



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I578992 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 21 日

- (21)申請案號：099113693 (22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 04 月 29 日
- (51)Int. Cl. : *A61K31/70 (2006.01)* *C07H21/00 (2006.01)*
A61P39/02 (2006.01)
- (30)優先權：2009/04/30 歐洲專利局 09006028.6
 2010/01/22 歐洲專利局 10000635.2
- (71)申請人：諾克森製藥股份有限公司(德國) NOXXON PHARMA AG (DE)
 德國
- (72)發明人：歇爾 塞門 SELL, SIMONE (DE)；蒙利奇 法蘭克 MORICH, FRANK (DE)；麥
 許 克里斯汀 MAASCH, CHRISTIAN (DE)；克魯斯曼 西文 KLUSSMANN, SVEN
 (DE)；丹斯 尼可 DINSE, NICOLE (DE)；布區納 克勞斯 BUCHNER, KLAUS
 (DE)；舒渥貝爾 法蘭克 SCHWOEBEL, FRANK (DE)
- (74)代理人：林志剛
- (56)參考文獻：
- WO 2008009437A2 WO 2008/097461A2
 Howard N. Hunter, D. Bruce Fulton, Tomas Ganz, and Hans J. Vogel
 "The Solution Structure of Human Hecpudin, a Peptide Hormone with
 Antimicrobial Activity That Is Involved in Iron Uptake and
 Hereditary Hemochromatosis" The Journal of Biological Chemistry,
 vol. 277, no. 40, pages 37597-37603
 Int J Biochem Cell Biol. 2005 Sep;37(9):1768-73.
- 審查人員：黃教威
- 申請專利範圍項數：13 項 圖式數：21 共 217 頁

(54)名稱

與鐵調節激素(hepcidin)結合之核酸類

HEPCIDIN BINDING NUCLEIC ACIDS

(57)摘要

本發明關於能與鐵調節激素(hepcidin)結合之核酸。

The present invention is related to a nucleic acid capable of binding to hepcidin.

指定代表圖：

A 型鐵調節激素結合核酸

| 名稱 | 序列: 5' -3' | C (APM) |
|------------|--|---------|
| 223-C5-001 | GCACUCC <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> CGAGUGC | 14.6nM |
| 223-B5-001 | GCACUCC <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> CGAGUGC | - |
| 223-A5-001 | GCA <u>UUC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC--CCA---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> CGAGUGC | - |
| 223-A3-001 | GCACUCC <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC-- <u>CUA</u> ---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> CGAGUGC | - |
| 223-F5-001 | GCACUCC <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC-- <u>CUA</u> ---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> CGAGUGC | = |
| 223-G4-001 | GCACUCC <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC-- <u>UCA</u> ---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> CGAGUGC | = |
| 223-A4-001 | GCACUCC <u>UAAAGUAGAG</u> GG <u>AU</u> -- <u>ACA</u> ---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGA</u> CGAGUGC | - |
| 229-C2-001 | <u>CGUGC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG-- <u>GUAU</u> -- <u>GUC</u> <u>GGAGUGUAGUUC</u> <u>CACACG</u> | - |
| 229-B4-001 | <u>CGUGC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG-- <u>GUAU</u> -- <u>GUC</u> <u>GGAGUGUAGUUC</u> <u>CACACG</u> | - |
| 229-E2-001 | <u>CGUGC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG-- <u>GCAU</u> -- <u>GUC</u> <u>GGAGUGUAGUUC</u> <u>CACACG</u> | - |
| 229-B1-001 | <u>CGUGC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> <u>GAC</u> -- <u>AAU</u> -- <u>GUC</u> <u>GGCGUGAUAGUGC</u> <u>CACACG</u> | + |
| 229-G1-001 | <u>CGUGC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> <u>GAC</u> -- <u>AAU</u> -- <u>GUC</u> <u>GGCGUGAUAGUGC</u> <u>CACACG</u> | = |
| 229-C4-001 | <u>CGUG</u> <u>AAAAGUAGAA</u> <u>ACUUGUC</u> <u>GAAAGCAAGU</u> <u>AGCGUGAUAGUGC</u> <u>CACG</u> | - |
| 238-A1-001 | <u>AGGCC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GGCC-- <u>UGA</u> ---GCC <u>GGCGUGUAGUGC</u> <u>CGCCU</u> | - |
| 238-E2-001 | <u>AGGCC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GGAC-- <u>GUA</u> ---GUCC <u>GGCGUGAUAGUGC</u> <u>CGCCU</u> | - |
| 237-A7-001 | <u>CGUGC</u> <u>UAAAGUAGAG</u> GCAG-- <u>AUAU</u> -- <u>GUC</u> <u>GGAGUGUAGUUC</u> <u>CACACG</u> | - |
| 236-G2-001 | <u>CGUG</u> <u>AAAAGUAGAA</u> <u>ACUUGUC</u> <u>GAAAGCAAGCA</u> <u>AGCGUGAUAGUGC</u> <u>CACG</u> | - |

可能互相雜交之末端核苷酸 (粗體)

可能互相雜交之核苷酸 (底線)

可能形成環結構之核苷酸 (斜體)

[A 框] + [B 框]: 主要包含鐵調節激素結合模體之核苷酸

nt.: 核苷酸

可變之位置

c: 分別與參考分子 223-C5-001 或 229-G1-001 比較之競爭結合測定法之結果

+: 相較於 223-C5-001 具有較佳之結合親和性

=: 相較於 223-C5-001 具有類似之結合親和性

-: 相較於 223-C5-001 具有較弱之結合親和性

APM: 適體

圖 1

公告本

發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：099113693

※申請日：099年04月29日

※IPC分類：

A61K 31/70

(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

C07H 21/00

(2006.01)

與鐵調節激素 (hepcidin) 結合之核酸類

Hepcidin binding nucleic acids

A61P 39/02

(2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明關於能與鐵調節激素 (hepcidin) 結合之核酸

三、英文發明摘要：

The present invention is related to a nucleic acid capable of binding to hepcidin.



四、指定代表圖：

(一) 本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二) 本代表圖之元件符號簡單說明：無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

5

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明關於與鐵調節激素結合之核酸類，及彼等分別用於製備藥物、診斷劑及偵測劑之用途。

【先前技術】

鐵調節激素（HEPC-HUMAN, SwissProt登錄號P81172）之一級結構於2000年被測定（Krause, 2000）。另一個研究抗微生物肽類之團隊獨立地發現鐵調節激素（Park, 2001）。該蛋白質之同義詞係肝臟表現之抗微生物肽（縮寫LEAP-1）及假設性肝腫瘤消退子（縮寫PLTR）。鐵調節激素係富含半胱胺酸之陽離子肽，由25個胺基酸組成，分子量為2,790道爾頓。該8個半胱胺酸形成4個雙硫鍵，授予該分子穩定而強固之結構。

鐵調節激素之三級結構係藉由NMR分析測定（Hunter, 2002）。該蛋白質係由彎曲之 β 摺板組成，在髮夾轉彎處可找到不常見之鄰近雙硫鍵（Hunter, 2002）。

來自不同哺乳動物物種之鐵調節激素的胺基酸序列在演化過程中已被大致良好地保留。人鐵調節激素與下列物種之鐵調節激素之胺基酸一致性百分比如下：

- 恆河獼猴（恆河猴） 100%
- 長尾獼猴（石蟹猴） 100%
- 野豬（豬） 84%
- 家鼯鼠（小鼠） 76%

- 褐鼠（大鼠） 68%

除了由25個胺基酸所組成之生物活性鐵調節激素（亦稱為鐵調節激素-25）之外，二個無活性之截短變異體（含有20及22個胺基酸）被鑑別：鐵調節激素-20及鐵調節激素-22（Rivera, 2005）。所有該些肽類係根據人及大鼠之84個胺基酸前原肽及小鼠之83個胺基酸前原肽產製（Pigeon, 2001）。該84個胺基酸之鐵調節激素前原肽包含被移除之典型24個胺基酸之內質網定位信號肽及前激素轉換酶弗林蛋白酶（furin）之共同切割位置（Valore, 2008）。該些處理步驟產製在血液及尿液中發現之25個胺基酸之活性肽激素。

鐵調節激素係調節鐵質體內恆定之關鍵信號。高含量之人鐵調節激素導致血清鐵質含量降低，而低含量導致如鐵調節激素缺乏及鐵調節激素過度表現小鼠模型中所顯示之血清鐵質含量增加（Nicolas, 2001; Nicolas, 2002; Nicolas, 2003）。此外，導致鐵調節激素活性缺乏之鐵調節激素基因突變係與年幼型血色素沉著症有關，此為一種嚴重的鐵過度負擔疾病（Roetto, 2003）。在腹腔內注射鐵調節激素之後，觀察到劑量依賴性及長期持續之血清鐵質降低（Rivera, 2005）。

鐵係所有活的有機體生長及發育所需之必要元素。哺乳動物體內之鐵含量係藉由控制鐵吸收、鐵再循環及自儲存鐵之細胞釋放鐵加以調節。鐵主要由十二指腸及上段空腸之腸細胞吸收。

回饋機制促進鐵缺乏個體之鐵吸收，減少鐵過度負擔個體之鐵吸收。此機制之重要化合物係鐵質轉運蛋白膜鐵轉運蛋白（ferroportin），其亦作為鐵調節激素之受體（Abboud, 2000; Donovan, 2000; McKie, 2000）。膜鐵轉運蛋白係控制鐵釋放之571個胺基酸之蛋白質，在小鼠、大鼠及人之間具有90%之胺基酸序列一致性（McKie, 2000）。此重要之鐵輸出蛋白係位於胎盤融合細胞滋養層與腸細胞之基底膜上及巨噬細胞與肝細胞之細胞表面上。

鐵調節激素抑制鐵自該些不同類型之細胞釋放，此作用係藉由與上述細胞類型表現之膜鐵轉運蛋白結合並誘導膜鐵轉運蛋白之磷酸化、內化、廣布化及溶酶體分解，因此減少膜鐵轉運蛋白所媒介之鐵釋放至血液中（Nemeth, 2004; De Domenico, 2007）。當血漿鐵持續被消耗以用於合成血紅素時，健康個體之血漿鐵含量降低且鐵調節激素之產製減緩。

在急性及慢性系統性發炎之情況中，細胞介素誘發鐵調節激素產製。已經發現鐵調節激素基因之表現在發炎刺激（諸如感染）後顯著增加，該刺激誘發脊椎動物先天免疫系統之急性期反應。研究顯示小鼠之鐵調節激素基因表現受到脂多糖（Constante, 2006）、松節油（Nemeth, 2004）、弗氏完全佐劑（Frazer, 2004）及腺病毒感染之上調。人之鐵調節激素表現係由發炎性細胞介素介白素-6及LPS所誘發（Nemeth, 2004）。鐵調節激素表現與發炎性貧血之間的強烈相關性亦見於慢性發炎疾病患者，包括

細菌性、真菌性及病毒性感染。在所有該些狀況中，鐵調節激素之濃度增加抑制鐵自巨噬細胞、肝臟儲存及十二指腸流出至血漿。低鐵血症發生，紅血球生成變成鐵限制性且導致慢性發炎狀況下之貧血（Weiss, 2005; Weiss, 2008; Andrews, 2008）。

【發明內容】

發明摘要

本發明之課題係提供一種與鐵調節激素專一性交互作用之裝置。更特定地，本發明之課題係提供一種核酸基底裝置，該裝置與鐵調節激素專一性交互作用。

本發明之另一課題係提供一種用於製備治療人或非人疾病的藥物之裝置，其中該疾病之特徵在於鐵調節激素係直接或間接地與該疾病之致病機轉有關。

本發明之另一課題係提供一種用於製備治療疾病的診斷劑之裝置，其中該疾病之特徵在於鐵調節激素係直接或間接地與該疾病之致病機轉有關。

本發明之該些及其他課題係由該隨附之獨立項的主題解決。較佳之實施態樣可取自依附項。

另外，本發明之課題係於第一態樣中藉由一種能與鐵調節激素結合之核酸解決，該態樣亦為該第一態樣之第一實施態樣。

在該第一態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第一態樣之第一實施態樣之實施態樣，該核酸係鐵調

節激素之拮抗劑。

在該第一態樣之第三實施態樣中，該第三實施態樣亦為該第一態樣之第一及二實施態樣之實施態樣，該核酸係鐵調節激素-膜鐵轉運蛋白系統之抑制劑。

在該第一態樣之第四實施態樣中，該第四實施態樣亦為該第一態樣之第一、二及三實施態樣之實施態樣，該核酸從5'至3'方向包含第一末端核苷酸片段、中間核苷酸片段及第二末端核苷酸片段，其中該中間核苷酸片段包含32至40個核苷酸，較佳32至35個核苷酸。

在該第一態樣之第五實施態樣中，該第五實施態樣亦為該第一態樣之第一及二實施態樣之實施態樣，該核酸從5'至3'方向包含第二末端核苷酸片段、中間核苷酸片段及第一末端核苷酸片段，其中該中間核苷酸片段包含32至40個核苷酸，較佳32至35個核苷酸。

在該第一態樣之第六實施態樣中，該第六實施態樣亦為該第一態樣之第四及五實施態樣之實施態樣，該中間核苷酸片段係與鐵調節激素結合所必須。

在該第一態樣之第七實施態樣中，該第七實施態樣亦為該第一態樣之第四、五及六實施態樣之實施態樣，該中間核苷酸片段包含

5'RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGRRGUWGGAGGAAR3' 或
5'RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGRRGUWGGAGGAAR3' 之
核苷酸序列。

在該第一態樣之第八實施態樣中，該第八實施態樣亦

為該第一態樣之第四至七實施態樣之實施態樣，該中間核苷酸片段包含

5'RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGGRGUUGGAGGAAR3'之核苷酸序列，較佳地

5'GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第九實施態樣中，該第九實施態樣亦為該第一態樣之第七及八實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段及該第二末端核苷酸片段可任意選擇地互相雜交，其中當雜交時形成雙股結構，

該第一末端核苷酸片段包含5至8個核苷酸，且

該第二末端核苷酸片段包含5至8個核苷酸。

在該第一態樣之第十實施態樣中，該第十實施態樣亦為該第一態樣之第九實施態樣之實施態樣，該雙股結構係由5至8個鹼基對組成。

在該第一態樣之第十一實施態樣中，該第十一實施態樣亦為該第一態樣之第七至十實施態樣之實施態樣，較佳地該第一態樣之第八至十實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含5'X₁X₂X₃SBSBC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'GVBVYX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，其中

X₁係A或不存在，X₂係G或不存在，X₃係B或不存在，X₄係S或不存在，X₅係C或不存在且X₆係U或不存在。

在該第一態樣之第十二實施態樣中，該第十二實施態



樣亦為該第一態樣之第七至十一實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含5'X₁X₂X₃SBSBC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'GVVBVBX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，

其中

- a) X₁係A，X₂係G，X₃係B，X₄係S，X₅係C且X₆係U，或
- b) X₁係不存在，X₂係G，X₃係B，X₄係S，X₅係C且X₆係U，或
- c) X₁係A，X₂係G，X₃係B，X₄係S，X₅係C且X₆係不存在。

