Lys Ile Pro Lys Gln Arg Leu Glu Ser Tyr Arg Arg Thr Thr  
 20 25 30  
 20 Ser Ser His Cys Pro Arg Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Lys Leu Asp  
 35 40 45  
 Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Thr Gln Lys Trp Val Gln Asp Phe Met  
 50 55 60  
 Lys His Leu Asp Lys Lys Thr Gln Thr Pro Lys Leu  
 25 65 70 75  
 <210> 8  
 <211> 74  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 30 <400> 8  
 Gly Pro Ala Ser Val Pro Thr Thr Cys Cys Phe Asn Leu Ala Asn Arg  
 1 5 10 15



Lys Ile Pro Leu Gln Arg Leu Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Thr Ser Gly  
                     20                    25                    30  
 Lys Cys Pro Gln Lys Ala Val Ile Phe Lys Thr Lys Leu Ala Lys Asp  
                     35                    40                    45  
 5 Ile Cys Ala Asp Pro Lys Lys Lys Trp Val Gln Asp Ser Met Lys Tyr  
                     50                    55                    60  
 Leu Asp Gln Lys Ser Pro Thr Pro Lys Pro  
                     65                    70  
 <210> 9  
 10 <211> 76  
       <212> PRT  
       <213> Homo sapiens  
       <400> 9  
 Gln Pro Asp Ser Val Ser Ile Pro Ile Thr Cys Cys Phe Asn Val Ile  
 15 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  
 20 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  
 25 <211> 47  
       <212> RNA  
       <213> Sequência artificial  
       <220>  
       <223> Aglutinante MCP-1  
 30 <220>  
       <221> L-RNA  
       <222> (1)..(47)

|    |                                                     |    |
|----|-----------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 10                                            |    |
|    | agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcacgcu | 47 |
|    | <210> 11                                            |    |
| 5  | <211> 45                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
| 10 | <220>                                               |    |
|    | <221> L-RNA                                         |    |
|    | <222> (1)..(45)                                     |    |
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 11                                            |    |
| 15 | agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauugc acgcu   | 45 |
|    | <210> 12                                            |    |
|    | <211> 47                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
| 20 | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <221> L-RNA                                         |    |
|    | <222> (1)..(47)                                     |    |
| 25 | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 12                                            |    |
|    | agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cuguaauaau gcacgcu | 47 |
|    | <210> 13                                            |    |
|    | <211> 47                                            |    |
| 30 | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |

|    |       |                                                    |    |
|----|-------|----------------------------------------------------|----|
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <221> | L-RNA                                              |    |
|    | <222> | (1)..(47)                                          |    |
| 5  | <223> | sintético                                          |    |
|    | <400> | 13                                                 |    |
|    |       | agcgugcccg guguggcagg gggacgcgac cugcaauau gcgcgcu | 47 |
|    | <210> | 14                                                 |    |
|    | <211> | 47                                                 |    |
| 10 | <212> | RNA                                                |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                               |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220> |                                                    |    |
| 15 | <221> | L-RNA                                              |    |
|    | <222> | (1)..(47)                                          |    |
|    | <223> | sintético                                          |    |
|    | <400> | 14                                                 |    |
|    |       | agcgugcccg gaguagcagg ggggacgac cugcaauau gcacgcu  | 47 |
| 20 | <210> | 15                                                 |    |
|    | <211> | 45                                                 |    |
|    | <212> | RNA                                                |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                               |    |
|    | <220> |                                                    |    |
| 25 | <223> | Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <221> | L-RNA                                              |    |
|    | <222> | (1)..(45)                                          |    |
|    | <223> | sintético                                          |    |
| 30 | <400> | 15                                                 |    |
|    |       | agcgugcccg gugugguagg ggggacgau cuacaauugc acgcu   | 45 |
|    | <210> | 16                                                 |    |

<211> 45  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 5 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético  
 10 <400> 16  
 agcgugcccg gugugacagg ggggCGcgac cugcauuugc acgcu 45  
 <210> 17  
 <211> 45  
 <212> RNA  
 15 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 20 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético  
 <400> 17  
 agcgugcccg guguggcagg ggggCGcgac cuguauuugc acgcu 45  
 <210> 18  
 25 <211> 47  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 30 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(47)

|    |                                                     |    |
|----|-----------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 18                                            |    |
|    | agcgugcccg gaguggcagg ggggcgcgac cugcaauaau gcacgcu | 47 |
|    | <210> 19                                            |    |
| 5  | <211> 45                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
| 10 | <220>                                               |    |
|    | <221> L-RNA                                         |    |
|    | <222> (1)..(45)                                     |    |
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 19                                            |    |
| 15 | agcgugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcaauugc acgcu   | 45 |
|    | <210> 20                                            |    |
|    | <211> 45                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
| 20 | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <221> L-RNA                                         |    |
|    | <222> (1)..(45)                                     |    |
| 25 | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 20                                            |    |
|    | agcaugcccg guguggcagg ggggcgcgac cugcauuugc augcu   | 45 |
|    | <210> 21                                            |    |
|    | <211> 45                                            |    |
| 30 | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |

- <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 5 <223> sintético  
 <400> 21  
 agcgugcccg gugugguagg ggggcgcgac cuacauuugc acgcu 45  
 <210> 22  
 <211> 44  
 10 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 15 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(44)  
 <223> sintético  
 <400> 22  
 agugugccag cugugauggg ggggcgcgac ccauuuuaca cacu 44  
 20 <210> 23  
 <211> 43  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 25 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(43)  
 <223> sintético  
 30 <400> 23  
 agugugccag cgugaugggg ggggcgcgacc cauuuuacac acu. 43  
 <210> 24

|    |       |                                                 |    |
|----|-------|-------------------------------------------------|----|
|    | <211> | 43                                              |    |
|    | <212> | RNA                                             |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                            |    |
|    | <220> |                                                 |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220> |                                                 |    |
|    | <221> | L-RNA                                           |    |
|    | <222> | (1)..(43)                                       |    |
|    | <223> | sintético                                       |    |
| 10 | <400> | 24                                              |    |
|    |       | agugugcgag cgugaugggg gggcgcgacc cauuiuacau acu | 43 |
|    | <210> | 25                                              |    |
|    | <211> | 43                                              |    |
|    | <212> | RNA                                             |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                            |    |
|    | <220> |                                                 |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220> |                                                 |    |
|    | <221> | L-RNA                                           |    |
| 20 | <222> | (1)..(43)                                       |    |
|    | <223> | sintético                                       |    |
|    | <400> | 25                                              |    |
|    |       | agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuiuacau acu | 43 |
|    | <210> | 26                                              |    |
| 25 | <211> | 42                                              |    |
|    | <212> | RNA                                             |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                            |    |
|    | <220> |                                                 |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                               |    |
| 30 | <220> |                                                 |    |
|    | <221> | L-RNA                                           |    |
|    | <222> | (1)..(42)                                       |    |

|    |                                                 |    |
|----|-------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 26                                        |    |
|    | aguaugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuacaua cu  | 42 |
|    | <210> 27                                        |    |
| 5  | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
| 10 | <220>                                           |    |
|    | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 27                                        |    |
| 15 | agugugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu | 43 |
|    | <210> 28                                        |    |
|    | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
| 20 | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
| 25 | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 28                                        |    |
|    | agcgugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac gcu | 43 |
|    | <210> 29                                        |    |
|    | <211> 43                                        |    |
| 30 | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |



|    |                                                 |    |
|----|-------------------------------------------------|----|
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
| 5  | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 29                                        |    |
|    | acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cgcggcucug cgu | 43 |
|    | <210> 30                                        |    |
|    | <211> 43                                        |    |
| 10 | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
| 15 | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 30                                        |    |
|    | acgcaccucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgc | 43 |
| 20 | <210> 31                                        |    |
|    | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
| 25 | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
| 30 | <400> 31                                        |    |
|    | acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgu | 43 |
|    | <210> 32                                        |    |

- <211> 41  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 5 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(41)  
 <223> sintético  
 10 <400> 32  
 gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg u 41  
 <210> 33  
 <211> 41  
 <212> RNA  
 15 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 20 <222> (1)..(41)  
 <223> sintético  
 <400> 33  
 acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug c 41  
 <210> 34  
 25 <211> 39  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 30 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(39)

|    |                                                |    |
|----|------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                |    |
|    | <400> 34                                       |    |
|    | gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugc      | 39 |
|    | <210> 35                                       |    |
| 5  | <211> 42                                       |    |
|    | <212> RNA                                      |    |
|    | <213> Sequência artificial                     |    |
|    | <220>                                          |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                        |    |
| 10 | <220>                                          |    |
|    | <221> L-RNA                                    |    |
|    | <222> (1)..(42)                                |    |
|    | <223> sintético                                |    |
|    | <400> 35                                       |    |
| 15 | cgcacguccc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc gu | 42 |
|    | <210> 36                                       |    |
|    | <211> 41                                       |    |
|    | <212> RNA                                      |    |
|    | <213> Sequência artificial                     |    |
| 20 | <220>                                          |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                        |    |
|    | <220>                                          |    |
|    | <221> L-RNA                                    |    |
|    | <222> (1)..(41)                                |    |
| 25 | <223> sintético                                |    |
|    | <400> 36                                       |    |
|    | cgcacguccc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc g  | 41 |
|    | <210> 37                                       |    |
|    | <211> 40                                       |    |
| 30 | <212> RNA                                      |    |
|    | <213> Sequência artificial                     |    |
|    | <220>                                          |    |

|    |       |                                                       |    |
|----|-------|-------------------------------------------------------|----|
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(40)                                             |    |
| 5  | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 37                                                    |    |
|    |       | gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg           | 40 |
|    | <210> | 38                                                    |    |
|    | <211> | 49                                                    |    |
| 10 | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
| 15 | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(49)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 38                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccgaaugc uggcagcac | 49 |
| 20 | <210> | 39                                                    |    |
|    | <211> | 49                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
| 25 | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(49)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
| 30 | <400> | 39                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccuaaugc uggcagcac | 49 |
|    | <210> | 40                                                    |    |

|    |       |                                                       |    |
|----|-------|-------------------------------------------------------|----|
|    | <211> | 49                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(49)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
| 10 | <400> | 40                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua guggaagacu accuuaugac agccgaaugc uggcagcac | 49 |
|    | <210> | 41                                                    |    |
|    | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
| 20 | <222> | (1)..(48)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 41                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua gugaaaaacu acugccagug ggucagagcu agcagcac  | 48 |
|    | <210> | 42                                                    |    |
| 25 | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
| 30 | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                             |    |

|    |                                                      |    |
|----|------------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 42                                             |    |
|    | gugcugcgga guaaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac   | 48 |
|    | <210> 43                                             |    |
| 5  | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
| 10 | <220>                                                |    |
|    | <221> L-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 43                                             |    |
| 15 | gugcugcgga guugaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac  | 48 |
|    | <210> 44                                             |    |
|    | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
| 20 | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <221> L-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
| 25 | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 44                                             |    |
|    | gugcugcgua guggaagacu accuaugaca gccuaaugcu ggcagcac | 48 |
|    | <210> 45                                             |    |
|    | <211> 48                                             |    |
| 30 | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |

- <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> L-RNA  
<222> (1)..(48)
- 5 <223> sintético  
<400> 45  
gugcugcgga guaaaaacu ccuaagaca ggcuaagacc ggcagcac 48  
<210> 46  
<211> 50
- 10 <212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 15 <221> L-RNA  
<222> (1)..(50)  
<223> sintético  
<400> 46  
gugcugcggc gugaaaaacg ccugcgacu gccuuuug caggcagcac 50
- 20 <210> 47  
<211> 48  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 25 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> L-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético
- 30 <400> 47  
gugcugcgua gugaaaaacu accaacgacu ggcuaagacc ggcagcac 48  
<210> 48

|    |       |                                                       |    |
|----|-------|-------------------------------------------------------|----|
|    | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
| 10 | <400> | 48                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua gugaaagacu accugugaca gccgaaugcu ggcagcac  | 48 |
|    | <210> | 49                                                    |    |
|    | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
| 20 | <222> | (1)..(48)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 49                                                    |    |
|    |       | guacugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuaagagcc ggcagcac | 48 |
|    | <210> | 50                                                    |    |
| 25 | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
| 30 | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                             |    |



|    |       |                                                       |    |
|----|-------|-------------------------------------------------------|----|
|    | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 50                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuaagagcc ggcagcac | 48 |
|    | <210> | 51                                                    |    |
| 5  | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
| 10 | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 51                                                    |    |
| 15 |       | gugcugcgua guuaaaaacu accagcgaca ggcuaagagcc ggcagcac | 48 |
|    | <210> | 52                                                    |    |
|    | <211> | 48                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
| 20 | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                             |    |
| 25 | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 52                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua guuaaaaacu accagcgacu ggcuaagagcc ggcagcac | 48 |
|    | <210> | 53                                                    |    |
|    | <211> | 48                                                    |    |
| 30 | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |

|    |       |                                                       |    |
|----|-------|-------------------------------------------------------|----|
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                             |    |
| 5  | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 53                                                    |    |
|    |       | gugcugcgua gugagaaacu accaacgacu ggcuaagagcc ggcagcac | 48 |
|    | <210> | 54                                                    |    |
|    | <211> | 46                                                    |    |
| 10 | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
| 15 | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(46)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
|    | <400> | 54                                                    |    |
|    |       | ggcugcgua uuaaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcagcc    | 46 |
| 20 | <210> | 55                                                    |    |
|    | <211> | 44                                                    |    |
|    | <212> | RNA                                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                  |    |
|    | <220> |                                                       |    |
| 25 | <223> | Aglutinante MCP-1                                     |    |
|    | <220> |                                                       |    |
|    | <221> | L-RNA                                                 |    |
|    | <222> | (1)..(44)                                             |    |
|    | <223> | sintético                                             |    |
| 30 | <400> | 55                                                    |    |
|    |       | ggcgcguagu uaaaaacuac cagcgacugg cuagagccgg cgcc      | 44 |
|    | <210> | 56                                                    |    |

|    |       |                                                    |    |
|----|-------|----------------------------------------------------|----|
|    | <211> | 46                                                 |    |
|    | <212> | RNA                                                |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                               |    |
|    | <220> |                                                    |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <221> | L-RNA                                              |    |
|    | <222> | (1)..(46)                                          |    |
|    | <223> | sintético                                          |    |
| 10 | <400> | 56                                                 |    |
|    |       | gugcgcguag uaaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcgcac | 46 |
|    | <210> | 57                                                 |    |
|    | <211> | 46                                                 |    |
|    | <212> | RNA                                                |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                               |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <221> | L-RNA                                              |    |
| 20 | <222> | (1)..(46)                                          |    |
|    | <223> | sintético                                          |    |
|    | <400> | 57                                                 |    |
|    |       | gugcgcguag ugagaaacua ccaacgacug gcuagagccg gcgcac | 46 |
|    | <210> | 58                                                 |    |
| 25 | <211> | 44                                                 |    |
|    | <212> | RNA                                                |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                               |    |
|    | <220> |                                                    |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                  |    |
| 30 | <220> |                                                    |    |
|    | <221> | L-RNA                                              |    |
|    | <222> | (1)..(44)                                          |    |

|    |                                                  |    |
|----|--------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 58                                         |    |
|    | gugccguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg gcac | 44 |
|    | <210> 59                                         |    |
| 5  | <211> 44                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> Sequência artificial                       |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
| 10 | <220>                                            |    |
|    | <221> L-RNA                                      |    |
|    | <222> (1)..(44)                                  |    |
|    | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 59                                         |    |
| 15 | guggcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg ccac | 44 |
|    | <210> 60                                         |    |
|    | <211> 44                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> Sequência artificial                       |    |
| 20 | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <221> L-RNA                                      |    |
|    | <222> (1)..(44)                                  |    |
| 25 | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 60                                         |    |
|    | gucgcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgac | 44 |
|    | <210> 61                                         |    |
|    | <211> 44                                         |    |
| 30 | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> Sequência artificial                       |    |
|    | <220>                                            |    |

|    |       |                                                  |    |
|----|-------|--------------------------------------------------|----|
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <221> | L-RNA                                            |    |
|    | <222> | (1)..(44)                                        |    |
| 5  | <223> | sintético                                        |    |
|    | <400> | 61                                               |    |
|    |       | ugcgcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgca | 44 |
|    | <210> | 62                                               |    |
|    | <211> | 44                                               |    |
| 10 | <212> | RNA                                              |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                             |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220> |                                                  |    |
| 15 | <221> | L-RNA                                            |    |
|    | <222> | (1)..(44)                                        |    |
|    | <223> | sintético                                        |    |
|    | <400> | 62                                               |    |
|    |       | gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc | 44 |
| 20 | <210> | 63                                               |    |
|    | <211> | 44                                               |    |
|    | <212> | RNA                                              |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                             |    |
|    | <220> |                                                  |    |
| 25 | <223> | Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <221> | L-RNA                                            |    |
|    | <222> | (1)..(44)                                        |    |
|    | <223> | sintético                                        |    |
| 30 | <400> | 63                                               |    |
|    |       | gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc | 44 |
|    | <210> | 64                                               |    |

|    |       |                                                  |    |
|----|-------|--------------------------------------------------|----|
|    | <211> | 44                                               |    |
|    | <212> | RNA                                              |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                             |    |
|    | <220> |                                                  |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <221> | L-RNA                                            |    |
|    | <222> | (1)..(44)                                        |    |
|    | <223> | sintético                                        |    |
| 10 | <400> | 64                                               |    |
|    |       | ggugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cacc | 44 |
|    | <210> | 65                                               |    |
|    | <211> | 42                                               |    |
|    | <212> | RNA                                              |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                             |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <221> | L-RNA                                            |    |
| 20 | <222> | (1)..(42)                                        |    |
|    | <223> | sintético                                        |    |
|    | <400> | 65                                               |    |
|    |       | uggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ca   | 42 |
|    | <210> | 66                                               |    |
| 25 | <211> | 42                                               |    |
|    | <212> | RNA                                              |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                             |    |
|    | <220> |                                                  |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                |    |
| 30 | <220> |                                                  |    |
|    | <221> | L-RNA                                            |    |
|    | <222> | (1)..(42)                                        |    |

|    |                                                 |    |
|----|-------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 66                                        |    |
|    | gcgcgugagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gc | 42 |
|    | <210> 67                                        |    |
| 5  | <211> 42                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
| 10 | <220>                                           |    |
|    | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(42)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 67                                        |    |
| 15 | gugcgugagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ac | 42 |
|    | <210> 68                                        |    |
|    | <211> 42                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
| 20 | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <221> L-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(42)                                 |    |
| 25 | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 68                                        |    |
|    | ggcgugagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cc  | 42 |
|    | <210> 69                                        |    |
|    | <211> 42                                        |    |
| 30 | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |

- <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 5 <223> sintético  
 <400> 69  
 gagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc uc 42  
 <210> 70  
 <211> 42  
 10 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 15 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 <400> 70  
 cggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cg 42  
 20 <210> 71  
 <211> 42  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 25 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 30 <400> 71  
 ccgCGuagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gg 42  
 <210> 72



- <211> 42  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 5 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético1
- 10 <400> 72  
 cagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ug 42  
 <210> 73  
 <211> 42  
 <212> RNA
- 15 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA
- 20 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 <400> 73  
 cugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ag 42  
 <210> 74
- 25 <211> 39  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1
- 30 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(39)

|    |                                            |    |
|----|--------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 74                                   |    |
|    | agcguguuag ugaagugggu ggcagguaaa ggacacgcu | 39 |
|    | <210> 75                                   |    |
| 5  | <211> 39                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
| 10 | <220>                                      |    |
|    | <221> L-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(39)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 75                                   |    |
| 15 | agcgugguag cggugugggu gguagguaaa ggccacgcu | 39 |
|    | <210> 76                                   |    |
|    | <211> 39                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
| 20 | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <221> L-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(39)                            |    |
| 25 | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 76                                   |    |
|    | agcgugauag aagagcgggu gguagguaaa ggucaggcu | 39 |
|    | <210> 77                                   |    |
|    | <211> 39                                   |    |
| 30 | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |

|    |                                            |    |
|----|--------------------------------------------|----|
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <221> L-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(39)                            |    |
| 5  | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 77                                   |    |
|    | agcguguuag guaggguggu aguaaguaaa ggacacgcu | 39 |
|    | <210> 78                                   |    |
|    | <211> 38                                   |    |
| 10 | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
| 15 | <221> L-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(38)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 78                                   |    |
|    | agcguguuag guggguggua guaaguaaa gacacgcu   | 38 |
| 20 | <210> 79                                   |    |
|    | <211> 38                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |
| 25 | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <221> L-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(38)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
| 30 | <400> 79                                   |    |
|    | agcguguuag guggguggua guaaguaaa ggcacgcu   | 38 |
|    | <210> 80                                   |    |

|    |       |                                           |    |
|----|-------|-------------------------------------------|----|
|    | <211> | 34                                        |    |
|    | <212> | RNA                                       |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                      |    |
|    | <220> |                                           |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220> |                                           |    |
|    | <221> | L-RNA                                     |    |
|    | <222> | (1)..(34)                                 |    |
|    | <223> | sintético                                 |    |
| 10 | <400> | 80                                        |    |
|    |       | ccgcuuaggu gggugguagu aaguaaagg gcgg      | 34 |
|    | <210> | 81                                        |    |
|    | <211> | 39                                        |    |
|    | <212> | RNA                                       |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                      |    |
|    | <220> |                                           |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220> |                                           |    |
|    | <221> | L-RNA                                     |    |
| 20 | <222> | (1)..(39)                                 |    |
|    | <223> | sintético                                 |    |
|    | <400> | 81                                        |    |
|    |       | gcgcgagcag guggguggua gaauguaag acucgcguc | 39 |
|    | <210> | 82                                        |    |
| 25 | <211> | 34                                        |    |
|    | <212> | RNA                                       |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                      |    |
|    | <220> |                                           |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                         |    |
| 30 | <220> |                                           |    |
|    | <221> | L-RNA                                     |    |
|    | <222> | (1)..(34)                                 |    |

|    |                                       |    |
|----|---------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                       |    |
|    | <400> 82                              |    |
|    | cguguuaggu gggugguagu aaguaaagga cacg | 34 |
|    | <210> 83                              |    |
| 5  | <211> 32                              |    |
|    | <212> RNA                             |    |
|    | <213> Sequência artificial            |    |
|    | <220>                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1               |    |
| 10 | <220>                                 |    |
|    | <221> L-RNA                           |    |
|    | <222> (1)..(32)                       |    |
|    | <223> sintético                       |    |
|    | <400> 83                              |    |
| 15 | guguuaggug ggugguagua aaguaaggac ac   | 32 |
|    | <210> 84                              |    |
|    | <211> 34                              |    |
|    | <212> RNA                             |    |
|    | <213> Sequência artificial            |    |
| 20 | <220>                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1               |    |
|    | <220>                                 |    |
|    | <221> L-RNA                           |    |
|    | <222> (1)..(34)                       |    |
| 25 | <223> sintético                       |    |
|    | <400> 84                              |    |
|    | cguguuaggu gggugguagu aaguaaggg cacg  | 34 |
|    | <210> 85                              |    |
|    | <211> 32                              |    |
| 30 | <212> RNA                             |    |
|    | <213> Sequência artificial            |    |
|    | <220>                                 |    |

|    |                                                          |    |
|----|----------------------------------------------------------|----|
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220>                                                    |    |
|    | <221> L-RNA                                              |    |
|    | <222> (1)..(32)                                          |    |
| 5  | <223> sintético                                          |    |
|    | <400> 85                                                 |    |
|    | guguuaggug ggugguagua aguaaagggc ac                      | 32 |
|    | <210> 86                                                 |    |
|    | <211> 30                                                 |    |
| 10 | <212> RNA                                                |    |
|    | <213> Sequência artificial                               |    |
|    | <220>                                                    |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220>                                                    |    |
| 15 | <221> L-RNA                                              |    |
|    | <222> (1)..(30)                                          |    |
|    | <223> sintético                                          |    |
|    | <400> 86                                                 |    |
|    | uguuaggugg gugguaguaa guaaagggca                         | 30 |
| 20 | <210> 87                                                 |    |
|    | <211> 52                                                 |    |
|    | <212> RNA                                                |    |
|    | <213> Sequência artificial                               |    |
|    | <220>                                                    |    |
| 25 | <223> Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220>                                                    |    |
|    | <221> L-RNA                                              |    |
|    | <222> (1)..(52)                                          |    |
|    | <223> sintético                                          |    |
| 30 | <400> 87                                                 |    |
|    | ggacgagagu gacaaugau auaaccuccu gacuaacgcg gcgggcgaca gg | 52 |
|    | <210> 88                                                 |    |

- <211> 52  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 5 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(52)  
 <223> sintético  
 10 <400> 88  
 ggaccuau cg cuaagacaac gcgcagucua cgggacauuc uccgcggaca gg 52  
 <210> 89  
 <211> 52  
 <212> RNA  
 15 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 20 <222> (1)..(52)  
 <223> sintético  
 <400> 89  
 ggacaaugu uacccccgag agagacaaau gagacaaccu ccugaagaca gg 52  
 <210> 90  
 25 <211> 51  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 30 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(51)

|    |                                                         |    |
|----|---------------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                         |    |
|    | <400> 90                                                |    |
|    | ggacgaaagu gagaaugau acaaccuccu guugcugcga auccggacag g | 51 |
|    | <210> 91                                                |    |
| 5  | <211> 50                                                |    |
|    | <212> RNA                                               |    |
|    | <213> Sequência artificial                              |    |
|    | <220>                                                   |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                 |    |
| 10 | <220>                                                   |    |
|    | <221> L-RNA                                             |    |
|    | <222> (1)..(50)                                         |    |
|    | <223> sintético                                         |    |
|    | <400> 91                                                |    |
| 15 | ggacguaaaa gacgcuaccc gaaagaaugu caggagggua gaccgacagg  | 50 |
|    | <210> 92                                                |    |
|    | <211> 50                                                |    |
|    | <212> RNA                                               |    |
|    | <213> Sequência artificial                              |    |
| 20 | <220>                                                   |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                 |    |
|    | <220>                                                   |    |
|    | <221> L-RNA                                             |    |
|    | <222> (1)..(50)                                         |    |
| 25 | <223> sintético                                         |    |
|    | <400> 92                                                |    |
|    | ggacuagaaa cuacaauagc ggccaguugc accgcguuau caacgacagg  | 50 |
|    | <210> 93                                                |    |
|    | <211> 50                                                |    |
| 30 | <212> RNA                                               |    |
|    | <213> Sequência artificial                              |    |
|    | <220>                                                   |    |



<223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(50)  
 5 <223> sintético  
 <400> 93  
 ggacuaguca gccagugugu auaucggacg cgguuuuuu uacugacagg 50  
 <210> 94  
 <211> 50  
 10 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 15 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(50)  
 <223> sintético  
 <400> 94  
 ggacuguccg gagugugaaa cucccgaga ccgccagaag cggggacagg 50  
 20 <210> 95  
 <211> 50  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 25 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(50)  
 <223> sintético  
 30 <400> 95  
 ggacuucua ccaggugggu gguaguaugu aaagagauag aagugacagg 50  
 <210> 96

|    |       |                                                        |    |
|----|-------|--------------------------------------------------------|----|
|    | <211> | 50                                                     |    |
|    | <212> | RNA                                                    |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                   |    |
|    | <220> |                                                        |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                                      |    |
|    | <220> |                                                        |    |
|    | <221> | L-RNA                                                  |    |
|    | <222> | (1)..(50)                                              |    |
|    | <223> | sintético                                              |    |
| 10 | <400> | 96                                                     |    |
|    |       | ggacgagagc gaacaaugau auaaccuccu gacggaaaga gaucgacagg | 50 |
|    | <210> | 97                                                     |    |
|    | <211> | 48                                                     |    |
|    | <212> | RNA                                                    |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                                   |    |
|    | <220> |                                                        |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                      |    |
|    | <220> |                                                        |    |
|    | <221> | L-RNA                                                  |    |
| 20 | <222> | (1)..(48)                                              |    |
|    | <223> | sintético                                              |    |
|    | <400> | 97                                                     |    |
|    |       | ccugugcuac acgcaguaag aagugaacgu ucaguaugug ugcacagg   | 48 |
|    | <210> | 98                                                     |    |
| 25 | <211> | 48                                                     |    |
|    | <212> | RNA                                                    |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                   |    |
|    | <220> |                                                        |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                      |    |
| 30 | <220> |                                                        |    |
|    | <221> | L-RNA                                                  |    |
|    | <222> | (1)..(48)                                              |    |

|    |                                                      |    |
|----|------------------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 98                                             |    |
|    | cgugagccag gcaccgaggg cguuaacugg cugauuggac acgacacg | 48 |
|    | <210> 99                                             |    |
| 5  | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
| 10 | <220>                                                |    |
|    | <221> L-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 99                                             |    |
| 15 | cgugaacaug caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg | 48 |
|    | <210> 100                                            |    |
|    | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
| 20 | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <221> -RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
| 25 | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 100                                            |    |
|    | cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg | 48 |
|    | <210> 101                                            |    |
|    | <211> 48                                             |    |
| 30 | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |

- <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(48)  
 5 <223> sintético  
 <400> 101  
 cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg 48  
 <210> 102  
 <211> 48  
 10 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 15 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(48)  
 <223> sintético  
 <400> 102  
 cgugaacauu caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg 48  
 20 <210> 103  
 <211> 48  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 25 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(48)  
 <223> sintético  
 30 <400> 103  
 cgugccgagg cggcgaccag cguuacuuag agaggcuuug gcaccacg 48  
 <210> 104

- <211> 47  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 5 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(47)  
 <223> sintético
- 10 <400> 104  
 cgugauaaca gccgucgguc aagaaaacaa aguucgggcg gcgcacg 47  
 <210> 105  
 <211> 47  
 <212> RNA
- 15 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA
- 20 <222> (1)..(47)  
 <223> sintético  
 <400> 105  
 cguggguggc gcaccgaggg cgaaaagcca ccaguaaaga uagaccg 47  
 <210> 106
- 25 <211> 45  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1
- 30 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(45)

<223> sintético  
 <400> 106  
 cgugugaucu ccuuuggggu gauuagcuua gagacuucc acacg 45  
 <210> 107  
 5 <211> 45  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 10 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético  
 <400> 107  
 15 gcaccuucgc cuaauacacg ugccggcuag cuaauacucg uccgc 45  
 <210> 108  
 <211> 45  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 20 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 25 <223> sintético  
 <400> 108  
 gcacgacuug ggcgaccagu gauacuuaga gagcaagucg ucggc 45  
 <210> 109  
 <211> 44  
 30 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>

- <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(44)  
 5 <223> sintético  
 <400> 109  
 gcgcgcgcuc aguaagaaau ugaaaguuca gaaugucguc gcgc 44  
 <210> 110  
 <211> 39  
 10 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 15 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(39)  
 <223> sintético  
 <400> 110  
 aguguguggc aggcuaagga gauauuccga gaccacgcu 39  
 20 <210> 111  
 <211> 39  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 25 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(39)  
 <223> sintético  
 30 <400> 111  
 aguguguggc agacuaagga uagacuccga gaccacgcu 39  
 <210> 112

|    |       |                                            |    |
|----|-------|--------------------------------------------|----|
|    | <211> | 39                                         |    |
|    | <212> | RNA                                        |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                       |    |
|    | <220> |                                            |    |
| 5  | <223> | Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220> |                                            |    |
|    | <221> | L-RNA                                      |    |
|    | <222> | (1)..(39)                                  |    |
|    | <223> | sintético                                  |    |
| 10 | <400> | 112                                        |    |
|    |       | agcgugaggc gaccagcgga uuacuuagag agucacgcu | 39 |
|    | <210> | 113                                        |    |
|    | <211> | 39                                         |    |
|    | <212> | RNA                                        |    |
| 15 | <213> | Seqüência artificial                       |    |
|    | <220> |                                            |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220> |                                            |    |
|    | <221> | L-RNA                                      |    |
| 20 | <222> | (1)..(39)                                  |    |
|    | <223> | sintético                                  |    |
|    | <400> | 113                                        |    |
|    |       | agcgugaagg ggaccagcgu uacuuacaga guucacgcu | 39 |
|    | <210> | 114                                        |    |
| 25 | <211> | 39                                         |    |
|    | <212> | RNA                                        |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                       |    |
|    | <220> |                                            |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                          |    |
| 30 | <220> |                                            |    |
|    | <221> | L-RNA                                      |    |
|    | <222> | (1)..(39)                                  |    |



|    |                                             |    |
|----|---------------------------------------------|----|
|    | <223> sintético                             |    |
|    | <400> 114                                   |    |
|    | agcgugugau guauguagca ccguaucaga ggacacgcu  | 39 |
|    | <210> 115                                   |    |
| 5  | <211> 37                                    |    |
|    | <212> RNA                                   |    |
|    | <213> Sequência artificial                  |    |
|    | <220>                                       |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                     |    |
| 10 | <220>                                       |    |
|    | <221> L-RNA                                 |    |
|    | <222> (1)..(37)                             |    |
|    | <223> sintético                             |    |
|    | <400> 115                                   |    |
| 15 | agcgugaggc gacccguguu ucguagagag ucacgcu    | 37 |
|    | <210> 116                                   |    |
|    | <211> 40                                    |    |
|    | <212> RNA                                   |    |
|    | <213> Sequência artificial                  |    |
| 20 | <220>                                       |    |
|    | <223> NOX-E36-5'PEG                         |    |
|    | <220>                                       |    |
|    | <221> L-RNA                                 |    |
|    | <222> (1)..(40)                             |    |
| 25 | <223> sintético                             |    |
|    | <220>                                       |    |
|    | <221> L-RNA                                 |    |
|    | <222> (1)..(1)                              |    |
|    | <223> 5' Peguilação                         |    |
| 30 | <400> 116                                   |    |
|    | gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg | 40 |
|    | <210> 117                                   |    |

<211> 40  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 5 <223> NOX-E36-3' PEG  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 <223> sintético  
 10 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 <223> 3' Peguilação  
 <400> 117  
 15 gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg 40  
 <210> 118  
 <211> 58  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 20 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(58)  
 25 <223> sintético  
 <400> 118  
 gagauggcga cauugguugg gcaugaggcg aggcccuug augaauccgc ggccauuc 58  
 <210> 119  
 <211> 56  
 30 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>