在該第一態樣之第13實施態樣中，該第13實施態樣亦為該第一態樣之第七至十二實施態樣之實施態樣，

- a) 該第一末端核苷酸片段包含5'AGCGUGUC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'GGUGCGCU3'之核苷酸序列，或
- b) 該第一末端核苷酸片段包含5'AGCGUGUC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'GGCAUGCU3'之核苷酸序列，或
- c) 該第一末端核苷酸片段包含5'AGUGUGUC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'GAUGCGCU3'之核苷酸序列，或
- d) 該第一末端核苷酸片段包含5'AGUGUGUC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'GGCAUGCU3'之核苷酸序列，或

e) 該第一末端核苷酸片段包含 5'AGCGUGCC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GGUGCGCU3'之核苷酸序列，或

f) 該第一末端核苷酸片段包含 5'AGCGCGCC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GGCGCGCU3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 14 實施態樣中，該第 14 實施態樣亦為該第一態樣之第七至十實施態樣（較佳地第八至十實施態樣）之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5'X₁X₂X₃SBSBC3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GVBVYX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，

其中

a) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

b) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

c) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係不存在且 X₆係不存在。

在該第一態樣之第 15 實施態樣中，該第 15 實施態樣亦為該第一態樣之第七至十二及第 14 實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5'X₁X₂X₃SBSBC3'之核苷酸序列及該第二末端核苷酸片段包含 5'GVBVYX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，

其中



X_1 係不存在， X_2 係不存在， X_3 係 B 或不存在， X_4 係 S 或不存在， X_5 係不存在，且 X_6 係不存在。

在該第一態樣之第 16 實施態樣中，該第 16 實施態樣亦為該第一態樣之第 15 實施態樣之實施態樣，

a) 該第一末端核苷酸片段包含 5'GCGCGC3' 之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GCGCGC3' 之核苷酸序列，或

b) 該第一末端核苷酸片段包含 5'GGUGUC3' 之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GGCAUC3' 之核苷酸序列，或

c) 該第一末端核苷酸片段包含 5'GGCGUC3' 之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GGCGCC3' 之核苷酸序列，或

d) 該第一末端核苷酸片段包含 5'GCGCC3' 之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'G⁺GCGC3' 之核苷酸序列，或

e) 該第一末端核苷酸片段包含 5'GGCGC3' 之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'GCGCC3' 之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 17 實施態樣中，該第 17 實施態樣亦為該第一態樣之第七至 16 實施態樣之實施態樣，該核酸包含如 SEQ ID NO 115 至 119、SEQ ID NO 121、SEQ ID NO 142、SEQ ID NO 144、SEQ ID NO 146、SEQ ID NO 148、SEQ ID NO 151、SEQ ID NO 152、SEQ ID NO 175 或 SEQ ID NO 76 中任一者之核酸序列。

在該第一態樣之第18實施態樣中，該第18實施態樣亦為該第一態樣之第四至六實施態樣之實施態樣，該中間核苷酸片段包含

5'GRCRGCCGGVGGACACCAUAUACAGACUACKAUA3' 或
5'GRCRGCCGGARGGACACCAUAUACAGACUACKAUA3' 之核苷酸序列。

在該第一態樣之第19實施態樣中，該第19實施態樣亦為該第一態樣之第四至六實施態樣及第18實施態樣之實施態樣，該中間核苷酸片段包含

5'GRCRGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACKAUA3' 之核苷酸序列，較佳地
5'GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA3' 之核苷酸序列。

在該第一態樣之第20實施態樣中，該第20實施態樣亦為該第一態樣之第18及19實施態樣之實施態樣，

該第一末端核苷酸片段與該第二末端核苷酸片段可任意選擇地互相雜交，其中當雜交時形成雙股結構，該第一末端核苷酸片段包含4至7個核苷酸，且該第二末端核苷酸片段包含4至7個核苷酸。

在該第一態樣之第21實施態樣中，該第21實施態樣亦為該第一態樣之第20實施態樣之實施態樣，該雙股結構係由4至7個鹼基對組成。

在該第一態樣之第22實施態樣中，該第22實施態樣亦為該第一態樣之第18至21實施態樣之實施態樣，該第一末



端核苷酸片段包含 5'X₁X₂X₃SBSN3'之核苷酸序列且該第二
 末端核苷酸片段包含 5'NSV SX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，
 其中 X₁係 A 或不存在，X₂係 G 或不存在，X₃係 R 或不存在，
 X₄係 Y 或不存在，X₅係 C 或不存在且 X₆係 U 或不存在。

在該第一態樣之第 23 實施態樣中，該第 23 實施態樣亦
 為該第一態樣之第 18 至 22 實施態樣之實施態樣，較佳地該
 第一態樣之第 19 至 22 實施態樣之實施態樣，該第一末端核
 苷酸片段包含 5'X₁X₂X₃SBSN3'之核苷酸序列且該第二末端
 核苷酸片段包含 5' NSV SX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，

其中

- a) X₁係 A，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係 U，或
- b) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係 U
 ，或
- c) X₁係 A，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係不存在
 。

在該第一態樣之第 24 實施態樣中，該第 24 實施態樣亦
 為該第一態樣之第 18 至 23 實施態樣之實施態樣，

- a) 該第一末端核苷酸片段包含 5'AGGCUCG3'之核苷酸序
 列且該第二末端核苷酸片段包含 5'CGGGCCU3'之核苷酸序
 列，或
- b) 該第一末端核苷酸片段包含 5'AGGCCCG3'之核苷酸序
 列且該第二末端核苷酸片段包含 5'CGGGCCU3'之核苷酸序
 列，或
- c) 該第一末端核苷酸片段包含 5'AGGCUUG3'之核苷酸序

列且該第二末端核苷酸片段包含 5'CGAGCCU3'之核苷酸序列，或

d) 該第一末端核苷酸片段包含 5'AGACUUG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'CGAGUCU3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 25 實施態樣中，該第 25 實施態樣亦為該第一態樣之第 18 至 22 實施態樣之實施態樣，較佳地該第一態樣之第 19 至 22 實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5' X₁X₂X₃SBSN3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5' NSVSX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，其中

a) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

b) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

c) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係不存在且 X₆係不存在。

在該第一態樣之第 26 實施態樣中，該第 26 實施態樣亦為該第一態樣之第 18 至 22 及 25 實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5'GGCUCG3'之核苷酸序列且第二末端核苷酸片段包含 5'CGGGCC3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 27 實施態樣中，該第 27 實施態樣亦為該第一態樣之第 18 至 22 實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5' X₁X₂X₃SBSN3'之核苷酸序列且該第



二末端核苷酸片段包含 5' NSV SX₄X₅X₆3' 之核苷酸序列，
其中

X₁ 係不存在，X₂ 係不存在，X₃ 係 R 或不存在，X₄ 係 Y 或不
存在，X₅ 係不存在且 X₆ 係不存在。

在該第一態樣之第 28 實施態樣中，該第 28 實施態樣亦
為該第一態樣之第 18 至 22 及 27 實施態樣之實施態樣，該第
一末端核苷酸片段包含 5' GGCCG3' 之核苷酸序列且該第二
末端核苷酸片段包含 5' CGGCC3' 之核苷酸序列，或
該第一末端核苷酸片段包含 5' GCGCG3' 之核苷酸序列且該
第二末端核苷酸片段包含 5' CGCGC3' 之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 29 實施態樣中，該第 29 實施態樣亦
為該第一態樣之第一至六及 18 至 28 實施態樣之實施態樣，
該核酸包含如 SEQ ID NO 122 至 126、SEQ ID NO 154、
SEQ ID NO 159、SEQ ID NO 163 或 SEQ ID NO 174 中任一
者之核酸序列。

在該第一態樣之第 30 實施態樣中，該第 30 實施態樣亦
為該第一態樣之第四至六實施態樣之實施態樣，該中間核
苷酸片段從 5' 至 3' 方向包含下列核苷酸片段：A 框、核
苷酸連接片段及 B 框；二者擇一地，該中間核苷酸片段從 5'
至 3' 方向包含下列核苷酸片段：B 框、核苷酸連接片段及 A
框，其中該 A 框包含 5' WAAAGUWGAR3' 之核苷酸序列，該
核苷酸連接片段包含 10 至 18 個核苷酸且該 B 框包含
5' RGMGUGWKAGUKC3' 之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 31 實施態樣中，該第 31 實施態樣亦

為該第一態樣之第30實施態樣之實施態樣，該A框包含選自5'UAAAGUAGAG3'、5'AAAAGUAGAA3'、5'AAAAGUUGAA3'或5'GGGAUAUAGUGC3'之核苷酸序列，較佳地A框包含5'UAAAGUAGAG3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第32實施態樣中，該第32實施態樣亦為該第一態樣之第30至31實施態樣之實施態樣，該B框包含選自5'GGCGUGAUAGUGC3'、5'GGAGUGUUAGUUC3'、5'GGCGUGAGAGUGC3'、5'AGCGUGAUAGUGC3'或5'GGCGUGUUAGUGC3'之核苷酸序列，較佳地B框包含5'GGCGUGAUAGUGC3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第33實施態樣中，該第33實施態樣亦為該第一態樣之第30至32實施態樣之實施態樣，該核苷酸連接片段從5'至3'方向包含第一核苷酸連接子片段、第二核苷酸連接子片段及第三核苷酸連接子片段，其中較佳地該第一核苷酸連接子片段與該第三核苷酸連接子片段可任意選擇地互相雜交，其中當雜交時形成雙股結構。

在該第一態樣之第34實施態樣中，該第34實施態樣亦為該第一態樣之第33實施態樣之實施態樣，該第一核苷酸連接子片段與該第三核苷酸連接子片段各自且彼此獨立地包含3至6個核苷酸。

在該第一態樣之第35實施態樣中，該第35實施態樣亦為該第一態樣之第32至34實施態樣之實施態樣，該雙股結構係由3至6個鹼基對組成。

在該第一態樣之第36實施態樣中，該第36實施態樣亦



為該第一態樣之第32至35實施態樣之實施態樣，

a) 該第一核苷酸連接子片段包含選自5'GGAC3'、5'GGAU3'或5'GGA3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含5'GUCC3'之核苷酸序列，或

b) 該第一核苷酸連接子片段包含5'GCAG3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含5'CUGC3'之核苷酸序列，或

c) 該第一核苷酸連接子片段包含5'GGGC3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含5'GCCC3'之核苷酸序列，或

d) 該第一核苷酸連接子片段包含5'GAC3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含5'GUC3'之核苷酸序列，或

e) 該第一核苷酸連接子片段包含5'ACUUGU3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含選自5'GCAAGU3'或5'GCAAGC3'之核苷酸序列，或

f) 該第一核苷酸連接子片段包含5'UCCAG3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含5'CUGGA3'之核苷酸序列，

較佳地該第一核苷酸連接子片段包含5'GAC3'之核苷酸序列，且該第三核苷酸連接子片段包含5'GUC3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第37實施態樣中，該第37實施態樣亦為該第一態樣之第33至36實施態樣之實施態樣，該第二核

苷酸連接子片段包含3至5個核苷酸。

在該第一態樣之第38實施態樣中，該第38實施態樣亦為該第一態樣之第33至37實施態樣之實施態樣，該第二核苷酸連接子片段包含選自5'VBAAW3'、5'AAUW3'或5'NBW3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第39實施態樣中，該第39實施態樣亦為該第一態樣之第38實施態樣之實施態樣，該第二核苷酸連接子片段包含5'VBAAW3'之核苷酸序列，較佳地選自5'CGAAA3'、5'GCAAU3'、5'GUAAU3'或5'AUAAU3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第40實施態樣中，該第40實施態樣亦為該第一態樣之第38實施態樣之實施態樣，該第二核苷酸連接子片段包含5'AAUW3'之核苷酸序列，較佳地5'AAUU3'或5'AAUA3'之核苷酸序列，更佳地5'AAUA3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第41實施態樣中，該第41實施態樣亦為該第一態樣之第38實施態樣之實施態樣，該第二核苷酸連接子片段包含5'NBW3'之核苷酸序列，較佳地選自5'CCA3'、5'CUA3'、5'UCA3'、5'ACA3'、5'GUU3'、5'UGA3'或5'GUA3'之核苷酸序列，更佳地5'CCA3'、5'CUA3'、5'UCA3'、5'ACA3'或5'GUU3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第42實施態樣中，該第42實施態樣亦為該第一態樣之第30至41實施態樣之實施態樣，該核苷酸連接片段包含選自5'GGACBYAGUCC3'、5'GGAUACAGUCC3'、

5'GCAGGYAAUCUGC3'、5'GACAAUWGUC3'、
 5'ACUUGUCGAAAGCAAGYU3'、5'UCCAGGUUCUGGA3'
 、5'GGGCUGAGCCC3'、5'GCAGAUAAUCUGC3'或
 5'GGACCAGUCC3'之核苷酸序列，較佳地選自
 5'GGACCCAGUCC3'、5'GGACCUAGUCC3'、5'GGACUCAGUCC3'
 、5'GCAGGUAAUCUGC3'、5'GCAGGCAAUCUGC3'、
 5'GACAAUUGUC3'或5'GACAAUAGUC3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第43實施態樣中，該第43實施態樣亦
 為該第一態樣之第30至42實施態樣之實施態樣，
 該第一末端核苷酸片段與該第二末端核苷酸片段可任意選
 擇地互相雜交，其中當雜交時形成雙股結構，
 該第一末端核苷酸片段包含4至7個核苷酸，且該第二末端
 核苷酸片段包含4至7個核苷酸。

在該第一態樣之第44實施態樣中，該第44實施態樣亦
 為該第一態樣之第43實施態樣之實施態樣，該雙股結構係
 由4至7個鹼基對組成。

在該第一態樣之第45實施態樣中，該第45實施態樣亦
 為該第一態樣之第30至44實施態樣之實施態樣，該第一末
 端核苷酸片段包含5' $X_1X_2X_3$ BKBK3'之核苷酸序列且該第
 二末端核苷酸片段包含5'MVVV $X_4X_5X_6$ 3'之核苷酸序列，
 其中 X_1 係G或不存在， X_2 係S或不存在， X_3 係V或不存在，
 X_4 係B或不存在， X_5 係S或不存在且 X_6 係C或不存在。

在該第一態樣之第46實施態樣中，該第46實施態樣亦
 為該第一態樣之第30至44實施態樣之實施態樣，該第一末

端核苷酸片段包含 5'X₁X₂X₃BK BK3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'MV VVX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，其中

- a) X₁係 G，X₂係 S，X₃係 V，X₄係 B，X₅係 S且 X₆係 C，或
- b) X₁係不存在，X₂係 S，X₃係 V，X₄係 B，X₅係 S且 X₆係 C，或
- c) X₁係 G，X₂係 S，X₃係 V，X₄係 B，X₅係 S且 X₆係不存在。

在該第一態樣之第 47 實施態樣中，該第 47 實施態樣亦為該第一態樣之第 30 至 46 實施態樣之實施態樣，較佳地該第一態樣之第 46 實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5'GCACUCG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'CGAGUGC3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第 48 實施態樣中，該第 48 實施態樣亦為該第一態樣之第 30 至 45 實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含 5'X₁X₂X₃BK BK3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含 5'MV VVX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，其中

- a) X₁係不存在，X₂係 S，X₃係 V，X₄係 B，X₅係 S且 X₆係不存在，或
- b) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 V，X₄係 B，X₅係 S且 X₆係不存在，或
- c) X₁係不存在，X₂係 S，X₃係 V，X₄係 B，X₅係不存在且 X₆係不存在。