- <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(56)  
 5 <223> sintético  
 <400> 119  
 gauggcgaca uugguugggc augaggcgag gcccuuugau gaauccgcgg ccauuc 56  
 <210> 120  
 <211> 53  
 10 <212> RNA  
 <213> sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 15 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(53)  
 <223> sintético  
 <400> 120  
 ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uuc 53  
 20 <210> 121  
 <211> 52  
 <212> RNA  
 <213> sequência artificial  
 <220>  
 25 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(52)  
 <223> sintético  
 30 <400> 121  
 ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uu 52  
 <210> 122

- <211> 50  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 5 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(50)  
 <223> sintético
- 10 <400> 122  
 ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca 50  
 <210> 123  
 <211> 48  
 <212> RNA
- 15 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA
- 20 <222> (1)..(48)  
 <223> sintético  
 <400> 123  
 gcugguuacc gagggggcgu cguuggagu uggugguug ucaccagc 48  
 <210> 124
- 25 <211> 46  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1
- 30 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(46)

- <223> sintético  
 <400> 124  
 cugguuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu caccag 46  
 <210> 125
- 5 <211> 44  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1
- 10 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(44)  
 <223> sintético  
 <400> 125
- 15 ugguuaccga gggggcgucg uuggaguuug guugguuguc acca 44  
 <210> 126  
 <211> 48  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial
- 20 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(48)
- 25 <223> sintético  
 <400> 126  
 gccgguuacc gagggggcguc cguuggaguu uggguugguug ucaccggc 48  
 <210> 127  
 <211> 48
- 30 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>

|    |                                                       |    |
|----|-------------------------------------------------------|----|
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <221> L-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(48)                                       |    |
| 5  | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 127                                             |    |
|    | gccggcuacc gagggggcgu cguuggaguu uggguugguug ucgccggc | 48 |
|    | <210> 128                                             |    |
|    | <211> 46                                              |    |
| 10 | <212> RNA                                             |    |
|    | <213> Sequência artificial                            |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |
| 15 | <221> L-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(46)                                       |    |
|    | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 128                                             |    |
|    | gcgcguaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu ccgcgc    | 46 |
| 20 | <210> 129                                             |    |
|    | <211> 46                                              |    |
|    | <212> RNA                                             |    |
|    | <213> Sequência artificial                            |    |
|    | <220>                                                 |    |
| 25 | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <221> L-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(46)                                       |    |
|    | <223> sintético                                       |    |
| 30 | <400> 129                                             |    |
|    | gggccuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu cggccc    | 46 |
|    | <210> 130                                             |    |

- <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 5 <223> humano biotinilado D MCP-1  
 <220>  
 <221> Proteína D  
 <222> (1)..(76)  
 <223> sintético
- 10 <220>  
 <221> Biotinilação  
 <222> (1)..(1)  
 <223> sintético  
 <400> 130
- 15 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  
 20 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
- 25 <210> 131  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 30 <223> rato biotinilado D MCP-1  
 <220>  
 <221> Proteína D

- <222> (1)..(76)  
 <223> sintético  
 <220>  
 <221> Biotinilação
- 5 <222> (1)..(1)  
 <223> sintético  
 <220>  
 <221> Biotinilação  
 <222> (76)..(76)
- 10 <223> sintético  
 <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  
 15 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
- 20 Lys Asn Leu Asp Arg Asn Gln Met Arg Ser Glu Pro  
 65 70 75
- <210> 132  
 <211> 47  
 <212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(47)  
 <223> sintético  
 <400> 132



|    |                                                     |    |
|----|-----------------------------------------------------|----|
|    | agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcacgcu | 47 |
|    | <210> 133                                           |    |
|    | <211> 45                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <221> D-RNA                                         |    |
| 10 | <222> (1)..(45)                                     |    |
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 133                                           |    |
|    | agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cugcaauugc acgcu   | 45 |
|    | <210> 134                                           |    |
| 15 | <211> 47                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
| 20 | <400> 134                                           |    |
|    | agcgugcccg gaguggcagg gggacgcgac cuguaauaau gcacgcu | 47 |
|    | <210> 135                                           |    |
|    | <211> 47                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
| 25 | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <221> D-RNA                                         |    |
| 30 | <222> (1)..(47)                                     |    |
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 135                                           |    |

|    |                                                     |    |
|----|-----------------------------------------------------|----|
|    | agcgugcccg guguggcagg gggacgcgac cugcaauaau gcgcgcu | 47 |
|    | <210> 136                                           |    |
|    | <211> 47                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <221> D-RNA                                         |    |
| 10 | <222> (1)..(47)                                     |    |
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 136                                           |    |
|    | agcgugcccg gaguagcagg ggggcgcgac cugcaauaau gcacgcu | 47 |
|    | <210> 137                                           |    |
| 15 | <211> 45                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
|    | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
| 20 | <220>                                               |    |
|    | <221> D-RNA                                         |    |
|    | <222> (1)..(45)                                     |    |
|    | <223> sintético                                     |    |
|    | <400> 137                                           |    |
| 25 | agcgugcccg gugugguagg ggggcgcgau cuacaauugc acgcu   | 45 |
|    | <210> 138                                           |    |
|    | <211> 45                                            |    |
|    | <212> RNA                                           |    |
|    | <213> Sequência artificial                          |    |
| 30 | <220>                                               |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                             |    |
|    | <220>                                               |    |

|    |       |                                                     |    |
|----|-------|-----------------------------------------------------|----|
|    | <221> | D-RNA                                               |    |
|    | <222> | (1)..(45)                                           |    |
|    | <223> | sintético                                           |    |
|    | <400> | 138                                                 |    |
| 5  |       | agcgugcccg gugugacagg ggggcgcgac cugcauuugc acgcu   | 45 |
|    | <210> | 139                                                 |    |
|    | <211> | 45                                                  |    |
|    | <212> | RNA                                                 |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                |    |
| 10 | <220> |                                                     |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                   |    |
|    | <220> |                                                     |    |
|    | <221> | D-RNA                                               |    |
|    | <222> | (1)..(45)                                           |    |
| 15 | <223> | sintético                                           |    |
|    | <400> | 139                                                 |    |
|    |       | agcgugcccg guguggcagg ggggcgcgac cuguaauuugc acgcu  | 45 |
|    | <210> | 140                                                 |    |
|    | <211> | 47                                                  |    |
| 20 | <212> | RNA                                                 |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                                |    |
|    | <220> |                                                     |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                                   |    |
|    | <220> |                                                     |    |
| 25 | <221> | D-RNA                                               |    |
|    | <222> | (1)..(47)                                           |    |
|    | <223> | sintético                                           |    |
|    | <400> | 140                                                 |    |
|    |       | agcgugcccg gaguggcagg ggggcgcgac cugcaauaau gcacgcu | 47 |
| 30 | <210> | 141                                                 |    |
|    | <211> | 45                                                  |    |
|    | <212> | RNA                                                 |    |

- <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>
- 5 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético  
 <400> 141  
 agcgugcccg guguggcagg gggg'gcgcac cugcaauugc acgcu 45
- 10 <210> 142  
 <211> 45  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético
- 20 <400> 142  
 agcaugcccg guguggcagg gggg'gcgcac cugcauuugc augcu 45  
 <210> 143  
 <211> 45  
 <212> RNA
- 25 <213> sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético  
 <400> 143

|    |                                                   |    |
|----|---------------------------------------------------|----|
|    | agcgugcccg gugugguagg ggggcgcgac cuacauuugc acgcu | 45 |
|    | <210> 144                                         |    |
|    | <211> 44                                          |    |
|    | <212> RNA                                         |    |
| 5  | <213> sequência artificial                        |    |
|    | <220>                                             |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                           |    |
|    | <220>                                             |    |
|    | <221> D-RNA                                       |    |
| 10 | <222> (1)..(44)                                   |    |
|    | <223> sintético                                   |    |
|    | <400> 144                                         |    |
|    | agugugccag cugugauggg ggggcgcgac ccauuuuaca cacu  | 44 |
|    | <210> 145                                         |    |
| 15 | <211> 43                                          |    |
|    | <212> RNA                                         |    |
|    | <213> sequência artificial                        |    |
|    | <220>                                             |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                           |    |
| 20 | <220>                                             |    |
|    | <221> D-RNA                                       |    |
|    | <222> (1)..(43)                                   |    |
|    | <223> sintético                                   |    |
|    | <400> 145                                         |    |
| 25 | agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu   | 43 |
|    | <210> 146                                         |    |
|    | <211> 43                                          |    |
|    | <212> RNA                                         |    |
|    | <213> sequência artificial                        |    |
| 30 | <220>                                             |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                           |    |
|    | <220>                                             |    |

|    |                                                 |    |
|----|-------------------------------------------------|----|
|    | <221> D-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 146                                       |    |
| 5  | agugugcgag cgugaugggg gggcgcgacc cauuiuacau acu | 43 |
|    | <210> 147                                       |    |
|    | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
| 10 | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <221> D-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
| 15 | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 147                                       |    |
|    | agugugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuiuacau acu | 43 |
|    | <210> 148                                       |    |
|    | <211> 42                                        |    |
| 20 | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
| 25 | <221> D-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(42)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 148                                       |    |
|    | aguaugccag cgugaugggg gggcgcgacc cauuiuacaua cu | 42 |
| 30 | <210> 149                                       |    |
|    | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |

- <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(43)  
<223> sintético  
<400> 149  
agugugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac acu 43
- 10 <210> 150  
<211> 43  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(43)  
<223> sintético
- 20 <400> 150  
agcgugccag ugugaugggg gggcgcgacc cauuuuacac gcu 43  
<210> 151  
<211> 43  
<212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(43)  
<223> sintético  
<400> 151

|    |                                                 |    |
|----|-------------------------------------------------|----|
|    | acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cgcggcucug cgu | 43 |
|    | <210> 152                                       |    |
|    | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <221> D-RNA                                     |    |
| 10 | <222> (1)..(43)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 152                                       |    |
|    | acgcaccucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgc | 43 |
|    | <210> 153                                       |    |
| 15 | <211> 43                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
|    | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
| 20 | <220>                                           |    |
|    | <221> D-RNA                                     |    |
|    | <222> (1)..(43)                                 |    |
|    | <223> sintético                                 |    |
|    | <400> 153                                       |    |
| 25 | acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug cgu | 43 |
|    | <210> 154                                       |    |
|    | <211> 41                                        |    |
|    | <212> RNA                                       |    |
|    | <213> Sequência artificial                      |    |
| 30 | <220>                                           |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                         |    |
|    | <220>                                           |    |



|    |                                               |                      |    |
|----|-----------------------------------------------|----------------------|----|
|    | <221>                                         | D-RNA                |    |
|    | <222>                                         | (1)..(41)            |    |
|    | <223>                                         | sintético            |    |
|    | <400>                                         | 154                  |    |
| 5  | gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg u  |                      | 41 |
|    | <210>                                         | 155                  |    |
|    | <211>                                         | 41                   |    |
|    | <212>                                         | RNA                  |    |
|    | <213>                                         | Seqüência artificial |    |
| 10 | <220>                                         |                      |    |
|    | <223>                                         | Aglutinante MCP-1    |    |
|    | <220>                                         |                      |    |
|    | <221>                                         | D-RNA                |    |
|    | <222>                                         | (1)..(41)            |    |
| 15 | <223>                                         | sintético            |    |
|    | <400>                                         | 155                  |    |
|    | acgcacgucc cucaccggug caagugaagc cguggcucug c |                      | 41 |
|    | <210>                                         | 156                  |    |
|    | <211>                                         | 39                   |    |
| 20 | <212>                                         | RNA                  |    |
|    | <213>                                         | Seqüência artificial |    |
|    | <220>                                         |                      |    |
|    | <223>                                         | Aglutinante MCP-1    |    |
|    | <220>                                         |                      |    |
| 25 | <221>                                         | D-RNA                |    |
|    | <222>                                         | (1)..(39)            |    |
|    | <223>                                         | sintético            |    |
|    | <400>                                         | 156                  |    |
|    | gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugc     |                      | 39 |
| 30 | <210>                                         | 157                  |    |
|    | <211>                                         | 42                   |    |
|    | <212>                                         | RNA                  |    |

- <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(42)  
<223> sintético  
<400> 157  
cgcacguccc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc gu 42
- 10 <210> 158  
<211> 41  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(41)  
<223> sintético
- 20 <400> 158  
cgcacguccc ucaccggugc aagugaagcc guggcucugc g 41  
<210> 159  
<211> 40  
<212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(40)  
<223> sintético  
<400> 159

|    |                                                       |    |
|----|-------------------------------------------------------|----|
|    | gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg            | 40 |
|    | <210> 160                                             |    |
|    | <211> 49                                              |    |
|    | <212> RNA                                             |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                            |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <221> D-RNA                                           |    |
| 10 | <222> (1)..(49)                                       |    |
|    | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 160                                             |    |
|    | gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccgaaugc uggcagcac | 49 |
|    | <210> 161                                             |    |
| 15 | <211> 49                                              |    |
|    | <212> RNA                                             |    |
|    | <213> Sequência artificial                            |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
| 20 | <220>                                                 |    |
|    | <221> D-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(49)                                       |    |
|    | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 161                                             |    |
| 25 | gugcugcgua guggaagacu accuaaugac agccuaaugc uggcagcac | 49 |
|    | <210> 162                                             |    |
|    | <211> 49                                              |    |
|    | <212> RNA                                             |    |
|    | <213> Sequência artificial                            |    |
| 30 | <220>                                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |

|    |                                                       |    |
|----|-------------------------------------------------------|----|
|    | <221> D-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(49)                                       |    |
|    | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 162                                             |    |
| 5  | gugcugcgua guggaagacu accuuaugac agccgaaugc uggcagcac | 49 |
|    | <210> 163                                             |    |
|    | <211> 48                                              |    |
|    | <212> RNA                                             |    |
|    | <213> Sequência artificial                            |    |
| 10 | <220>                                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <221> D-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(48)                                       |    |
| 15 | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 163                                             |    |
|    | gugcugcgua gugaaaaacu acugccagug ggucagagcu agcagcac  | 48 |
|    | <210> 164                                             |    |
|    | <211> 48                                              |    |
| 20 | <212> RNA                                             |    |
|    | <213> Sequência artificial                            |    |
|    | <220>                                                 |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                               |    |
|    | <220>                                                 |    |
| 25 | <221> D-RNA                                           |    |
|    | <222> (1)..(48)                                       |    |
|    | <223> sintético                                       |    |
|    | <400> 164                                             |    |
|    | gugcugcgga guuaaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac   | 48 |
| 30 | <210> 165                                             |    |
|    | <211> 48                                              |    |
|    | <212> RNA                                             |    |

- <213> sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 165  
gugcugcgga guugaaaacu ccuaagaca ggccagagcc ggcagcac 48
- 10 <210> 166  
<211> 48  
<212> RNA  
<213> sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético
- 20 <400> 166  
gugcugcgua guggaagacu accuaugaca gccuaaugcu ggcagcac 48  
<210> 167  
<211> 48  
<212> RNA
- 25 <213> sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 167

|    |  |                                                      |    |
|----|--|------------------------------------------------------|----|
|    |  | gugcugcgga guaaaaacu ccuaagaca ggcuaagacc ggcagcac   | 48 |
|    |  | <210> 168                                            |    |
|    |  | <211> 50                                             |    |
|    |  | <212> RNA                                            |    |
| 5  |  | <213> seqüência artificial                           |    |
|    |  | <220>                                                |    |
|    |  | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    |  | <220>                                                |    |
|    |  | <221> D-RNA                                          |    |
| 10 |  | <222> (1)..(50)                                      |    |
|    |  | <223> sintético                                      |    |
|    |  | <400> 168                                            |    |
|    |  | gugcugcggc gugaaaaacg ccucgagacu gccuuuug caggcagcac | 50 |
|    |  | <210> 169                                            |    |
| 15 |  | <211> 48                                             |    |
|    |  | <212> RNA                                            |    |
|    |  | <213> seqüência artificial                           |    |
|    |  | <220>                                                |    |
|    |  | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
| 20 |  | <220>                                                |    |
|    |  | <221> D-RNA                                          |    |
|    |  | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    |  | <223> sintético                                      |    |
|    |  | <400> 169                                            |    |
| 25 |  | gugcugcgua gugaaaaacu accaacgacu ggcuaagacc ggcagcac | 48 |
|    |  | <210> 170                                            |    |
|    |  | <211> 48                                             |    |
|    |  | <212> RNA                                            |    |
|    |  | <213> seqüência artificial                           |    |
| 30 |  | <220>                                                |    |
|    |  | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    |  | <220>                                                |    |

|    |                                                      |    |
|----|------------------------------------------------------|----|
|    | <221> D-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 170                                            |    |
| 5  | gugcugcgua gugaaagacu accugugaca gccgaaugcu ggcagcac | 48 |
|    | <210> 171                                            |    |
|    | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> sequência artificial                           |    |
| 10 | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <221> D-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
| 15 | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 171                                            |    |
|    | guacugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuaagacc ggcagcac | 48 |
|    | <210> 172                                            |    |
|    | <211> 48                                             |    |
| 20 | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |
| 25 | <221> D-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 172                                            |    |
|    | gugcugcgua guuaaaaacu accaacgacu ggcuaagacc ggcagcac | 48 |
| 30 | <210> 173                                            |    |
|    | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |

- <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 173  
gugcugcgua guaaaaacu accagcgaca ggcugagcc ggcagcac 48
- 10 <210> 174  
<211> 48  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético
- 20 <400> 174  
gugcugcgua guaaaaacu accagcgacu ggcugagcc ggcagcac 48  
<210> 175  
<211> 48  
<212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 175



|    |                                                      |    |
|----|------------------------------------------------------|----|
|    | gugcugcgua gugagaaacu accaacgacu ggcugagacc ggcagcac | 48 |
|    | <210> 176                                            |    |
|    | <211> 46                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
| 5  | <213> sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <221> D-RNA                                          |    |
| 10 | <222> (1)..(46)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 176                                            |    |
|    | ggcugcguaug uaaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcagcc  | 46 |
|    | <210> 177                                            |    |
| 15 | <211> 44                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
| 20 | <220>                                                |    |
|    | <221> D-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(44)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 177                                            |    |
| 25 | ggcgcguagu uaaaaacuac cagcgacugg cuagagccgg cgcc     | 44 |
|    | <210> 178                                            |    |
|    | <211> 46                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> sequência artificial                           |    |
| 30 | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |

- <221> D-RNA  
 <222> (1)..(46)  
 <223> sintético  
 <400> 178
- 5   gugcgcguag uaaaaaacua ccagcgacug gcuagagccg gcgcac                      46  
 <210> 179  
 <211> 46  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial
- 10   <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(46)
- 15   <223> sintético  
 <400> 179  
 gugcgcguag ugagaaacua ccaacgacug gcuagagccg gcgcac                      46  
 <210> 180  
 <211> 44
- 20   <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>
- 25   <221> D-RNA  
 <222> (1)..(44)  
 <223> sintético  
 <400> 180  
 gugccguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg gcac                      44
- 30   <210> 181  
 <211> 44  
 <212> RNA

- <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(44)  
<223> sintético  
<400> 181  
guggcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg ccac 44
- 10 <210> 182  
<211> 44  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(44)  
<223> sintético
- 20 <400> 182  
gucgcuagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgac 44  
<210> 183  
<211> 44  
<212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(44)  
<223> sintético  
<400> 183

|    |                                                  |    |
|----|--------------------------------------------------|----|
|    | ugcgcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cgca | 44 |
|    | <210> 184                                        |    |
|    | <211> 44                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
| 5  | <213> sequência artificial                       |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <221> D-RNA                                      |    |
| 10 | <222> (1)..(44)                                  |    |
|    | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 184                                        |    |
|    | gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc | 44 |
|    | <210> 185                                        |    |
| 15 | <211> 44                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> sequência artificial                       |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
| 20 | <220>                                            |    |
|    | <221> D-RNA                                      |    |
|    | <222> (1)..(44)                                  |    |
|    | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 185                                        |    |
| 25 | gcugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cagc | 44 |
|    | <210> 186                                        |    |
|    | <211> 44                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> Sequência artificial                       |    |
| 30 | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220>                                            |    |

<221> D-RNA  
 <222> (1)..(44)  
 <223> sintético  
 <400> 186  
 5 ggugcguagu gagaaacuac caacgacugg cuagagccgg cacc 44  
 <210> 187  
 <211> 40  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 10 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 15 <223> sintético  
 <400> 187  
 uggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc 40  
 <210> 188  
 <211> 42  
 20 <212> RNA  
 <213> sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 25 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 <400> 188  
 gcgcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gc 42  
 30 <210> 189  
 <211> 42  
 <212> RNA

<213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>

5 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 <400> 189  
 gugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ac 42

10 <210> 190  
 <211> 42  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>

15 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético

20 <400> 190  
 gggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cc 42  
 <210> 191  
 <211> 42  
 <212> RNA

25 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA

30 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 <400> 191

|    |                                                |    |
|----|------------------------------------------------|----|
|    | gagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc uc | 42 |
|    | <210> 192                                      |    |
|    | <211> 42                                       |    |
|    | <212> RNA                                      |    |
| 5  | <213> seqüência artificial                     |    |
|    | <220>                                          |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                        |    |
|    | <220>                                          |    |
|    | <221> D-RNA                                    |    |
| 10 | <222> (1)..(42)                                |    |
|    | <223> sintético                                |    |
|    | <400> 192                                      |    |
|    | cggcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc cg | 42 |
|    | <210> 193                                      |    |
| 15 | <211> 42                                       |    |
|    | <212> RNA                                      |    |
|    | <213> seqüência artificial                     |    |
|    | <220>                                          |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                        |    |
| 20 | <220>                                          |    |
|    | <221> D-RNA                                    |    |
|    | <222> (1)..(42)                                |    |
|    | <223> sintético                                |    |
|    | <400> 193                                      |    |
| 25 | ccgcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc gg | 42 |
|    | <210> 194                                      |    |
|    | <211> 42                                       |    |
|    | <212> RNA                                      |    |
|    | <213> seqüência artificial                     |    |
| 30 | <220>                                          |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                        |    |
|    | <220>                                          |    |

- <221> D-RNA  
 <222> (1)..(42)  
 <223> sintético  
 <400> 194
- 5 cagcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ug 42  
 <210> 195  
 <211> 42  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial
- 10 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(42)
- 15 <223> sintético  
 <400> 195  
 cugcguagug agaaacuacc aacgacuggc uagagccggc ag 42  
 <210> 196  
 <211> 39
- 20 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>
- 25 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(39)  
 <223> sintético  
 <400> 196  
 agcguguuag ugaagugggu ggcagguaaa ggacacgcu 39
- 30 <210> 197  
 <211> 39  
 <212> RNA



- <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>
- 5 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(39)  
 <223> sintético  
 <400> 197  
 agcgugguag cggugugggg gguagguaaa ggccacgcu 39
- 10 <210> 198  
 <211> 39  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(39)  
 <223> sintético
- 20 <400> 198  
 agcgugauag aagagcggg gguagguaaa ggucaggcu 39  
 <210> 199  
 <211> 39  
 <212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(39)  
 <223> sintético  
 <400> 199

|    |                                            |    |
|----|--------------------------------------------|----|
|    | agcguguuag guaggguggu aguaaguaaa ggacacgcu | 39 |
|    | <210> 200                                  |    |
|    | <211> 38                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
| 5  | <213> sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <221> D-RNA                                |    |
| 10 | <222> (1)..(38)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 200                                  |    |
|    | agcguguuag guggguggua guaaguaaag gacacgcu  | 38 |
|    | <210> 201                                  |    |
| 15 | <211> 38                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
| 20 | <220>                                      |    |
|    | <221> D-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(38)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 201                                  |    |
| 25 | agcguguuag guggguggua guaaguaaag ggcacgcu  | 38 |
|    | <210> 202                                  |    |
|    | <211> 34                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> sequência artificial                 |    |
| 30 | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |

- <221> D-RNA  
 <222> (1)..(34)  
 <223> sintético  
 <400> 202
- 5 ccgcuuaggu gggugguagu aaguaaaggg gcgg 34  
 <210> 203  
 <211> 39  
 <212> RNA  
 <213> sequência artificial
- 10 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(39)
- 15 <223> sintético  
 <400> 203  
 gcgcgagcag guggguggua gaauguaaag acucgcguc 39  
 <210> 204  
 <211> 34
- 20 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>
- 25 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(34)  
 <223> sintético  
 <400> 204  
 cguguuaggu gggugguagu aaguaaagga cacg 34
- 30 <210> 205  
 <211> 32  
 <212> RNA

|    |       |                                       |    |
|----|-------|---------------------------------------|----|
|    | <213> | Seqüência artificial                  |    |
|    | <220> |                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                     |    |
|    | <220> |                                       |    |
| 5  | <221> | D-RNA                                 |    |
|    | <222> | (1)..(32)                             |    |
|    | <223> | sintético                             |    |
|    | <400> | 205                                   |    |
|    |       | guguuaggug ggugguagua aguaaaggac ac   | 32 |
| 10 | <210> | 206                                   |    |
|    | <211> | 34                                    |    |
|    | <212> | RNA                                   |    |
|    | <213> | Seqüência artificial                  |    |
|    | <220> |                                       |    |
| 15 | <223> | Aglutinante MCP-1                     |    |
|    | <220> |                                       |    |
|    | <221> | D-RNA                                 |    |
|    | <222> | (1)..(34)                             |    |
|    | <223> | sintético                             |    |
| 20 | <400> | 206                                   |    |
|    |       | cguguuaggu gggugguagu aaguaaaggg cacg | 34 |
|    | <210> | 207                                   |    |
|    | <211> | 32                                    |    |
|    | <212> | RNA                                   |    |
| 25 | <213> | Seqüência artificial                  |    |
|    | <220> |                                       |    |
|    | <223> | Aglutinante MCP-1                     |    |
|    | <220> |                                       |    |
|    | <221> | D-RNA                                 |    |
| 30 | <222> | (1)..(32)                             |    |
|    | <223> | sintético                             |    |
|    | <400> | 207                                   |    |

|    |                                                          |    |
|----|----------------------------------------------------------|----|
|    | guguuaggug ggugguagua aguaaagggc ac                      | 32 |
|    | <210> 208                                                |    |
|    | <211> 30                                                 |    |
|    | <212> RNA                                                |    |
| 5  | <213> sequência artificial                               |    |
|    | <220>                                                    |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220>                                                    |    |
|    | <221> D-RNA                                              |    |
| 10 | <222> (1)..(30)                                          |    |
|    | <223> sintético                                          |    |
|    | <400> 208                                                |    |
|    | uguuaggugg gugguaguaa guaaagggca                         | 30 |
|    | <210> 209                                                |    |
| 15 | <211> 52                                                 |    |
|    | <212> RNA                                                |    |
|    | <213> sequência artificial                               |    |
|    | <220>                                                    |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                  |    |
| 20 | <220>                                                    |    |
|    | <221> D-RNA                                              |    |
|    | <222> (1)..(52)                                          |    |
|    | <223> sintético                                          |    |
|    | <400> 209                                                |    |
| 25 | ggacgagagu gacaaugau auaaccuccu gacuaacgcu gcgggcgaca gg | 52 |
|    | <210> 210                                                |    |
|    | <211> 52                                                 |    |
|    | <212> RNA                                                |    |
|    | <213> sequência artificial                               |    |
| 30 | <220>                                                    |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                  |    |
|    | <220>                                                    |    |

<221> D-RNA  
 <222> (1)..(52)  
 <223> sintético  
 <400> 210  
 5 ggaccuau cg cuaagacaac gcgcagucua cgggacauuc uccgcggaca gg 52  
 <210> 211  
 <211> 52  
 <212> RNA  
 <213> seqüência artificial  
 10 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(52)  
 15 <223> sintético  
 <400> 211  
 ggacaaugu uacccccgag agagacaaau gagacaaccu ccugaagaca gg 52  
 <210> 212  
 <211> 51  
 20 <212> RNA  
 <213> seqüência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 25 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(51)  
 <223> sintético  
 <400> 212  
 ggacgaaagu gagaaugau acaaccuccu guugcugcga auccggacag g 51  
 30 <210> 213  
 <211> 50  
 <212> RNA

- <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>
- 5 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(50)  
 <223> sintético  
 <400> 213  
 ggacguaaaa gacgcuaccc gaaagaaugu caggagggua gaccgacagg 50
- 10 <210> 214  
 <211> 50  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(50)  
 <223> sintético
- 20 <400> 214  
 ggacuagaaa cuacaauagc ggccaguugc accgcguuau caacgacagg 50  
 <210> 215  
 <211> 50  
 <212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(50)  
 <223> sintético  
 <400> 215

|    |                                                         |    |
|----|---------------------------------------------------------|----|
|    | ggacuaguca gccagugugu auaucggacg cggguuuuuu uacugacagg  | 50 |
|    | <210> 216                                               |    |
|    | <211> 50                                                |    |
|    | <212> RNA                                               |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                              |    |
|    | <220>                                                   |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                 |    |
|    | <220>                                                   |    |
|    | <221> D-RNA                                             |    |
| 10 | <222> (1)..(50)                                         |    |
|    | <223> sintético                                         |    |
|    | <400> 216                                               |    |
|    | ggacuguccg gagugugaaa cucccccgaga ccgccagaag cggggacagg | 50 |
|    | <210> 217                                               |    |
| 15 | <211> 50                                                |    |
|    | <212> RNA                                               |    |
|    | <213> Sequência artificial                              |    |
|    | <220>                                                   |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                 |    |
| 20 | <220>                                                   |    |
|    | <221> D-RNA                                             |    |
|    | <222> (1)..(50)                                         |    |
|    | <223> sintético                                         |    |
|    | <400> 217                                               |    |
| 25 | ggacuucuaa ccaggugggu gguaguaugu aaagagauag aagugacagg  | 50 |
|    | <210> 218                                               |    |
|    | <211> 50                                                |    |
|    | <212> RNA                                               |    |
|    | <213> Sequência artificial                              |    |
| 30 | <220>                                                   |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                 |    |
|    | <220>                                                   |    |



|    |                                                        |    |
|----|--------------------------------------------------------|----|
|    | <221> D-RNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(50)                                        |    |
|    | <223> sintético                                        |    |
|    | <400> 218                                              |    |
| 5  | ggacgagagc gaacaaugau auaaccuccu gacggaaaga gaucgacagg | 50 |
|    | <210> 219                                              |    |
|    | <211> 48                                               |    |
|    | <212> RNA                                              |    |
|    | <213> Sequência artificial                             |    |
| 10 | <220>                                                  |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <221> D-RNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(48)                                        |    |
| 15 | <223> sintético                                        |    |
|    | <400> 219                                              |    |
|    | ccugugcuac acgcaguaag aagugaacgu ucaguaugug ugcacagg   | 48 |
|    | <210> 220                                              |    |
|    | <211> 48                                               |    |
| 20 | <212> RNA                                              |    |
|    | <213> Sequência artificial                             |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220>                                                  |    |
| 25 | <221> D-RNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(48)                                        |    |
|    | <223> sintético                                        |    |
|    | <400> 220                                              |    |
|    | cgugagccag gcaccgaggg cguaaacugg cugauuggac acgacacg   | 48 |
| 30 | <210> 221                                              |    |
|    | <211> 48                                               |    |
|    | <212> RNA                                              |    |

- <213> sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 221  
cgugaacaug caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg 48
- 10 <210> 222  
<211> 48  
<212> RNA  
<213> sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético
- 20 <400> 222  
cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg 48  
<210> 223  
<211> 48  
<212> RNA
- 25 <213> sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 223

|    |                                                      |    |
|----|------------------------------------------------------|----|
|    | cgugcagaga gagaccaacc acguaaaauc aaccuaaugg gccgcacg | 48 |
|    | <210> 224                                            |    |
|    | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <221> D-RNA                                          |    |
| 10 | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 224                                            |    |
|    | cgugaacauu caagcuaagc ggggcuguug guugcuuggc ccgccacg | 48 |
|    | <210> 225                                            |    |
| 15 | <211> 48                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
|    | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
| 20 | <220>                                                |    |
|    | <221> D-RNA                                          |    |
|    | <222> (1)..(48)                                      |    |
|    | <223> sintético                                      |    |
|    | <400> 225                                            |    |
| 25 | cgugccgagg cggcgaccag cguuacuuag agaggcuuug gcaccacg | 48 |
|    | <210> 226                                            |    |
|    | <211> 47                                             |    |
|    | <212> RNA                                            |    |
|    | <213> Sequência artificial                           |    |
| 30 | <220>                                                |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                              |    |
|    | <220>                                                |    |

<221> D-RNA  
 <222> (1)..(47)  
 <223> sintético  
 <400> 226  
 5 cgugauaaca gccgucgguc aagaaaacaa aguucgggcg gcgcacg 47  
 <210> 227  
 <211> 47  
 <212> RNA  
 <213> sequência artificial  
 10 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(47)  
 15 <223> sintético  
 <400> 227  
 cguggguggc gcaccgaggg cgaaaagcca ccaguaaaga uagaccg 47  
 <210> 228  
 <211> 45  
 20 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 25 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(45)  
 <223> sintético  
 <400> 228  
 cgugugaucu ccuuuggggg gauuagcuua gagacuuccc acacg 45  
 30 <210> 229  
 <211> 45  
 <212> RNA