在該第一態樣之第49實施態樣中，該第49實施態樣亦為該第一態樣之第30至45及48實施態樣之實施態樣，

a) 該第一末端核苷酸片段包含5'GCUGUG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CACAGC3'之核苷酸序列，或

b) 該第一末端核苷酸片段包含5'CGUGUG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CACACG3'之核苷酸序列，或

c) 該第一末端核苷酸片段包含5'CGUGCU3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'AGCACG3'之核苷酸序列，或

d) 該第一末端核苷酸片段包含5'CGCGCG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CGCGCG3'之核苷酸序列，或

e) 該第一末端核苷酸片段包含5'GCCGUG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CACGCG3'之核苷酸序列，或

f) 該第一末端核苷酸片段包含5'GCGGUG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CACCGC3'之核苷酸序列，或

g) 該第一末端核苷酸片段包含5'GCUGCG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CGCAGC3'之核苷酸序列，或

h) 該第一末端核苷酸片段包含5'GCUGGG3'之核苷酸序列

且該第二末端核苷酸片段包含5'CCCAGC3'之核苷酸序列，或

i) 該第一末端核苷酸片段包含5'GCGGCG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CGCCGC3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第50實施態樣中，該第50實施態樣亦為該第一態樣之第30至45實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含5'X₁X₂X₃BKBK3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'MVVVX₄X₅X₆3'之核苷酸序列，其中

X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係V或不存在，X₄係B或不存在，X₅係不存在且X₆係不存在。

在該第一態樣之第51實施態樣中，該第51實施態樣亦為該第一態樣之第30至45及50實施態樣之實施態樣，該第一末端核苷酸片段包含5'CGUG3'之核苷酸序列且該第二末端核苷酸片段包含5'CACG3'之核苷酸序列。

在該第一態樣之第52實施態樣中，該第52實施態樣亦為該第一態樣之第一至六及第30至11實施態樣之實施態樣，該核酸包含如SEQ ID NO 29、SEQ ID NO 33、SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 39至41、SEQ ID NO 44、SEQ ID NO 137至141或SEQ ID NO 173中任一者之核酸序列。

在該第一態樣之第53實施態樣中，該第53實施態樣亦為該第一態樣之第一至六實施態樣之實施態樣，該核酸包含如SEQ ID NO 127至131中任一者之核酸序列。



在該第一態樣之第54實施態樣中，該第54實施態樣亦為該第一態樣之第一至53實施態樣之實施態樣，該核酸能與鐵調節激素結合，其中鐵調節激素係人鐵調節激素-25、人鐵調節激素-22、人鐵調節激素-20、猴鐵調節激素-25、猴鐵調節激素-22或猴鐵調節激素-20，較佳地人鐵調節激素-25。

在該第一態樣之第55實施態樣中，該第55實施態樣亦為該第一態樣之第一至54實施態樣之實施態樣，較佳地該第一態樣之第54實施態樣之實施態樣，該鐵調節激素具有如SEQ ID NO 1之胺基酸序列。

在該第一態樣之第56實施態樣中，該第56實施態樣亦為該第一態樣之第一至55實施態樣之實施態樣，該核酸包含修飾基團，其中包含該修飾基團之核酸自有機體分泌之速率相較於不含該修飾基團之核酸為低。

在該第一態樣之第57實施態樣中，該第57實施態樣亦為該第一態樣之第一至55實施態樣之實施態樣，該核酸包含修飾基團，其中包含該修飾基團之核酸分子在有機體內留滯之時間相較於不含該修飾基團之核酸為長。

在該第一態樣之第58實施態樣中，該第58實施態樣亦為該第一態樣之第56及57實施態樣之實施態樣，該修飾基團係選自包含生物可降解性及生物不可降解性調節之基團，較佳地該修飾基團係選自包含線性聚乙二醇、分支聚乙二醇、羥乙澱粉、肽、蛋白質、多糖、固醇、聚氧丙烯、聚氧醯胺（polyoxyamide）、聚（2-羥乙基）-L型麩胺

醯胺及聚乙二醇之基團。

在該第一態樣之第59實施態樣中，該第59實施態樣亦為該第一態樣之第58實施態樣之實施態樣，該修飾基團係由直鏈或分支PEG組成之PEG基團，其中該PEG基團之分子量係較佳地自約20,000至約120,000道爾頓(Da)，更佳地自約30,000至約80,000 Da，且最佳地約40,000 Da。

在該第一態樣之第60實施態樣中，該第60實施態樣亦為該第一態樣之第58實施態樣之實施態樣，該修飾基團係HES基團，其中該HES基團之分子量係較佳地自約10,000至約200,000 Da，更佳地自約30,000至約170,000 Da，且最佳地約150,000 Da。

在該第一態樣之第61實施態樣中，該第61實施態樣亦為該第一態樣之第56至60實施態樣之實施態樣，該修飾基團係經由連接子(linker)與該核酸偶合，該連接子較佳地係生物可降解之連接子。

在該第一態樣之第62實施態樣中，該第62實施態樣亦為該第一態樣之第56至61實施態樣之實施態樣，該修飾基團係與該核酸之5'端核苷酸及/或3'端核苷酸偶合，及/或與該核酸之5'端核苷酸與之3'端核苷酸之間的核酸之核苷酸偶合。

在該第一態樣之第63實施態樣中，該第63實施態樣亦為該第一態樣之第56至62實施態樣之實施態樣，該有機體係動物或人體，較佳地人體。

在該第一態樣之第64實施態樣中，該第64實施態樣亦



為該第一態樣之第一至63實施態樣之實施態樣，該核酸之核苷酸或形成該核酸之核苷酸係L型核苷酸。

在該第一態樣之第65實施態樣中，該第65實施態樣亦為該第一態樣之第一至64實施態樣之實施態樣，該核酸係L型核酸。

在該第一態樣之第66實施態樣中，該第66實施態樣亦為該第一態樣之第一至65實施態樣之實施態樣，該核酸包含至少一個能與鐵調節激素結合之結合基團，其中該結合基團係由L型核苷酸組成。

在該第一態樣之第67實施態樣中，該第67實施態樣亦為該第一態樣之第一至66實施態樣之實施態樣，該核酸係或係適用於治療及/或預防疾病之方法。

本發明之課題係於第二態樣中藉由一種醫藥組成物解決，該態樣亦為該第二態樣之第一實施態樣，該醫藥組成物包含該第一態樣中任何實施態樣之核酸及可任意選擇之額外成分，其中該額外成分係選自包含醫藥上可接受之賦形劑、醫藥上可接受之載劑及醫藥上之活性劑之群組。

在該第二態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第二態樣之第一實施態樣之實施態樣，該醫藥組成物包含該第一態樣中任何實施態樣之核酸及醫藥上可接受之載劑。

本發明之課題係於第三態樣中藉由該第一態樣中任何實施態樣之核酸用於製造藥物上之用途解決，該態樣亦為該第三態樣之第一實施態樣。

在該第三態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第三態樣之第一實施態樣之實施態樣，該藥物係用於人醫藥或用於獸醫醫藥。

本發明之課題係於第四態樣中藉由該第一態樣中任何實施態樣之核酸用於製造診斷裝置上之用途解決，該態樣亦為該第四態樣之第一實施態樣。

在該第三態樣之第三實施態樣中，該第三實施態樣亦為該第三態樣之第一及二實施態樣之實施態樣，該藥物係用於治療及/或預防貧血、低血鐵症、異食癖、鐵調節激素含量上升之症狀、鐵含量上升之症狀或鐵過度負擔之症狀。

在該第三態樣之第四實施態樣中，該第四實施態樣亦為該第三態樣之第三實施態樣之實施態樣，該貧血係選自鐵粒幼紅血球性貧血、低色小紅血球性貧血、由慢性疾病及/或疾患造成之貧血、由發炎造成之貧血、由遺傳性疾患造成之貧血、由急性感染造成之貧血、由鐵代謝及/或體內恆定之基因突變造成之貧血或由癌症治療造成之貧血。

在該第三態樣之第五實施態樣中，該第五實施態樣亦為該第三態樣之第四實施態樣之實施態樣，該慢性疾病及/或疾患係選自慢性發炎、癌症、自體免疫疾病及/或疾患、慢性感染、動脈硬化、動脈粥樣硬化或肝硬化。

在該第三態樣之第六實施態樣中，該第六實施態樣亦為該第三態樣之第五實施態樣之實施態樣，慢性發炎係選

自慢性腎病、慢性阻塞性肺病、多發性硬化症、骨關節炎、糖尿病、肥胖、腦血管疾病、鬱積性心臟病、鬱積性心衰竭、心肌梗塞、冠狀動脈疾病、周邊阻塞性動脈疾病、胰炎或血管炎，其中較佳地慢性腎病係選自腎病、慢性腎衰竭、慢性腎臟衰竭或其中慢性腎病係由腎臟透析或腎臟移植所造成。

在該第三態樣之第七實施態樣中，該第七實施態樣亦為該第三態樣之第五實施態樣之實施態樣，自體免疫疾病及/或疾患係選自類風溼性關節炎、刺激性腸徵候群、全身性紅斑性狼瘡或克隆（Chrohn）氏症。

在該第三態樣之第八實施態樣中，該第八實施態樣亦為該第三態樣之第五實施態樣之實施態樣，慢性感染係選自病毒性感染、病毒性疾病、細菌性感染或真菌性感染，其中較佳地該病毒性感染包含肝炎及HIV感染且該細菌性感染包含幽門螺旋桿菌感染。

在該第三態樣之第九實施態樣中，該第九實施態樣亦為該第三態樣之第四實施態樣之實施態樣，由發炎造成之貧血係正常紅血球性至小紅血球性及/或具有低網狀球生成指數及/或增加之發炎標記之特徵。

在該第三態樣之第十實施態樣中，該第十實施態樣亦為該第三態樣之第四實施態樣之實施態樣，該遺傳性疾患係卡斯曼症（Castleman disease）、史耐斯勒徵候群（Schnitzler's syndrome）、鐵難治性缺鐵性貧血（第二型跨膜絲胺酸蛋白酶（matriptase-2）（TMPRSS6）突變）

、無鐵傳遞蛋白貧血、先天性紅血球生成不全性貧血或色素異常症。

在該第三態樣之第十一實施態樣中，該第十一實施態樣亦為該第三態樣之第四實施態樣之實施態樣，該急性感染係選自病毒性感染、細菌性感染或真菌性感染，較佳地敗血症。

在該第三態樣之第十二實施態樣中，該第十二實施態樣亦為該第三態樣之第五實施態樣之實施態樣，該癌症係選自肝細胞癌、淋巴瘤、多發性骨髓瘤、頭頸癌、乳癌、結直腸癌、非骨髓性癌、腎細胞癌、非小細胞肺癌、腫瘤或腦瘤。

在該第三態樣之第13實施態樣中，該第13實施態樣亦為該第三態樣之第三實施態樣之實施態樣，該藥物係用於治療鐵含量上升之症狀，其中該症狀係選自共濟失調、弗里德利希（Friedrich）氏共濟失調、年齡相關性黃斑退化、年齡相關性白內障、年齡相關性視網膜疾病或神經退化性疾病（其係選自包含阿茲海默症、巴金森（Parkinson）氏症、泛酸鹽激酶相關性神經退化性疾病、腿不寧徵候群及亨丁頓（Huntington）氏病）。

在該第三態樣之第14實施態樣中，該第14實施態樣亦為該第三態樣之第三實施態樣之實施態樣，該藥物係用於治療鐵過度負擔，藉此鐵調節激素血漿含量並未上升。

在該第三態樣之第15實施態樣中，該第15實施態樣亦為該第三態樣之第14實施態樣之實施態樣，鐵過度負擔係

選自輸血性鐵過度負擔、鐵中毒、肺血鐵質沉著症、骨量減少、胰島素抗性、非洲人鐵過度負擔、哈勒沃登-施帕茨病 (Hallervordan Spatz disease)、高鐵蛋白血症、血漿銅藍蛋白缺乏症、新生兒血色素沉著症或紅血球疾患，該紅血球疾患包含地中海貧血、 α 地中海貧血、中間型地中海貧血、鐮狀細胞病或骨髓發育不良徵候群。

在該第三態樣之第16實施態樣中，該第16實施態樣亦為該第三態樣之第12至15實施態樣之實施態樣，該藥物係與鐵螯合化合物組合使用。

在該第三態樣之第17實施態樣中，該第17實施態樣亦為該第三態樣之第16實施態樣之實施態樣，該鐵螯合化合物係選自薑黃素、去鐵胺、地拉羅司 (deferasirox) 或去鐵酮 (deferiprone)。

在該第三態樣之第18實施態樣中，該第18實施態樣亦為該第三態樣之第一實施態樣之實施態樣，該藥物係用於或供其他藥物或治療方法組合使用，其中該藥物或治療方法包含其他醫藥活性化合物或給予該其他之醫藥活性化合物，其中該其他之醫藥活性化合物係選自鐵質補充劑、維生素補充劑、紅血球生成刺激劑、抗生素、抗發炎生物製劑、免疫系統抑制劑、抗血栓溶解劑、他汀類、血管加壓劑或心肌收縮化合物。

本發明之課題係於第五態樣中藉由一種包含如該第一態樣中任何實施態樣之核酸與鐵調節激素之複合物解決，該態樣亦為該第五態樣之第一實施態樣，其中較佳地該複

合物係結晶複合物。

在該第五態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第五態樣之第一實施態樣之實施態樣，鐵調節激素係選自包含人鐵調節激素及猴鐵調節激素之群組，更佳地鐵調節激素係人鐵調節激素。

本發明之課題係於第六態樣中藉由一種如該第一態樣中任何實施態樣之核酸於偵測鐵調節激素上之用途解決，該態樣亦為該第六態樣之第一實施態樣。

在該第六態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第六態樣之第一實施態樣之實施態樣，鐵調節激素係選自包含人鐵調節激素及猴鐵調節激素之群組，更佳地鐵調節激素係人鐵調節激素。

本發明之課題係於第七態樣中藉由一種用於篩選鐵調節激素之拮抗劑或激動劑之方法解決，該態樣亦為該第七態樣之第一實施態樣，該方法包含下列步驟：

- 提供鐵調節激素之候選拮抗劑及/或候選激動劑，
- 提供如該第一態樣中任何實施態樣之核酸，
- 提供測試系統，該系統於鐵調節激素之拮抗劑及/或激動劑存在時可提供信號，及
- 測定該候選拮抗劑是否為鐵調節激素之拮抗劑及/或該候選激動劑是否為鐵調節激素之激動劑。

在該第七態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第七態樣之第一實施態樣之實施態樣，該鐵調節激素係選自包含人鐵調節激素及猴鐵調節激素之群組，更佳地

鐵調節激素係人鐵調節激素。

本發明之課題係於第八態樣中藉由一種用於偵測鐵調節激素之套組解決，該態樣亦為該第八態樣之第一實施態樣，該套組包含如該第一態樣中任何實施態樣之核酸，其中較佳地該鐵調節激素係人鐵調節激素。