- <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(45)  
<223> sintético  
<400> 229  
gcaccuucgc cuaauacacg ugccggcuag cuaauacucg uccgc 45
- 10 <210> 230  
<211> 45  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(45)  
<223> sintético
- 20 <400> 230  
gcacgacuug ggcgaccagu gauacuuaga gagcaagucg ucggc 45  
<210> 231  
<211> 44  
<212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(44)  
<223> sintético  
<400> 231

|    |                                                  |    |
|----|--------------------------------------------------|----|
|    | gcgcgcgcuc aguaagaaau ugaaaguuca gaaugucguc gcgc | 44 |
|    | <210> 232                                        |    |
|    | <211> 39                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
| 5  | <213> sequência artificial                       |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <221> D-RNA                                      |    |
| 10 | <222> (1)..(39)                                  |    |
|    | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 232                                        |    |
|    | aguguguggc aggcuagga gauauuccga gaccacgcu        | 39 |
|    | <210> 233                                        |    |
| 15 | <211> 39                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> Sequência artificial                       |    |
|    | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
| 20 | <220>                                            |    |
|    | <221> D-RNA                                      |    |
|    | <222> (1)..(39)                                  |    |
|    | <223> sintético                                  |    |
|    | <400> 233                                        |    |
| 25 | aguguguggc agacuaugga uagacuccga gaccacgcu       | 39 |
|    | <210> 234                                        |    |
|    | <211> 39                                         |    |
|    | <212> RNA                                        |    |
|    | <213> Sequência artificial                       |    |
| 30 | <220>                                            |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                          |    |
|    | <220>                                            |    |

|    |                                            |    |
|----|--------------------------------------------|----|
|    | <221> D-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(39)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 234                                  |    |
| 5  | agcgugaggc gaccagcgga uuacuuagag agucacgcu | 39 |
|    | <210> 235                                  |    |
|    | <211> 39                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
| 10 | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <221> D-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(39)                            |    |
| 15 | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 235                                  |    |
|    | agcgugaagg ggaccagcgu uacuuacaga guucacgcu | 39 |
|    | <210> 236                                  |    |
|    | <211> 39                                   |    |
| 20 | <212> RNA                                  |    |
|    | <213> Sequência artificial                 |    |
|    | <220>                                      |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                    |    |
|    | <220>                                      |    |
| 25 | <221> D-RNA                                |    |
|    | <222> (1)..(39)                            |    |
|    | <223> sintético                            |    |
|    | <400> 236                                  |    |
|    | agcgugugau guauguagca ccguaucaga ggacacgcu | 39 |
| 30 | <210> 237                                  |    |
|    | <211> 37                                   |    |
|    | <212> RNA                                  |    |

- <213> sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(37)  
<223> sintético  
<400> 237  
agcgugaggc gacccguguu ucguagagag ucacgcu 37
- 10 <210> 238  
<211> 40  
<212> RNA  
<213> sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(40)  
<223> sintético
- 20 <220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(40)  
<223> 5' Peguilação  
<400> 238
- 25 gcacgucccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg 40  
<210> 239  
<211> 40  
<212> RNA  
<213> sequência artificial
- 30 <220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>



- <221> D-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 <223> sintético  
 <220>
- 5 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 <223> 3'-Peguilação  
 <400> 239  
 gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg 40
- 10 <210> 240  
 <211> 58  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA  
 <222> (1)..(58)  
 <223> sintético
- 20 <400> 240  
 gagauggcga cauugguugg gcaugaggcg aggcccuug augaauccgc ggccauuc 58  
 <210> 241  
 <211> 56  
 <212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> Aglutinante MCP-1  
 <220>  
 <221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(56)  
 <223> sintético  
 <400> 241

|    |                                                               |    |
|----|---------------------------------------------------------------|----|
|    | gauggcgaca uugguugggc augaggcgag gcccuuugau gaauccgcgg ccauuc | 56 |
|    | <210> 242                                                     |    |
|    | <211> 53                                                      |    |
|    | <212> RNA                                                     |    |
| 5  | <213> Sequência artificial                                    |    |
|    | <220>                                                         |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                       |    |
|    | <220>                                                         |    |
|    | <221> D-RNA                                                   |    |
| 10 | <222> (1)..(53)                                               |    |
|    | <223> sintético                                               |    |
|    | <400> 242                                                     |    |
|    | ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uuc    | 53 |
|    | <210> 243                                                     |    |
| 15 | <211> 52                                                      |    |
|    | <212> RNA                                                     |    |
|    | <213> Sequência artificial                                    |    |
|    | <220>                                                         |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                       |    |
| 20 | <220>                                                         |    |
|    | <221> D-RNA                                                   |    |
|    | <222> (1)..(52)                                               |    |
|    | <223> sintético                                               |    |
|    | <400> 243                                                     |    |
| 25 | ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca uu     | 52 |
|    | <210> 244                                                     |    |
|    | <211> 50                                                      |    |
|    | <212> RNA                                                     |    |
|    | <213> Sequência artificial                                    |    |
| 30 | <220>                                                         |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                       |    |
|    | <220>                                                         |    |

|    |                                                        |    |
|----|--------------------------------------------------------|----|
|    | <221> D-RNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(50)                                        |    |
|    | <223> sintético                                        |    |
|    | <400> 244                                              |    |
| 5  | ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca | 50 |
|    | <210> 245                                              |    |
|    | <211> 48                                               |    |
|    | <212> RNA                                              |    |
|    | <213> Sequência artificial                             |    |
| 10 | <220>                                                  |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <221> D-RNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(48)                                        |    |
| 15 | <223> sintético                                        |    |
|    | <400> 245                                              |    |
|    | gcugguuacc gagggggcguc cguuggaguu uguugguug ucaccagc   | 48 |
|    | <210> 246                                              |    |
|    | <211> 46                                               |    |
| 20 | <212> RNA                                              |    |
|    | <213> Sequência artificial                             |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <223> Aglutinante MCP-1                                |    |
|    | <220>                                                  |    |
| 25 | <221> D-RNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(46)                                        |    |
|    | <223> sintético                                        |    |
|    | <400> 246                                              |    |
|    | cugguuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguug caccag      | 46 |
| 30 | <210> 247                                              |    |
|    | <211> 44                                               |    |
|    | <212> RNA                                              |    |

- <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>
- 5 <221> D-RNA  
<222> (1)..(44)  
<223> sintético  
<400> 247  
ugguuaccga gggggcgucg uuggaguuug guugguuguc acca 44
- 10 <210> 248  
<211> 48  
<212> RNA  
<213> Sequência artificial  
<220>
- 15 <223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA  
<222> (1)..(48)  
<223> sintético
- 20 <400> 248  
gccgguuacc gagggggcgu cguuggaguu uggguugguug ucaccggc 48  
<210> 249  
<211> 48  
<212> RNA
- 25 <213> Sequência artificial  
<220>  
<223> Aglutinante MCP-1  
<220>  
<221> D-RNA
- 30 <222> (1)..(48)  
<223> sintético  
<400> 249

gccggcuacc gagggggcgu cguuggaguu ugguugguug ucgccggc

48

<210> 250

<211> 46

<212> RNA

5 <213> Sequência artificial

<220>

<223> Aglutinante MCP-1

<220>

<221> D-RNA

10 <222> (1)..(46)

<223> sintético

<400> 250

gcgcguaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu ccgcgc

46

<210> 251

15 <211> 46

<212> RNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Aglutinante MCP-1

20 <220>

<221> D-RNA

<222> (1)..(46)

<223> sintético

<400> 251

25 gggccuaccg agggggcguc guuggaguuu gguugguugu cggccc

46

<210> 252

<211> 76

<212> PRT

<213> Rattus rattus

30 <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

25

30

Ser Ser Arg Cys Pro Lys Glu Ala Val Val Phe Val Thr Lys Leu Lys

40

45

5 Arg Glu Ile Cys Ala Asp Pro Asn Lys Glu Trp Val Gln Lys Tyr Ile

55

60

Arg Lys Leu Asp Gln Asn Gln Val Arg Ser Glu Thr

70

75

**<210> 253**

10       $\langle 211 \rangle$       50

**<212> RNA**

<213> Sequência artificial

**<220>**

<223> Aglutinante MCP-1

15 <220>

<221> L-RNA

<222> (1) .. (50)

<223> sintético

**<220>**

20 <221> L-RNA

<222> (1) .. (50)

<223> 5'-Peguição

**<400> 253**

ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca

50

25     <210>     254

**<211> 50**

**<212> RNA**

<213> Seqüência artificial

**<220>**

30 <223> Aglutinante MCP-1

**<220>**

**<221> L-RNA**

|    |                                                        |    |
|----|--------------------------------------------------------|----|
|    | <222> (1)..(50)                                        |    |
|    | <223> sintético                                        |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <221> L-RNA                                            |    |
| 5  | <222> (1)..(50)                                        |    |
|    | <223> 3'-Peguilação                                    |    |
|    | <400> 254                                              |    |
|    | ggcgacauug guugggcaug aggcgaggcc cuuugaugaa uccgcggcca | 50 |
|    | <210> 255                                              |    |
| 10 | <211> 11                                               |    |
|    | <212> DNA                                              |    |
|    | <213> Sequência artificial                             |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <223> Sonda de captura NOX-E36                         |    |
| 15 | <220>                                                  |    |
|    | <221> L-DNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(11)                                        |    |
|    | <223> sintético                                        |    |
|    | <220>                                                  |    |
| 20 | <221> L-DNA                                            |    |
|    | <222> (1)..(11)                                        |    |
|    | <223> -(Espaçador18)2-nh4+ a 3' fim                    |    |
|    | <400> 255                                              |    |
|    | gagggacgtg c                                           | 11 |
| 25 | <210> 256                                              |    |
|    | <211> 9                                                |    |
|    | <212> DNA                                              |    |
|    | <213> Sequência artificial                             |    |
|    | <220>                                                  |    |
| 30 | <223> Sonda de detecção NOX-E36                        |    |
|    | <220>                                                  |    |
|    | <221> L-DNA                                            |    |

<222> (1)..(9)  
 <223> sintético  
 <220>  
 <221> L-DNA  
 5 <222> (1)..(9)  
 <223> 5'- Biotina-(Espaçador18)  
 <400> 256  
 cgcagagcc 9  
 <210> 257  
 10 <211> 73  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> CCL1/I-309  
 15 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(73)  
 <223> sintético  
 <400> 257  
 20 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  
 25 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  
 30 <210> 258  
 <211> 69  
 <212> PRT



<213> sequência artificial  
 <220>  
 <223> CCL3/MIP-1?  
 <220>  
 5 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(69)  
 <223> sintético  
 <400> 258  
 Ser Leu Ala Ala Asp Thr Pro Thr Ala Cys Cys Phe Ser Tyr Thr Ser  
 10 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  
 15 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  
 20 <211> 69  
 <212> PRT  
 <213> sequência artificial  
 <220>  
 <223> CCL4/MIP-1beta  
 25 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(69)  
 <223> sintético  
 <400> 259  
 30 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  
5 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  
10 <211> 68  
<212> PRT  
<213> Sequência artificial  
<220>  
<223> CCL5/RANTES  
15 <220>  
<221> L-Proteína  
<222> (1)..(68)  
<223> sintético  
<400> 260  
20 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  
25 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  
30 <210> 261  
<211> 82  
<212> PRT

<213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> CCL13/MCP-4  
 <220>  
 5 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(82)  
 <223> sintético  
 <400> 261  
 Phe Asn Pro Gln Gly Leu Ala Gln Pro Asp Ala Leu Asn Val Pro Ser  
 10 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  
 15 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  
 20  
 <210> 262  
 <211> 74  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 25 <220>  
 <223> CCL14/HCC-1  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(74)  
 30 <223> sintético  
 <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  
 5 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  
 10 65 70  
 <210> 263  
 <211> 73  
 <212> PRT  
 <213> sequência artificial  
 15 <220>  
 <223> CXCL1/GROalpha  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(73)  
 20 <223> sintético  
 <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  
 25 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  
 30 Lys Met Leu Asn Ser Asp Lys Ser Asn  
 65 70  
 <210> 264

<211> 73

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

5 <223> CXCL2/GRObeta

<220>

<221> L-Proteína

<222> (1)..(73)

<223> sintético

10 <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

15 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

20 65 70

<210> 265

<211> 73

<212> PRT

<213> Sequência artificial

25 <220>

<223> CXCL3/GROgamma

<220>

<221> L-Proteína

<222> (1)..(73)

30 <223> sintético

<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  
 5 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  
 10 65 70  
 <210> 266  
 <211> 70  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 15 <220>  
 <223> CXCL4/PF4  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(70)  
 20 <223> sintético  
 <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  
 25 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  
 30 Lys Lys Leu Leu Glu Ser  
 65 70  
 <210> 267

<211> 77  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 5 <223> CXCL5/ENA-78  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(77)  
 <223> sintético  
 10 <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  
 15 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  
 20 65 70 75  
 <210> 268  
 <211> 77  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 25 <220>  
 <223> CXCL6/GCP-2  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(77)  
 30 <223> sintético  
 <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  
 5 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  
 10 65 70 75  
 <210> 269  
 <211> 94  
 <212> PRT  
 <213> Sequência artificial  
 15 <220>  
 <223> CXCL7/NAP-2  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(94)  
 20 <223> sintético  
 <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  
 25 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  
 30 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

5 <212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> CXCL8/IL-8

<220>

10 <221> L-Proteína

<222> (1)..(79)

<223> sintético

<400> 270

Glu Gly Ala Val Leu Pro Arg Ser Ala Lys Glu Leu Arg Cys Gln Cys

15 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

20 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

25 <211> 103

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> CXCL9/MIG

30 <220>

<221> L-Proteína

<222> (1)..(103)

<223> sintético

<400> 271

Thr Pro Val Val Arg Lys Gly Arg Cys Ser Cys Ile Ser Thr Asn Gln

1 5 10 15

5 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

10 50 55 60

Lys Lys Trp Glu Lys Gln Val Ser Gln Lys Lys Lys Gln Lys Asn Gly

65 70 75 80

Lys Lys His Gln Lys Lys Lys Val Leu Lys Val Arg Lys Ser Gln Arg

85 90 95

15 Ser Arg Gln Lys Lys Thr Thr

100

<210> 272

<211> 77

<212> PRT

20 <213> sequência artificial

<220>

<223> CXCL10/IP-10

<220>

<221> L-Proteína

25 <222> (1)..(77)

<223> sintético

<400> 272

Val Pro Leu Ser Arg Thr Val Arg Cys Thr Cys Ile Ser Ile Ser Asn

1 5 10 15

30 Gln Pro Val Asn Pro Arg Ser Leu Glu Lys Leu Glu Ile Ile Pro Ala

20 25 30

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

35

40

45

Gly Glu Lys Arg Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys Ala Ile Lys Asn Leu

50

55

60

5 Leu Lys Ala Val Ser Lys Glu Arg Ser Lys Arg Ser Pro

65

70

75

<210> 273

<211> 73

<212> PRT

10 <213> Sequência artificial

<220>

<223> CXCL11/I-TAC

<220>

<221> L-Proteína

15 <222> (1)..(73)

<223> sintético

<400> 273

Phe Pro Met Phe Lys Arg Gly Arg Cys Leu Cys Ile Gly Pro Gly Val

1

5

10

15

20 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

25

50

55

60

Ile Lys Lys Val Glu Arg Lys Asn Phe

65

70

<210> 274

<211> 72

30 <212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> CXCL12alpha/SDF-1alpha

<220>

<221> L-Proteína

<222> (1)..(72)

5 <223> sintético

<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

10 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

15 Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys Met

65 70

<210> 275

<211> 72

<212> PRT

20 <213> sequência artificial

<220>

<223> CXCL12beta/SDF-1beta

<220>

<221> L-Proteína

25 <222> (1)..(72)

<223> sintético

<400> 275

Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser

1 5 10 15

30 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

5 Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys Met

65

70

<210> 276

<211> 76

<212> PRT

10 <213> Sequência artificial

<220>

<223> CX3CL1/Fractalcina

<220>

<221> L-Proteína

15 <222> (1)..(76)

<223> sintético

<400> 276

Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met Thr

1

5

10

15

20 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

25

50

55

60

Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly

65

70

75

<210> 277

<211> 93

30 <212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> XCL1/Linfotactina  
 <220>  
 <221> L-Proteína  
 <222> (1)..(93)  
 5 <223> artificial  
 <400> 277  
 Val Gly Ser Glu Val Ser Asp Lys Arg Thr Cys Val Ser Leu Thr Thr  
 1 5 10 15  
 Gln Arg Leu Pro Val Ser Arg Ile Lys Thr Tyr Thr Ile Thr Glu Gly  
 10 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  
 15 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  
 20 <211> 40  
 <212> RNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> biotinilado NOX-E36  
 25 <220>  
 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 <223> sintético  
 <220>  
 30 <221> L-RNA  
 <222> (1)..(40)  
 <223> 5' Biotin

|    |       |                                             |    |
|----|-------|---------------------------------------------|----|
|    | <400> | 278                                         |    |
|    |       | gcacguccu caccggugca agugaagccg uggcucugcg  | 40 |
|    | <210> | 279                                         |    |
|    | <211> | 40                                          |    |
| 5  | <212> | RNA                                         |    |
|    | <213> | sequência artificial                        |    |
|    | <220> |                                             |    |
|    | <223> | POC                                         |    |
|    | <220> |                                             |    |
| 10 | <221> | L-RNA                                       |    |
|    | <222> | (1)..(40)                                   |    |
|    | <223> | sintético                                   |    |
|    | <400> | 279                                         |    |
|    |       | uaaggaaacu cggucugaug cgguagcgcg gugcagagcu | 40 |
| 15 | <210> | 280                                         |    |
|    | <211> | 40                                          |    |
|    | <212> | RNA                                         |    |
|    | <213> | sequência artificial                        |    |
|    | <220> |                                             |    |
| 20 | <223> | POC-PEG                                     |    |
|    | <220> |                                             |    |
|    | <221> | L-RNA                                       |    |
|    | <222> | (1)..(40)                                   |    |
|    | <223> | sintético                                   |    |
| 25 | <220> |                                             |    |
|    | <221> | L-RNA                                       |    |
|    | <222> | (1)..(40)                                   |    |
|    | <223> | 5' Peguilação                               |    |
|    | <400> | 280                                         |    |
| 30 |       | uaaggaaacu cggucugaug cgguagcgcg gugcagagcu | 40 |
|    | <210> | 281                                         |    |
|    | <211> | 11                                          |    |

<212> DNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 <223> mSonda de captura NOX-E36  
 5 <220>  
 <221> L-DNA  
 <222> (1)..(11)  
 <223> sintético  
 <220>  
 10 <221> L-DNA  
 <222> (1)..(11)  
 <223> 3' -(Espaçador18)2-NH4+  
 <400> 281  
 ccaatgtcgc c  
 15 <210> 282  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> Sequência artificial  
 <220>  
 20 <223> mSonda de detecção NOX-E36  
 <220>  
 <221> L-DNA  
 <222> (1)..(9)  
 <223> sintético  
 25 <220>  
 <221> L-DNA  
 <222> (1)..(9)  
 <223> 5'- Biotina-(Espaçador18)2-  
 <400> 282  
 30 cgcagagcc  
 <210> 283  
 <211> 76

11

9



<212> PRT

<213> Equus caballus

<400> 283

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

5 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

10 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

15 <211> 76

<212> PRT

<213> Bos Taurus

<400> 284

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

20 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

25 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

30 <211> 125

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

&lt;400&gt; 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

5 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

10 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

15 100 105 110

Ser Ser Thr Ser Val Glu Val Thr Ser Met Thr Glu Asn

115 120 125

20

## REIVINDICAÇÕES

1. Ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1, selecionado a partir do grupo que compreende os ácidos nucléicos do tipo 1A, os ácidos nucléicos do tipo 1B, os ácidos nucléicos do tipo 2, os ácidos nucléicos do tipo 3, os ácidos nucléicos do tipo 4 e os ácidos nucléicos tendo uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com quaisquer de SEQ. ID. Nº: 87 a 115.

2. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, pelo que o ácido nucléico do tipo 1A compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, uma terceira Caixa de extensão B3, uma quarta Caixa de extensão B4, uma quinta Caixa de extensão B5, uma sexta Caixa de extensão B6 e uma sétima Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a sétima Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de AGCRUG,

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CCCGGW,

a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma sequência de nucleotídeos de GUR,

a quarta Caixa de extensão B4 compreende uma sequência de nucleotídeos de RYA,

a quinta Caixa de extensão B5 compreende uma sequência de nucleotídeos de GGGGGRCGCGAYC,

a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCAAUAAUG ou URYAWUUG, e

a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CRYGCU.

3. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 2, pelo que a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotí-

deos de AGCGUG.

4. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 2 ou 3, pelo que a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma seqüência de nucleotídeos de CCCGGU.

5 5. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 2 a 4, pelo que a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma seqüência de nucleotídeos de GUG.

6. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 2 a 5, pelo que a quarta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüência de nucleotídeos de GUA.

7. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 2 a 6, pelo que a quinta Caixa de extensão B5 compreende uma seqüência de nucleotídeos de GGGGGGCGCGACC.

8. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 2 a 7, pelo que a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma seqüência de nucleotídeos de UACAUUUG.

9. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 2 a 8, pelo que a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma seqüência de nucleotídeos de CACGCU.

20 10. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 2 a 9, pelo que o ácido nucléico compreende uma seqüência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 21.

11. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, pelo que o ácido nucléico do tipo 1B compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, uma terceira Caixa de extensão B3, uma quarta Caixa de extensão B4, uma quinta Caixa de extensão B5, uma sexta Caixa de extensão B6 e uma sétima Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a sétima Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma seqüência

de nucleotídeos de AGYRUG,

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CCAGCU ou CCAGY,

5 a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma sequência de nucleotídeos de GUG,

a quarta Caixa de extensão B4 compreende uma sequência de nucleotídeos de AUG,

a quinta Caixa de extensão B5 compreende uma sequência de nucleotídeos de GGGGGGCGCGACC

10 a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de CAUUUUA ou CAUUUA, e

a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CAYRCU.

12. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 11, pelo que a  
15 primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de AGCGUG.

13. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 11 ou 12, pelo que a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CCAGU.

20 14. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 11 a 13, pelo que a sexta Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de nucleotídeos de CAUUUUA.

15. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 11 a 14, pelo que a sétima Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CACGCU.  
25

16. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 11 a 15, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 28 e SEQ. ID. Nº: 27.

17. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, pelo que o  
30 ácido nucléico do tipo 2 compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, e uma terceira Caixa de extensão B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a terceira Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

5 a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende ACGCA, CGCA e GCA,

a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CSUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGYGGCUC, e

10 a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende UGCGU, UGCG e UGC.

18. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 17, pelo que a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de CGUCCCUCACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC.

15 19. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 17 a 18, pelo que

a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de ACGCA, e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCGU; ou

20 b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de CGCA, e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCG; ou

c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GCA, e a terceira Caixa de extensão B1B  
25 compreende uma sequência de nucleotídeos de UGC ou UGCG.

20. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 17 a 19, pelo que a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GCA.

21. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações  
30 17 a 20 e preferivelmente a reivindicação 20, pelo que a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de UGCG.

22. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações

17 a 21, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 37, SEQ. ID. Nº: 116, SEQ. ID. Nº: 117 e SEQ. ID. Nº: 278.

23. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, pelo que o  
 5 ácido nucléico do tipo 3 compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2A, uma terceira Caixa de extensão B3, uma quarta Caixa de extensão B2B, uma quinta Caixa de extensão B4, uma sexta Caixa de extensão B5A, uma sétima Caixa de extensão B6, uma oitava Caixa de extensão B5B e uma nona Caixa de exten-  
 10 são B1B, pelo que

a primeira Caixa de extensão B1A e a nona Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a segunda Caixa de extensão B2A e a quarta Caixa B2B opcio-  
 15 nalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a sexta Caixa de extensão B5A e a oitava Caixa B5B opcional-  
 mente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

20 a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos que é selecionada a partir do grupo que compreende GUR-CUGC, GKS YGC, KBBSC e BNGC,

a segunda Caixa de extensão B2A compreende uma sequência de nucleotídeos de GKMGU,

25 a terceira Caixa de extensão B3 compreende uma sequência de nucleotídeos de KRRAR,

a quarta Caixa de extensão B2B compreende uma sequência de nucleotídeos de ACKMC,

a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma sequência de  
 30 nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende CURYGA, CU-WAUGA, CWRMGACW e UGCCAGUG,

a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma sequência de

nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GGY e CWGC,  
a sétima Caixa de extensão B6 compreende uma sequência de  
nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende YAGA, CKAAU  
e CCUUUAU,

5 a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de  
nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GCYR e GCWG,  
e

a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de  
nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GCAGCAC,  
10 GCRSMC, GSVVM e GCNV.

24. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 23, pelo que a  
terceira Caixa de extensão B3 compreende uma sequência de nucleotídeos  
de GAGAA ou UAAAA.

25. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 23 ou 24, pelo  
15 que a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma sequência de nucleotí-  
deos de CAGCGACU ou CAACGACU.

26. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações  
23 a 25, pelo que a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüên-  
cia de nucleotídeos de CAGCGACU e a Caixa B3 compreende uma seqüên-  
20 cia de nucleotídeos de UAAAA.

27. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações  
23 a 25, pelo que a quinta Caixa de extensão B4 compreende uma seqüên-  
cia de nucleotídeos de CAACGACU e a terceira Caixa de extensão B3 com-  
preende uma sequência de nucleotídeos de GAGAA.

25 28. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações  
23 a 27, pelo que a sétima Caixa de extensão B6 compreende uma seqüên-  
cia de nucleotídeos de UAGA.

29. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações  
23 a 28, pelo que

30 a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma  
sequência de nucleotídeos de GURCUGC, e a nona Caixa de extensão B1B  
compreende uma sequência de nucleotídeos de GCAGCAC; ou



b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GKS YGC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCRSMC; ou

5 c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de KBBSC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GSVVM; ou

d) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de BNGC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCNV.

10 30. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 29, pelo que

a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GUGCUGC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCAGCAC; ou

15 b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GUGC GC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCGCAC; ou

c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de KKSSC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GSSMM; ou

20 d) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de SNGC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCNS.

25 31. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 30, pelo que a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GGGC, e a nona Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCCC.

30 32. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 23 a 31, pelo que a segunda Caixa de extensão B2A compreende uma sequência de nucleotídeos de GKMGU e a quarta Caixa de extensão B2B compreende uma sequência de nucleotídeos de ACKMC.

33. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 32, pelo que a segunda Caixa de extensão B2A compreende uma sequência de nucleotí-

deos de GUAGU e a quarta Caixa de extensão B2B compreende uma sequência de nucleotídeos de ACUAC.

34. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 23 a 33, pelo que

5           a) a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma sequência de nucleotídeos de GGY, e a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCYR; ou

10           b) a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma sequência de nucleotídeos de CWGC, e a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCWG.

35. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 34, pelo que a sexta Caixa de extensão B5A compreende uma sequência de nucleotídeos de GGC, e a oitava Caixa de extensão B5B compreende uma sequência de nucleotídeos de GCCG.

15           36. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 23 a 35, preferivelmente 34 a 35, pelo que a sexta Caixa de extensão B5A hibridiza com os nucleotídeos GCY da oitava Caixa de extensão B5B.

20           37. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 23 a 26 e 28 a 36, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 56.

25           38. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 23 a 25 e 27 a 36, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos selecionada a partir do grupo que compreende as seqüências de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 57 a 61, SEQ. ID. Nº: 67 a 71 e SEQ. ID. Nº: 73.

39. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, pelo que o ácido nucléico do tipo 4 compreende, na direção 5'→3', uma primeira Caixa de extensão B1A, uma segunda Caixa de extensão B2, uma terceira Caixa de extensão B1B, pelo que

30           a primeira Caixa de extensão B1A e a terceira Caixa de extensão B1B opcionalmente hibridizam uma com a outra, pelo que, com a hibridização, forma-se uma estrutura de filamento duplo,

a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende AGCGUGDU, GCGCGAG, CSKSUU, GUGUU, e UGUU;

5 a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende AGN-DRDGBKGGURGYARGUAAAG, AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG e CAGGUGGGUGGUAGAAUGUAAAGA, e

10 a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos selecionada a partir do grupo que compreende GNCASGCU, CUCGCGUC, GRSMSG, GRCAC, e GGCA.

40. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 39, pelo que

a) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GUGUU, e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GRCAC;

15 b) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de GCGCGAG, e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de CUCGCGUC; ou

c) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de CSKSUU, e a terceira Caixa de extensão B1B  
20 compreende uma sequência de nucleotídeos de GRSMSG, ou

d) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de UGUU, e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GGCA, ou

e) a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma  
25 sequência de nucleotídeos de AGCGUGDU, e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GNCASGCU.

41. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 40, pelo que a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotídeos de CSKSUU e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma se-  
30 quência de nucleotídeos de GRSMSG.

42. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 41, pelo que a primeira Caixa de extensão B1A compreende uma sequência de nucleotí-

deos de CCGCUU e a terceira Caixa de extensão B1B compreende uma sequência de nucleotídeos de GGGCGG.

43. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 39 a 42, pelo que a segunda Caixa de extensão B2 compreende uma sequência de nucleotídeos de AGGUGGGUGGUAGUAAGUAAAG.

44. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 39 a 43, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 80.

45. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 44, pelo que o ácido nucléico é capaz de ligar uma quimiocina, pelo que a quimiocina é seleccionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

46. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 45, pelo que o ácido nucléico é capaz de ligar uma quimiocina, pelo que a quimiocina é seleccionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

47. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 46, pelo que o ácido nucléico é capaz de ligar a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente seleccionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina, a MCP-1 de porco e a MCP-1 humana.

48. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 47, pelo que o ácido nucléico é capaz de ligar a MCP-1 humana.

49. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 48, preferivelmente a reivindicação 48, pelo que a MCP-1 tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID Nº: 1.

50. Ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1 de murino, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 122, SEQ. ID. Nº: 253 e SEQ. ID. Nº: 254.

51. Ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1 de murino, pelo que o ácido nucléico compreende uma sequência de ácidos nu-

cléicos de acordo com SEQ. ID. Nº: 127.

52. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 50 ou 51, pelo que a MCP-1 de murino compreende uma seqüência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID Nº: 2.

5 53. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 52, em que o ácido nucléico compreende uma modificação, pelo que a modificação é preferivelmente uma porção de alto peso molecular e/ou pelo que a modificação preferivelmente permite modificar as características do ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 52, em termos de tempo de residência no corpo animal ou humano, preferivelmente no  
10 corpo humano.

54. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 53, pelo que a modificação é selecionada a partir do grupo compreendendo uma porção de HES e uma porção de PEG.

15 55. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 54, pelo que a modificação é uma porção de PEG consistindo em um PEG reto ou ramificado, pelo que o peso molecular da porção de PEG é preferivelmente de cerca de 20 a 120 kD, mais preferivelmente de cerca de 30 a 80 kD e mais preferivelmente ainda cerca de 40 kD.

20 56. Ácido nucléico de acordo com a reivindicação 54, pelo que a modificação é uma porção de HES, pelo que preferivelmente o peso molecular da porção de HES é de cerca de 10 a 130 kD, mais preferivelmente de cerca de 30 a 130 kD e mais preferivelmente ainda cerca de 100 kD.

25 57. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 53 a 56, pelo que a modificação é acoplada ao ácido nucléico via um ligante.

58. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 53 a 57, pelo que a modificação é acoplada ao ácido nucléico em seu nucleotídeo 5'-terminal e/ou seu nucleotídeo 3'-terminal e/ou a um nucleotídeo do ácido nucléico entre o nucleotídeo 5'-terminal e o nucleotídeo 3'-terminal.

30 59. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 58, pelo que os nucleotídeos do, ou os nucleotídeos que formam o, ácido nucléico são L-nucleotídeos.

60. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 59, pelo que o ácido nucléico é um L-ácido nucléico.

61. Ácido nucléico de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 59, pelo que a porção do ácido nucléico capaz de ligar a MCP-1 consiste  
5 em L-nucleotídeos.

62. Composição farmacêutica compreendendo um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, e opcionalmente um constituinte adicional, pelo que o constituinte adicional é selecionado a partir do grupo que compreende excipientes farmacêuticamente aceitáveis,  
10 veículos farmacêuticamente aceitáveis e agentes farmacêuticamente ativos.

63. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 62, pelo que a composição farmacêutica compreende um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, e um veículo farmacêuticamente aceitável.

15 64. Uso de um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, para a fabricação de um medicamento.

65. Uso de acordo com a reivindicação 64, pelo que o medicamento é para uso na medicina humana ou para uso na medicina veterinária.

20 66. Uso de um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, para a fabricação de um meio diagnóstico.

67. Uso de acordo com a reivindicação 64 ou 65, pelo que o medicamento é para o tratamento e/ou a prevenção de uma doença ou distúrbio selecionado a partir do grupo que compreende doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, encefalomielite auto-imune, acidente vascular cerebral, esclerose múltipla aguda e crônica, inflamação crônica, artrite reumatóide,  
25 doenças renais, reestenose, reestenose pós-angioplastia, reações alérgicas agudas e crônicas, reações imunológicas ou alérgicas primárias e secundárias, asma, conjuntivite, bronquite, câncer, aterosclerose, insuficiência cardíaca cardiovascular arteriosclerótica ou acidente vascular cerebral, psoríase,  
30 artrite psoriática, inflamação do sistema nervoso, dermatite atópica, colite, endometriose, uveíte, distúrbios da retina, incluindo a degeneração macular, o descolamento da retina, a retinopatia diabética, a retinopatia de prematuri-

dade, a retinite pigmentosa, a vitreorretinopatia proliferativa, e a coriorretinopatia serosa central; fibrose pulmonar idiopática, sarcoidose, polimiosite, dermatomiosite, anulação da imunossupressão, reduzindo o risco de infecção, sepse, inflamação renal, glomerulonefrite, glomerulonefrite progressiva

5 rápida, glomerulonefrite proliferativa, nefropatia diabética, nefropatia obstrutiva, necrose tubular aguda, e glomeruloesclerose difusa, lúpus eritematoso sistêmico, bronquite crônica, doença de Behcet, esclerose lateral amiotrófica (ALS), aterosclerose prematura pós doença de Kawasaki, infarto do miocárdio, obesidade, doença crônica do fígado, doença de Peyronie, lesão do

10 cordão espinhal aguda, transplante de pulmão ou rim, miocardite, mal de Alzheimer e neuropatia, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, câncer de bexiga, câncer ovariano, hamartoma, carcinoma colorretal, adenoma colônico, pancreatite, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD) e doenças inflamatórias dos intestinos, tais como a doença de Crohn ou a colite ulcerativa.

15

68. Complexo compreendendo uma quimiocina e um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3, pelo que, de preferência, o complexo é um

20 complexo cristalino.