本發明之課題係於第九態樣中藉由一種用於偵測樣本中如該第一態樣中任何實施態樣之核酸之方法解決，該態樣亦為該第九態樣之第一實施態樣，其中該方法包含下列步驟：

- a) 提供含有本發明之核酸之樣本，
- b) 提供捕捉探針及偵測探針，其中該捕捉探針係與如第一態樣中任何實施態樣之核酸之第一部份至少部分互補，其中該偵測探針係與如第一態樣中任何實施態樣之核酸之第二部份至少部分互補，或者二擇一地，該捕捉探針係與如第一態樣中任何實施態樣之核酸之第二部份至少部分互補且該偵測探針係與如第一態樣中任何實施態樣之核酸之第一部份至少部分互補，
- c) 允許該捕捉探針及該偵測探針與如第一態樣中任何實施態樣之核酸或彼之部分同時或以任何連續之順序反應，
- d) 可任意選擇地偵測該捕捉探針是否與步驟 a) 中所提供之該第一態樣中任何實施態樣之核酸之核酸雜交，及
- e) 偵測於步驟 c) 中所形成之複合物，該複合物係由該第一態樣中任何實施態樣之核酸與該捕捉探針及該偵測探針組成。

在該第九態樣之第二實施態樣中，該第二實施態樣亦為該第九態樣之第一實施態樣之實施態樣，該偵測探針包含偵測裝置，及/或其中該捕捉探針可被固定於載體上，較佳地固體載體上。

在該第九態樣之第三實施態樣中，該第三實施態樣亦為該第九態樣之第一及二實施態樣之實施態樣，任何不是該複合物之部分之偵測探針自該反應中移除，以使步驟 e) 中僅偵測該複合物之部分之偵測探針。

在該第九態樣之第四實施態樣中，該第四實施態樣亦為該第九態樣之第一、二及三實施態樣之實施態樣，步驟 e) 包含比較該捕捉探針及該偵測探針於如第一態樣中任何實施態樣之核酸或彼之部分存在時及該核酸或彼之部分不存在時雜交而由該偵測裝置所產生之信號之步驟。

本發明之詳細說明

此處所描述之本發明之核酸之特徵可於本發明之任何態樣中實現，其中該核酸係單獨或以任何組合使用。

針對本發明，用語「提供樣本」係較佳地異於且不包含治療或診斷人或動物體之方法。

人鐵調節激素-25係具有如SEQ ID NO 1之胺基酸序列且 pI 8.2之鹼性蛋白質。

本發明係根據意外的發現，也就是產製與鐵調節激素專一性且高親和性結合之核酸係可能的。該核酸較佳地亦在此處被稱為本發明之核酸分子、本發明之核酸、該發明



核酸或該發明核酸分子。

該短的高親和性人鐵調節激素結合核酸可被鑑別之發現就此而言係令人意外的，因為伊頓等人（Eaton et al.）（1997）觀察到產製針對鹼性蛋白質之適體（意即與目標分子結合之D型核酸）一般來說係非常困難的，因為該種目標產生極高但非專一性之信噪比。此高信噪比係來自核酸對鹼性目標諸如人鐵調節激素所顯示之高度非專一性親和性。

如申請專利範圍及實施例1中更為詳細地說明，本發明人可更為意外地鑑別許多不同之人鐵調節激素結合核酸分子，其中大部分核酸可依核苷酸之片段加以特徵化，該片段在此處亦稱為框。不同的人鐵調節激素結合核酸分子可根據該框及一些其他結構特徵及元件被分別分類為A型、B型及C型鐵調節激素結合核酸。

不同類型之鐵調節激素結合核酸包含不同之核苷酸片段。因此，不同類型之鐵調節激素結合核酸對不同之鐵調節激素肽顯示不同之結合行為。如實施例所示，本發明之鐵調節激素結合核酸與人鐵調節激素-25、人鐵調節激素-22、人鐵調節激素-20、猴鐵調節激素-25及狨猴鐵調節激素-25結合。

應了解每當本發明指稱鐵調節激素時，該鐵調節激素係鐵調節激素-25，除非另外指明。

在本發明之範圍中，本發明之核酸包含2個或超過2個原則上可互相雜交之片段或彼之部分。當雜交時形成雙股

結構。該領域之技藝人士將了解特別地在活體外及/或活體內條件下，該雜交可能發生或可能不發生。另外，當該雜交發生時，該雜交不一定發生在該二片段之全長，其中至少根據鹼基配對規則，該二片段原則上可能發生雜交及因此形成雙股結構。如此處較佳地使用，雙股結構係指由2個或超過2個分開之股或單股核酸分子之2個空間上分開之片段所形成之核酸分子之部分或結構，因此至少有一個、較佳地2個或超過2個鹼基對存在，該等鹼基對係較佳地根據華生-克里克（Watson-Crick）鹼基配對原則之鹼基對。該領域之技藝人士亦將了解的是，其他鹼基配對諸如虎克斯汀（Hoogsten）鹼基對可能存在於或形成該雙股結構。亦被承認的是，二個片段雜交之特徵較佳地顯示該雜交因為該二片段之鹼基互補性而預定發生。

在較佳之實施態樣中，此處所使用之用語安排係指此處所述之與此處所揭示之核酸有關之結構性或功能性特徵或元件之順序或序列。

該領域之技藝人士將承認本發明之核酸能與鐵調節激素結合。在不希望被任何理論束縛之前提下，本發明人假設該鐵調節激素之結合是因為該請求權利之核酸分子的三維結構特徵或元件之組合，此係由形成該特徵或元件之核苷酸之一級結構的方向及摺疊模式所致。明顯可知的是，該個別特徵或元件可由許多不同之個別序列形成，該特徵或元件之差異程度可能根據該元件或特徵必須形成之三維結構而定。該請求權利之核酸的整體結合特徵分別來自不

同元件及特徵之相互作用，最終導致該請求權利之核酸與彼之目標（意即鐵調節激素）之交互作用。同樣在不希望被任何理論束縛的前提下，B型及C型鐵調節激素結合核酸之特徵中間片段及A型鐵調節激素結合核酸之特徵第一片段A框及第二片段B框似乎對於媒介該請求權利之核酸與鐵調節激素之結合而言是重要的。因此，本發明之核酸適合與鐵調節激素交互作用及偵測鐵調節激素。另外該領域之技藝人士將了解的是，本發明之核酸係鐵調節激素之拮抗劑。因此，本發明之核酸適合用於分別治療及預防與鐵調節激素有關或由鐵調節激素造成之任何疾病或症狀。該等疾病及症狀可能來自由先前技術所建立之分別與鐵調節激素有關或鐵調節激素導致之該等疾病及症狀，並以參照方式將先前技術納入此處以提供本發明之核酸之治療性及診斷性用途之科學原理。

在本發明之範圍中，本發明之核酸係一種核酸分子。就本發明而言，用語核酸及核酸分子在此處係以同義之方式使用，除非另外說明。在本申請案之一實施態樣中，該核酸及如此之核酸分子包含其中所有形成核酸分子之連續核苷酸係以一個或超過一個共價鍵彼此連接或連結之核酸分子。更特定地說，每個該等核苷酸較佳地透過磷酸二酯鍵或其他鍵結與其他二個核苷酸連接或連結，以形成連續之核苷酸片段。然而在該安排中，該二個末端核苷酸（意即較佳地在5'端及3'端之核苷酸）各自僅與一個核苷酸連接，惟其該安排係直鏈而非環狀安排，因此為直鏈而非環

狀分子。

在本申請案之另一實施態樣中，該核酸及如此之核酸分子包含至少二組連續核苷酸，其中在各組連續核苷酸中每個核苷酸較佳地透過磷酸二酯鍵或其他鍵結與其他二個核苷酸連接或連結，以形成連續之核苷酸片段。然而在該安排中，該至少二組連續核苷酸之各個連續核苷酸的二個末端核苷酸（意即較佳地在5'端及3'端之核苷酸）各自僅與一個核苷酸連接。然而在該實施態樣中，該二組連續核苷酸不透過共價鍵互相連接或連結，該共價鍵透過共價鍵連接一組之一個核苷酸與另一或其他組之一個核苷酸，較佳地在該二個核苷酸之一者之糖基團與該二個核苷酸或核苷之另一者之磷酸基團之間形成之共價鍵。然而，在選擇性實施態樣中，該二組連續核苷酸透過共價鍵互相連接或連結，該共價鍵透過共價鍵連接一組之一個核苷酸與另一或其他組之一個核苷酸，較佳地在該二個核苷酸之一者之糖基團與該二個核苷酸或核苷之另一者之磷酸基團之間形成之共價鍵。較佳地，該至少二組連續核苷酸並不透過任何共價鍵連接。在另一較佳之實施態樣中，該至少二組透過與磷酸二酯鍵不同之共價鍵連接。在另一實施態樣中，該至少二組透過磷酸二酯鍵之共價鍵連接。另外，較佳地，該二組連續核苷酸透過共價鍵互相連接或連結，其中該共價鍵係於該二組連續核苷酸之第一者之3'端核苷酸與該二組連續核苷酸之第二者之5'端核苷酸之間形成或該共價鍵係於該二組連續核苷酸之第一者之5'端核苷酸與該二組

(S)

連續核苷酸之第二者之3'端核苷酸之間形成。

本發明之核酸亦應包含與此處所揭示之特定序列實質上同源之核酸。用語實質上同源應較佳地被理解為該同源性至少為75%、較佳地85%、更佳地90%及最佳地超過95%、96%、97%、98%或99%。

二個核酸分子之間的同源性可由該領域之技藝人士所知之方式測定。更具體地說，序列比較演算法可根據指定之計畫參數被用於計算測試序列相較於參考序列之序列同源性百分比。該測試序列較佳地係被稱為與不同之核酸分子同源或被測試是否同源及若是同源至何種程度之序列或核酸分子，其中該不同之核酸分子亦被稱為參考序列。在一實施態樣中，該參考序列係如此處所述之核酸分子，更佳為具有SEQ ID NO 29至43、SEQ ID NO 45至48、SEQ ID NO 110至156、SEQ ID NO 158至176或SEQ ID NO 179至181中任一者之序列的核酸分子。供比較之序列最佳排比可利用下列進行，例如史密斯及華特曼之局部同源性演算法（Smith & Waterman, 1981）、尼德曼及文許之同源性排比演算法（Needleman & Wunsch, 1970）、皮爾森及利普曼之搜尋類似性方法（Pearson & Lipman, 1988）、該些演算法之電腦化實現（威斯康辛基因軟體套組中之GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA，威斯康辛州麥迪遜市科學大道575號基因電腦集團公司（Genetics Computer Group））或藉由目視檢測。

適用於測定序列一致性百分比之演算法的一個實例係

用於基本局部排比搜尋工具（以下稱爲BLAST）中之演算法，參見例如 Altschul et al (Altschul et al. 1990 及 Altschul et al, 1997) 。執行BLAST分析之軟體可透過美國國家生物技術資訊中心（以下稱爲NCBI）公開取得。利用自NCBI取得之軟體例如BLASTN（用於核苷酸分析）及BLASTP（用於胺基酸分析）測定序列一致性之內建參數係描述於 McGinnis et al (McGinnis et al., 2004) 。

發明核酸或（本）發明之核酸這二個用語可交換使用，該用語亦應包含該等含有此處所揭示之核酸序列或彼之部分之核酸，較佳之範圍爲該核酸或該部分係與人鐵調節激素結合有關。在一實施態樣中，該核酸係此處所描述之核酸分子之一者，或彼之衍生物及/或代謝物，其中該衍生物及/或代謝物相較於此處所描述之核酸分子係較佳地經截短之核酸。截短可能關於此處所描述之核酸分子之任一端或二端。另外，截短可能關於該核酸之核苷酸的內部序列，意即可能關於分別介於5'及3'末端核苷酸之間的核苷酸。再者，截短應包含自此處所揭示之核酸序列刪除至少單一個核苷酸。截短亦可能關於超過一個發明核酸片段，其中該片段可爲至少一個核苷酸長。本發明之核酸之結合可由該領域之技藝人士利用例行實驗或藉由使用或採取此處所描述之方法測定，較佳地如此處之實施例部分所述。

本發明之核酸可能爲D型核酸或L型核酸。較佳地，該發明核酸係L型核酸。此外，該核酸之一或多個部分可能

以 D 型核酸存在或該核酸之至少一或多個部分係 L 型核酸。用語核酸之「部分」應指至少一個核苷酸。因此，在特定較佳之實施態樣中，本發明之核酸係由 L 型核苷酸組成且包含至少一個 D 型核苷酸。該 D 型核苷酸係較佳地與不同於定義本發明之核酸之片段的部分（較佳地彼之該些部分）連接，該部分涉及與該核酸之其他部分或與該目標（意即鐵調節激素）之交互作用。較佳地，該 D 型核苷酸係分別與任何該等片段之末端或本發明之任何核酸之末端連接。在另一較佳之實施態樣中，該 D 型核苷酸可作為間隔子或連接子，較佳地連接調節或修飾基團，例如與本發明之核酸連接之 PEG 及 HES。

另外在本發明之實施態樣中，此處描述之個別及任何核酸分子整體就彼等之核酸序列而言係限制於特定核苷酸序列。換句話說，用語「包含（comprising）」或「包含（comprise(s)）」應在該實施態樣中被解讀成含有或組成之意義。

另外在本發明之範圍中，本發明之核酸係較長核酸之部分，其中該較長核酸包含數個部分，其中至少一個該部分係本發明之核酸或彼之部分。該等較長核酸之其他部分可為一或多個 D 型核酸或一或多個 L 型核酸。任何組合可於本發明中使用。該較長核酸之該等其他部分不論是單獨地或以彼等之整體或以特定組合存在可具有除結合（特定地與鐵調節激素結合）外之功能。一項可能之功能係允許與其他分子交互作用以供諸如例如固定、交聯、偵測或放大

，其中該其他分子較佳地與鐵調節激素不同。在本發明之其他實施態樣中，本發明之核酸包含以個別或組合基團存在之本發明之數個核酸。該包含本發明之數個核酸之核酸亦由用語較長之核酸所包含。

此處所使用之L型核酸或L型核酸分子係由L型核苷酸所組成之核酸或核酸分子，較佳地完全由L型核苷酸組成。

此處所使用之D型核酸或D型核酸分子係由D型核苷酸所組成之核酸或核酸分子，較佳地完全由D型核苷酸組成。

另外，除非另外指明，此處列示之任何核苷酸序列係以5'→3'方向表示。

此處較佳地使用之任何核苷酸位置係以相對於序列、片段或子片段之5'端決定或指稱。因此，第二核苷酸係分別由該序列、片段或子片段之5'端數來之第二個核苷酸。同樣地，根據該原則，倒數第二個核苷酸係指分別由該序列、片段或子片段之3'端數來之第二個核苷酸。

不論該發明核酸是否由D型核苷酸、L型核苷酸或二者之組合組成，其中該組合係例如隨機組合或由至少一個L型核苷酸及至少一個D型核酸所組成之經定義之片段順序，該核酸可能由去氧核糖核酸、核糖核酸或彼等之組合組成。

設計該發明核酸為L型核酸基於一些理由係有利的。L型核酸係天然發生核酸之鏡像異構物。由於核酸酶之廣泛

存在，D型核酸在水性溶液及特定地在生物系統或生物樣本中不是非常穩定。天然發生之核酸酶特定地來自動物細胞之核酸酶無法降解L型核酸。因此，L型核酸之生物半衰期在該系統包括動物及人體中顯著增加。由於L型核酸不受降解，亦無核酸酶降解產物之產製，因此不會觀察到由該產物引起之副作用。此態樣限定事實上所有其他用於治療與鐵調節激素存在有關之疾病及/或疾患之化合物的L型核酸。透過與華生-克里克鹼基配對不同之機制與目標分子專一性結合之L型核酸，或部分或完全地由L型核苷酸組成之適體（特定地具有該適體之與適體及目標分子結合有關之該等部分）亦被稱為鏡像異構適體（*Spiegelmer*）。適體就其意義而言係為該領域之技藝人士所知，除其他外被描述於 *The Aptamer Handbook* (eds. Klussmann, 2006)。