69. Complexo de acordo com a reivindicação 68, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

70. Complexo de acordo com a reivindicação 68 ou 69, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

25

71. Uso de um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, para a detecção de uma quimiocina, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

30

72. Uso de acordo com a reivindicação 71, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

5 73. Uso de acordo com a reivindicação 71 ou 72, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

10 74. Método para a triagem de um antagonista de quimiocina ou um agonista de quimiocina, compreendendo as seguintes etapas:

- proporcionar um antagonista de candidato à quimiocina e/ou um agonista de candidato à quimiocina,

- proporcionar um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61,

15 - proporcionar um sistema de teste que proporcione um sinal na presença de um antagonista de quimiocina e/ou um agonista de quimiocina, e

20 - determinar se o antagonista de candidato à quimiocina é um antagonista de quimiocina e/ou se o agonista de candidato à quimiocina é um agonista de quimiocina,

pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

25 75. Método de acordo com a reivindicação 74, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

30 76. Método de acordo com a reivindicação 74 ou 75, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

77. Método para a triagem de um agonista de quimiocina e/ou um antagonista de quimiocina, compreendendo as seguintes etapas:



- proporcionar uma quimiocina imobilizada a uma fase, preferivelmente uma fase sólida,

- proporcionar um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, preferivelmente um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 52, o qual está rotulado,

- adicionar um agonista de candidato à quimiocina e/ou um antagonista de candidato à quimiocina, e

- determinar se o agonista de candidato à quimiocina é um agonista de quimiocina e/ou se o antagonista de candidato à quimiocina é um antagonista de quimiocina, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

78. Método de acordo com a reivindicação 77, caracterizado pelo fato de que a determinação é efetuada de modo tal que seja avaliado se o ácido nucléico é substituído pelo agonista de candidato à quimiocina ou por um antagonista de candidato à quimiocina.

79. Método de acordo com a reivindicação 77 ou 78, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

80. Método de acordo com quaisquer das reivindicações 77 a 79, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

81. Kit para a detecção de uma quimiocina, compreendendo um ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

82. Kit de acordo com a reivindicação 81, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

83. Kit de acordo com a reivindicação 81 ou 82, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

84. Antagonista de quimiocina, obténível pelo método como definido em quaisquer das reivindicações 74 a 80, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

85. Antagonista de quimiocina de acordo com a reivindicação 84, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

86. Antagonista de quimiocina de acordo com a reivindicação 84 ou 85, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

87. Agonista de quimiocina, obténível pelo método como definido em quaisquer das reivindicações 74 a 80, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina, a MCP-1, a MCP-2 e a MCP-3.

88. Agonista de quimiocina de acordo com a reivindicação 87, pelo que a quimiocina é selecionada a partir do grupo que compreende a eotaxina humana, a MCP-1 humana, a MCP-2 humana e a MCP-3 humana.

89. Agonista de quimiocina de acordo com a reivindicação 87 ou 88, pelo que a quimiocina é a MCP-1, pelo que a MCP-1 é preferivelmente selecionada a partir do grupo que compreende a MCP-1 humana, a MCP-1 de macaco, a MCP-1 de cavalo, a MCP-1 de coelho, a MCP-1 bovina, a MCP-1 canina e a MCP-1 de porco, mais preferivelmente a MCP-1 é a MCP-1 humana.

90. Método para a detecção do ácido nucléico como definido em

quaisquer das reivindicações 1 a 61, em uma amostra, pelo que o método compreende as etapas de:

f) proporcionar uma amostra contendo o ácido nucléico de acordo com a presente invenção;

5 g) proporcionar uma sonda de captura, pelo que a sonda de captura é pelo menos parcialmente complementar a uma primeira parte do ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, e uma sonda de detecção, pelo que a sonda de detecção é pelo menos parcialmente complementar a uma segunda parte do ácido nucléico como definido em  
10 quaisquer das reivindicações 1 a 61, ou, alternativamente, a sonda de captura é pelo menos parcialmente complementar a uma segunda parte do ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, e a sonda de detecção é pelo menos parcialmente complementar à primeira parte do ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61;

15 h) deixar que a sonda de captura e a sonda de detecção reajam simultaneamente ou em qualquer ordem seqüencialmente com o ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, ou parte dele;

i) opcionalmente detectar se a sonda de captura é hibridizada ou não com o ácido nucléico de acordo com o ácido nucléico como definido em  
20 quaisquer das reivindicações 1 a 61, proporcionado na etapa a); e

j) detectar o complexo formado na etapa c) consistindo no ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, e na sonda de captura e na sonda de detecção.

91. Método de acordo com a reivindicação 90, pelo que a sonda  
25 de detecção compreende um meio de detecção, e/ou pelo que a sonda de captura pode ser imobilizada a um suporte, preferivelmente um suporte sólido.

92. Método de acordo com a reivindicação 90 ou 91, em que  
30 qualquer sonda de detecção que não seja parte do complexo é removida da reação, de modo que na etapa e) somente uma sonda de detecção que seja parte do complexo seja detectada.

93. Método de acordo com quaisquer das reivindicações 90 a 92,

em que a etapa e) compreende a etapa de comparar o sinal gerado pelo meio de detecção quando a sonda de captura e a sonda de detecção forem hibridizadas na presença do ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 61, ou parte dele, e na ausência do dito ácido nucléico ou parte dele.

94. Método de acordo com quaisquer das reivindicações 90 a 93, em que o ácido nucléico a ser detectado é o ácido nucléico tendo uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com as SEQ. ID. N<sup>os</sup>: 37, 116, 117 ou 278, e a sonda de captura ou a sonda de detecção compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com a SEQ. ID. N<sup>o</sup>: 255 ou a SEQ. ID. N<sup>o</sup>: 256.

95. Método de acordo com quaisquer das reivindicações 90 a 93, em que o ácido nucléico a ser detectado é o ácido nucléico tendo uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com as SEQ. ID. N<sup>os</sup>: 122, 253 ou 254, e a sonda de captura ou a sonda de detecção compreende uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com a SEQ. ID. N<sup>o</sup>: 281 e a SEQ. ID. N<sup>o</sup>: 282.

## Tipo 1A

[illegible]

> E10trc, ligação mais fraca do que 176-E10trc conforme determinada no ensaio de competição

>> E10trc, ligação muito mais fraca do que 176-E10trc conforme determinada no ensaio de competição

**Fig. 1**

Tipo 1B

|            | Comprimento<br>(nt) |               |            |            |                      | Co-immunoprecipitação | IC <sub>50</sub> no Ensaio de Ca <sup>2+</sup><br>[nM] |    |         |    |
|------------|---------------------|---------------|------------|------------|----------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|----|---------|----|
| 176-G9trc  | <u>AGUGUG</u>       | <u>CCAGCU</u> | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUUA</u>        | <u>CACACU</u>                                          | 44 | > C9trc | 6  |
| 176-F9trc  | <u>AGUGUG</u>       | <u>CCAGC</u>  | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUUA</u>        | <u>CACACU</u>                                          | 43 | > C9trc |    |
| 176-C11trc | <u>AGUGUG</u>       | <u>CGAGC</u>  | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUUA</u>        | <u>CAUACU</u>                                          | 43 | > C9trc |    |
| 176-E11trc | <u>AGUGUG</u>       | <u>CCAGC</u>  | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUUA</u>        | <u>CAUACU</u>                                          | 43 | > C9trc | 30 |
| 176-D10trc | <u>AGUAUG</u>       | <u>CCAGC</u>  | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUA</u>         | <u>CAUACU</u>                                          | 42 | > C9trc |    |
| 176-H10trc | <u>AGUGUG</u>       | <u>CCAG U</u> | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUUA</u>        | <u>CACACU</u>                                          | 43 | = C9trc |    |
| 176-C9trc  | <u>AGCGUG</u>       | <u>CCAG U</u> | <u>GUG</u> | <u>AUG</u> | <u>GGGGGGCGCGACC</u> | <u>CAUUUUA</u>        | <u>CACGCU</u>                                          | 43 | 5 nM    | 6  |
|            | <u>B1A</u>          | <u>B2</u>     | <u>B3</u>  | <u>B4</u>  | <u>B5</u>            | <u>B6</u>             | <u>B1B</u>                                             |    | 4-5     |    |
| Caixas     |                     |               |            |            |                      |                       |                                                        |    |         |    |

= C9trc, ligação similar como 176-C9trc conforme determinada no ensaio de competição  
 > C9trc, ligação mais fraca do que 176-C9trc conforme determinada no ensaio de competição

Fig. 2

## Tipo 2

| 180-B1-001 | 180-A4-002                         | 180-D1-002                         | Caixas | Derivados de 180-D1-002 | Comprimento (nt) | Co-imunoprecipitação | Ic <sub>50</sub> no Ensaio de Ca <sup>++</sup> | IC <sub>50</sub> na Quimiotaxia |
|------------|------------------------------------|------------------------------------|--------|-------------------------|------------------|----------------------|------------------------------------------------|---------------------------------|
| ACGCA      | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGCGGCUC | B1A    |                         | 43               | > D1-002             |                                                |                                 |
| ACGCA      | CCUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CCUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        |                         | 43               | > D1-002             |                                                |                                 |
| ACGCA      | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        |                         | 43               | 0.7 nM               | 5 nM                                           | < 1 nM                          |
|            |                                    |                                    | B1B    |                         |                  |                      |                                                |                                 |

## Derivados de 180-D1-002

| 180-D1-011 | 180-D1-012                         | 180-D1-018                         | 180-D1-034                         | 180-D1-035                         | 180-D1-036                         | Caixas | Comprimento (nt) | Co-imunoprecipitação | Ic <sub>50</sub> no Ensaio de Ca <sup>++</sup> | IC <sub>50</sub> na Quimiotaxia |
|------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------|------------------|----------------------|------------------------------------------------|---------------------------------|
| GCA        | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        | 41               | = D1-002             | 5 nM                                           | 1.2 nM                          |
| ACGCA      | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        | 41               | = D1-002             | 6 nM                                           | 2.6 nM                          |
| GCA        | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        | 39               | > D1-002             | <10 nM                                         | 2 nM                            |
| CGCA       | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        | 42               | > D1-002             |                                                |                                 |
| CGCA       | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        | 41               | = D1-002             |                                                |                                 |
| GCA        | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC | CGUCCCUACACCGGUGCAAGUGAAGCCGUGGCUC |        | 40               | = D1-002             | 3-4 nM                                         | 0.5 nM                          |
|            |                                    |                                    |                                    |                                    |                                    | B1A    |                  |                      |                                                |                                 |

= D1-002, ligação similar como 180-D1-002 as conforme determinada no ensaio de competição  
 > D1-002, ligação mais fraca do que 180-D1-002 as conforme determinada no ensaio de competição

Fig. 3

Tipo 3

|        | Comprimento<br>(nt) |       |       |       |          |      |         |      |         |    | Co-imunoprecipitação | IC <sub>50</sub> na Quimiotaxia<br>[nM] |
|--------|---------------------|-------|-------|-------|----------|------|---------|------|---------|----|----------------------|-----------------------------------------|
| 178-A8 | GUGCUGC             | GUAGU | GGAAG | ACUAC | CUAAUGA  | CAGC | CGAAU   | GCUG | GCAGCAC | 49 | > 178-D5             |                                         |
| 178-F7 | GUGCUGC             | GUAGU | GGAAG | ACUAC | CUAAUGA  | CAGC | CUAAU   | GCUG | GCAGCAC | 49 | > 178-D5             |                                         |
| 178-G7 | GUGCUGC             | GUAGU | GGAAG | ACUAC | CUAAUGA  | CAGC | CGAAU   | GCUG | GCAGCAC | 49 | > 178-D5             |                                         |
| 178-C6 | GUGCUGC             | GUAGU | GAAAA | ACUAC | UGCCAGUG | GGU  | CAGA    | GCUA | GCAGCAC | 48 | > 178-D5             |                                         |
| 178-E7 | GUGCUGC             | GGAGU | UAAAA | ACUCC | CUAAGACA | GGC  | CAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | > 178-D5             |                                         |
| 178-G6 | GUGCUGC             | GGAGU | UGAAA | ACUCC | CUAAGACA | GGC  | CAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | > 178-D5             |                                         |
| 178-A7 | GUGCUGC             | GUAGU | GGAAG | ACUAC | CUAUGA   | CAGC | CUAAU   | GCUG | GCAGCAC | 48 | > 178-D5             |                                         |
| 178-C7 | GUGCUGC             | GGAGU | UAAAA | ACUCC | CUAAGACA | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | > 178-D5             |                                         |
| 178-E5 | GUGCUGC             | GGCGU | GAAAA | ACGCC | CUGCGA   | CUGC | CCUUUAU | GCAG | GCAGCAC | 48 | 4                    |                                         |
| 181-F1 | GUGCUGC             | GUAGU | GAAAA | ACUAC | CAACGACU | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | = 178-D5             |                                         |
| 181-B2 | GUGCUGC             | GUAGU | GAAAG | ACUAC | CUGUGA   | CAGC | CGAAU   | GCUG | GCAGCAC | 48 | = 178-D5             |                                         |
| 181-C2 | GUACUGC             | GUAGU | UAAAA | ACUAC | CAACGACU | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | = 178-D5             |                                         |
| 178-A6 | GUGCUGC             | GUAGU | UAAAA | ACUAC | CAACGACU | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | = 178-D5             | 0.5                                     |
| 178-D6 | GUGCUGC             | GUAGU | UAAAA | ACUAC | CAGCGACA | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | 0.5 nM               |                                         |
| 178-D5 | GUGCUGC             | GUAGU | UAAAA | ACUAC | CAGCGACU | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | 0.5 nM               | 0.5                                     |
| 181-A2 | GUGCUGC             | GUAGU | GAGAA | ACUAC | CAACGACU | GGC  | UAGA    | GCCG | GCAGCAC | 48 | 0.1 nM               | 0.5                                     |
| Caixas | B1A                 | B2A   | B3    | B2B   | B4       | B5A  | B6      | B5B  | B1B     |    |                      |                                         |

= 178-D5, ligação similar como 178-D5 conforme determinada no ensaio de competição  
 > 178-D5, ligação mais fraca do que 178-D5 conforme determinada no ensaio de competição

Fig. 4



## Derivados de 178-D5 e 181-A2

|            | Comprimento (nt) |       |       | Co-immunoprecipitação |          |     | Biacore |      |         |
|------------|------------------|-------|-------|-----------------------|----------|-----|---------|------|---------|
| 178-D5-020 | GGCUGG           | GUAGU | UAAAA | ACUAC                 | CAGCGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCAGCG  |
| 178-D5-027 | GGCGG            | GUAGU | UAAAA | ACUAC                 | CAGCGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCG   |
| 178-D5-030 | GUGCGG           | GUAGU | UAAAA | ACUAC                 | CAGCGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2     | GUGCUGG          | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCAGCAC |
| 181-A2-002 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-004 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-005 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-006 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-007 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-008 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-011 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-012 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-015 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-016 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-017 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-018 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-019 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-020 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-021 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-022 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| 181-A2-023 | GUGCGG           | GUAGU | GAGAA | ACUAC                 | CAACGACU | GGC | UAGA    | GCCG | GCGCAC  |
| Caixas     | B1A              | B2A   | B3    | B2B                   | B4       | B5A | B6      | B5B  | B1B     |

= 178-D5, ligação similar como 178-D5 conforme determinada no ensaio de competição  
 = 181-A2, ligação similar como 181-A2 na medição de Biacore  
 > 181-A2, ligação mais fraca do que 181-A2 na medição de Biacore

Fig. 5

**Fig. 6**

## Outras seqüências

| Comprimeto<br>(nt) | Co-imunoprecipitação                                  | Biacore  | Ic <sub>50</sub> no Ensaio<br>de Ca <sup>2+</sup> | IC <sub>50</sub><br>na Quirintotaxia |
|--------------------|-------------------------------------------------------|----------|---------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 177-B3             | GGACGAGAGACAAAGUAUAUAAACCUCCUGACUAACGCGGGGGACAGG      | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-C1             | GGACCUUCCGUAAGACACCGCGCAGUCUACGGGACAUUCUCCGGGACAGG    | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-C2             | GGACAAUUGUUUACCCCGGAGAGACAAUUGAGACAAACCUCCUGAAGACAGG  | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-E3             | GGACGAAAGAGAGAAUUGUAUAAACCUCCUGUGUGCGAAUCCGGACAGG     | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-D1             | GGACGUAAGAGACGCUACCCGAAAGAAUUGUCAGGAGGUAACCGACAGG     | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-E1             | GGACUAGAAACUACAAUAGCGGCCAGUUGCACCGCGUUAUUAACGACAGG    | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-A1             | GGACUAGUCAGCCAGUGUGUAUAUACGGACGCGGGUUUAUUUACUGACAGG   | > 178-D5 |                                                   |                                      |
| 177-G3             | GGACUUGCCGGAGUGUGAAACUCCCGAGACCGCCAGAAAGCGGGACAGG     | 5 nM     |                                                   |                                      |
| 177-C3             | GGACUUAUCCAGGUGGUGUGUAUUGUAAGAGAUAGAGUAGACAGG         | 5 nM     |                                                   |                                      |
| 177-A2             | GGACGAGAGCGAAACAAUAGUAUAUAAACCUCCUGACGGAAAGAUCCGACAGG | 13 nM    |                                                   |                                      |
| 170-E4trc          | CCUGUGUACACGACGUAAGAAGUAGAACGUUCAGUAUUGUGGACAGG       |          | 20 nM                                             |                                      |
| 166-D2trc          | CGUGAGCCAGGCACCGAGGCGGUUAACUGGCGUAUUGGACACACAGG       |          | +                                                 |                                      |
| 174-A2trc          | CGUGAACAUAGCAAGCUAAGCGGGCGUGUUGUUGCUUGGCCCGCCACG      |          | +                                                 |                                      |
| 174-E2trc          | CGUGCAGAGAGAGACCAACACACGUAUAAUUAACCUAAUUGGGCGCACG     |          | +                                                 |                                      |
| 183-G3trc          | CGUGCAGAGAGAGACCAACACACGUAUAAUUAACCUAAUUGGGCGCACG     |          |                                                   | +                                    |
| 183-B2trc          | CGUGAACAUUCAAAGCUAAGCGGGCGUGUUGUUGCUUGGCCCGCCACG      |          | 2-3 nM                                            |                                      |
| 166-B2trc          | CGUGCCGAGGCGGCGACCGAGCGUUAUUAUAGAGAGGCUUUGGACCCACG    |          | 2-6 nM                                            |                                      |
| 166-G3trc          | CGUGUAACACAGCCGUCGCUAAGAAACAAAGUUCGGCGGCGCACG         |          | 2-15 nM                                           |                                      |
| 166-D1trc          | CGUGGUGGCGCACCGAGGGCGAAAGCCACCAAGUUAAGUAGACCG         |          | +                                                 |                                      |
| 183-H2trc          | CGUGUAUCUCCUUUGGGUGUAUAGCUUAGAGACUUAUCCACACG          |          | +                                                 |                                      |
| 167-A7trc          | GCACCUUGCCUAAUACACGUGCCGCGUAGCUAAUACUCCGUCGCGC        | 180 nM   | 10 nM                                             |                                      |
| 167-C7trc          | GCACGACUUGGGCGACCGAGUAUACUUAAGAGAGCAAGUCGUCGCG        | 5 nM     | 150 nM                                            |                                      |
| 167-B5trc          | GCAGCGCUCAGUAAGAAUUGAAAGUUCAGAAUUGUGUGCGCG            |          | +                                                 |                                      |
| 184-D7trc          | AGUGUGGCGCAGGCUAAGAGAGUAUUAUCCGAGACCCACGCU            |          |                                                   |                                      |
| 184-D6trc          | AGUGUGGCGCAGACUAUUGUAUAGACUCCGAGACCCACGCU             | 800 nM   |                                                   |                                      |
| 184-E5trc          | AGCGUAGGCGACCGAGCGAUUAUUAUAGAGAGUACACGCU              | 650 nM   |                                                   |                                      |
| 184-G6trc          | AGCGUAGAGGGGACCGAGCGUUAUUAUACAGAGUUAACGCU             | 100 nM   |                                                   |                                      |
| 184-B7trc          | AGCGUGAGUAGUAUAGACCCGUAUACAGAGGACACGCU                | 160 nM   |                                                   |                                      |
| 184-B6trc          | AGCGUAGGCGACCCGUGUUUUGUAGAGAGUACACGCU                 | 27 nM    |                                                   |                                      |
|                    |                                                       | 60 nM    |                                                   |                                      |

+, substância ativa no ensaio, nenhuma IC<sub>50</sub> determinada

> 178-D5, ligação mais fraca do que 178-D5 conforme determinada no ensaio de competição

Fig. 7

# Spiegelmeros Especificos para Murinos

## 188-A3-001 e Derivados

|            | Comprimento (nt) | Co-imunoprecipitação | Ic <sub>50</sub> no Ensaio de Ca <sup>++</sup> [nM] | IC <sub>50</sub> na Quimiotoxicidade [nM] |
|------------|------------------|----------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 188-A3-001 | 58               | < 1 nM               |                                                     |                                           |
| 188-A3-004 | 56               | < 1 nM               |                                                     |                                           |
| 188-A3-005 | 53               | < 1 nM               |                                                     |                                           |
| 188-A3-006 | 52               | < 1 nM               | 12                                                  | 4                                         |
| 188-A3-007 | 50               | ~0.2 nM              | 12                                                  | 7                                         |

= mNOX-E36

## 189-G7-001 e Derivados

|            | Comprimento (nt) | Co-imunoprecipitação | Ic <sub>50</sub> no Ensaio de Ca <sup>++</sup> [nM] | IC <sub>50</sub> na Quimiotoxicidade [nM] |
|------------|------------------|----------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 189-G7-001 | 48               | < 1 nM               | 20-30                                               |                                           |
| 189-G7-002 | 46               | < 1 nM               | 40-50                                               | 6.5                                       |
| 189-G7-003 | 44               | < 1 nM               |                                                     |                                           |
| 189-G7-007 | 48               |                      | 20                                                  |                                           |
| 189-G7-008 | 48               | ~ 1 nM               | 12                                                  | 5                                         |
| 189-G7-010 | 46               |                      | 40                                                  |                                           |
| 189-G7-012 | 46               |                      | > 50                                                |                                           |

Fig. 8

# Constante de Dissociação de **D-NOX-E36**

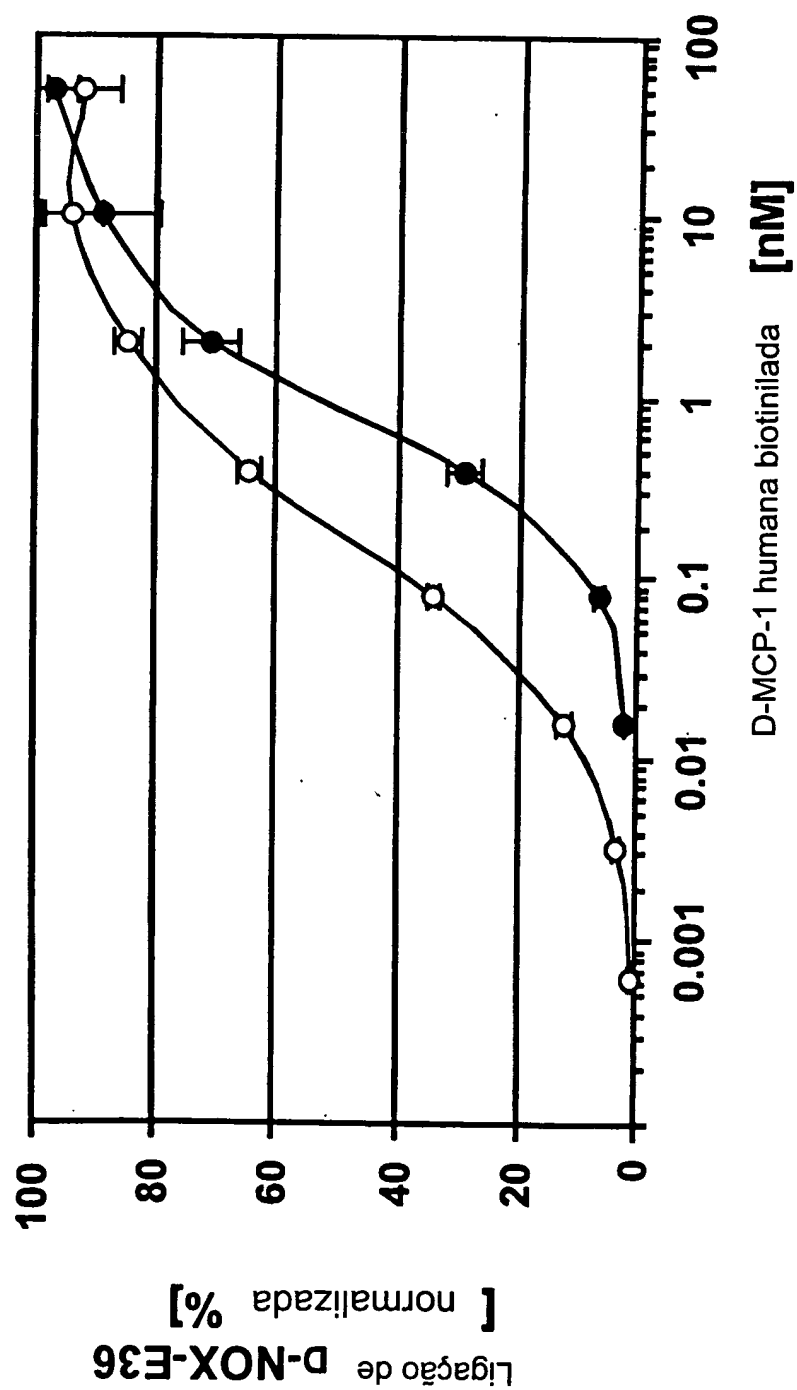


**Fig. 9**

círculos cheios, KD a 37°C 890 ± 65 pM  
círculos ocos, KD na temperatura ambiente 146 ± 13 pM

Constante de Dissociação de **D-mNOX-E36**

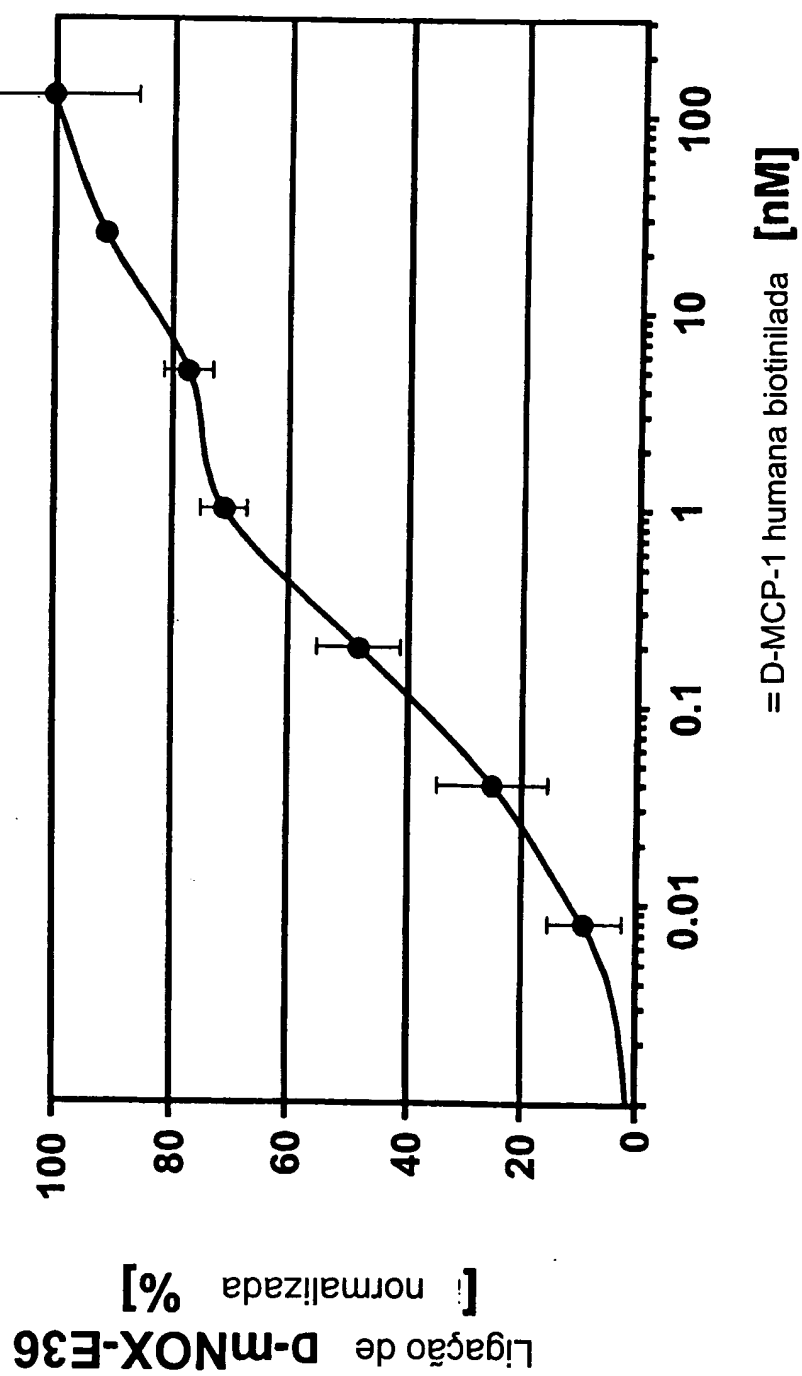


Fig. 10

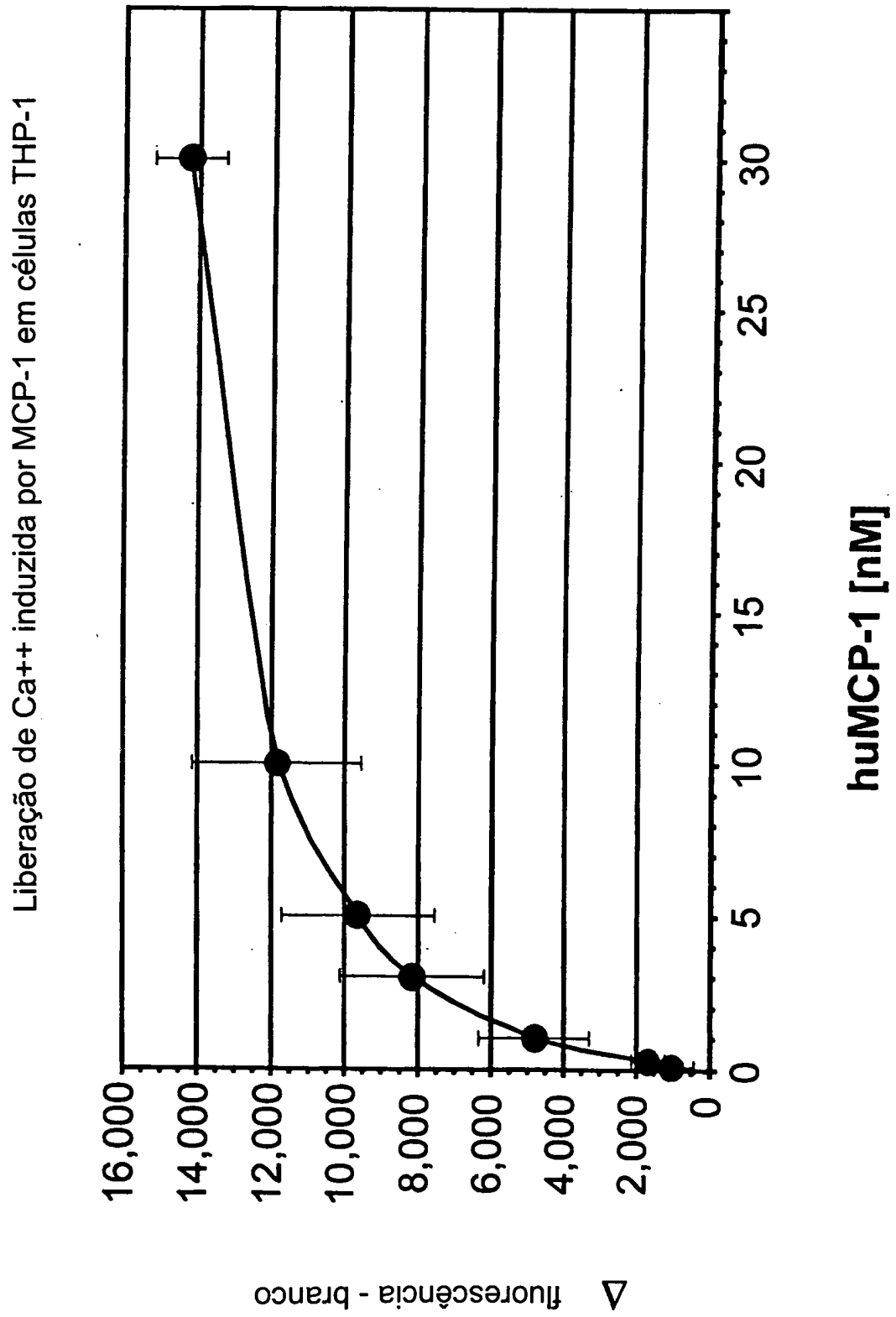


Fig. 11

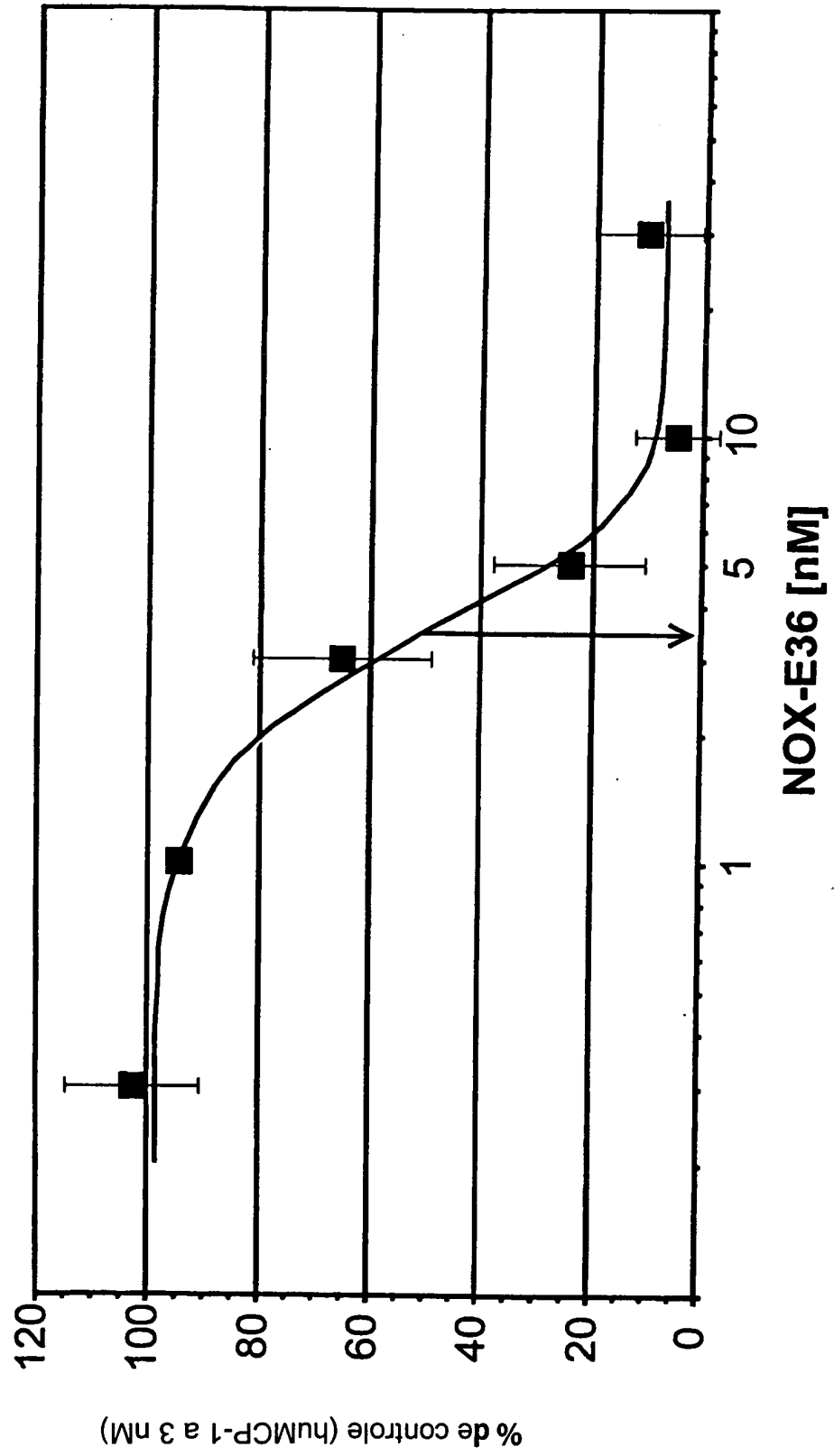
**NOX-E36:** Ensaio de Liberação de  $\text{Ca}^{++}$  com Células THP-1