另外在本發明之範圍中，本發明之核酸不論以D型核酸、L型核酸或D、L型核酸存在或為DNA或RNA均可以單股或雙股核酸之形式存在。典型地，該發明核酸係因一級序列而具有經定義之二級結構之單股核酸，且可能因此亦形成三級結構。然而，該發明核酸亦可能為雙股，其中彼此互補或部分互補之該二股互相雜交，不論彼等為二個分開之股或是彼等互相（較佳地共價）結合。

該發明核酸可經修飾。該等修飾可能關於該核酸之單一核苷酸且為該領域所廣為周知。該修飾之實例除其他外係描述於 Venkatesan (2003) ; Kusser (2000) ; Aurup (

1994) ; Cummins (1995) ; Eaton (1995) ; Green (1995) ; Kawasaki (1993) ; Lesnik (1993) ;及 Miller (1993) 。該修飾可為在個別核苷酸之2'位置之H原子、F原子或O-CH₃基團或NH₂基團，該個別核苷酸係本發明之核酸之部分。另外，本發明之核酸可包含至少一個LNA核苷酸。在一實施態樣中，本發明之核酸係由LNA核苷酸組成。

在一實施態樣中，本發明之核酸可為多分 (multipartite) 核酸。此處所使用之多分核酸係指由至少二個分開之核酸股所組成之核酸。該等至少二個核酸股形成功能性單位，該功能性單位係目標分子之配體 (ligand) 。該至少二個核酸股可能藉由切割該核酸分子以產製二股，或藉由合成對應該發明意即整體核酸之第一部份的一個核酸及對應該整體核酸之第二部份的另一核酸以源自任何發明核酸。將被承認的是，當超過以上示範之二股時，切割及合成二者均可被應用以產製多份核酸。換句話說，該至少二個分開之核酸股典型地異於彼此互補及雜交之二股，雖然該至少二個分開之核酸股之間可能存在一定程度之互補性，且該互補性可能導致該等分開之股雜交。

最後，實現完全封閉意即具有環狀結構之本發明之核酸亦屬本發明之範圍中，意即本發明之核酸在一實施態樣中被封閉，較佳地透過共價連接，其中該等共價連接更佳地係於此處所揭示之核酸序列或任何彼等之衍生物之5'端及3'端之間。

一個測定本發明之核酸分子之結合常數的可能性係利



用如實施例 4 中所描述之表面電漿共振，該實施例證實上述發現，意即本發明之核酸具有良好之 K_D 值範圍。為了表現個別核酸分子與目標之間的結合強度（該目標在本例中係鐵調節激素），適當之測量值係所謂的 K_D 值，其中該 K_D 值及彼之測量方法係該領域之技藝人士所熟知。

較佳地，本發明之核酸所顯示之 K_D 值係低於 1 微莫耳。約 1 微莫耳之 K_D 值被認為是核酸與目標非專一性結合之特徵。如該領域之技藝人士將承認的，一群化合物諸如本發明之核酸之 K_D 值係介於特定範圍內。上述約 1 微莫耳之 K_D 係 K_D 值之較佳上限。該目標結合核酸之 K_D 下限可低至約 10 皮莫耳或可更高。在本發明之範圍中，個別核酸與鐵調節激素結合之 K_D 值係較佳地介於此範圍內。較佳範圍可藉由選擇在該範圍內之任何第一數字及在該範圍內之任何第二數字加以定義。較佳之 K_D 上限值係 250 nM 及 100 nM，較佳之 K_D 下限值係 50 nM、10 nM、1 nM、100 pM 及 10 pM。更佳之 K_D 上限值係 2.5 nM，更佳之 K_D 下限值係 400 pM。

本發明之核酸分子可具有任何長度，惟其仍能與該目標分子結合。該領域之技藝人士將承認對本發明之核酸而言有較佳之長度。通常該長度係介於 15 至 120 個核苷酸。該領域之技藝人士將承認在 15 至 120 之間的任何整數係本發明之核酸的可能長度。對本發明之核酸長度而言，更佳之範圍係約 20 至 100 個核苷酸、約 20 至 80 個核苷酸、約 20 至 60 個核苷酸、約 20 至 50 個核苷酸及約 30 至 50 個核苷酸之

長度。

在本發明之範圍中，此處所揭示之核酸包含一基團，該基團較佳地係高分子量基團及/或該基團除其他外能較佳地修飾該核酸在動物體內（較佳地人體內）之滯留時間方面之特徵。該修飾之特定較佳之實施態樣係本發明之核酸之PEG化及HES化。此處所使用之PEG代表聚乙二醇，HES代表羥乙基澱粉。此處較佳地使用之PEG化係指本發明之核酸之修飾，該修飾係由與本發明之核酸連接之PEG基團組成。此處較佳地使用之HES化係指本發明之核酸之修飾，該修飾係由與本發明之核酸連接之HES基團組成。該等修飾諸如直鏈聚乙二醇、支鏈聚乙二醇、羥乙基澱粉、肽、蛋白質、多糖、固醇、聚氧丙烯、聚氧醯胺、聚（2-羥乙基）-L-麩胺醯胺及聚乙二醇以及使用該等修飾修飾該核酸之方法係描述於歐洲專利申請案EP 1 306 382，該申請案之揭示係以參照方式整體納入此處。

較佳地，由高分子量基團組成或包含高分子量基團之修飾的分子量係約2,000至250,000道爾頓，較佳地20,000至200,000道爾頓。就PEG該種高分子量基團而言，該分子量係較佳地20,000至120,000道爾頓，更佳地40,000至80,000道爾頓。就HES該種高分子量基團而言，該分子量係較佳地20,000至200,000道爾頓，更佳地40,000至150,000道爾頓。HES修飾之方法係描述於例如德國專利申請案DE 1 2004 006 249.8，該申請案之揭示係以參照方式整體納入此處。

在本發明之範圍中，PEG及HES之任一者可以直鏈或支鏈形式被使用，如專利申請案WO2005/074993、WO2003/035665及EP1496076中進一步描述。該修飾原則上可於本發明之核酸分子之任何位置上進行。較佳地，該修飾係於本發明之核酸分子之5'端核苷酸、3'端核苷酸及/或5'端核苷酸及3'端核苷酸之間的任何核苷酸上進行。

該修飾及較佳地PEG及/或HES基團可被直接地或間接地（較佳地經由連接子）連接至本發明之核酸分子。另外在本發明之範圍中，本發明之核酸分子包含一或多個修飾，較佳地一或多個PEG及/或HES基團。在一實施態樣中，該個別之連接子分子連接超過一個PEG基團或HES基團至本發明之核酸分子。本發明所使用之連接子本身可為直鏈或支鏈。該種類型之連接子係該領域之技藝人士所知且於專利申請案WO2005/074993、WO2003/035665及EP1496076中進一步描述。

在較佳之實施態樣中，該連接子係可生物降解之連接子。由於自本發明之核酸釋放該修飾，該可生物降解之連接子除其他外能修飾本發明之核酸在動物體內（較佳地人體內）滯留時間方面之特徵。使用可生物降解之連接子可能允許更佳地控制本發明之核酸之滯留時間。該可生物降解之連接子之較佳實施態樣係如但不限於國際專利申請案WO2006/052790、WO2008/034122、WO2004/092191及WO2005/099768中所描述之可生物降解之連接子。

在本發明之範圍中，該修飾或修飾基團係可生物降解

之修飾，其中該可生物降解之修飾可被直接地或間接地（較佳地經由連接子）連接至本發明之核酸分子。由於自本發明之核酸釋放或降解該修飾，該可生物降解之修飾除其他外能修飾本發明之核酸在動物體內（較佳地人體內）滯留時間方面之特徵。使用可生物降解之修飾可能允許更佳地控制本發明之核酸之滯留時間。該可生物降解之修飾之較佳實施態樣係如但不限於國際專利申請案 WO2002/065963、WO2003/070823、WO2004/113394 及 WO2000/41647（較佳地 WO2000/41647 第 18 頁第 4 至 24 行）中所描述之可生物降解。

除了上述之修飾以外，其他修飾可被用於修飾本發明之核酸之特徵，其中該其他修飾可能選自蛋白質、脂質諸如膽固醇及糖鏈諸如澱粉酶、聚葡萄糖等。

在不希望被任何理論束縛的前提下，以高分子量基團諸如聚合物及更特定地一或多個此處所揭示之聚合物修飾本發明之核酸似乎會改變分泌動力學，該等聚合物較佳係為生理上可接受。更特定地，由於該經修飾之發明核酸的分子量增加及因為本發明之核酸特別是呈 L 型時無法被代謝，自動物體較佳地自哺乳動物體及更佳地自人體之分泌似乎減少。由於分泌通常經由腎臟發生，本發明人假設該經修飾之核酸的腎小球濾過率相較於不具這類高分子量修飾之核酸顯著降低，該高分子量修飾導致在動物體內之滯留時間增加。在這方面特別值得注意的是，雖然具有該高分子量修飾，但是本發明之核酸之專一性不會被有害地影



響。就此而言，本發明之核酸除其他特徵外具有令人意外之特徵（該特徵通常不預期於醫藥活性化合物），也就是提供用於持續釋放之醫藥調製劑不一定需要提供本發明之核酸之持續釋放。相反地，包含高分子量基團之本發明之核酸的修飾形式已經可如此地被使用為持續釋放型調製劑，因為彼等經過修飾之作用已經彷彿如同自持續釋放型調製劑釋放。就此而言，此處所揭示之本發明之核酸分子之修飾及本發明如此經修飾之核酸分子及包含該相同物之任何組成物可能提供不同的、較佳地經控制之藥物動力學及彼之生物分布。此亦包括在循環中之滯留時間及組織分布。該等修飾進一步描述於專利申請案 WO2003/035665。

然而，不包含任何修飾及特定地高分子量修飾諸如 PEG 化或 HES 化之本發明之核酸亦在本發明之範圍內。當本發明之核酸對體內任何目標器官或組織顯示偏好分布或當投予後自體內快速廓清本發明之核酸係為所欲時，該實施態樣係特別優先。對體內任何目標器官或組織具有優先分布特徵之此處所揭示之本發明之核酸將能建立在目標組織之有效局部濃度，同時保持較低之系統性核酸濃度。此將允許使用較低之劑量，不僅就經濟觀點上係有利的，同時亦減少其他組織不必要之暴露於該核酸製劑，因此降低副作用之潛在風險。除其他外，在使用本發明之核酸或包含該相同物之藥物進行活體內造影或特定治療性投藥需求的情形中，投予後快速地自體內廓清本發明之核酸可能係為所欲。

本發明之核酸及/或本發明之拮抗劑可被用於產製或製造藥物或醫藥組成物。本發明之該藥物或醫藥組成物包含至少一種該發明核酸，可選擇地與至少一種其他醫藥活性化合物，其中該發明核酸本身較佳地作為醫藥活性化合物。該藥物或醫藥組成物在較佳之實施態樣中包含至少一種醫藥上可接受之載劑。該載劑可能為例如水、緩衝劑、PBS、葡萄糖溶液（較佳地5%葡萄糖鹽平衡溶液）、澱粉、糖、明膠或任何其他可接受之載劑物質。該載劑通常為該領域之技藝人士所知。該領域之技藝人士將承認本發明之藥物或關於本發明之藥物之任何實施態樣、用途及態樣亦適用於本發明之醫藥組成物且反之亦然。

使用或意圖使用根據本發明或根據本發明製備之各種核酸、醫藥組成物及藥物以治療及/或預防之適應症、疾病及疾患係因個別致病機制直接或間接地涉及鐵調節激素所致。

如介紹部分所提及，鐵調節激素係調節鐵質體內恆定之關鍵信號，高含量之人鐵調節激素導致血清鐵質含量降低，而低含量導致如鐵調節激素缺乏及鐵調節激素過度表現之小鼠模型所顯示之血清鐵質含量增加（Nicolas, 2001; Nicolas, 2002; Nicolas, 2003）。

如此處亦提及的，鐵調節激素與膜鐵轉運蛋白之結合導致立即內化膜鐵轉運蛋白及隨後持續之血鐵降低（Rivera, 2005），其中血鐵降低係造成貧血之原因。貧血被定義為循環血液中血紅素之量絕對減少，通常係以低血

紅素為表徵之疾病的症狀，不是自行獨立之診斷。貧血係負面損害紅血球產製及/或生命期之醫學狀況所致。此外，貧血可為血液流失之結果。

因此要了解貧血之發展，根據潛在機制將貧血分成三種病因類型：

- a) 紅血球產製減少，
- b) 紅血球破壞增加，及
- c) 血液流失。

但是該三種類型意即紅血球產製減少、紅血球破壞增加及血液流失之間並無嚴格分野，而是可同時發生或彼此獨立發生。

在許多疾病中，該等機制之組合可導致貧血。因此，中和鐵調節激素可能對許多貧血之狀況有利。

由於本發明之鐵調節激素結合核酸與人鐵調節激素交互作用或結合，技藝人士將了解本發明之鐵調節激素結合核酸可被用於治療、預防及/或診斷此處所描述之人及動物之任何疾病。就此而言，應承認本發明之核酸分子可被用於治療及預防此處所描述之疾病、疾患或狀況之任一者。

在下列且不希望被任何理論束縛的情況下，提供針對各種疾病、疾患及症狀使用本發明之核酸分子之理論，因此使得本發明之核酸分子所請求權利之治療性、預防性及診斷性用途看似可行。為了避免任何不必要之重複，應承認由於涉及該領域之技藝人士所熟知且亦於此處簡述之鐵

調節激素-膜鐵轉運蛋白交互作用，該交互作用可由本發明之核酸分子進行，以達成該請求權利之治療性及/或預防效應。

因此，本發明之藥物可被使用以治療及/或預防之疾病及/或疾患及/或疾病症狀包括但不限於貧血、低血鐵症、異食癖、鐵調節激素含量上升之症狀、鐵含量上升之症狀及/或鐵過度負擔之症狀。

較佳地貧血係選自鐵粒幼紅血球性貧血、低色小紅血球性貧血、由慢性疾病及/或疾患造成之貧血、由發炎造成之貧血、由遺傳性疾患造成之貧血、由急性感染造成之貧血、及/或由鐵代謝及/或體內恆定之基因突變造成之貧血。

可造成貧血之各種慢性疾病及/或疾患係選自慢性發炎、癌症、自體免疫性疾病及/或自體免疫疾患、慢性感染、動脈硬化、動脈粥樣硬化或肝硬化。就此而言，可由本發明之核酸治療之貧血係由該等各種慢性疾病及/或疾患中之任一種造成或相關之貧血。另外，貧血可為由癌症治療尤其是化學治療造成之貧血。

慢性發炎之亞群係慢性腎病、慢性阻塞性肺病、多發性硬化症、骨關節炎、糖尿病、肥胖、腦血管疾病、鬱積性心臟病、鬱積性心衰竭、心肌梗塞、冠狀動脈疾病、周邊阻塞性動脈疾病、胰炎或血管炎，其中該慢性腎病包含腎病、慢性腎衰竭、慢性腎臟衰竭及/或由腎臟透析或腎臟移植造成之慢性腎病。

癌症之亞群係肝細胞癌、淋巴瘤、多發性骨髓瘤、頭頸癌、乳癌、結直腸癌、非骨髓性癌、腎細胞癌、非小細胞肺癌、腫瘤及腦瘤。

自體免疫性疾病及/或疾患之亞群係類風溼性關節炎、刺激性腸徵候群、全身性紅斑性狼瘡及克隆氏症。

慢性感染之亞群係病毒性感染、病毒性疾病、細菌性感染及真菌性感染，其中該病毒性感染包含但不限於肝炎及 HIV 感染且該細菌性感染包含但不限於幽門螺旋桿菌感染。

由發炎造成之貧血係正常紅血球性至小紅血球性，其特徵為低網狀球生成指數，總鐵結合能力（TIBC）低或正常。在發炎造成貧血之情況中，鐵調節激素、急性期蛋白質及其他發炎標記（例如 C 反應蛋白）係增加。由發炎造成之貧血亦稱為發炎性貧血。

可造成貧血之各種遺傳性疾患係選自卡斯曼症（Castleman disease）、史耐斯勒徵候群（Schnitzler's syndrome）、鐵難治性缺鐵性貧血（第二型跨膜絲胺酸蛋白酶（matriptase-2）（TMPRSS6）突變）、無鐵傳遞蛋白貧血、先天性紅血球生成不全性貧血或血色素異常症。

可造成貧血之各種急性感染係選自病毒性感染、細菌性感染或真菌性感染，其中病毒性感染、細菌性感染及真菌性感染個別地或彼此組合地可導致敗血症。

用語「鐵調節激素含量上升之症狀」係指在哺乳動物較佳地人之症狀，其中體內之鐵調節激素含量相較於該哺乳

動物之鐵調節激素的正常含量為高，諸如鐵調節激素血清含量相較於哺乳動物之正常鐵調節激素血清含量（在人約為120奈克/毫升）上升。除其他外，血清鐵調節激素含量上升可由酶連接免疫測定法（德國馬堡DRG診斷公司之市售套組）測量。

因此，可較佳地使用本發明之藥物之病患包括但不限於以紅血球生成素及其他紅血球刺激療法治療且較佳地對紅血球生成素顯示低反應性之病患，其中更佳地該病患具有慢性腎病或罹患癌症，其中癌症係選自肝細胞癌、淋巴瘤、多發性骨髓瘤、頭頸癌、乳癌、結直腸癌、非骨髓性癌、腎細胞癌、非小細胞肺癌、腫瘤或腦瘤。

在其他實施態樣中，本發明之藥物包含其他醫藥活性化化合物。該其他醫藥活性化化合物較佳地係可調節鐵調節激素或膜鐵轉運蛋白之活性、濃度或表現之化合物。該化合物較佳地係前鐵調節激素切割蛋白酶抑制劑、前鐵調節激素抗體、膜鐵轉運蛋白拮抗劑諸如例如膜鐵轉運蛋白抗體、JAK2抑制劑、GDF15、BMP調節劑、可溶性血幼素或TGF- β 抑制劑。

其他可與包含本發明之核酸之藥物一起使用或包含於該藥物中之額外醫藥活性化化合物係該些已知及/或用於治療貧血及/或發炎症狀之化合物，其中該發炎症狀之治療對貧血有正面影響。該醫藥活性化化合物係選自鐵質補充劑、維生素補充劑、紅血球生成刺激劑、抗生素、抗發炎生物製劑、免疫系統抑制劑、抗血栓溶解劑、他汀類、血管

加壓劑或心肌收縮化合物。

鐵質補充劑之非限制性實例係硫酸亞鐵、葡萄糖酸亞鐵、葡聚糖鐵、葡萄糖酸鐵鈉、羧基麥芽糖鐵、聚麥芽糖氫氧化鐵、延胡索酸鐵、蔗糖鐵及蔗糖氫氧化鐵。

維生素補充劑之非限制性實例係維生素C、葉酸、維生素B12、維生素B6及維生素D。

紅血球生成刺激劑之非限制性實例係紅血球生成素、依泊汀 (Epoetin)、達貝泊汀 (Darbepoetin)、CERA、HIF脯胺醯基羥化酶抑制劑 (例如FG-2216及FG-4592) 及其他紅血球生成刺激劑。

抗生素之非限制性實例係胺基糖苷類、 β 內醯胺抗生素、肽類抗生素、旋轉酶抑制劑、林可胺類、巨環內酯類抗生素、硝基咪唑衍生物、多肽抗生素、磺胺劑、四環素及甲氧苄胺嘧啶。

抗發炎生物製劑之非限制性實例係

a) IL-6 受體拮抗劑諸如舉例來說托西珠單抗 (Tocilizumab) 或阿特利單抗 (Atlizumab)

b) TNF拮抗劑諸如例如依那西普 (Etanercept)、英利昔單抗 (Infliximab)、阿達木單抗 (Adalimumab)、賽妥珠單抗 (Certolizumab)

c) IL-1受體拮抗劑諸如舉例來說阿那白滯素 (Anakinra) 及

d) CD20結合分子諸如舉例來說利妥昔單抗 (Rituximab) 及替伊莫單抗 (Ibritumab)。

免疫系統抑制劑之非限制性實例係硫唑嘌呤 (azathioprin) 、布喹那 (brequinar) 、鈣調磷酸酶 (calcineurin) 抑制劑、氯氨布西 (chlorambucil) 、環孢素 A (cyclosporin A) 、去氧精胍啉 (deoxyspergualin) 、來氟米特 (leflunomide) 、甲胺喋呤 (methotrexate) 、咪唑立賓 (mizoribin) 、黴酚酸酯 (mycophenolate mofetil) 、雷怕黴素 (rapamycin) 、他克莫司 (tacrolimus) 及沙利竇邁 (thalidomide) 。

抗發炎劑之非限制性實例係 PDE4 抑制劑諸如羅氟司特 (roflumilast) 及皮質類固醇諸如潑尼松龍 (prednisolone) 、甲基潑尼松龍 (methylprednisolone) 、氫化可的松 (hydrocortisone) 、德薩美松 (dexamethason) 、曲安西龍 (triamcinolone) 、倍他美松 (betamethason) 、發泡性 (effervescent) 、布地奈德 (budesonide) 、環索奈德 (ciclesonide) 及氟替卡松 (fluticasone) 。

抗血栓溶解劑之非限制性實例係經活化之人蛋白 C 諸如阿法卓區可基 (Drotrecogin alfa) 。

他汀類之非限制性實例係阿伐他汀 (Atorvastatin) 、西立伐他汀 (Cerivastatin) 、氟伐他汀 (Fluvastatin) 、洛伐他汀 (Lovastatin) 、美伐他汀 (Mevastatin) 、匹伐他汀 (Pitavastatin) 、普伐他汀 (Pravastatin) 、瑞素伐他汀 (Rosuvastatin) 及辛伐他汀 (Simvastatin) 。

血管加壓劑及 / 或心肌收縮化合物之非限制性實例係正腎上腺素、血管加壓素及多巴酚丁胺。

除了鐵調節激素血漿濃度上升的情形之外，本發明之核酸分子亦可被用於鐵含量上升之病患及/或鐵過度負擔但鐵調節激素血漿含量並未上升之症狀以拮抗鐵調節激素。以本發明之核酸分子治療該等病患係較佳地進行以降低細胞鐵濃度，其中該治療係較佳地與鐵螯合化合物組合使用。以本發明之核酸中和生理性鐵調節激素保護膜鐵轉運蛋白之表現，因此支持鐵自細胞內儲存之進一步釋放。膜鐵轉運蛋白保護與鐵螯合化合物之組合經由尿液排除鐵質且降低全身鐵含量。

在醫學領域中，鐵過度負擔表示鐵因為任何原因在體內累積。以人來說，鐵過度負擔之特徵係全身鐵含量超過5毫克。鐵過度負擔亦稱為血色素沉著症。

用語「鐵過度負擔之症狀」係指在哺乳動物較佳地人之症狀，其中哺乳動物體內之鐵含量相較於該哺乳動物之正常鐵含量上升，諸如鐵血清含量相較於哺乳動物之正常鐵血清含量（以人來說約20微莫耳/升）上升或在哺乳動物之肝臟中的鐵含量相較於該哺乳動物之正常肝臟鐵含量上升。血清鐵含量上升除其他外可利用比色法直接測量血清鐵、藉由標準運鐵蛋白飽和測試（其顯示多少鐵係與該在血中攜帶鐵之蛋白質結合）或藉由標準血清鐵蛋白測定法（例如：美國克拉拜歐特（Calbiotech）之鐵蛋白血液測試ELISA套組）加以測定。舉例來說，運鐵蛋白飽和程度45%或更高通常表示血清中異常高含量之鐵。肝臟中之鐵含量上升除其他外可自肝臟生檢或造影技術諸如MRI及/或

SQUID獲得之組織測量肝臟之鐵含量加以測定。在其他組織諸如例如腦、心中之鐵含量亦可利用該些及其他造影技術預測。

鐵過度負擔之亞群係係選自輸血性鐵過度負擔、鐵中毒、肺血鐵質沉著症、骨量減少、胰島素抗性、非洲人鐵過度負擔、哈勒沃登-施帕茨病 (Hallervorden Spatz disease)、高鐵蛋白血症、血漿銅藍蛋白缺乏症、新生兒血色素沉著症及包含地中海貧血、 α 地中海貧血、中間型地中海貧血、鐮狀細胞病或骨髓發育不良徵候群之紅血球疾患。

罹患與鐵含量上升有關之其他疾患/疾病之病患亦應得益自本發明之核酸分子之治療，較佳地與鐵螯合化合物之組合。因此，本發明之藥物可被使用以治療及/或預防之疾病及/或疾患及/或疾病症狀包括但不限於鐵含量上升之疾病，該疾病包含共濟失調、弗里德利希氏共濟失調、年齡相關性黃斑退化、年齡相關性白內障、年齡相關性視網膜疾病及神經退化性疾病（其包含阿茲海默症）、巴金森氏症、泛酸鹽激酶相關性神經退化性疾病、腿不寧徵候群及亨丁頓氏病。

在其他實施態樣中，本發明之藥物包含其他醫藥活性化合物，該化合物較佳地係可自哺乳動物體及特定地人體之組織或循環中與鐵結合及移除鐵之化合物。該醫藥活性化合物較佳地係選自鐵螯合化合物。該化合物與本發明之核酸分子之組合將進一步降低生理性鐵調節激素濃度及藉

此降低細胞性鐵負擔。

鐵螯合化合物之非限制性實例係薑黃素、去鐵胺、地拉羅司 (deferasirox) 及去鐵酮 (deferiprone) 。

最後，該其他醫藥活性劑可為鐵代謝及/或鐵體內恆定之調節劑。二者擇一或額外地，該其他醫藥活性劑係另一較佳之本發明之核酸之第二物種。二者擇一地，該藥物包含至少另一個核酸，該核酸與不同於鐵調節激素之目標分子結合或具有與本發明之核酸之一者不同之功能。較佳地該至少另一個核酸具有與此處所揭示之一或多種其他醫藥活性化合物之一者類似或相同之功能。

在本發明之範圍中，包含本發明之核酸之藥物（在此處亦稱為（本）發明之藥物）原則上係可選擇地或額外地使用以預防任何使用該藥物以治療該等疾病所揭示之疾病。因此有關個別疾病之個別標記為該領域之技藝人士所知。較佳地，該個別標記係鐵調節激素。

在本發明之藥物之實施態樣中，該藥物係與此處所揭示之任何疾病之其他治療組合使用，特別地該些本發明之藥物被使用之疾病。

此處較佳地使用之「組合治療」或「共同治療」包括投予本發明之藥物及至少第二劑以作為治療療法之部分，該治療療法意圖自該等治療劑意即本發明之藥物及該第二劑之共同作用提供有利效應。組合投予該等治療劑通常在定義之時間期間進行（依所選擇之組合通常為數分鐘、數小時、數天或數週）。

「組合治療」可能但通常不意圖包含投予2種或超過2種治療劑以作為分開之單一療法之部分，該等單一療法順帶地或任意地導致本發明之組合。「組合治療」係意圖包含以連續方式投予該等治療劑，意即其中各治療劑係於不同時間投予，以及以實質上同時之方式投予該等治療劑或至少該治療劑之二者。實質上同時投予可藉由例如對個體投予具有固定比例之各治療劑之單一膠囊或每個膠囊具有個別治療劑之多個膠囊完成。

連續或實質上同時投予治療劑可藉由任何適當之途徑達成，包括但不限於局部途徑、經口途徑、靜脈內途徑、肌肉內途徑及經黏膜組織直接吸收。該等治療劑可由相同途徑或不同途徑投予。舉例來說，治療有效劑之特定組合之第一治療劑可藉由注射投予，而該組合之其他治療劑可局部投予。

或者舉例來說，所有治療劑可局部投予或所有治療劑可注射投予。治療劑之投予順序並不重要除非另外說明。當組合治療另包含非藥物治療時，該非藥物治療可在任何適當時間進行，只要該治療劑與非藥物治療之組合的有利效應能被達成。舉例來說，在適當情況中，當該非藥物治療被暫時延遲可能數天或甚至數週而該治療劑仍投予時，該有利效應可能仍被達成。

如上概括略述，本發明之藥物原則上可以該領域之技藝人士所知之任何形式投予。較佳之投予途徑係系統性投予，更佳係藉由非經腸投予，較佳經由注射投予。或者，

該藥物可局部投予。其他投予途徑包含肌肉內、腹腔內、皮下、經口、鼻內、氣管內及經肺，較佳之投予途徑係最不具侵入性同時可確保有效性之途徑。

非經腸投予通常用於皮下、肌肉內或靜脈內注射及輸注。此外，一種非經腸投予之方式採用植入緩釋或持續釋放系統，該系統確保維持穩定量之劑量且為該領域之一般技藝人士所廣為周知。

另外，本發明之較佳藥物可藉由局部使用適當之鼻內載劑吸入劑以經鼻內途徑投予，或使用該領域之一般技藝人士所廣為周知之經皮皮膚貼片型式以經皮途徑投予。為以經皮遞送系統之型式投予，該投予劑量在整個投予過程通常為連續而非間歇性。其他較佳之局部製劑包括乳膏、軟膏、乳液、氣體噴霧及膠體，其中該活性成分之濃度通常將介於0.01%至15%（重量/重量或重量/體積）。

本發明之藥物通常將包含有效治療量之活性成分，包括但不限於較佳地溶解或分散於醫藥上可接受之介質中之本發明之核酸分子。醫藥上可接受之介質或載劑包括任何及所有溶劑、分散介質、包覆劑、抗細菌劑、抗真菌劑、等張劑、吸收延遲劑及該類似物。該等介質及劑於醫藥活性物質之用途係該領域所廣為周知。補充性活性成分亦可被納入本發明之藥物中。

在另一態樣中，本發明係關於醫藥組成物。該醫藥組成物包含至少一種本發明之核酸及較佳地醫藥上可接受之載劑。該載劑可為該領域中使用及/或已知之任何載劑或

任何結合劑。更特定地，該結合劑或載劑係於製造此處所揭示之藥物所討論之任何結合劑或載劑。在其他實施態樣中，該醫藥組成物包含其他醫藥活性劑。

藥物及醫藥組成物之製備分別係該領域之技藝人士根據本揭示所得知。通常，該等組成物可被製備成液體溶液或懸浮液之注射劑；適用於注射前之溶液或懸浮液之液體中之固體型式；供經口投予之錠劑或其他固體；緩釋膠囊；或任何目前使用之其他型式，包括點眼液、乳膏、乳液、膏藥、吸入劑及該類似物。由外科醫生、醫師或醫護工作人員使用無菌調製劑諸如鹽水性洗劑以治療手術區域之特定區域亦可能特別有用。組成物亦可經由微裝置、微粒子或海綿遞送。