Fig. 12



**mNOX-E36:** Ensaio de Liberação de  $\text{Ca}^{++}$  com Células THP-1

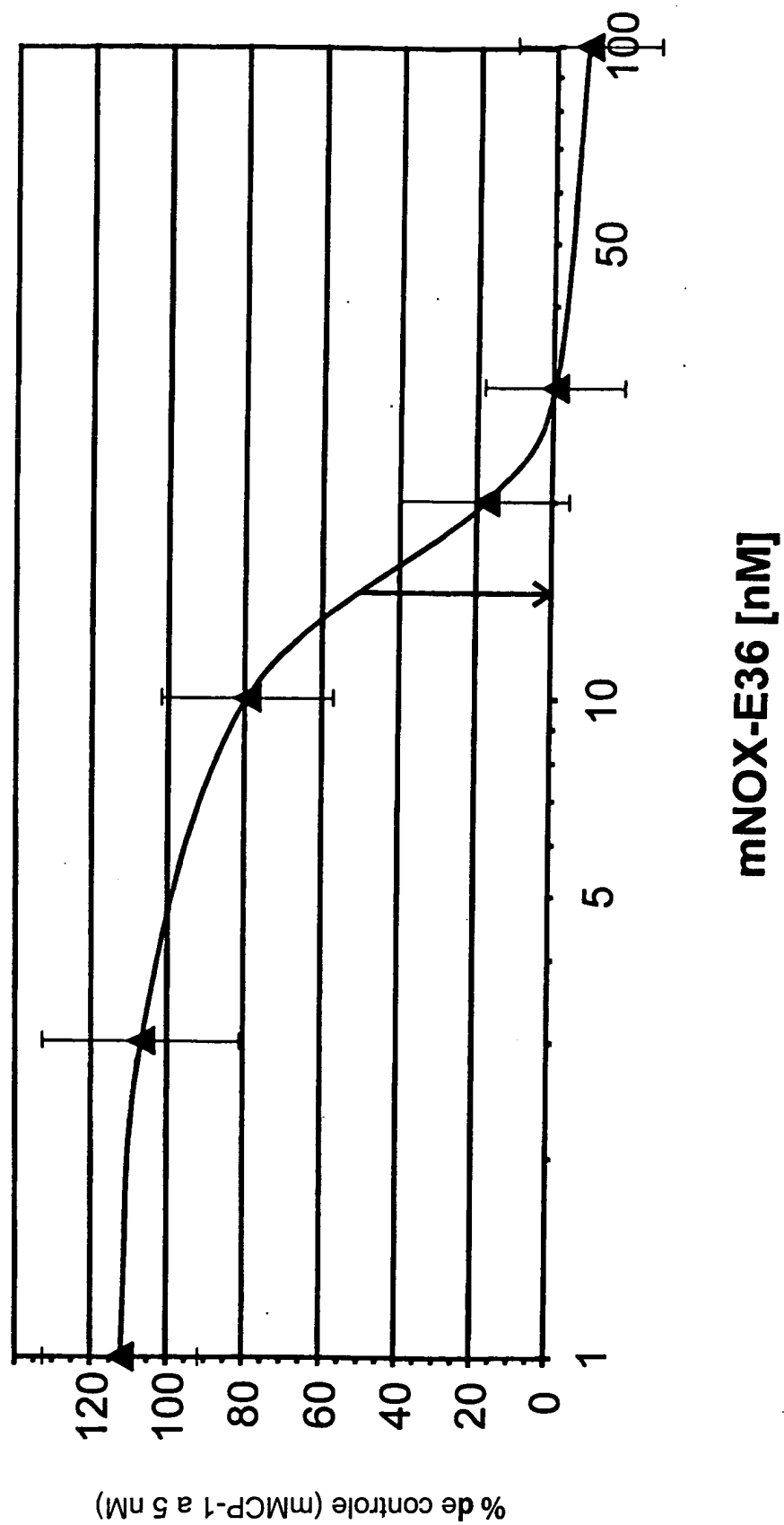


Fig. 13

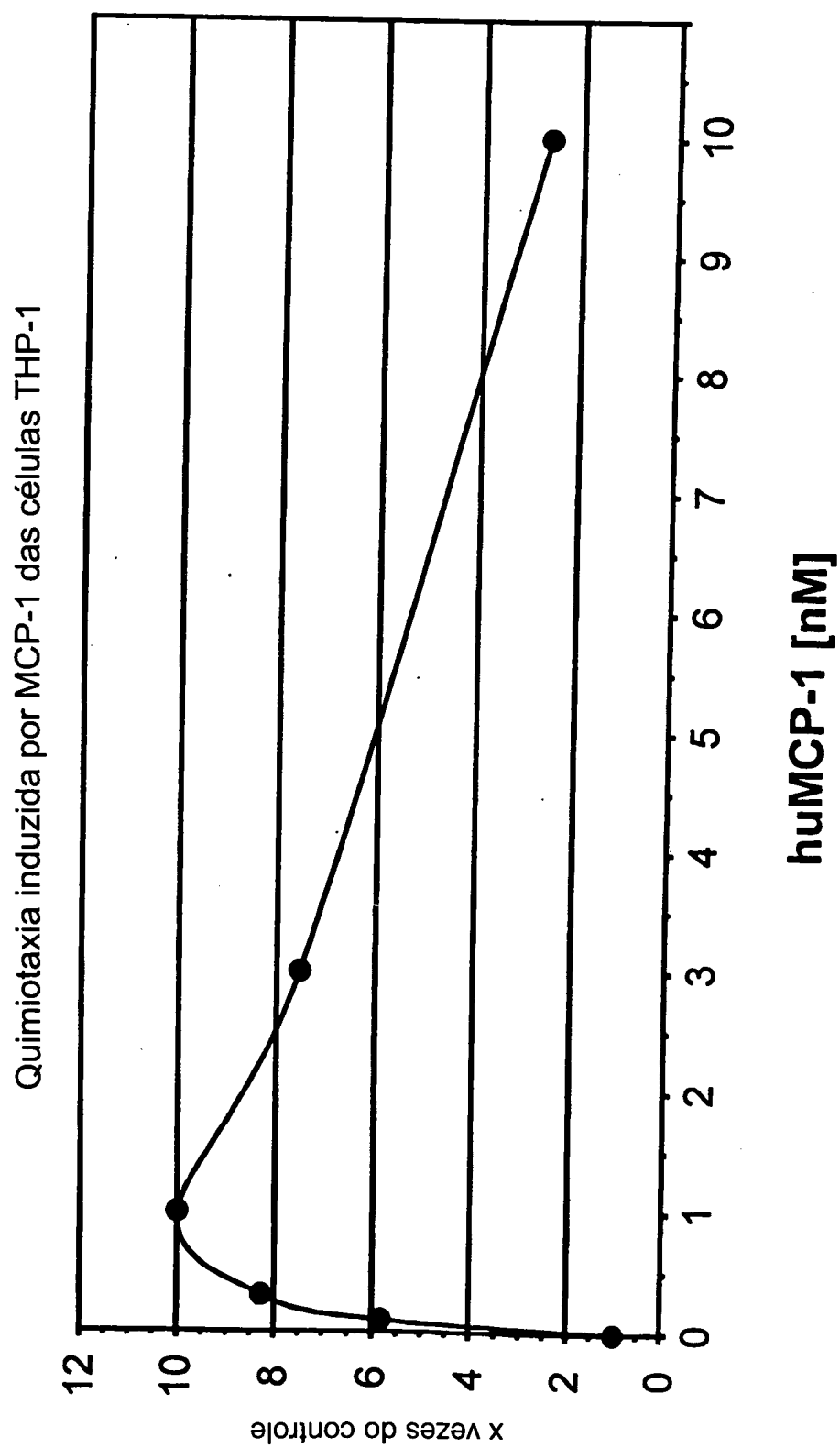


Fig. 14

**NOX-E36:** Ensaio de Quimiotaxia com Células THP-1

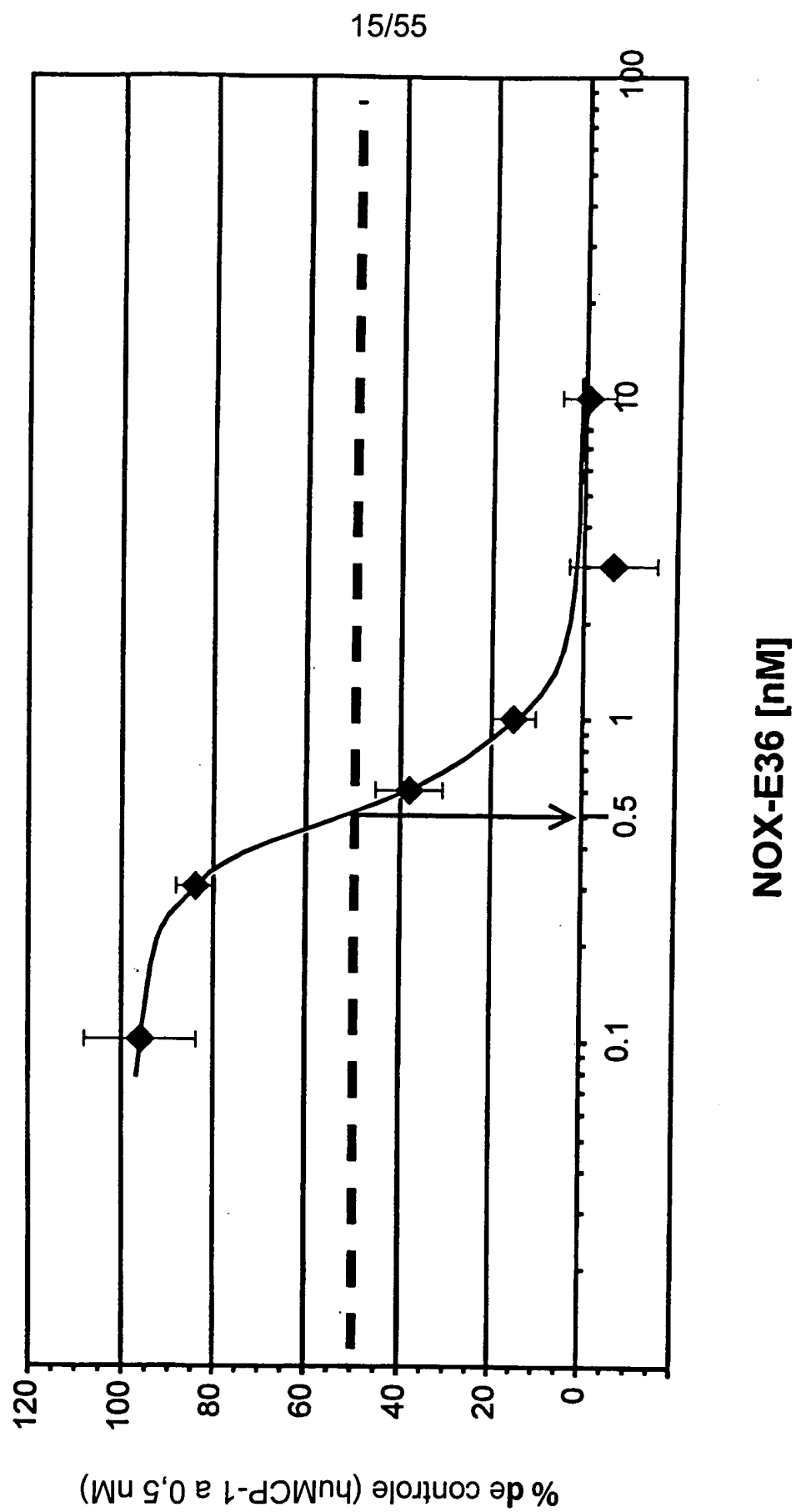
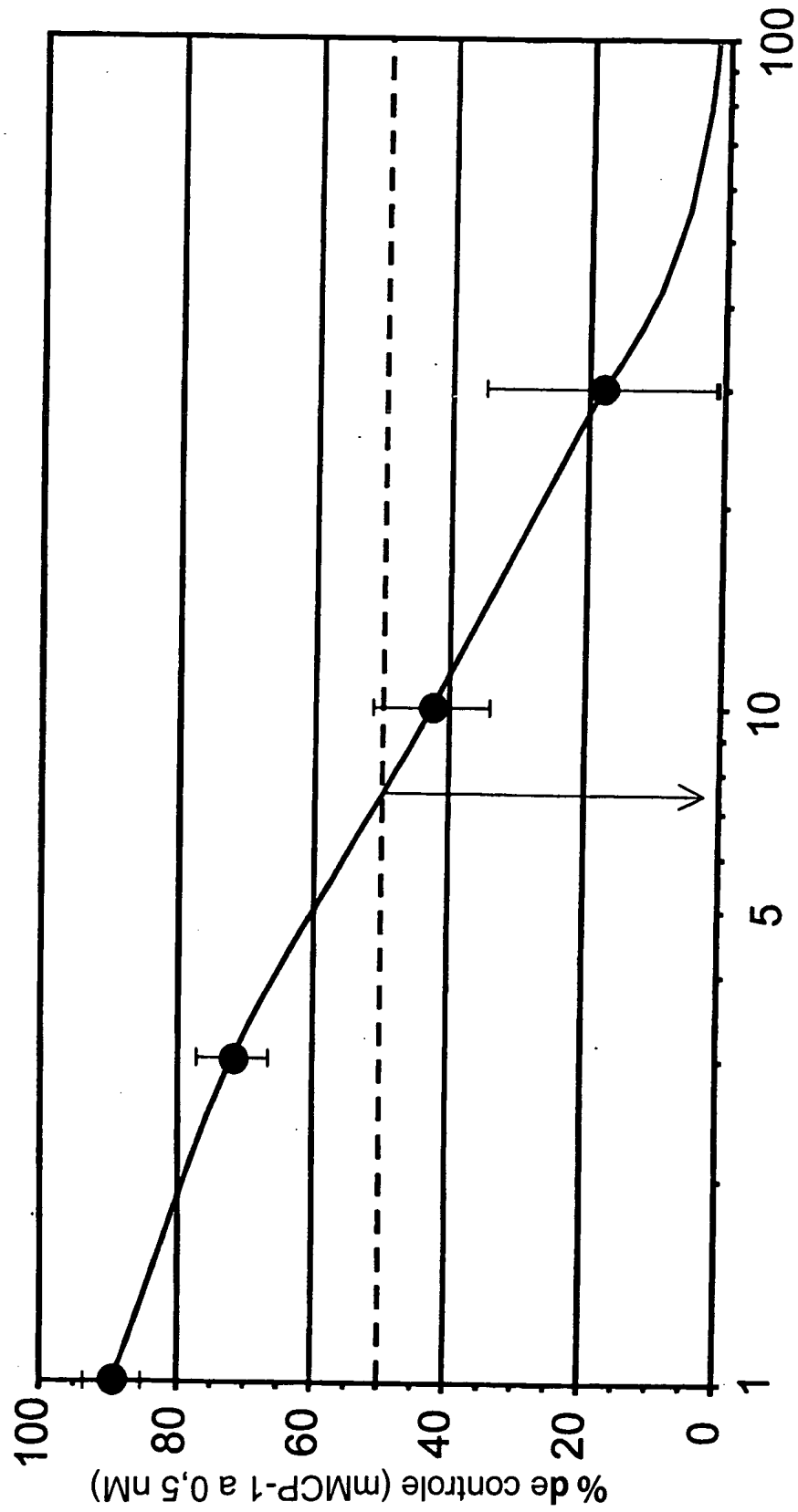
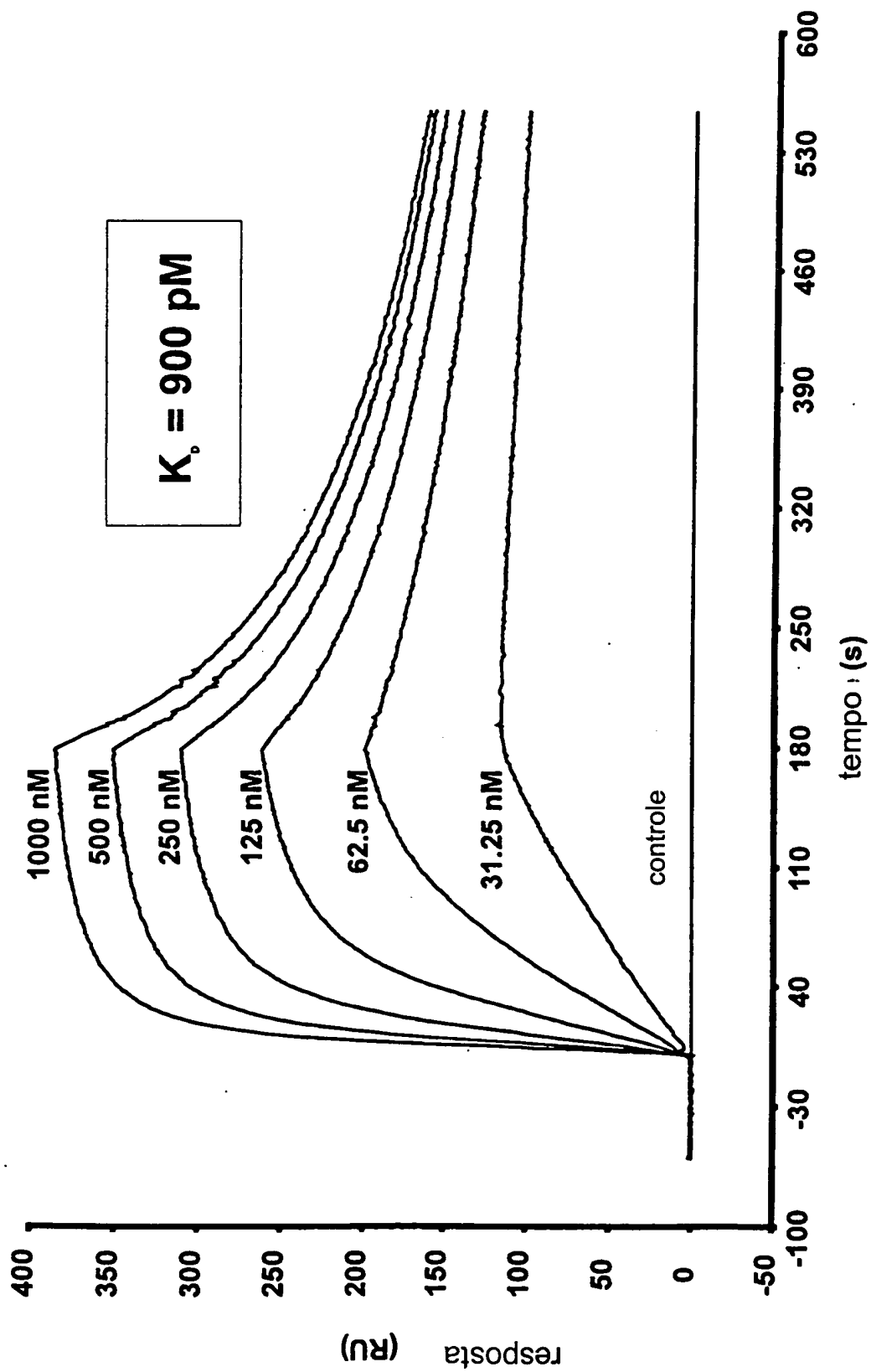


Fig. 15

**mNOX-E36: Ensaio de Quimiotaxia com Células THP-1****mNOX-E36 [nM]****Fig. 16**



Cinética do Spiegelmero NOX-E36 que se liga à MCP-1 humana

Fig. 17

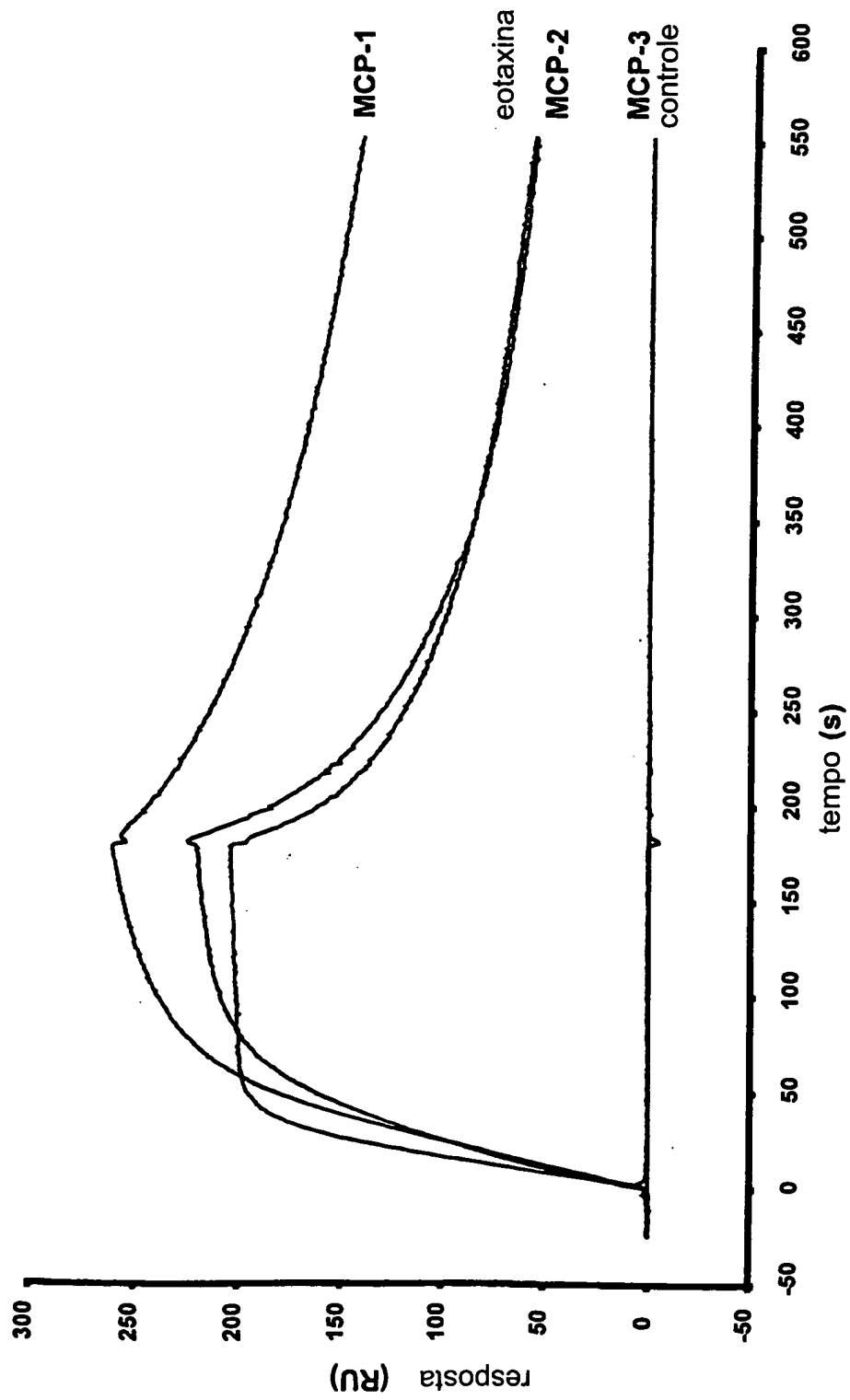
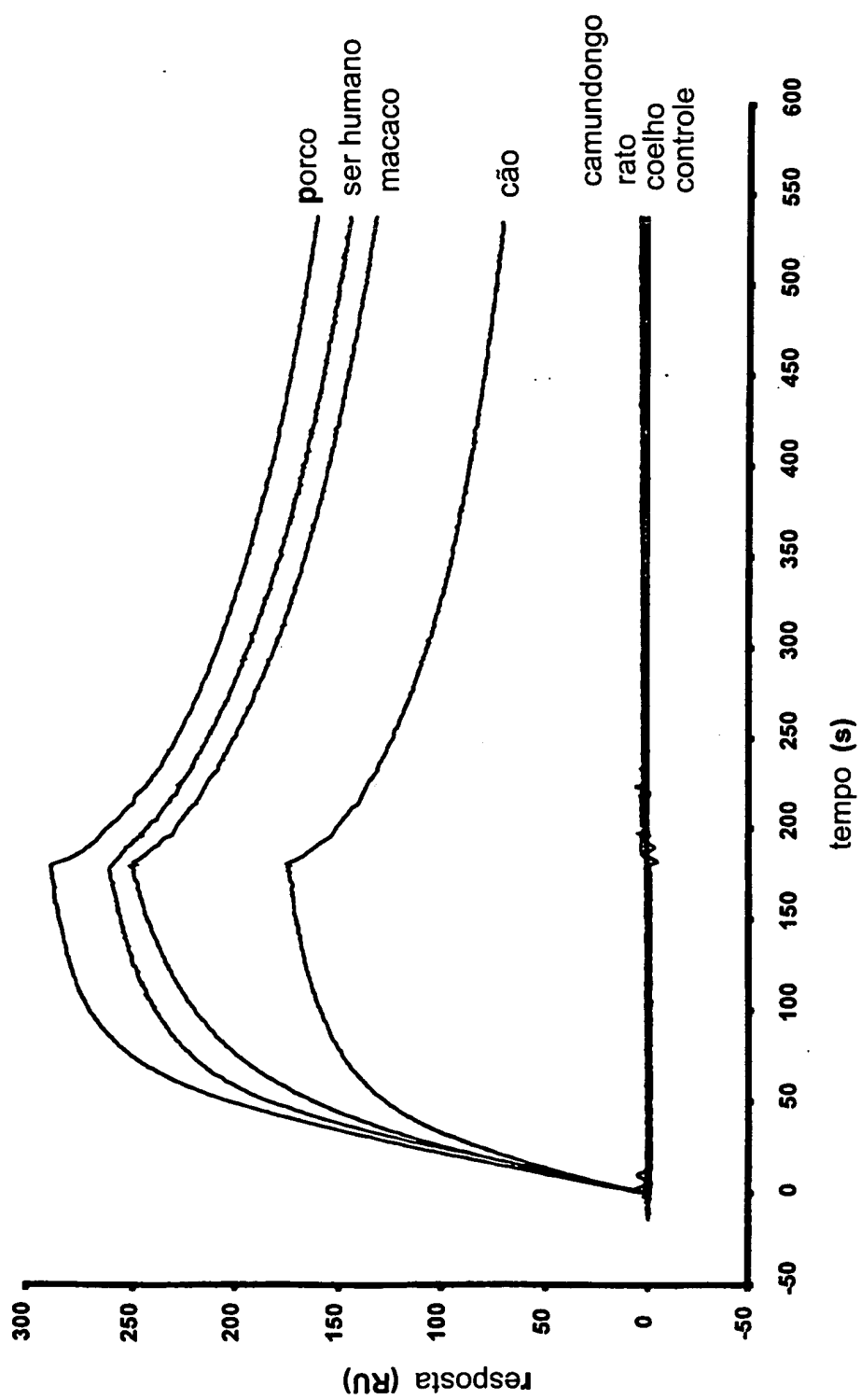
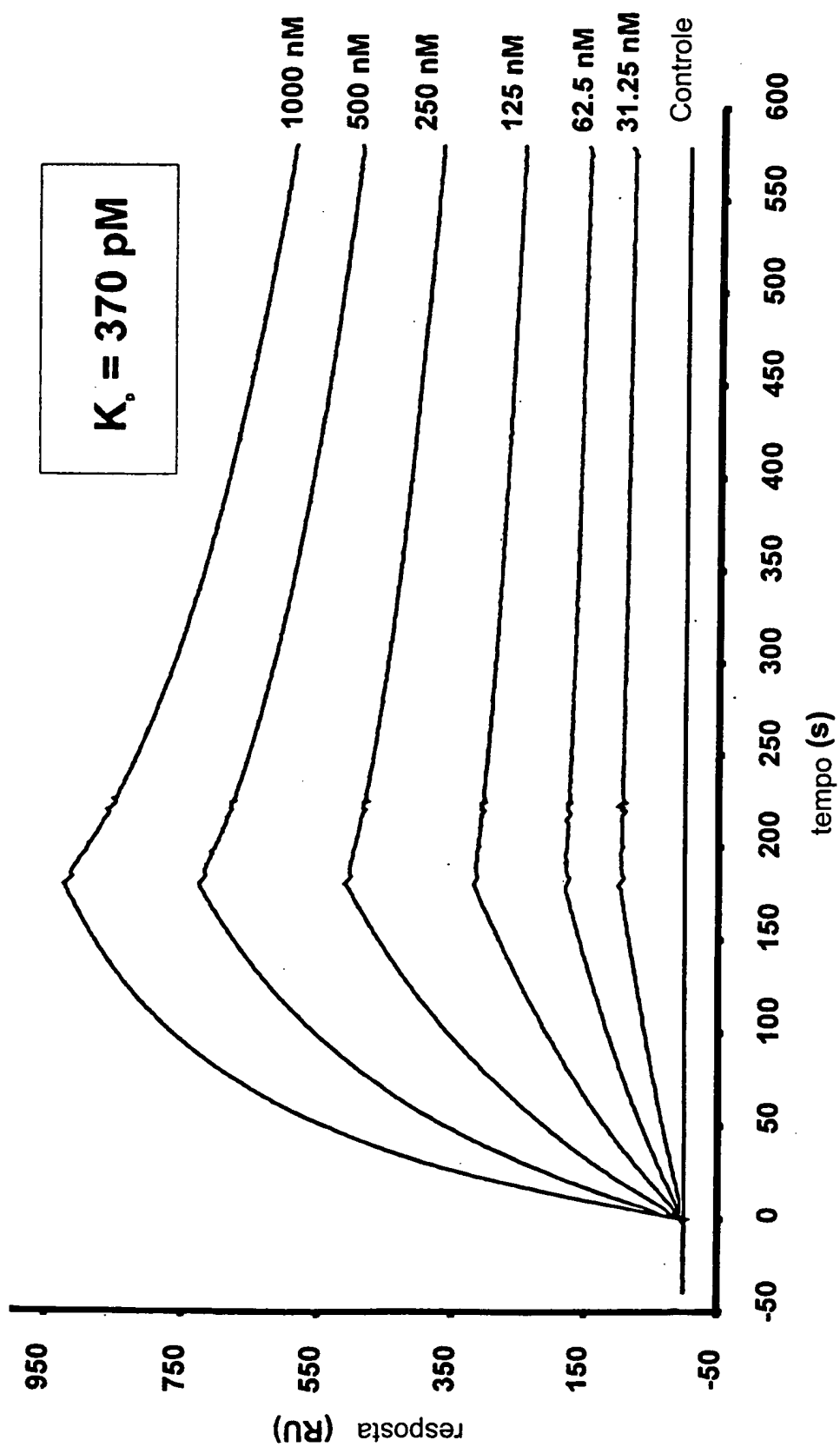