就此而言，將被投予之活性成分之量及組成物之體積將依被治療之個體或對象而定。投予所需之活性化合物之特定量由醫師判斷，視每個個體有所不同。

通常使用分散該活性化合物所需之最小體積之藥物。適當之投藥計畫亦可能有所差異，但是以初期投予該化合物及監測結果，接著在其他間隔時間給予其他控制劑量為代表。

舉例來說，以錠劑或膠囊之型式（例如明膠膠囊）經口投予來說，該活性藥物成分意即本發明之核酸分子及/或任何其他醫藥活性劑（在此處整體亦被稱為治療劑或活性化合物）可與口服、無毒、醫藥上可接受且較佳地惰性載劑諸如乙醇、甘油、水及該類似物組合。另外，當想要

或需要時，適當之結合劑、潤滑劑、崩解劑及著色劑亦可被納入該混合物中。適當之結合劑包括澱粉、矽酸鎂鋁、澱粉糊、明膠、甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉及/或聚乙烯氫吡咯酮、天然糖類諸如葡萄糖或 β 乳糖、玉米甜味劑、天然及合成膠諸如阿拉伯膠、黃耆膠或藻酸鈉、聚乙二醇、蠟及該類似物。使用於該等劑型中之潤滑劑包括油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、醋酸鈉、氯化鈉、矽石、滑石、硬脂酸、彼之鎂鹽或鈣鹽及/或聚乙二醇及該類似物。崩解劑包括但不限於澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、黃原膠澱粉、瓊脂、藻酸或彼之鈉鹽、或發泡性混合物及該類似物。稀釋劑包括例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纖維素及/或甘胺酸。

本發明之藥物亦可以諸如緩釋或持續釋放錠劑或膠囊、藥丸、粉末、顆粒、酏劑、酹劑、懸浮液、糖漿及乳劑之口服劑型投予。栓劑可自脂肪乳劑或懸浮液有利地製備。

本發明之醫藥組成物或藥物可經滅菌及/或包含佐劑，諸如保存劑、穩定劑、潤濕劑或乳化劑、溶液促進劑、用於調節滲透壓之鹽類及/或緩衝劑。此外，彼等亦可能包含其他治療上有價值之物質。該組成物係根據習知之混合、造粒或包覆方法製備，且通常包含約0.1%至75%，較佳約1%至50%之活性成分。

液體特定地注射型組成物可藉由舉例來說溶解、分散等方式製備。該活性化合物係以醫藥上純的溶劑溶解或混

合，諸如舉例來說水、鹽水、水性葡萄糖、甘油、乙醇及該類似物，以藉此形成注射型溶液或懸浮液。此外，可調製適用於注射前溶解於液體中之固體型式。

以固體組成物來說，賦形劑包括醫藥級之甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、滑石、纖維素、葡萄糖、蔗糖、碳酸鎂及該類似物。以上所定義之活性化合物亦可能被調製成栓劑，利用舉例來說聚烷撐二醇、丙二醇作為載劑。在一些實施態樣中，栓劑係自脂肪乳劑或懸浮液有利地製備。

本發明之藥物及核酸分子分別亦可以脂質體遞送系統之型式投予，諸如小的單層囊泡、大的單層囊泡及多層囊泡。脂質體亦可自各種磷脂質形成，其包含膽固醇、十八烷基胺或磷脂醯膽鹼。在一些實施態樣中，脂質成分之膜係以藥物之水性溶液水合以形成包封該藥物之脂質層，該技術係該領域之一般技藝人士所廣為周知。舉例來說，本發明之核酸分子可提供為利用該領域已知之方法建構之具有親脂化合物或非免疫原性、高分子量化合物之複合物。此外，脂質體之表面上可能帶有該核酸分子，以用於定位及攜帶細胞毒性劑至內部以媒介細胞殺滅。核酸相關性複合物之實例係提供於美國專利號 6,011,020。

本發明之藥物及核酸分子分別亦可與作為定位性藥物載劑之可溶性聚合物偶合。該等聚合物可包括聚乙炔基吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羥基丙基-甲基丙烯醯胺-苯酚、聚羥基乙基天冬醯胺酸苯酚或經棕櫚醯基取代之聚乙炔氧

聚離胺酸。另外，本發明之藥物及核酸分子分別可與可用於達成藥物之控制釋放之生物可降解性聚合物偶合，例如聚乳酸、聚 ϵ 己內醯胺、聚羥基丁酸、聚原酸酯、聚縮醛、聚二氫吡喃、聚氰基丙酸酯及水凝膠之交聯或嵌段雙親共聚物。

若需要的話，該分別被投予之醫藥組成物及藥物亦可能包括一些量（通常少量）之非毒性輔助物質諸如潤濕劑、乳化劑、pH緩衝劑及其他物質諸如舉例來說醋酸鈉及油酸三乙醇胺。

分別使用本發明之核酸分子及藥物之投藥計畫係根據各種因素選擇，包括該病患之類型、物種、年齡、體重、性別及醫學狀況；所欲治療之狀況的嚴重性；投予途徑；該病患之腎及肝功能；及所採用之本發明之特定核酸分子或彼之鹽。具有一般技藝之醫師或獸醫可輕易地決定及開立預防、對抗或停止該狀況進展所需之藥物的有效量。

本發明之核酸於治療此處所揭示之任何疾病之有效血漿量係較佳地介於500 fM至500 μ M。

本發明之核酸分子及藥物可分別較佳地以單一每日劑量、每二天、每三天、每周、每二周、單一每月或每三個月之劑量投予。

在本發明中，此處所描述之藥物構成此處所揭示之醫藥組成物。

在另一態樣中，本發明係關於一種治療需要該治療之個體之方法，藉此該方法包含投予醫藥有效量之至少一種

本發明之核酸。在一實施態樣中，該個體罹患疾病或具有發生該疾病之風險，其中該疾病係任一種此處所揭示之疾病，特定地任一種使用本發明之任何核酸以製造藥物所揭示之該些疾病。

應了解的是，本發明之核酸以及拮抗劑不僅可被用於作為藥物或製造藥物，但亦可用於美容目的，特別是關於涉及鐵調節激素之發炎性區域皮膚病灶。因此，本發明之核酸、藥物及/或醫藥組成物可被用於治療或預防之其他症狀或疾病係發炎性區域皮膚病灶。

如此處較佳地使用之診斷程序或診斷劑或診斷裝置係適用於直接或間接偵測鐵調節激素，較佳地如此處所述之鐵調節激素及更佳地與此處所描述之各種疾患及疾病有關之鐵調節激素。該診斷程序係適用於偵測及/或追蹤此處所分別描述之任何疾患及疾病。該偵測透過本發明之核酸與鐵調節激素之結合係可能的。該結合可被直接或間接偵測。該個別之方法及裝置係該領域之技藝人士所知。除其他外，本發明之核酸可能包含標記，該標記允許偵測本發明之核酸，較佳地與鐵調節激素結合之核酸。該標記係較佳地選自放射活性標記、酶催化性標記及螢光標記。原則上，所有為抗體發展之已知測定法可被採用及適應於本發明之核酸，其中該標靶結合抗體被取代成本發明之標靶結合核酸。在使用未經標記之標靶結合抗體之抗體測定法中，該偵測係較佳地由第二抗體進行，該第二抗體係經放射活性標記、酶催化性標記及螢光標記修飾且於該標靶結合

抗體之Fc片段與該標靶結合抗體結合。在核酸較佳地本發明之核酸之例中，該核酸係經標記之修飾，其中較佳地該標記係選自生物素、Cy-3及Cy-5，且該標記係由拮抗該標記之抗體偵測，例如抗生物素抗體、抗Cy3抗體或抗Cy5抗體，或當該標記係生物素時，該標記係由天然地與生物素結合之鏈黴抗生物素蛋白或抗生物素蛋白偵測。該抗體、鏈黴抗生物素蛋白或抗生物素蛋白接著係較佳地如第二抗體經個別標記例如放射活性標記、酶催化性標記及螢光標記之修飾以允許彼之偵測。

在其他實施態樣中，本發明之核酸分子係由第二偵測裝置偵測或分析，其中該第二偵測裝置係分子信標。分子信標之方法係該領域之技藝人士所知。

簡言之，亦稱為分子信標之核酸探針係與欲被偵測之核酸反向互補且因此與該欲被偵測之核酸之部分或全部雜交。當與該欲被偵測之核酸結合時，該分子信標之螢光基團被分離而導致螢光信號之改變，較佳地強度之改變。此變化與欲被偵測之核酸之量有關。

將被承認的是利用本發明之核酸偵測鐵調節激素將特別地允許偵測如此處定義之鐵調節激素。

關於鐵調節激素之偵測，較佳之方法包含下列步驟：

- (a) 提供將被偵測鐵調節激素存在之樣本，
 - (b) 提供本發明之核酸，
 - (c) 使該樣本與該核酸反應，較佳地於反應容器中，
- 其中步驟(a)可在步驟(b)之前進行，或步驟(b)可

在步驟（a）之前進行。

在較佳之實施態樣中提供另一步驟（d），該步驟由偵測該核酸是否與鐵調節激素反應組成。較佳地，該步驟b）之核酸係固定於表面上。該表面可為反應容器之表面諸如反應試管、反應板之孔槽，或包含於該反應容器中之機構的表面諸如舉例來說珠子。將核酸固定在表面可由該領域之技藝人士所知之任何方法進行，包括但不限於非共價或共價連接。較佳地，該連接係經由該表面與該核酸之間的共價化學鍵建立。然而，該核酸間接地固定於表面亦屬於本發明之範圍，其中該間接固定涉及使用其他成分或一對交互作用伴。該其他成分係較佳地與欲被固定之核酸專一性交互作用之化合物，其亦被稱為交互作用伴，因此媒介該核酸與表面之接觸。該交互作用伴係較佳地選自核酸、多肽、蛋白質及抗體。較佳地，該交互作用伴係抗體，更佳地單株抗體。或者，該交互作用伴係核酸，較佳地功能性核酸。更佳地該功能性核酸係選自至少與該核酸部分互補之適體、鏡像異構適體及核酸。在其他選擇性實施態樣中，核酸與表面之結合係由多分交互作用伴所媒介。該多分交互作用伴係較佳地一對交互作用伴或由第一成員及第二成員所組成之交互作用伴，其中該第一成員包含該核酸或與該核酸接觸，及該第二成員係與表面接觸或包含該表面。該多分交互作用伴係較佳地選自交互作用伴對，包含生物素及抗生物素蛋白、生物素及鏈黴抗生物素蛋白及生物素及中性抗生物素蛋白。較佳地，該交互作用伴對

之第一成員係生物素。

該用於偵測鐵調節激素之方法的較佳結果係形成鐵調節激素與核酸之固定複合物，藉此更佳地該複合物係經偵測。在一實施態樣中，包含於該複合物中或自該複合物釋放之鐵調節激素係經偵測。

適用於偵測該鐵調節激素之個別偵測裝置係對鐵調節激素具專一性之任何偵測裝置。特定較佳之偵測裝置係選自核酸、多肽、蛋白質或抗體之偵測裝置。

本發明之用於偵測鐵調節激素之方法亦包含自該反應容器移除樣本，該反應容器係較佳地用於進行步驟c)。

在另一態樣中，本發明之方法亦包含將鐵調節激素之交互作用伴固定於表面之步驟，較佳地如上述定義之表面，藉此該交互作用伴係如此處定義且較佳地如上述與個別方法有關之定義且更佳地在彼等之各種實施態樣中包含核酸、多肽、蛋白質及抗體。在此實施態樣中，特別較佳之偵測裝置係本發明之核酸，藉此該核酸可能經標記或未經標記。當該核酸係經標記時，該核酸包含偵測標記。該偵測標記可被直接或間接偵測。該偵測可能亦涉及使用第二偵測裝置，該第二偵測裝置亦較佳地選自此處所述之各種實施態樣中之核酸、多肽、蛋白質或抗體。該第二偵測裝置係較佳地對本發明之核酸具專一性，且當本發明之核酸包含偵測標記時，該第二偵測裝置係對該偵測標記具專一性。在更佳之實施態樣中，該第二偵測裝置係分子信標。該第二偵測裝置包含偵測標記亦屬於本發明之範圍或較佳

之實施態樣。不論是否包含於本發明之核酸或該第二偵測裝置中，該偵測標記係較佳地選自生物素、溴去氧尿苷標記、地谷新配質標記、螢光標記、UV標記、放射性標記或螯合劑分子。特定較佳之組合係如下述：

與本發明之核酸連接之偵測標記係生物素且該第二偵測裝置係拮抗生物素之抗體，或其中

與本發明之核酸連接之偵測標記係生物素且該第二偵測裝置係抗生物素蛋白或攜帶抗生物素蛋白之分子，或其中

與本發明之核酸連接之偵測標記係生物素且該第二偵測裝置係鏈黴抗生物素蛋白或攜帶鏈黴抗生物素蛋白之分子，或其中

與本發明之核酸連接之偵測標記係生物素且該第二偵測裝置係中性抗生物素蛋白或攜帶中性抗生物素蛋白之分子，或其中

與本發明之核酸連接之偵測標記係溴去氧尿苷且該第二偵測裝置係拮抗溴去氧尿苷之抗體，或其中

與本發明之核酸連接之偵測標記係地谷新配質且該第二偵測裝置係拮抗地谷新配質之抗體，或其中

與本發明之核酸連接之偵測標記係螯合劑且該第二偵測裝置係放射性核種，藉此該偵測標記係較佳地與本發明之核酸連接。

應承認的是該些種類之組合亦可被應用於其中本發明之核酸係與表面連接之實施態樣中。在該實施態樣中，該偵測標記係較佳地與該第二偵測裝置意即較佳地交互作用



伴連接。

最後，利用第三偵測裝置偵測該第二偵測裝置亦屬本發明之範圍，較佳地該第三偵測裝置係酶，更佳地當與第二偵測裝置反應時顯示酶催化作用之酶。二者擇一地，該第三偵測裝置係偵測放射線之裝置，更佳地由放射性核種發射之放射線，該放射性核種係與本發明之核酸或第二偵測裝置連接，較佳地第二偵測裝置。較佳地，該第三偵測裝置係專一性偵測該第二偵測裝置及/或與該第二偵測裝置交互作用。

另外，在鐵調節激素之交互作用伴係固定於表面上且本發明之核酸係較佳地添加至該交互作用伴與該鐵調節激素所形成之複合物之實施態樣中，該樣本可自該反應中移除，更佳地自進行步驟 c) 及/或 d) 之反應容器中移除。

在一實施態樣中，本發明之核酸包含螢光基團且其中該螢光基團之螢光一方面在核酸與鐵調節激素及另一方面核酸與游離鐵調節激素之間形成複合物時不同。

在另一實施態樣中，本發明之方法所使用以偵測鐵調節激素之核酸係本發明之核酸之衍生物，其中該核酸之衍生物包含至少一個被腺苷之螢光衍生物取代之腺苷。在較佳之實施態樣中，該腺苷之螢光衍生物係乙烯基腺苷。