**Fig. 18** Spiegelmero NOX-E36 que se liga às proteínas da família da MCP humana e à eotaxina



Spiegelmero NOX-E36 que se liga à MCP-1 de diferentes espécies

Fig. 19



Cinética do Spiegelmero 181-A2-018 que liga à MCP-1 humana

Fig. 20



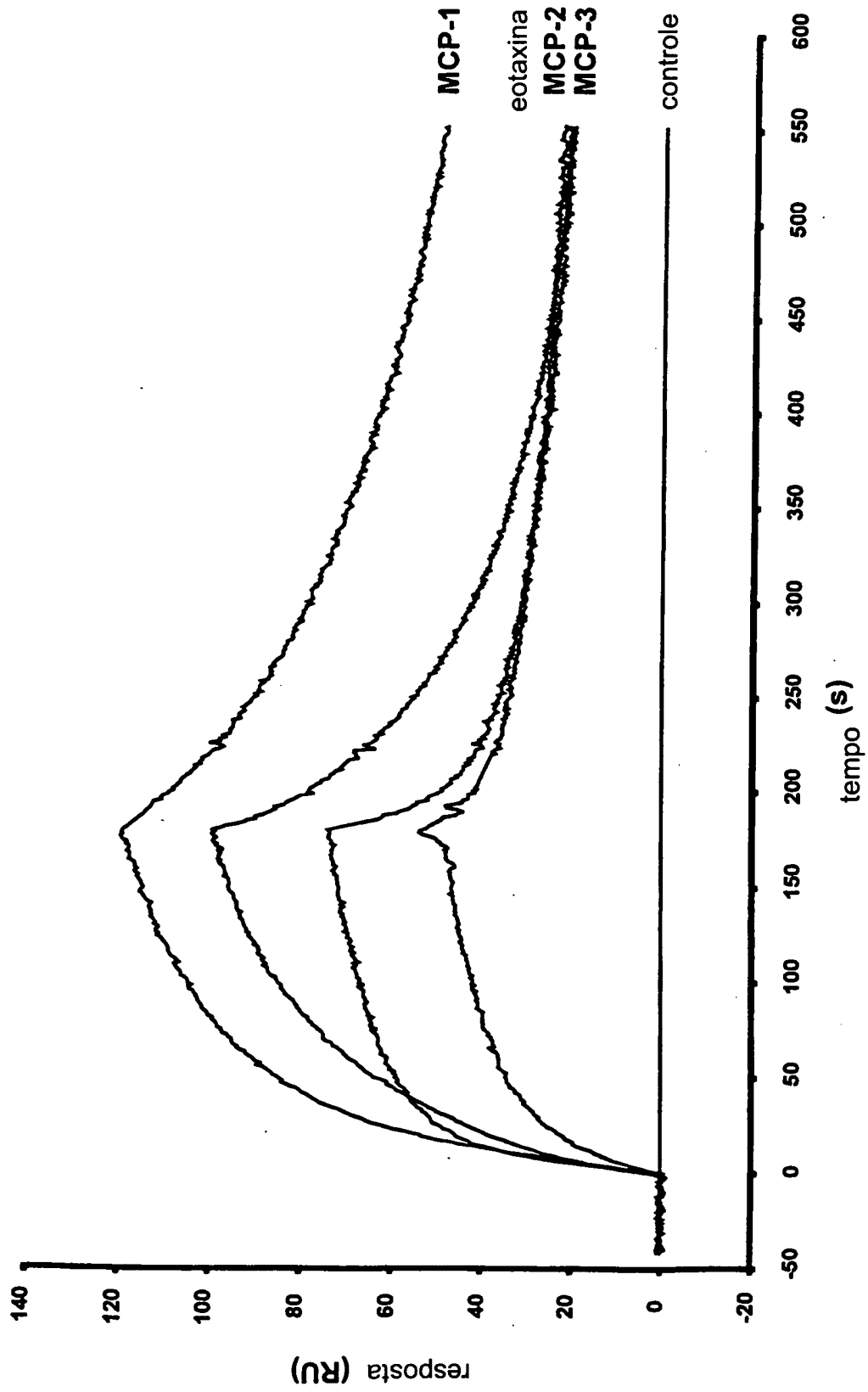


Fig. 21

Spiegelmero 181-A2-018 que se liga às proteínas da família da MCP humana e à eotaxina

.xin

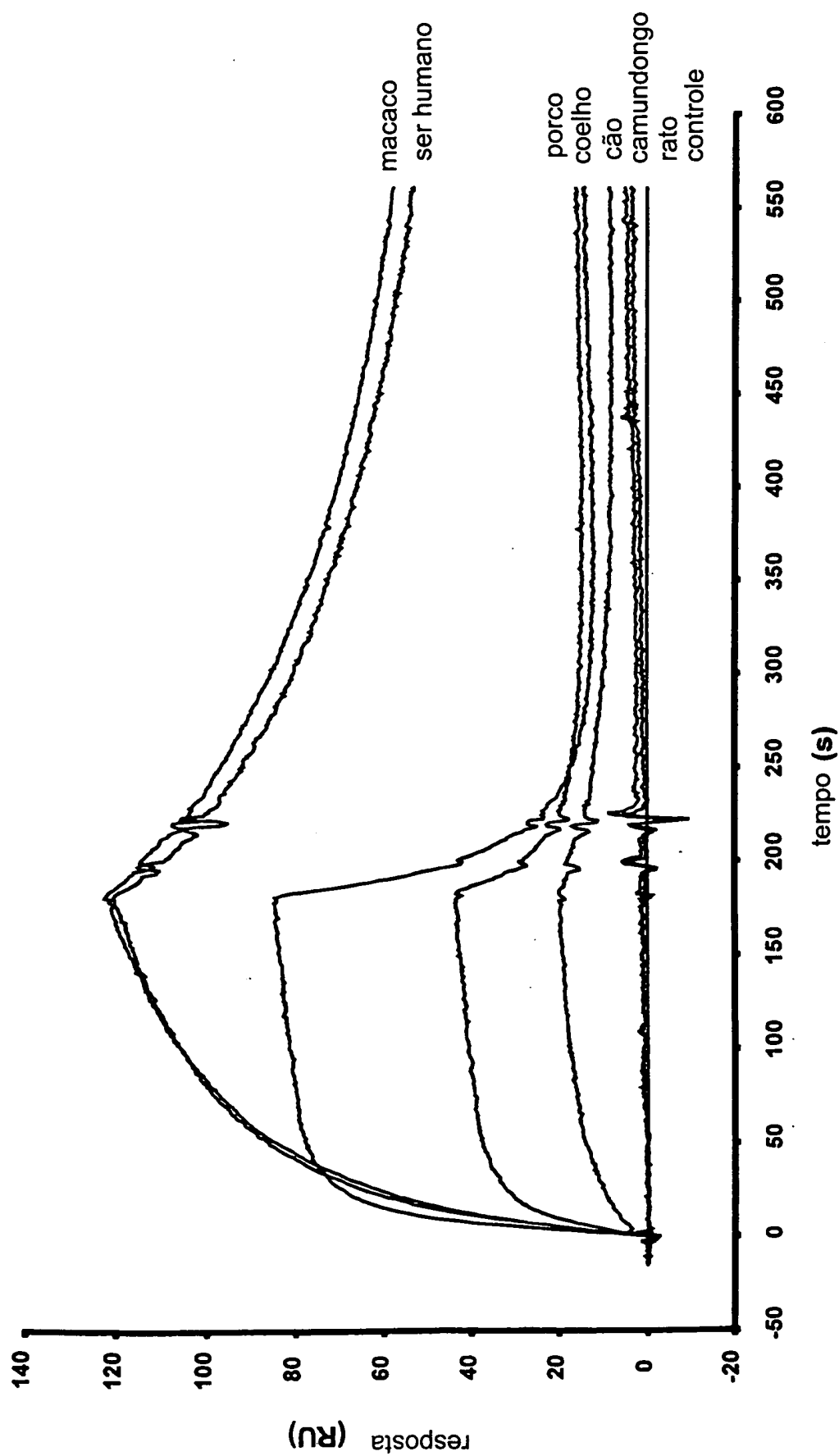


**Fig. 22** Spiegelmero 181-A2-018 que se liga à MCP-1 de diferentes espécies

1 QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYYRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQTQTPKT  
 2 QPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYYRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQIQTPKP  
 3 QPDAINSPVTCCYTLTSKKISMQRLLMSYYRRVTSSKCPKEAVIFKTIAGKEICAEPPKQKWVQDSISHLDDKNQTPKP  
 4 QPDAINSPVTCCYTFGTGKKISSQRLGSGYKRVVTSSKCPKEAVIFKTIILAKEICADPEQKWVQDAVKQLDKKAQTTPKP  
 5 QPDALISPVTCCTLTNNKISIQRLASYYKRVVTSSKCPKEAVIFKTVLNKEICADPKQKWVQDSMAHLDDKKSQTQTA  
 6 QPDAVNSPVTCCYTFNTKTSVKRLMSYYRRINSTKCPKEAVIFMTKLAKGICADPKQKWVQDAIANLDDKMQTPKT  
 7 QPDAINSQAACCYTFNSKKISMQRLLMYYRRVTSSKCPKEAVIFKTIILGKELCADPKQKWVQDSINYLNKKNQTPKP  
 8 QPVGINTSTTCCYRFINKKIPKQRLSYRRVTSSSHCPREAVIFKTKLDKEICADPTQKWVQDFEMKHLDDKKTQTPKL  
 9 GP--ASVPTTCCFNLANRKIPQRLSYRRITSGKCPQKAVIFKTKLAKDICADPKKKWVQDSMKYLDQKSPTPKP  
 10 QPDSVSIPIITCCFNVINRKIPQRLSYTRITNIQCPKEAVIFKTKRGKEVCADPKERWVRDSMKHLDQIFQNLKP  
 11 QPDAVNAPLTCCYSFTSKMIPMSRLESYKRITSSRCPKEAVVFVTKLKREVCADPKKEWVQTYIKNLDRNQMRSEP  
 12 QPDAVNAPLTCCYSFTGKMI PMSRLENYKRITSSRCPKEAVVFVTKLKREICADPNKEWVQYIRKLDQNQVRSET

### % de identidade com a MCP-1 humana

| Proteína                                | % de identidade com a MCP-1 humana |
|-----------------------------------------|------------------------------------|
| MCP-1 de Homo sapiens                   | 100%                               |
| MCP-1 de Macaca mulatta (macaco Rhesus) | 97%                                |
| MCP-1 de Sus scrofa (Porco)             | 79%                                |
| Equus caballus (Cavalo)                 | 78%                                |
| MCP-1 de Canis familiaris (Cão)         | 76%                                |
| MCP-1 de Oryctolagus cuniculus (Coelho) | 75%                                |
| Bos Taurus (Boi)                        | 72%                                |
| MCP-3 de Homo sapiens                   | 71%                                |
| Eotaxina de Homo sapiens                | 64%                                |
| MCP-2 de Homo sapiens                   | 62%                                |
| MCP-1 de Mus musculus (Camundongo)      | 55%                                |
| MCP-1 de Rattus norvegicus (Rato)       | 55%                                |

**Fig. 23**

## Especificidade de NOX-E36 e 181-A2-018

|                     | NOX-E-036<br>K <sub>D</sub> [nM] | 181-A2-018<br>K <sub>D</sub> [nM] |
|---------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| hMCP-1              | 0.89                             | 0.37-0.6                          |
| hMCP-2              | 5-10                             | 10                                |
| hMCP-3              | -                                | 10                                |
| eotaxina            | 5-10                             | 10-20                             |
| MCP-1 de macaco     | 0.90                             | 0.6                               |
| MCP-1 de porco      | 0.82                             | > 1000                            |
| MCP-1 de cão        | 1.2                              | > 1000                            |
| MCP-1 de coelho     | -                                | > 1000                            |
| MCP-1 de rato       | -                                | -                                 |
| MCP-1 de camundongo | -                                | -                                 |

-, não ligando

Fig. 24A

| Quimiocina/sinônimo               | ligação |
|-----------------------------------|---------|
| CCL1/I-309                        | -       |
| CCL2/MCP-1                        | +       |
| CCL3/MIP-1 $\alpha$               | +       |
| CCL4/MIP-1 $\beta$                | -       |
| CCL5/RANTES                       | .*      |
| CCL7/MCP-3                        | -       |
| CCL8/MCP-2                        | +       |
| CCL11/eotaxina                    | +       |
| CCL13/MCP-4                       | (+)     |
| CCL14/HCC-1                       | -       |
| CXCL1/GRO $\alpha$                | -       |
| CXCL2/GRO $\beta$                 | -       |
| CXCL3/GRO $\gamma$                | -       |
| CXCL4/PF4                         | ..**    |
| CXCL5/ENA-78                      | -       |
| CXCL6/GCP-2                       | ..**    |
| CXCL7/NAP-2                       | +       |
| CXCL8/IL-8                        | -       |
| CXCL9/MIG                         | .*      |
| CXCL10/IP-10                      | -       |
| CXCL11/I-TAC                      | ..**    |
| CXCL12 $\alpha$ /SDF-1 $\alpha$   | -       |
| CXCL12 $\beta$ /SDF-1 $\beta$     | -       |
| CX <sub>3</sub> CL1/ Fractalquina | -       |
| XCL1/Linfotactina                 | -       |

A ligação foi classificada como a seguir

+, ligação específica < 10 nM;

(+), ligação específica ao NOX-E36 > 1  $\mu$ M;

-, nenhuma interação mensurável ;

.\*, ligação do poliânion (PoC ou matriz de dextrana) não específica > 250 nM;

..\*\*, ligação do poliânion (PoC ou matriz de dextrana) não específica ; > 10  $\mu$ M.

**Fig. 24 B**

|                     | Constante da taxa de associação<br>$k_a [M^{-1}s^{-1}]$ | Constante da taxa de dissociação<br>$k_d [s^{-1}]$ | Constante de dissociação<br>$K_D [nM]$ |
|---------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------|
| CCL2/MCP-1          | $1.8 \pm 0.4 \times 10^5$                               | $1.9 \pm 0.1 \times 10^{-4}$                       | $1.1 \pm 0.2$                          |
| CCL3/MIP-1 $\alpha$ | $1.6 \pm 0.3 \times 10^5$                               | $6.4 \pm 1.1 \times 10^{-4}$                       | $4.1 \pm 1.3$                          |
| CCL7/MCP-3          | —                                                       | —                                                  | —                                      |
| CCL8/MCP-2          | $2.0 \pm 0.7 \times 10^5$                               | $6.7 \pm 2.0 \times 10^{-4}$                       | $4.2 \pm 2.5$                          |
| CCL11/Eotaxina      | $1.6 \pm 0.4 \times 10^5$                               | $1.1 \pm 0.6 \times 10^{-3}$                       | $7.7 \pm 5.2$                          |
| CCL13/MCP-4         | —                                                       | —                                                  | $> 1,000$                              |
| CXCL7/NAP-2         | $1.8 \pm 0.5 \times 10^5$                               | $4.1 \pm 0.4 \times 10^{-4}$                       | $2.5 \pm 0.9$                          |

Fig. 24 C

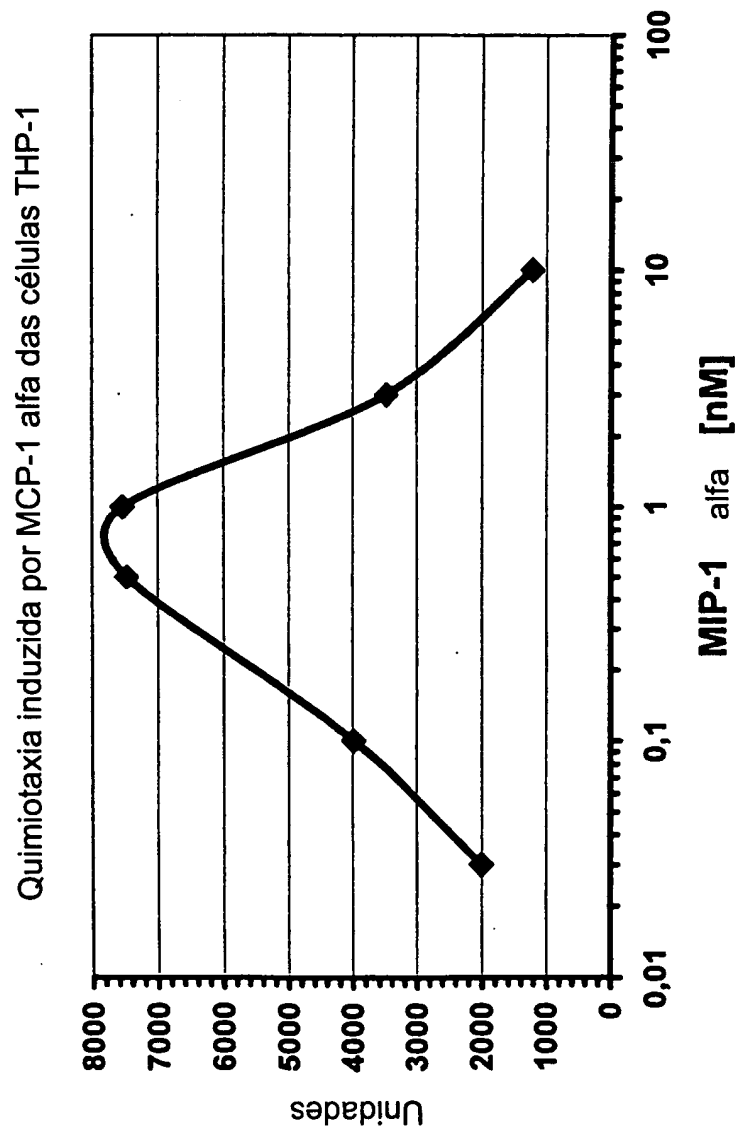


Fig. 24 D

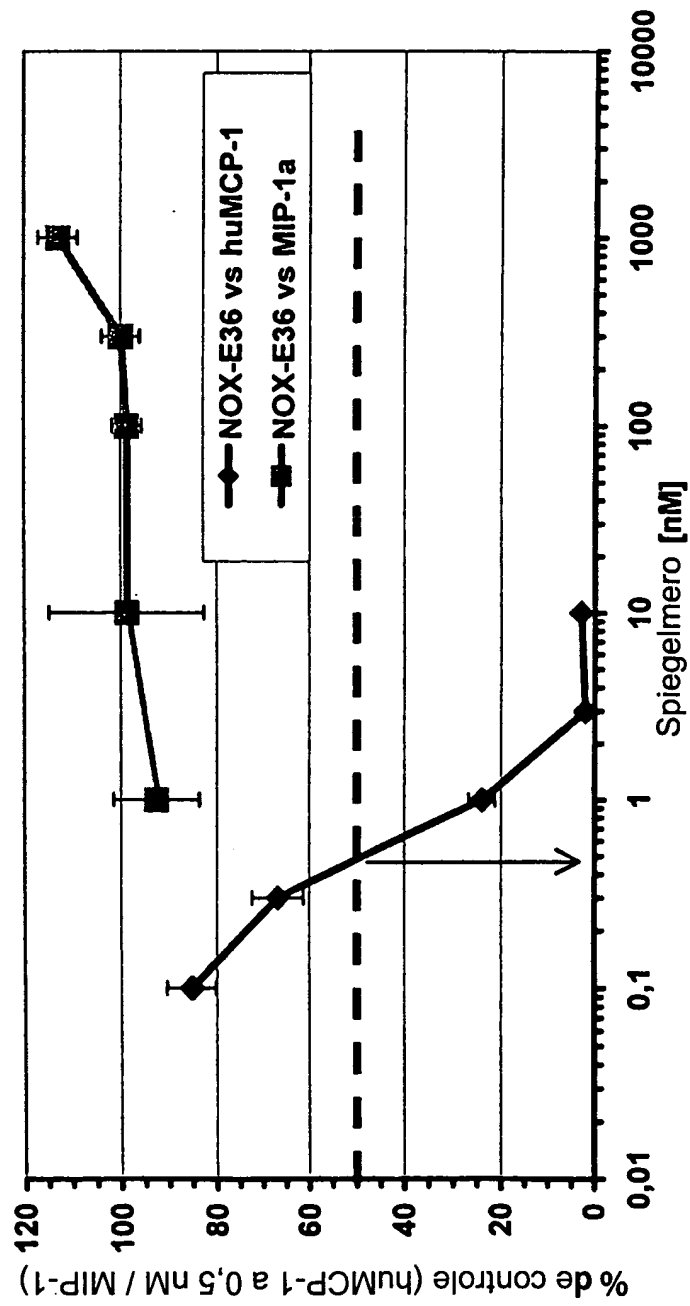
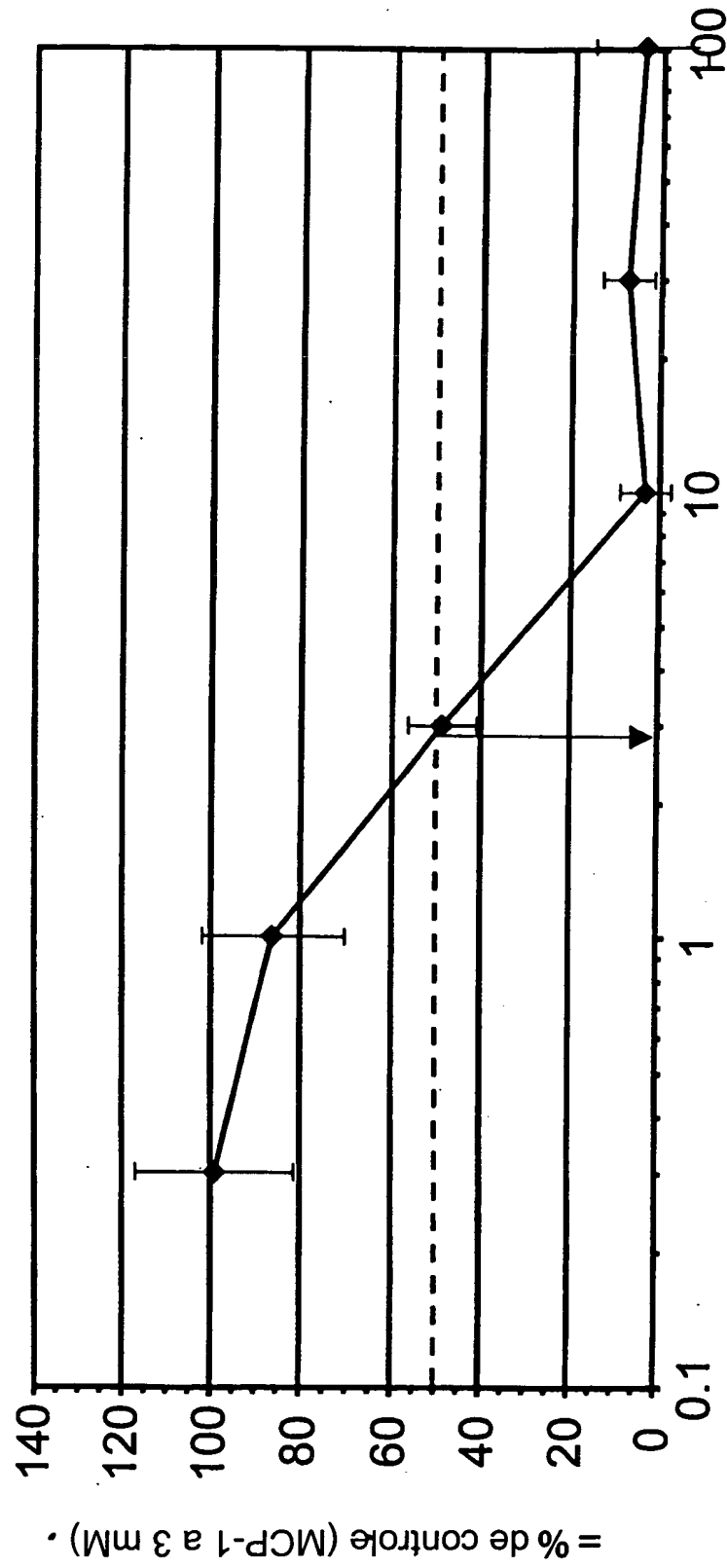


Fig. 24 E



Ensaio de Liberação de  $\text{Ca}^{++}$  com Células THP-1

NOX-E36-3'PEG [nM]

Fig. 25

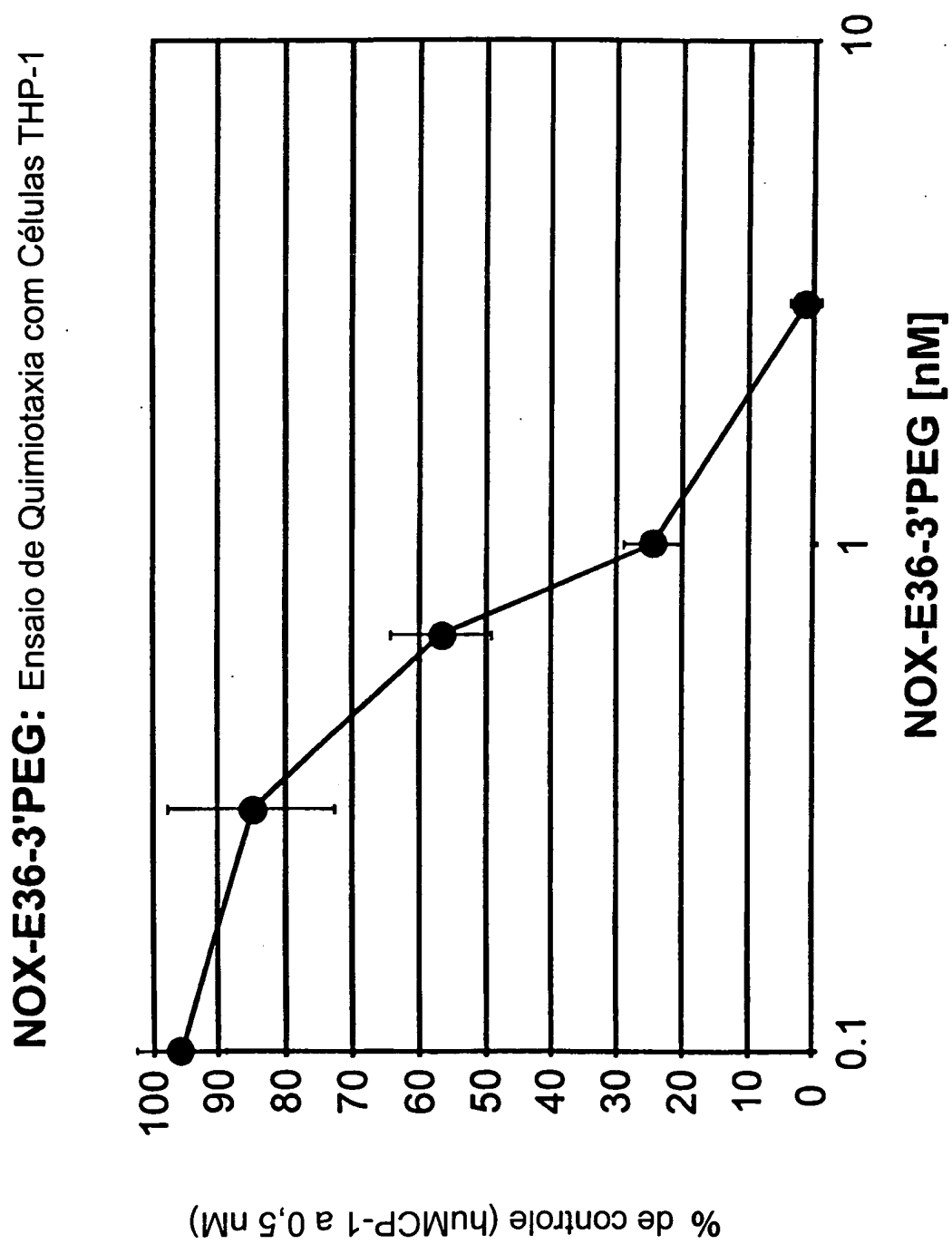
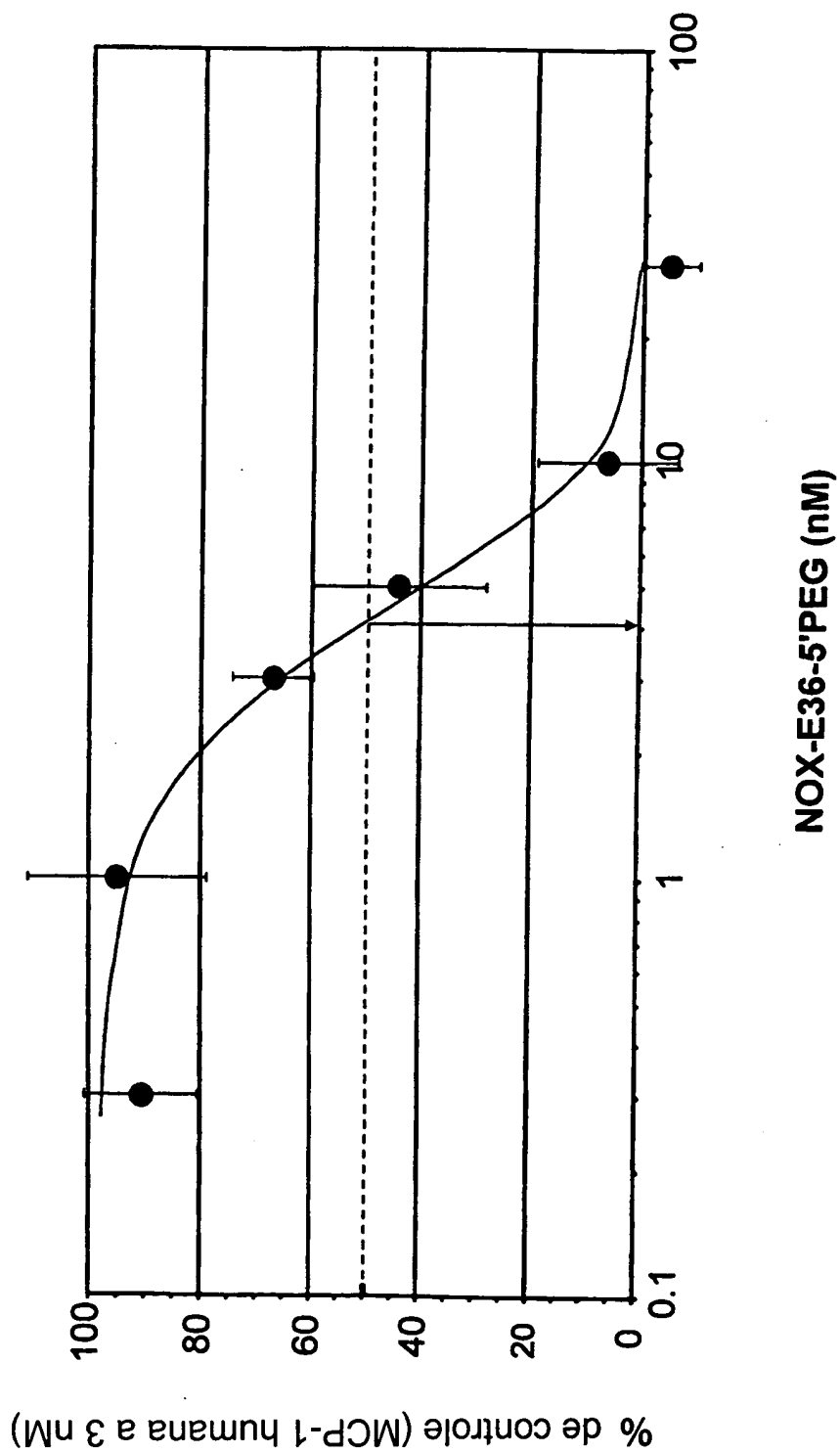
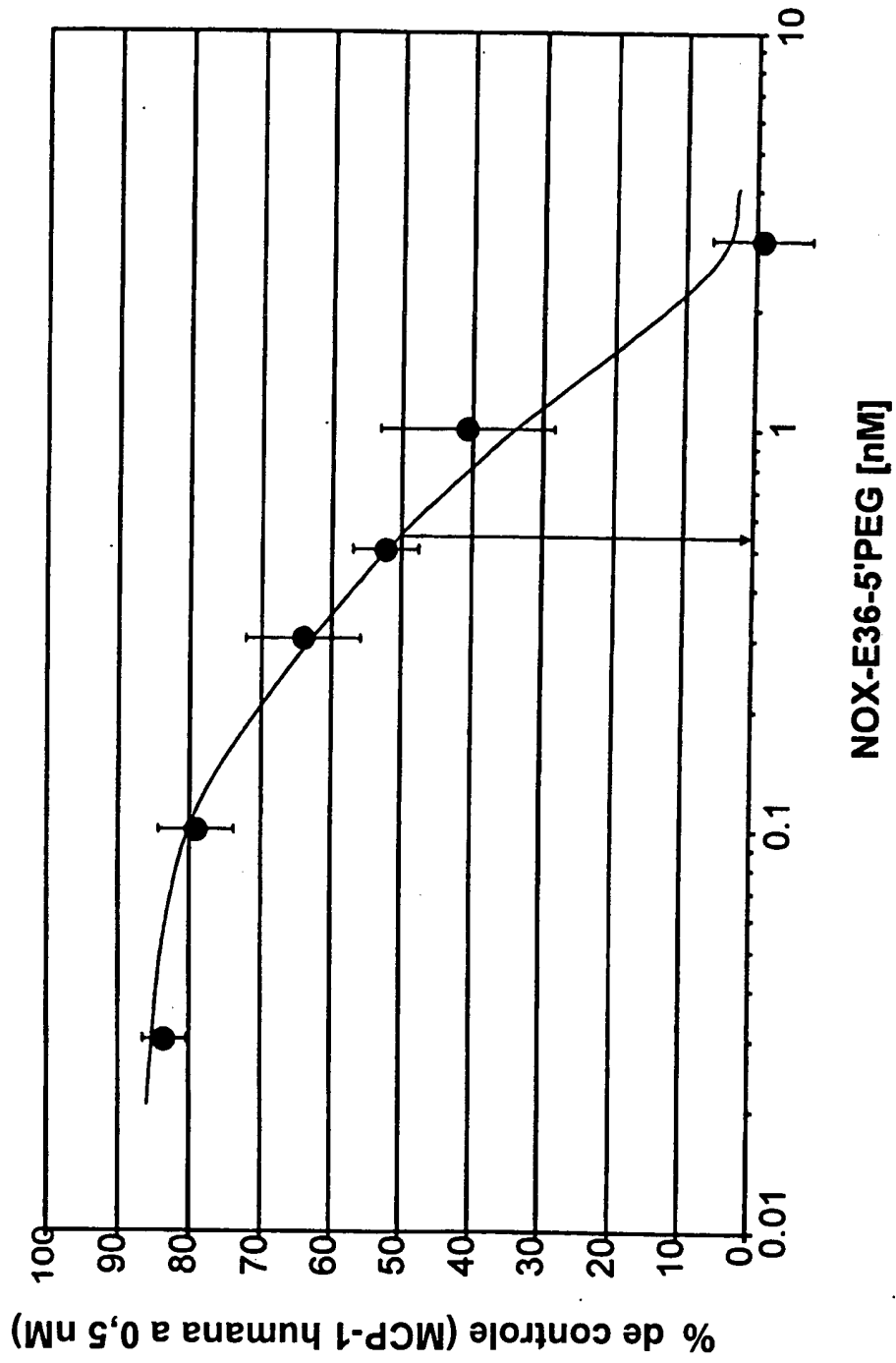


Fig. 26

**NOX-E36-5'PEG: Ensaio de Liberação de  $\text{Ca}^{++}$  com Células THP-1****Fig 27A**

**NOX-E36-5'PEG:** Ensaio de Quimiotaxia com Células THP-1**Fig 27B**

Liberação de  $\text{Ca}^{++}$  induzida por MCP-1 de murino (mMCP-1) em células THP-1

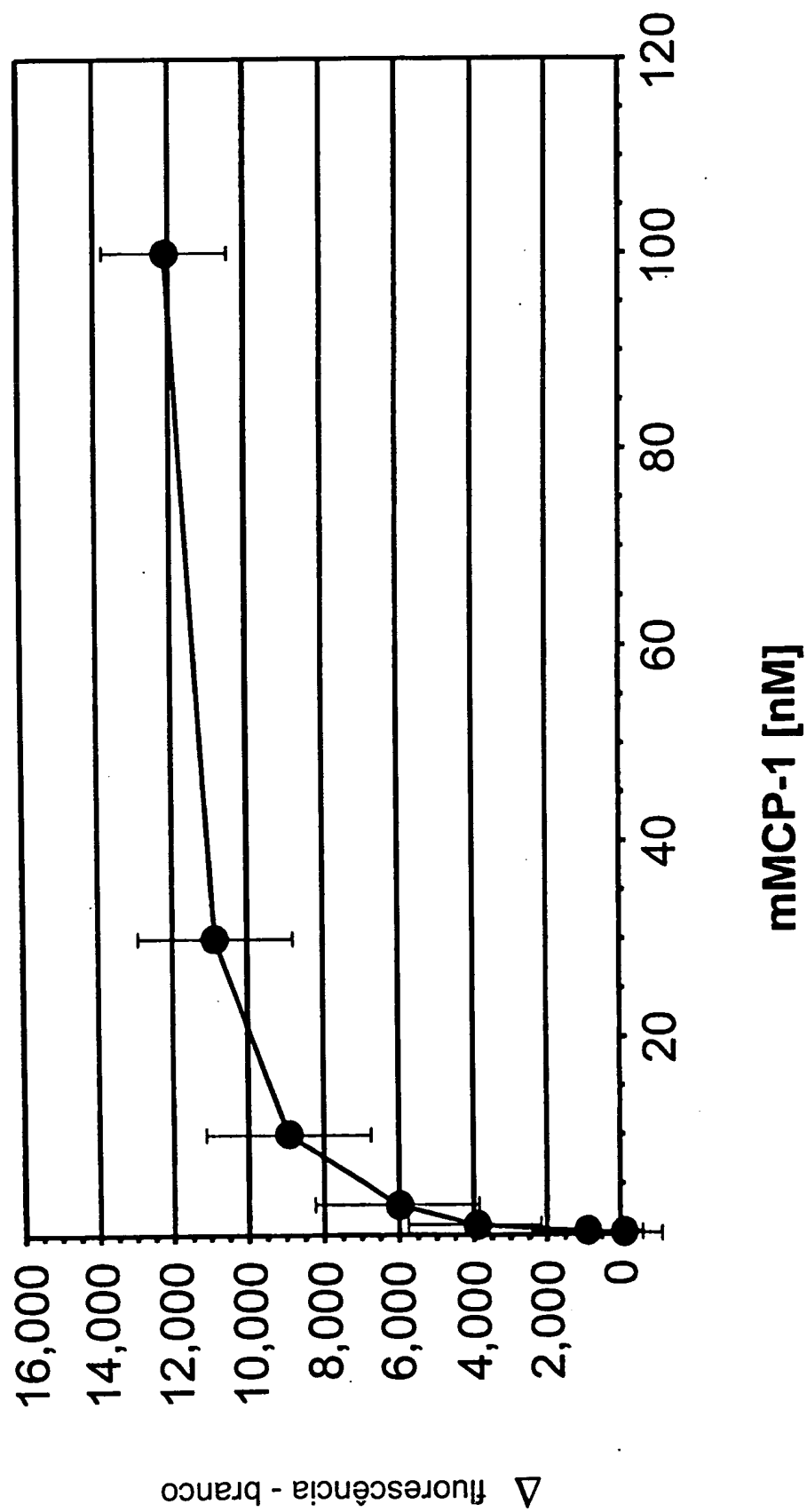


Fig. 28

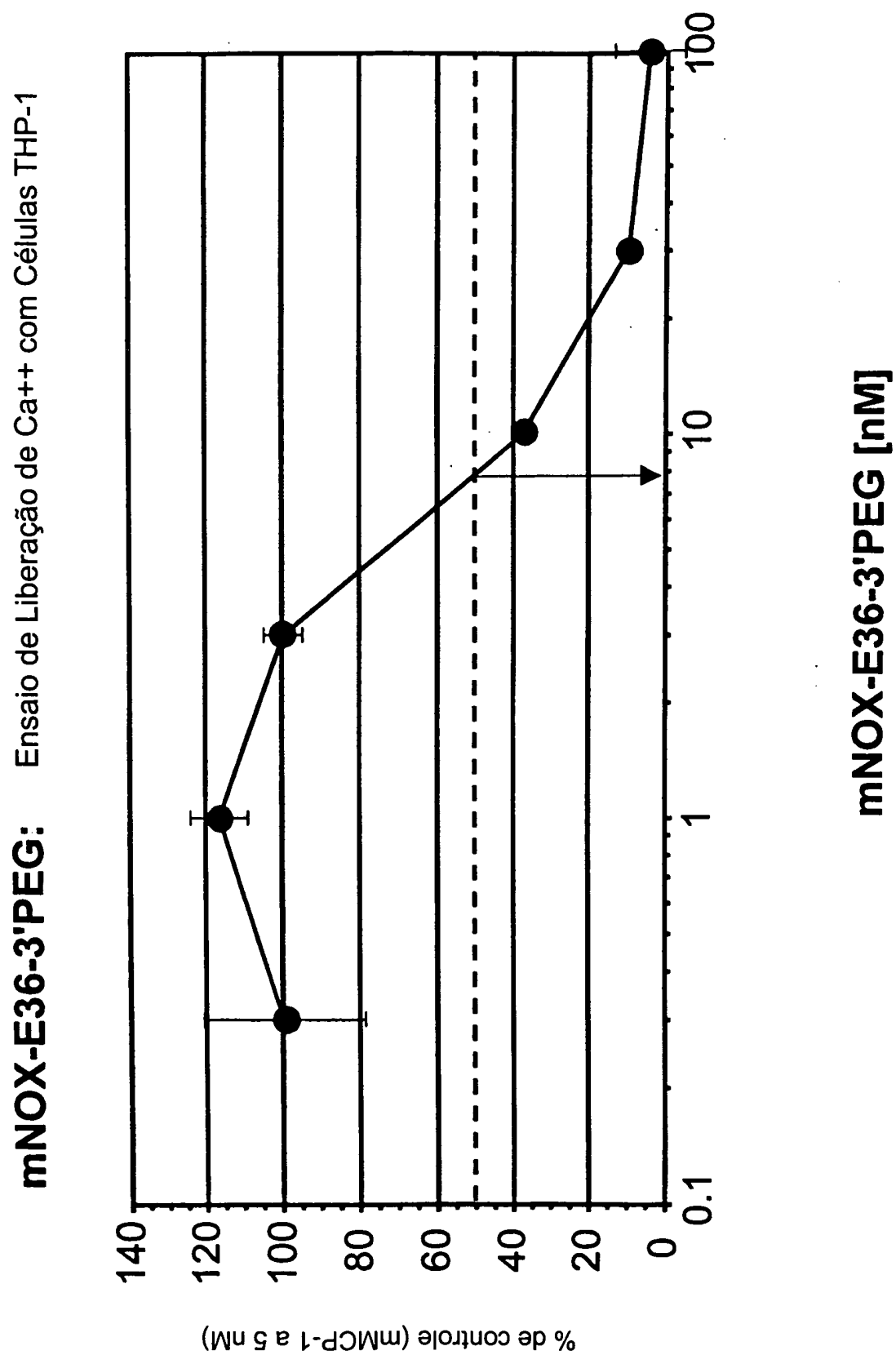


Fig. 29

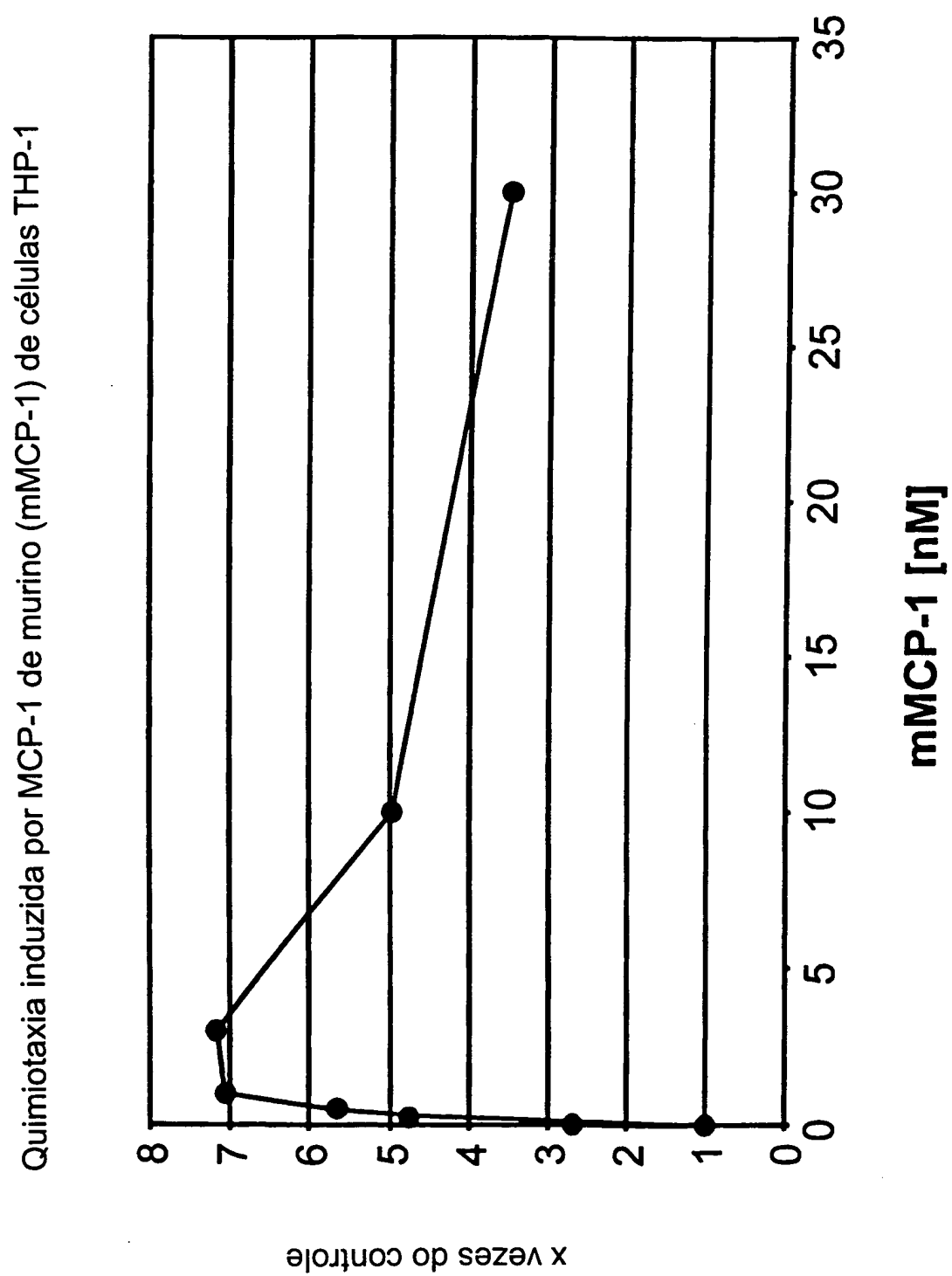
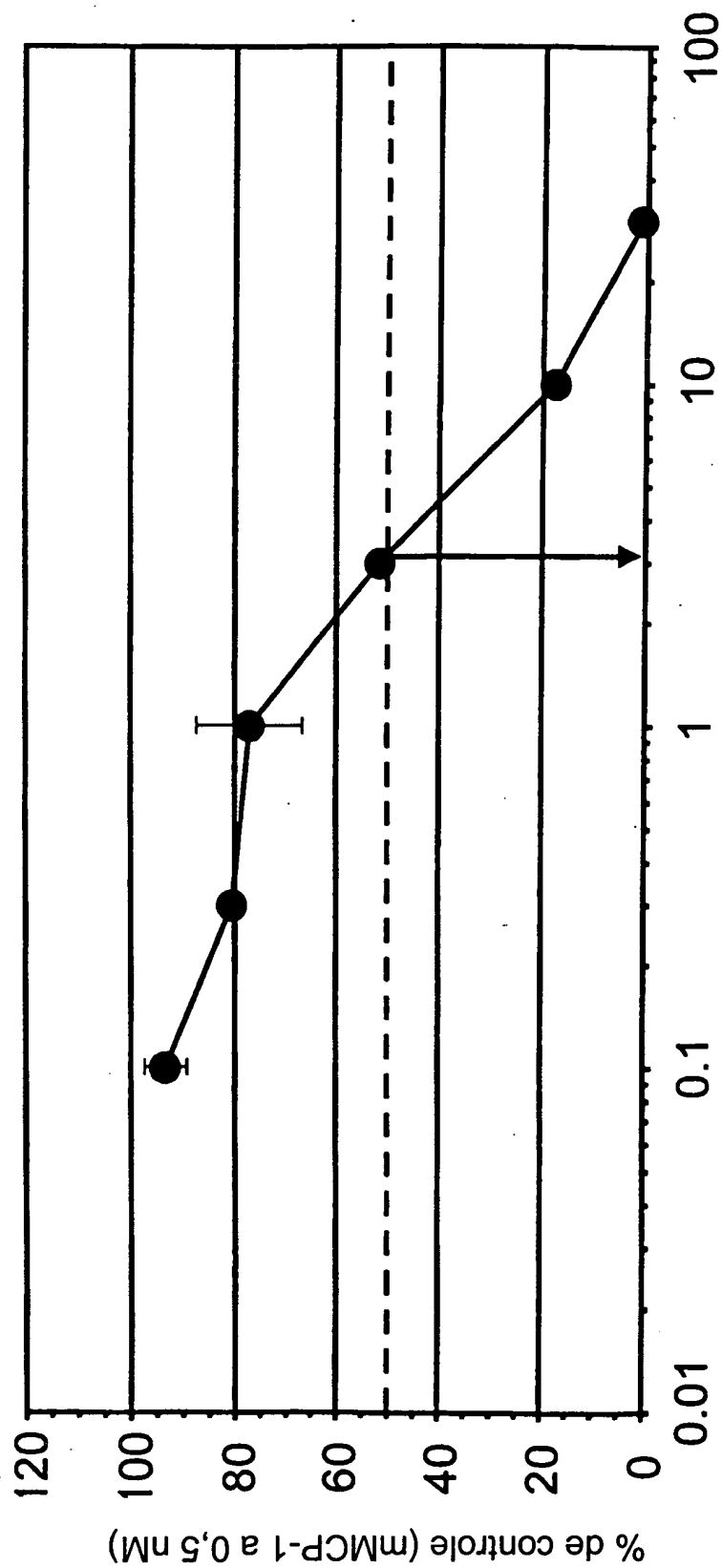


Fig. 30

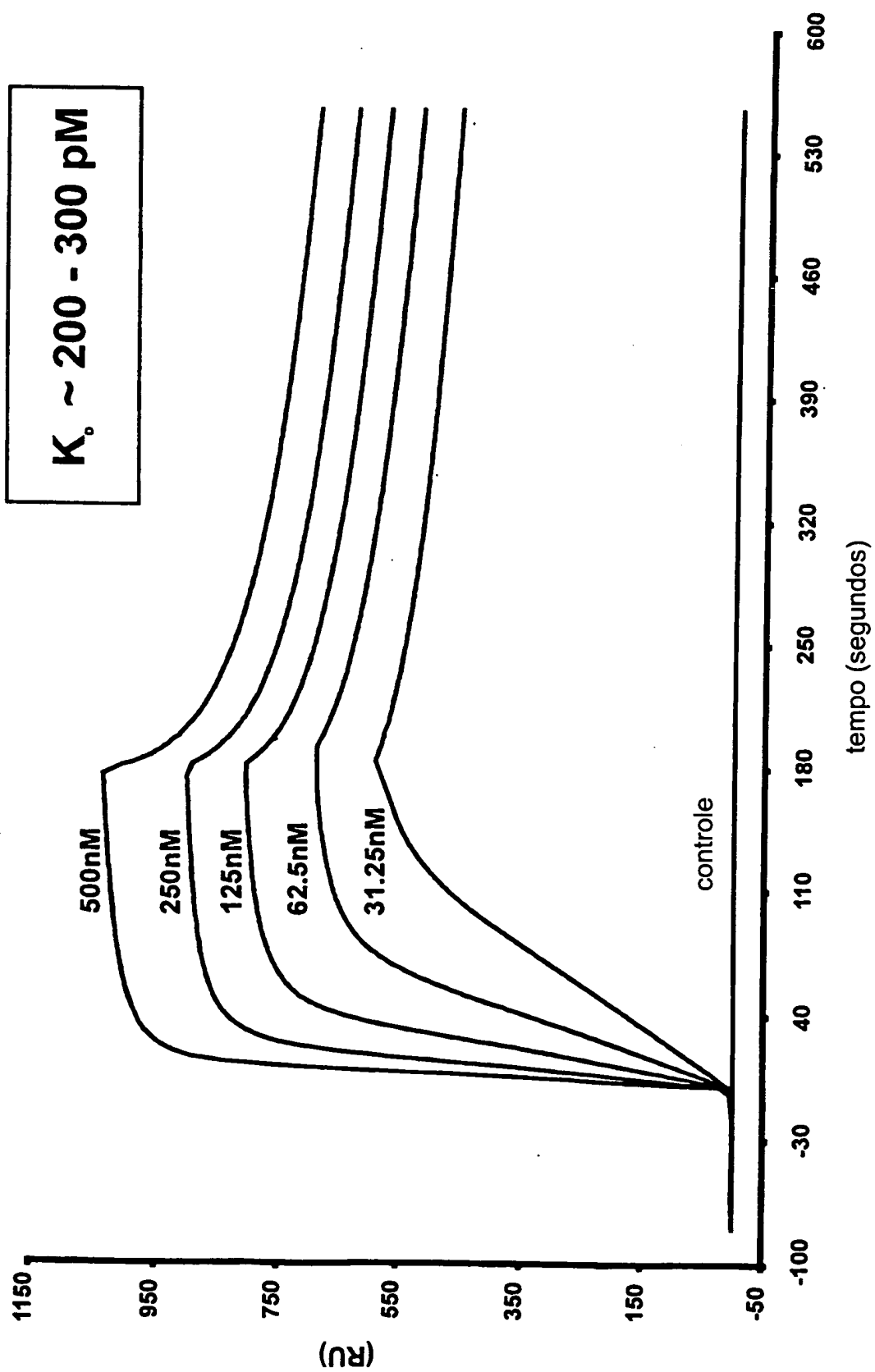
Ensaio de Quimiotaxia com Células THP-1



mNOX-E36-3'PEG [nM]

Fig. 31





Cinética do D-mNOX-E36 que se liga à D-MCP-1 de murino

Fig. 32

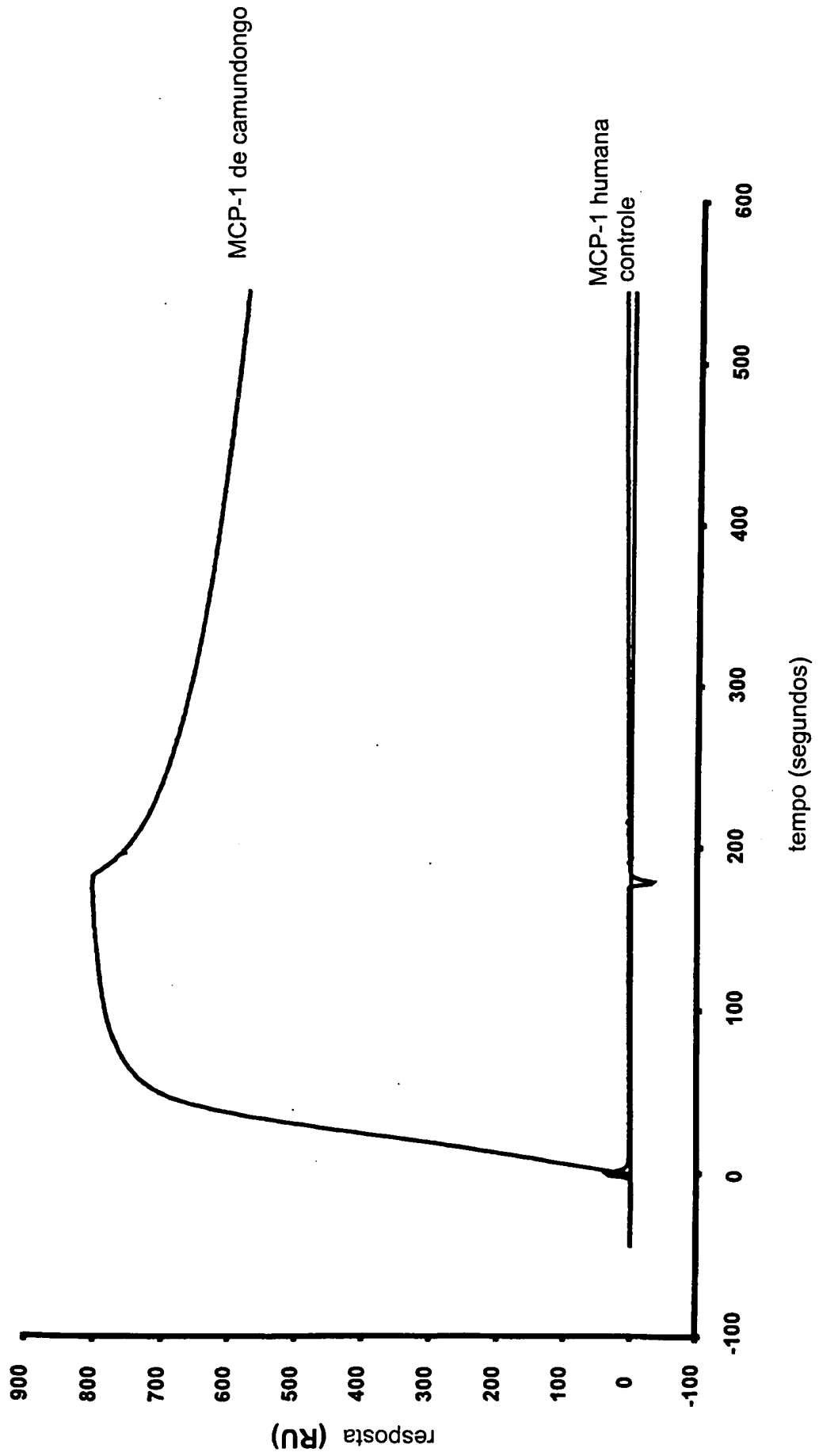


Fig. 33

D-mNOX-E36 que se liga à D-MCP-1 de murino e humana

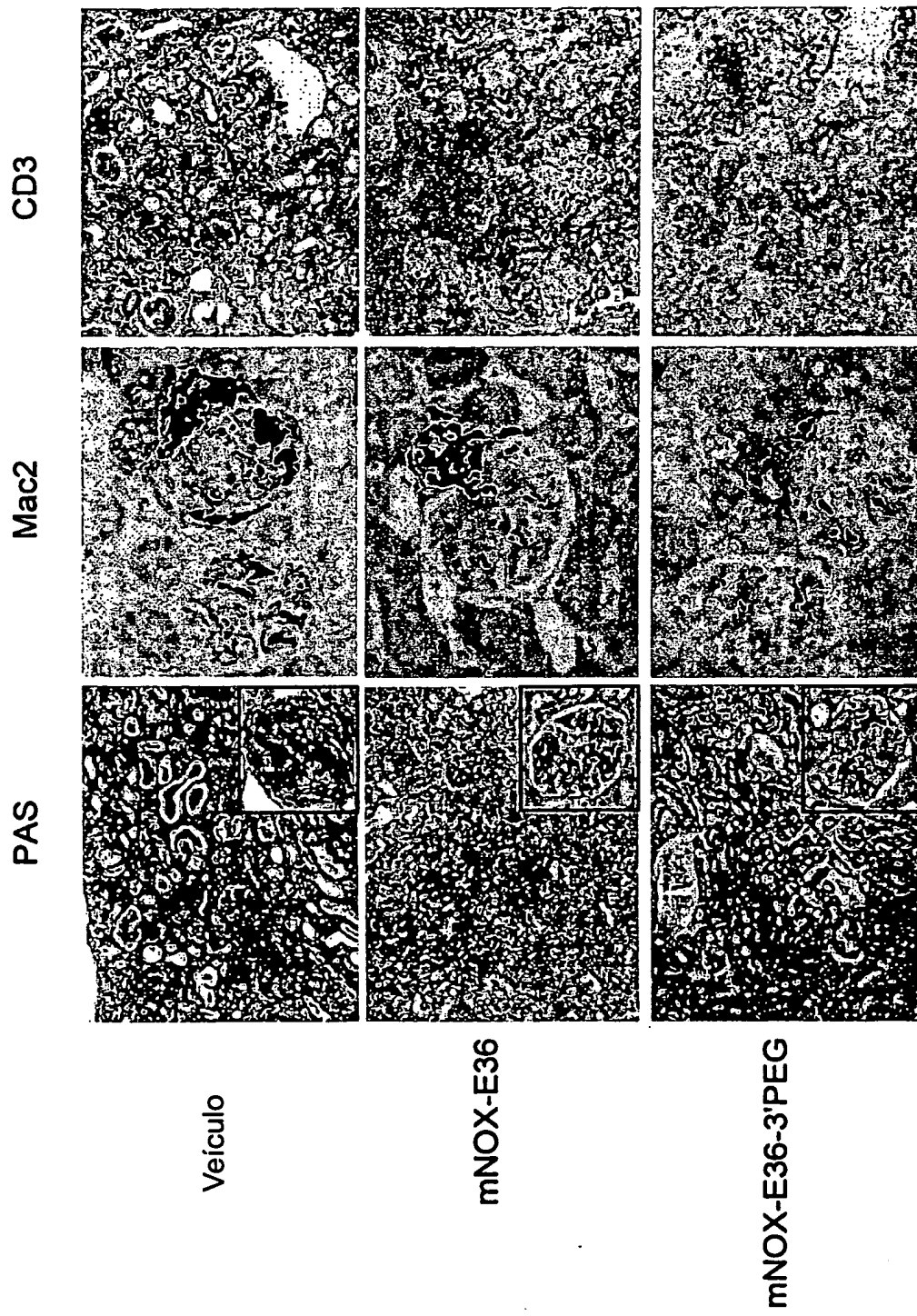


Fig. 34

|                                               | Veículo         | PoC            | mNOX-E36        | PoC-PEG        | mNOX-E36-3'PEG  |
|-----------------------------------------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| <b>Doença renal</b>                           |                 |                |                 |                |                 |
| <b>GFR</b> [ $\mu\text{l}/\text{min}$ ]       | 179 $\pm$ 41    | 200 $\pm$ 49   | 245 $\pm$ 69    | 157 $\pm$ 74   | 293 $\pm$ 72    |
| Razão de albumina/creatinina U                | 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   |
| <b>IgG<sub>1</sub></b> [classificação glom.]  | 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   |
| <b>IgG<sub>2a</sub></b> [classificação glom.] | 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   |
| Índice de atividade [classificação]           | 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*  |
| Índice de cronicidade [classificação]         | 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*  |
| <b>Mac-2+</b> [células /glom]                 | 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*  |
| <b>Mac-2+</b> [células /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*  |
| <b>CD3+</b> [células /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* |
| Lesão do pulmão [classificação]               | 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*  |
| Lesões da pele [% de camundongos]             | 60              | 60             | 28              | 80             | 28              |

razão de albumina/creatinina urinária em g/mg, os valores são as médias SEM; \*  $p < 0,05$  Spiegelmero vs. controle de PoC respectivo.

Fig. 35

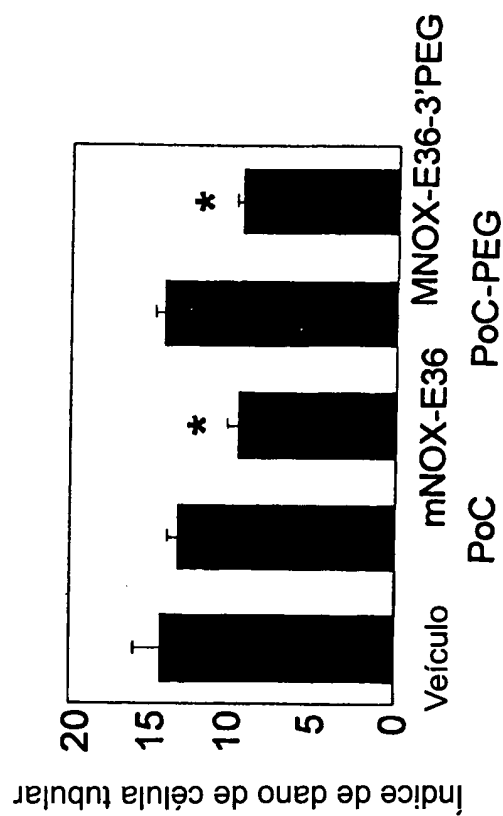
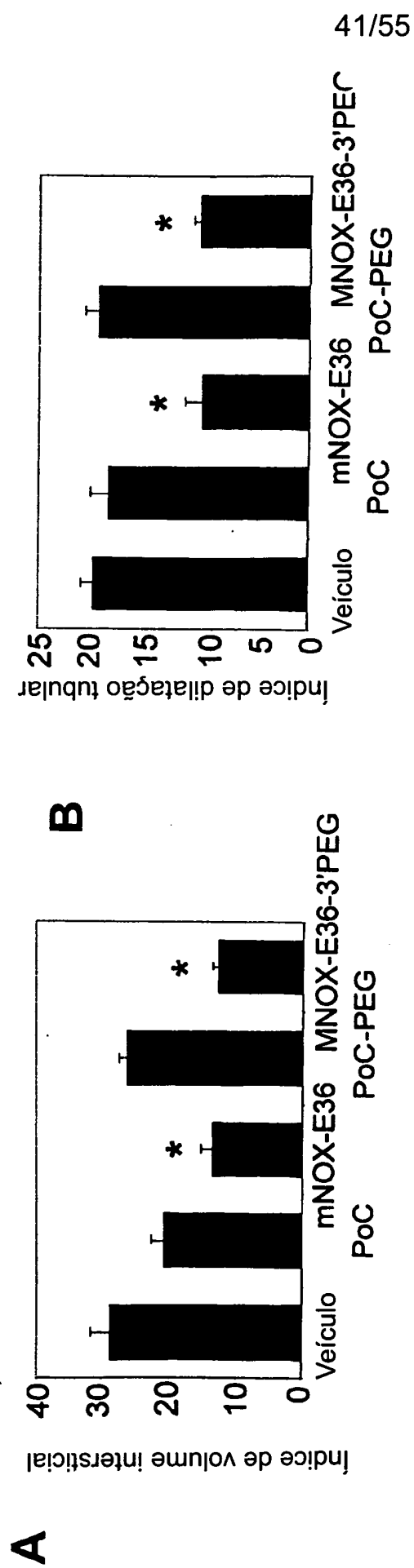


**Fig. 36**

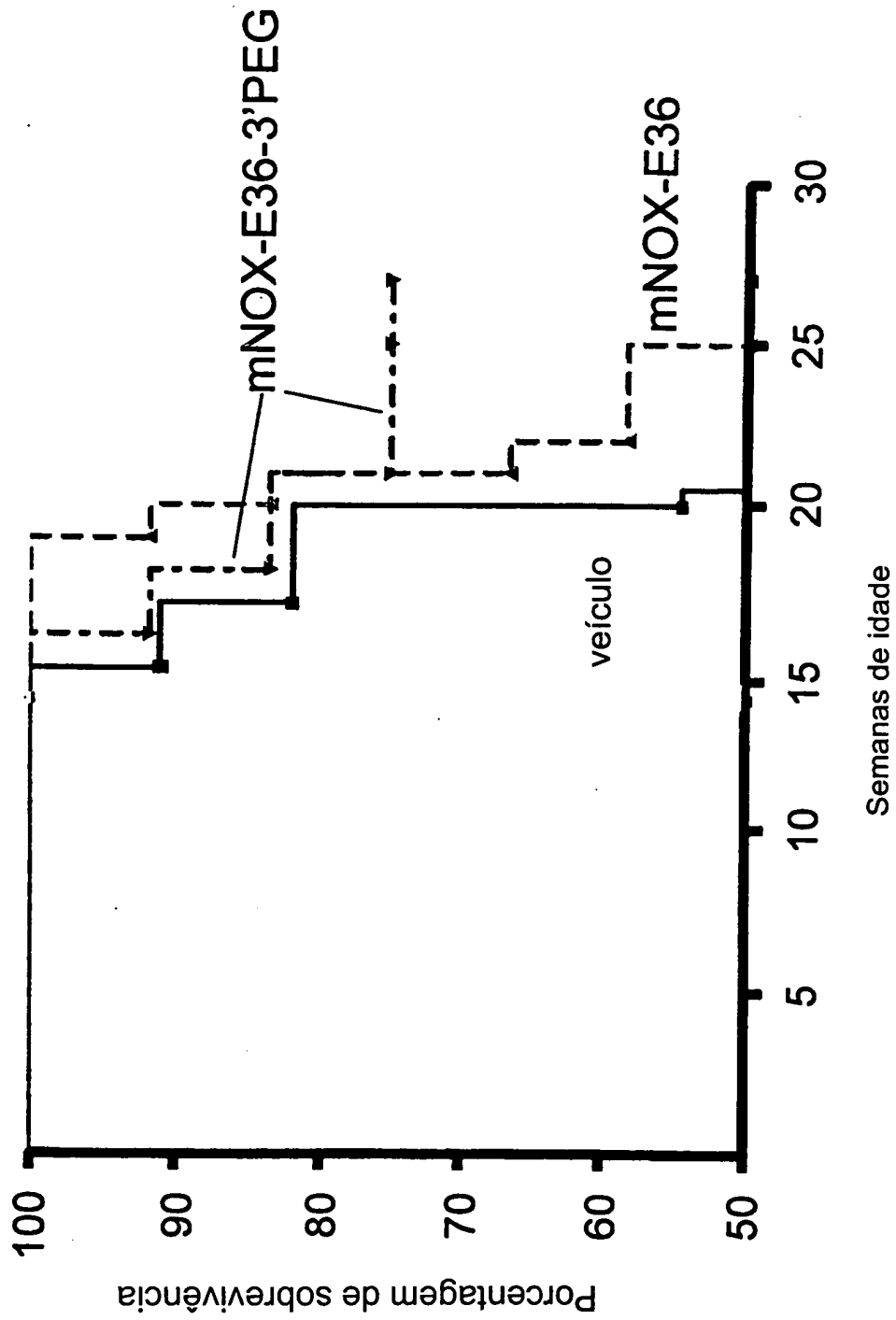


Fig. 37

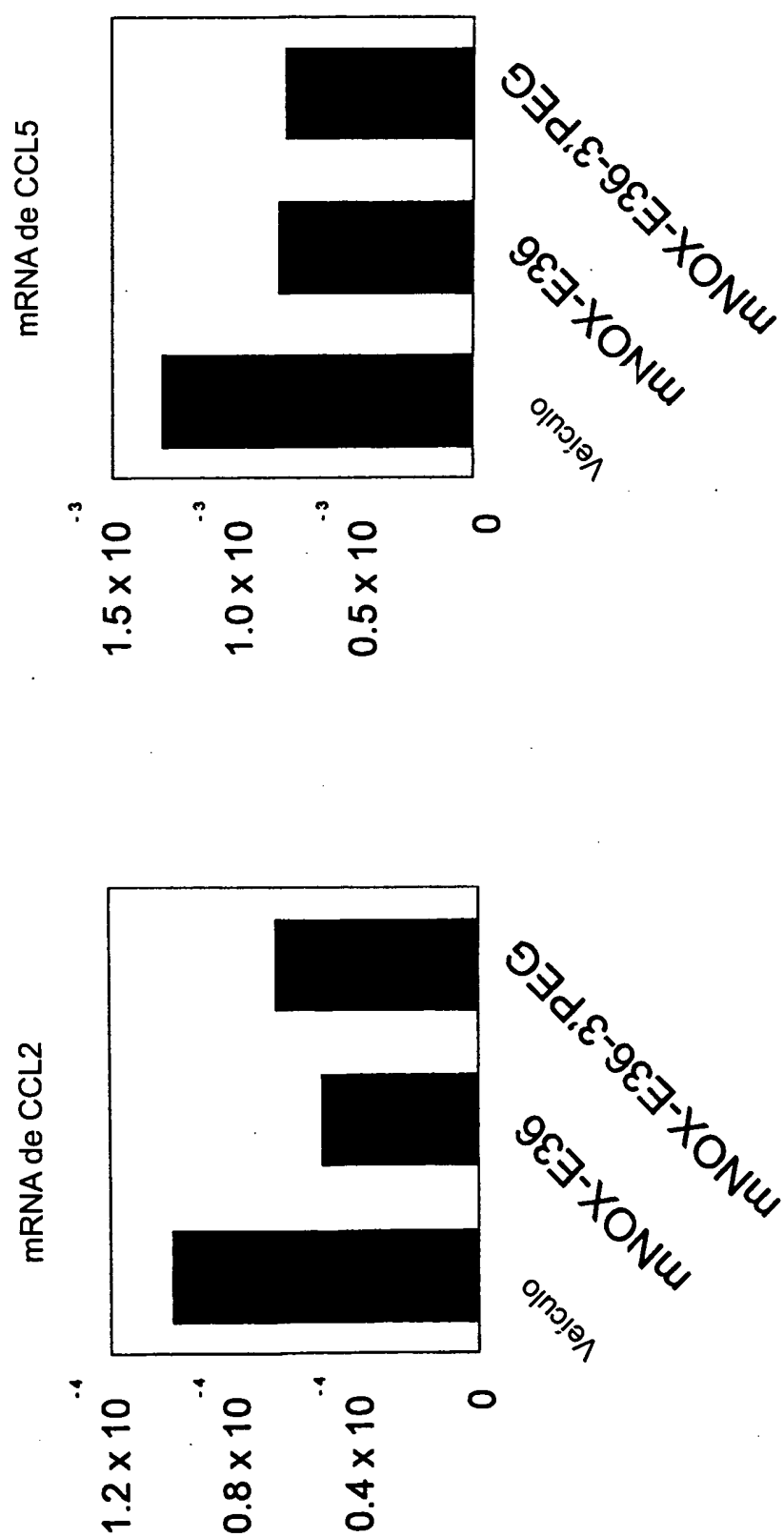


Fig. 38

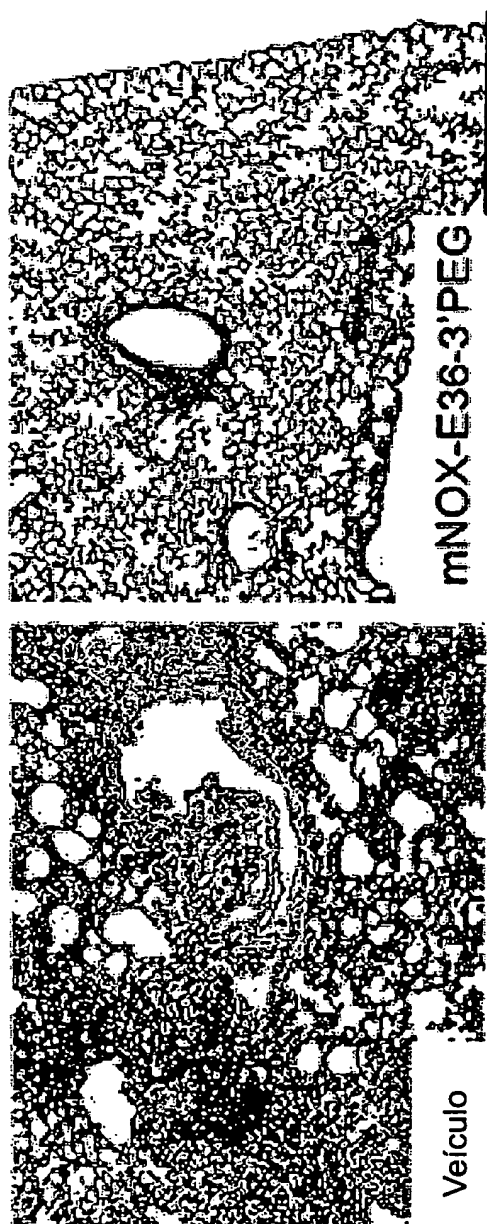


Fig. 39





**Fig. 40**

|                                 | Veículo    | PoC        | mNOX-E36   | PoC-PEG    | mNOX-E36-3'PEG |
|---------------------------------|------------|------------|------------|------------|----------------|
| <b>Linfoproliferação</b>        |            |            |            |            |                |
| <b>Peso do baço [% de PC]</b>   | 1.8 ± 0.4  | 2.0 ± 0.2  | 1.6 ± 0.4  | 1.7 ± 0.1  | 1.6 ± 0.3      |
| <b>Peso de LN [% de PC]</b>     | 2.3 ± 0.7  | 1.8 ± 0.1  | 1.7 ± 0.3  | 1.7 ± 0.2  | 1.7 ± 0.7      |
| <b>Anti dsDNA no soro</b>       |            |            |            |            |                |
| <b>IgG<sub>1</sub> [µg/ml]</b>  | 11.7 ± 3.6 | 7.5 ± 2.8  | 11.7 ± 3.4 | 8.2 ± 1.2  | 6.6 ± 1.2      |
| <b>IgG<sub>2a</sub> [µg/ml]</b> | 2.0 ± 0.3  | 1.9 ± 0.3  | 2.1 ± 0.1  | 2.0 ± 0.2  | 1.9 ± 0.2      |
| <b>IgG<sub>2b</sub> [µg/ml]</b> | 17.6 ± 5.6 | 18.9 ± 5.2 | 22.6 ± 3.3 | 28.3 ± 2.5 | 20.6 ± 3.8     |

LN = volume de linfonodos mesentéricos, os valores são as médias SEM

**Fig. 41**

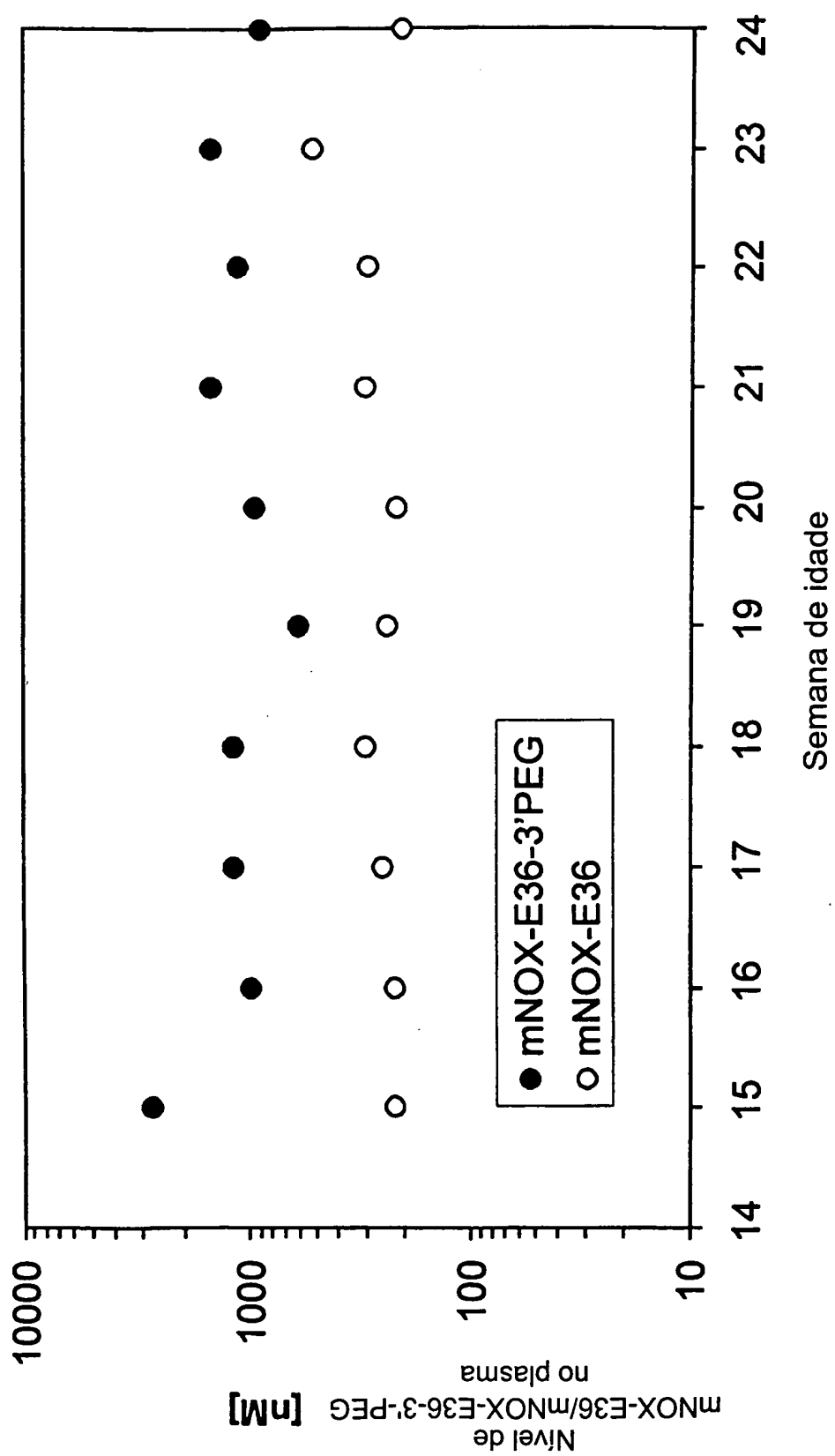


Fig. 42

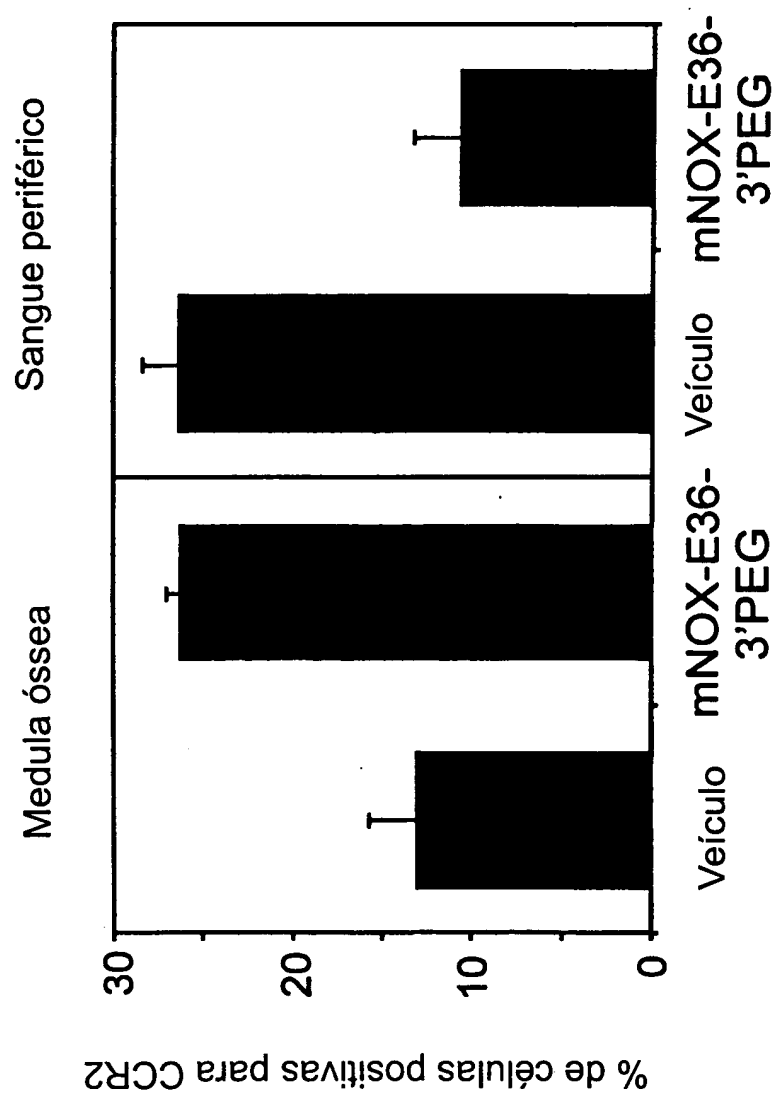


Fig. 43

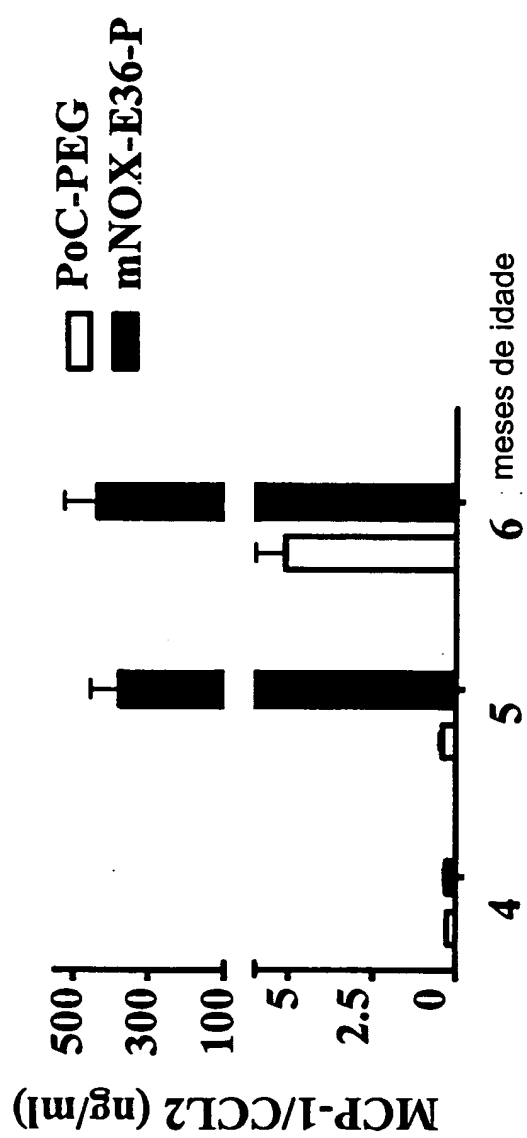


Fig. 44

|                                             |                      | 2K            |           | 1K                      |            |                         |
|---------------------------------------------|----------------------|---------------|-----------|-------------------------|------------|-------------------------|
|                                             |                      | Tipo Selvagem |           |                         |            |                         |
|                                             |                      | nada          | db/db     | db/db                   | db/db      | db/db                   |
|                                             |                      |               | nada      | nada                    | PoC-PEG    | mNOX-E36-3'PEG          |
| Resposta celular [células/glomérulo ou hpf] |                      |               |           |                         |            |                         |
| Glomerular                                  | Células + para Mac-2 | 0.3 ± 0.1     | 1.8 ± 0.2 | 5.0 ± 0.7 <sup>*</sup>  | 5.9 ± 0.4  | 3.5 ± 0.3 <sup>#</sup>  |
|                                             | Células + para Ki-67 | 0.7 ± 0.1     | 0.9 ± 0.2 | 2.4 ± 0.2 <sup>*</sup>  | 3.1 ± 0.3  | 1.1 ± 0.2 <sup>#</sup>  |
| Interstitial                                | Células + para Mac-2 | 3.2 ± 0.3     | 8.6 ± 1.0 | 19.2 ± 2.8 <sup>*</sup> | 23.8 ± 3.3 | 12.3 ± 1.2 <sup>#</sup> |

Os valores são as médias ± SEM; <sup>\*</sup>, p < 0.05 1K db/db vs 2K db/db; <sup>#</sup>, p < 0.05 mNOX-E36-3'PEG vs. PoC-PEG

**Fig. 45**

nada

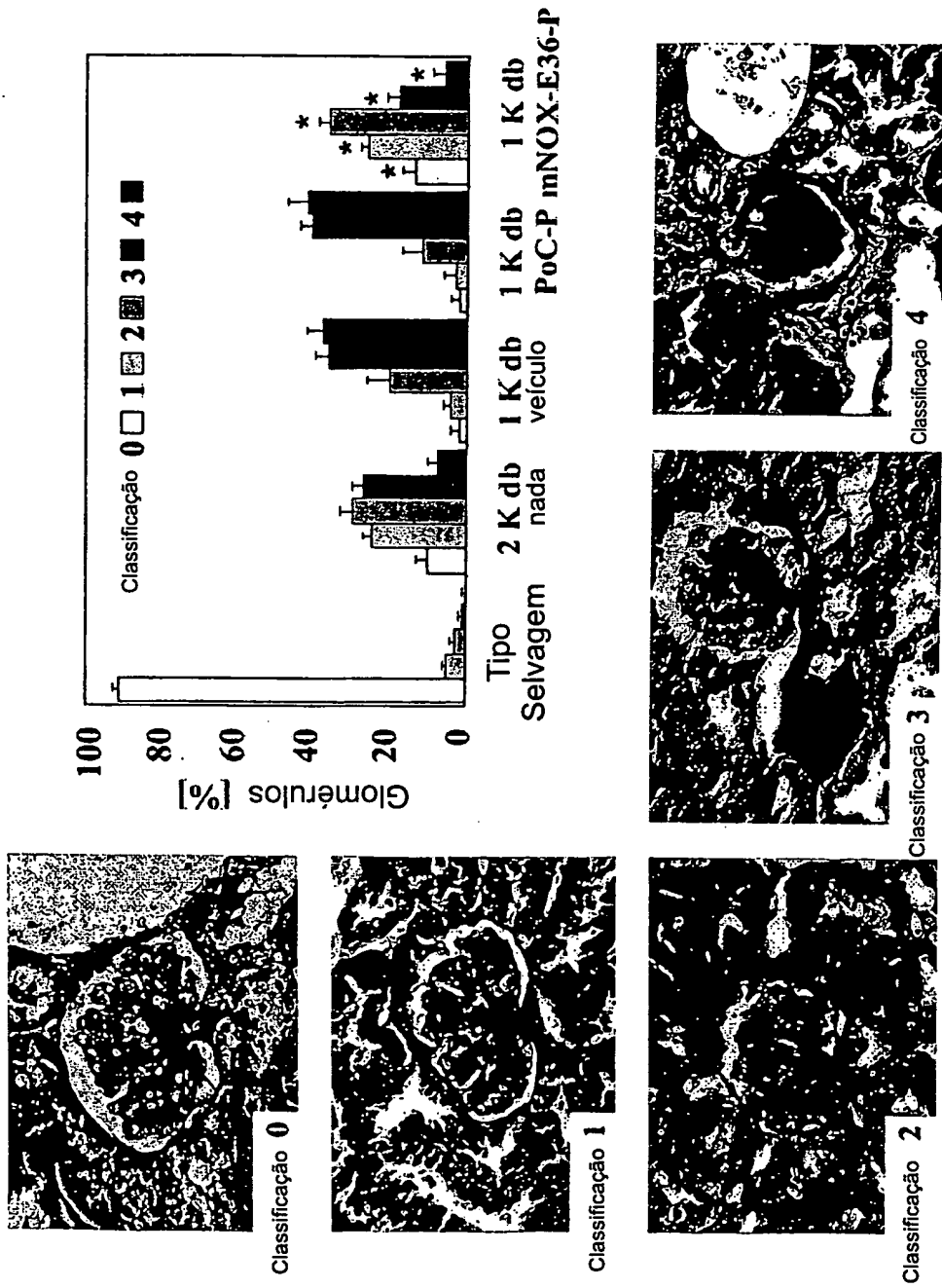


Fig. 46

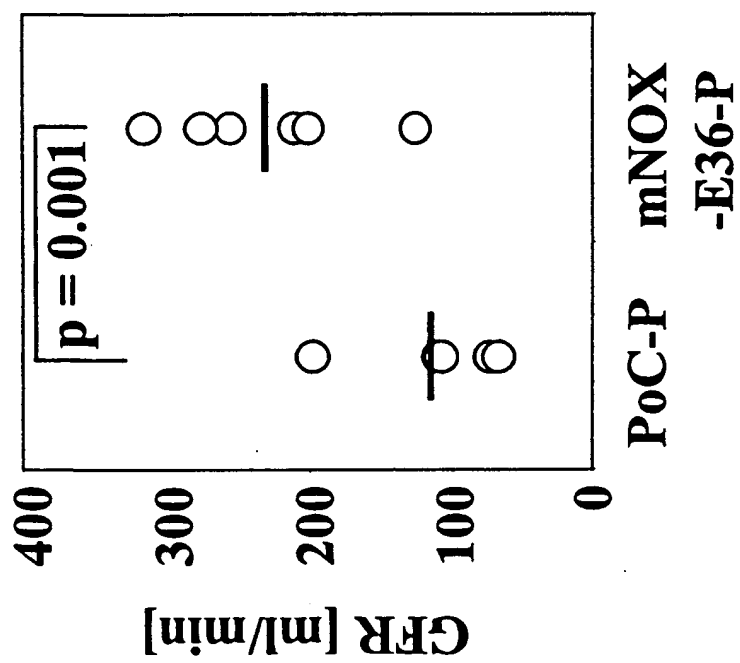


**Fig. 47**



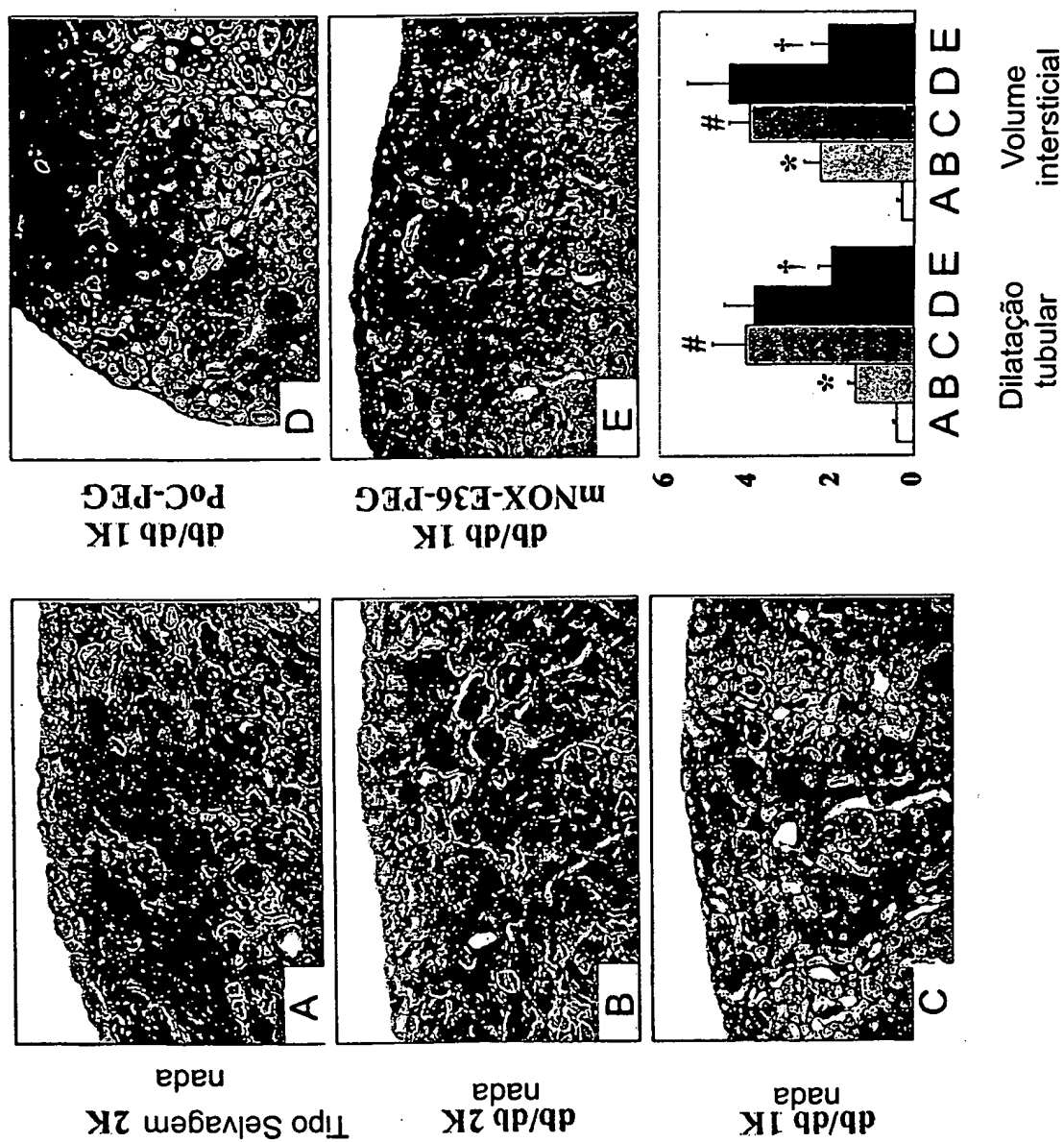


Fig. 48

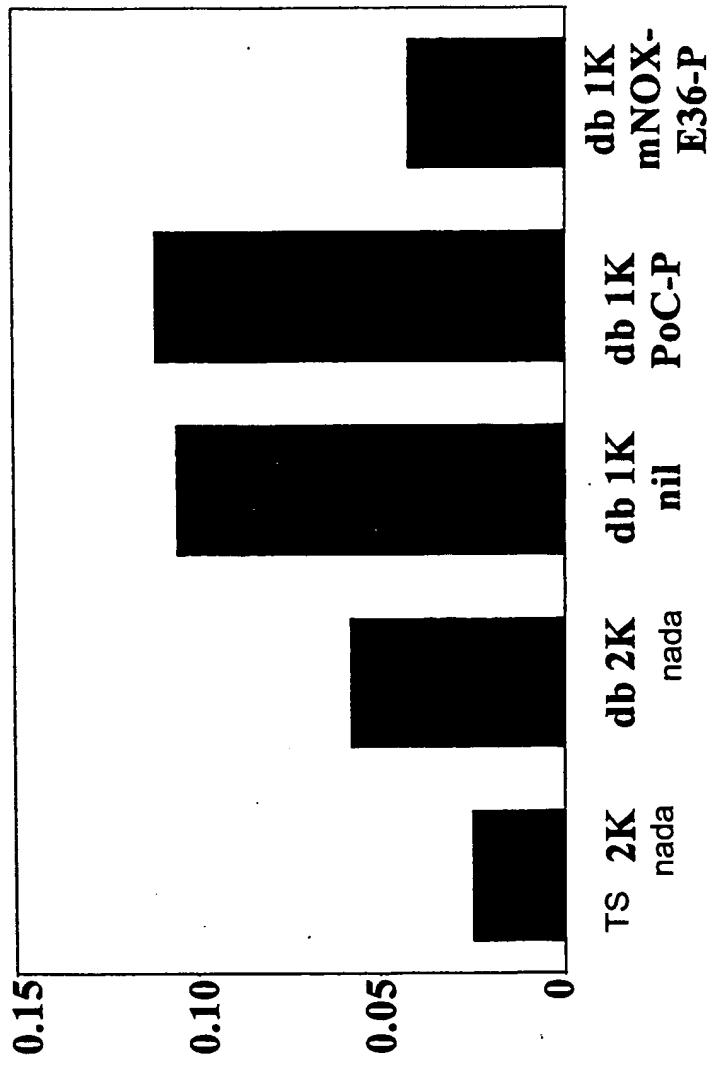


Fig. 49

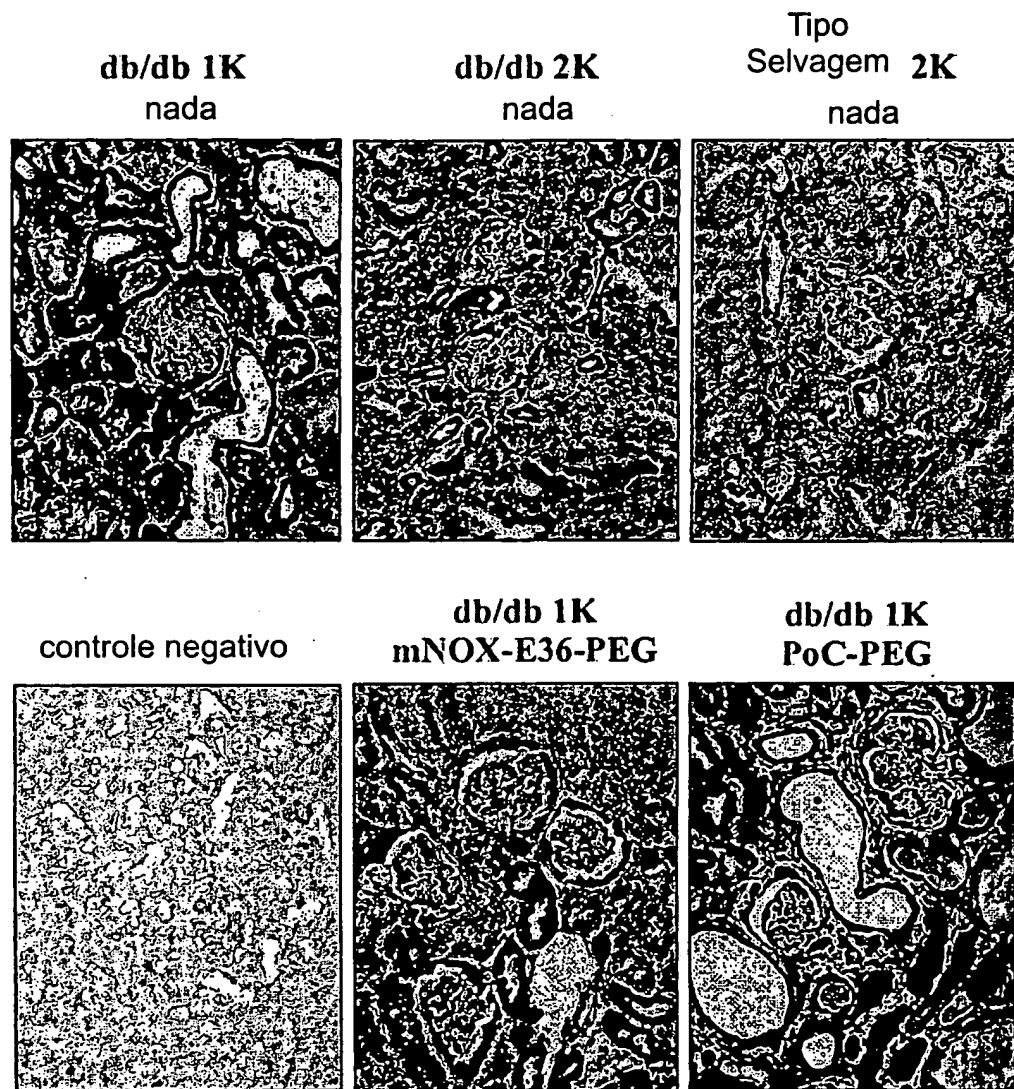


**Fig. 50**

## RESUMO

Patente de Invenção: "ÁCIDOS NUCLÉICOS QUE SE LIGAM À MCP-1".

- 5 A presente invenção refere-se a um ácido nucléico, preferivelmente que se liga à MCP-1, selecionado a partir do grupo que compreende os ácidos nucléicos do tipo 1A, os ácidos nucléicos do tipo 1B, os ácidos nucléicos do tipo 2, os ácidos nucléicos do tipo 3, os ácidos nucléicos do tipo 4 e os ácidos nucléicos tendo uma sequência de ácidos nucléicos de acordo com quaisquer de SEQ. ID. Nº: 87 a 115.