在另一實施態樣中，由本發明之核酸之衍生物及鐵調節激素組成之複合物係利用螢光偵測。

在該方法之實施態樣中，信號係於步驟 (c) 或步驟 (d) 中產生，且較佳地該信號係與樣本中鐵調節激素之

濃度有關。

在較佳之實施態樣中，該方法可於96孔板中進行，其中成分係固定於上述之反應容器中且該孔槽作為反應容器。

該發明核酸可能進一步被用來作為藥物設計之起始物質。基本上有二個可能之方向。一個方向係篩選化合物庫，其中該化合物庫係較佳地低分子量化合物庫。在一實施態樣中，該篩選係高通量篩選。較佳地，高通量篩選係於目標型測定法中快速、有效、試錯的評估化合物。在最佳之情況中，該目標型分析之測定格式以比色測量為基礎。與此處所使用之庫係該領域之技藝人士所知。

二者擇一地，本發明之核酸可被用於藥物之合理設計。較佳地，合理之藥物設計係醫藥前導結構之設計。由通常以諸如X射線結晶學或核磁共振光譜學之方法所鑑別之目標的三維結構開始，利用電腦程式搜尋含有許多不同化學化合物之結構的資料庫。該選擇係由電腦進行，該鑑別之化合物接著可於實驗室中測試。

藥物之合理設計可能始於本發明之任何核酸且涉及與該發明核酸之結構類似或與該發明核酸之結構之部分相同之結構（較佳地三維結構），該發明核酸之結構媒介該核酸與目標意即鐵調節激素之結合。在藥物之合理設計的其他步驟或選擇性步驟中，該等與鐵調節激素結合之核酸之部分的較佳三維結構係由與核苷酸及核酸不同之化學基團模擬。藉由此模仿，與本發明之核酸不同之化合物可被設

計。該化合物係較佳地小分子或肽。

在利用諸如該領域之技藝人士所知之競爭測定法篩選化合物庫時，可能發現適當之鐵調節激素類似物、鐵調節激素協同劑或鐵調節激素拮抗劑。該競爭測定法可如下列設計。該發明核酸較佳地鏡像異構適體（其係目標結合L型核酸）係與固相偶合。為鑑別鐵調節激素類似物，經標記之鐵調節激素可被加至該測定。潛在之類似物將與結合鏡像異構適體之鐵調節激素分子競爭，此將導致由個別標記所獲得之信號降低。篩選協同劑或拮抗劑可能涉及使用該領域之技藝人士所知之細胞培養測定法。

本發明之套組可能包含至少一或數種該發明核酸。此外，該套組可能包含至少一或數種陽性或陰性對照。陽性對照舉例來說可能為鐵調節激素，特別地與該發明核酸結合者，較佳地該陽性對照係以液體或凍乾形式存在。陰性對照組可能為例如就生物物理性質之定義而言與鐵調節激素類似但是不被該發明核酸識別之肽。另外，該套組可能額外包含一或數種緩衝劑。該多種成分可能以乾燥或凍乾形式包含在套組中或可能溶解或分散於液體中。該套組可能也另外包含一或數種容器，該容器可能包含一或數種該套組之成分。在另一實施態樣中，該套組額外包含指示或提供使用者如何使用該套組及彼等之各種成分之資訊的說明書。

測定本發明之核酸於人或非人體之數種液體、組織及器官中之量係評估本發明之核酸之藥物動力學及藥理藥效

學特性所必須。就該目的而言，任何此處所揭示或該領域之技藝人士所知之使用本發明之核酸之偵測方法可被使用。本發明之另一態樣提供用於偵測本發明之核酸之三明治雜交測定法。在該三明治雜交測定法中，使用捕捉探針及偵測探針。該捕捉探針係實質上與本發明之核酸之第一部分互補，該偵測探針係實質上與本發明之核酸之第二部分互補。捕捉及偵測探針二者可由DNA核苷酸、經修飾之DNA核苷酸、經修飾之RNA核苷酸、RNA核苷酸、LNA核苷酸及/或PNA核苷酸形成。

因此，該捕捉探針包含與本發明之核酸之5'端實質上互補之核苷酸片段，且該偵測探針包含與本發明之核酸之3'端實質上互補之核苷酸片段。在此情況中，該捕捉探針係透過彼之5'端固定於表面或基質，其中該捕捉探針可直接以彼之5'端固定或經由在彼之5'端及該表面或基質之間的連接子固定。然而，原則上該連接子可與該捕捉探針之各個核苷酸連接。該連接子可如該領域之技藝人士所知由親水性連接子或由D-DNA核苷酸、經修飾之D-DNA核苷酸、D-RNA核苷酸、經修飾之D-RNA核苷酸、D-LNA核苷酸、PNA核苷酸、L-RNA核苷酸、L-DNA核苷酸、經修飾之L-RNA核苷酸、經修飾之L-DNA核苷酸、及/或L-LNA核苷酸形成。

二者擇一地，該捕捉探針可能包含與本發明之核酸之3'端實質上互補之核苷酸片段，且該偵測探針包含與本發明之核酸之5'端實質上互補之核苷酸片段。在此情況中，

該捕捉探針係透過彼之3'端固定於表面或基質，其中該捕捉探針可直接以彼之3'端固定或經由在彼之3'端及該表面或基質之間的連接子固定。然而，原則上該連接子可與該實質上與本發明之核酸互補之核苷酸片段之各個核苷酸連接。該連接子可如該領域之技藝人士所知由親水性連接子或由D-DNA核苷酸、經修飾之D-DNA核苷酸、D-RNA核苷酸、經修飾之D-RNA核苷酸、D-LNA核苷酸、PNA核苷酸、L-RNA核苷酸、L-DNA核苷酸、經修飾之L-RNA核苷酸、經修飾之L-DNA核苷酸、及/或L-LNA核苷酸形成。

可與本發明之核酸雜交之捕捉及偵測探針之核苷酸數量分別不同，且可依該捕捉探針及/或該偵測探針及/或本發明之核酸本身之核苷酸數量而定。可與本發明之核酸雜交之捕捉探針及偵測探針之最高核苷酸總數應為本發明之核酸所包含之核苷酸數量。偵測探針及捕捉探針之最小核苷酸數量各自獨立地通常為2至10個核苷酸，應允許分別與本發明之核酸之5'端或3'端雜交。

另外，該偵測探針較佳地攜帶可如此處前述被偵測之標示分子或標記。該標記或標示分子原則上可與該偵測探針之各個核苷酸或該偵測探針之各個基團連接。較佳地，該標記或標誌係位於該偵測探針之5'端或3'端，其中在與本發明之核酸互補之偵測探針內之核苷酸與該標記之間可插入連接子。該連接子可如該領域之技藝人士所知由親水性連接子或由D-DNA核苷酸、經修飾之D-DNA核苷酸、D-RNA核苷酸、經修飾之D-RNA核苷酸、D-LNA核苷酸、

PNA核苷酸、L-RNA核苷酸、L-DNA核苷酸、經修飾之L-RNA核苷酸、經修飾之L-DNA核苷酸、及/或L-LNA核苷酸形成。

在用於偵測鐵調節激素之方法的實施態樣中，本發明之核酸之偵測可如下進行：

本發明之核酸係以彼之一端與捕捉探針雜交及另一端與偵測探針雜交。之後，未結合之偵測探針意即未與本發明之核酸結合之偵測探針係藉由例如一或數個沖洗步驟加以移除。較佳地攜帶標記或標示分子之結合偵測探針之量接著可舉例來說如WO/2008/052774更詳細說明之方式測量，WO/2008/052774以參照方式納入此處。

如此處較佳地使用，用語治療在較佳之實施態樣中包含額外地或可選擇地預防及/或追蹤。

如此處較佳地使用，用語疾病及疾患應以可交換之方式使用，除非相反地說明。

此處使用之用語包含（comprise）係較佳地不意圖限制在該用語之後或由該用語所描述之主題。然而，在選擇性實施態樣中，該用語包含應被理解為組成（containing）之意，因此限制在該用語之後或由該用語所描述之主題。

下表摘列不同SEQ ID NO、本發明之核酸分子及如此處所使用之該目標分子鐵調節激素之化學性質、彼之實際序列及該內部參考號碼。

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 內部參考 |
|---------|-------|---|--------------------|
| 1 | L-肽 | DTHFPICFCGCGCHRSKCGMCCKT | 人鐵調節激素，人鐵調節激素-25 |
| 2 | L-肽 | DTHFPICFCGCGCHRSKCGMCCKT | 恆河獼猴(恆河猴)之鐵調節激素-25 |
| 3 | L-肽 | DTHFPICFCGCGCHRSKCGMCCKT | 長尾獼猴(石蟹猴)之鐵調節激素-25 |
| 4 | L-肽 | DTHFPICFCGCGCCRKAICGMCCCKT | 野豬(豬)之鐵調節激素-25 |
| 5 | L-肽 | DTNFPICFCCKCCNNSQCIGCCKT | 家鼯鼠(小鼠)之鐵調節激素-25 |
| 6 | L-肽 | DTNFPICLFCCKCCKNSSCGLCCIT | 褐鼠(大鼠)之鐵調節激素-25 |
| 7 | D-肽 | DTHFPICFCGCGCHRSKCGMCCKT-Biotin | 生物素化人D-鐵調節激素-25 |
| 8 | L-肽 | ICIFCCGCGCHRSKCGMCCKT | 人鐵調節激素-20 |
| 9 | L-肽 | FPICFCGCGCHRSKCGMCCKT | 人鐵調節激素-22 |
| 10 | D-RNA | GCACUCGUA AAGUA GAGGGACCCAGUCC GGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-C5-001 |
| 11 | D-RNA | GCACUUGUA AAGUA GAGGGACCCAGUCC GGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-B5-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 12 | D-RNA | GCAUUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-A5-001 |
| 13 | D-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCUAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGGGUGC | 223-A3-001 |
| 14 | D-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCUAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-F5-001 |
| 15 | D-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACUCAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-G4-001 |
| 16 | D-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGUAACAGUCCGGCGUGAUA GUGACGAGUGC | 223-A4-001 |
| 17 | D-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUU AGUCCACACG | 229-C2-001 |
| 18 | D-RNA | CGCGUGUAAAGUAGAGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUU AGUCCACACG | 229-B4-001 |
| 19 | D-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGCAGGCAUUCUGCGGAGUGUU AGUCCACACG | 229-E2-001 |
| 20 | D-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGCACAAUUGUGCGGCGUGAUAU GCCACACG | 229-B1-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 21 | D-RNA | GCUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGU GCCACAGC | 229-B1-002 |
| 22 | D-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUAGUCGGCGUGAGAGU GCCACACG | 229-G1-001 |
| 23 | D-RNA | CGUGAAAGUAGAACUUGUCGAAAGCAAGUAGCGUG AUAGUGCCACG | 229-C4-001 |
| 24 | D-RNA | CGUGCUGGCGUGAUAGUCUCCAGGUUCUGGAUAAAG UAGAGAGCACG | 229-D1-001 |
| 25 | D-RNA | CGUGCAGGAGUGAUAAAGUUUCUGACUUUCUCC AGACUCCACG | 229-E1-001 |
| 26 | D-RNA | CACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGAGUG | 223-C5-002 |
| 27 | D-RNA | CGCGGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGCGCG | 223-C5-006 |
| 28 | D-RNA | GGCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGCGC | 223-C5-007 |
| 29 | L-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAG UGCCGAGUGC | 223-C5-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 30 | L-RNA | GCACUUGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-B5-001 |
| 31 | L-RNA | GCAUUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-A5-001 |
| 32 | L-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCUAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGGGUGC | 223-A3-001 |
| 33 | L-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCUAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-F5-001 |
| 34 | L-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACUCAGUCCGGCGUGAUA GUGCCGAGUGC | 223-G4-001 |
| 35 | L-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGGAUACAGUCCGGCGUGAUA GUGACGAGUGC | 223-A4-001 |
| 36 | L-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUU AGUCCACACG | 229-C2-001 |
| 37 | L-RNA | CGCGUGUAAAGUAGAGGCAGGUAUUCUGCGGAGUGUU AGUCCACACG | 229-B4-001 |
| 38 | L-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGCAGGCAUUCUGCGGAGUGUU AGUCCACACG | 229-E2-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 39 | L-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGU GCCACACG | 229-B1-001 |
| 40 | L-RNA | GCUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGU GCCACACG | 229-B1-002 |
| 41 | L-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUAGUCGGCGUGAGAGU GCCACACG | 229-G1-001 |
| 42 | L-RNA | CGUGAAAAGUAGAAAACUUGUCGAAAGCAAGUAGCGUG AUAGUGCCACG | 229-C4-001 |
| 43 | L-RNA | CGUGCUGGCGUGAUAGUGCUCACAGGUUCUGGAUAAAAG UAGAGAGCACG | 229-D1-001 |
| 44 | L-RNA | CGUGCGAAGGAGUGUAAGUGUUUCUGACUUUCUCC AGACUCCCACG | 229-E1-001 |
| 45 | L-RNA | CACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGAGUG | 223-C5-002 |
| 46 | L-RNA | CGCGGUAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGGCGG | 223-C5-006 |
| 47 | L-RNA | GCGGUAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGGCGG | 223-C5-007 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|-------------------|
| 48 | L-RNA | 5'-40-kDa-PEG- GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGU GCCGAGUGC | 223-C5-001-5'-PEG |
| 49 | D-RNA | AGCGUAAAAGUAGAGGGGCGUGAGCCCGCGUGUAGUGC CGCCU | 238-A1-001 |
| 50 | D-RNA | AGCGUAAAAGUAGAGGGACGUAGUCCCGCGUGAUAGUGC CGCCU | 238-E2-001 |
| 51 | D-RNA | CGUGUGUAAAAGUAGAGGGCAGAUAAUCUGCGGAGUGUUA GUUCCACAG | 237-A7-001 |
| 52 | D-RNA | CGUGAAAAGUAGAAACUUGUCGAAAGCAAGCAGCGUGAU AGUGCCACG | 236-G2-001 |
| 53 | D-RNA | CGUGAAAAGUUUGAAAUUUGUUGGAAUCAAGCAGGGUA UAGUGCCACG | 236-D1-001 |
| 54 | D-RNA | AGCGUUCGUUUGGUAUAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGUGCGCU | 238-D2-001 |
| 55 | D-RNA | AGCGUUCGUUUGGUAUAGUAAAUGAGGAGUUGGAG GAAGGGCAUGC | 238-D4-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 56 | D-RNA | AGUGUGCUAUGGGUAAGUAAGUAAAUGAGGGUUGGAGG AAGGAUGCGCU | 238-H1-001 |
| 57 | D-RNA | AGUGUCUAUUGGGUAAGUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAAGGCAUGCU | 238-A2-001 |
| 58 | D-RNA | AGCGUGCCGGAUGGGUAAGUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGUGCGCU | 238-G2-001 |
| 59 | D-RNA | AGCGUGCCGUAUGGGUAAGUAAGUAAAUGAGGAGUAGGAGG AAGGUACGCU | 238-G4-001 |
| 60 | D-RNA | AGCGCGCCGUAUGGGGAGAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCGCGCU | 238-G3-001 |
| 61 | D-RNA | AGGUCGGACAGCCGGGACACCAUAUACAGACUACGA UACGGGCCU | 238-C4-001 |
| 62 | D-RNA | AGGUCGGACGGCCGGGACACCAUAUACAGACUACUA UACGGGCCU | 238-E3-001 |
| 63 | D-RNA | AGGCCGGACAGCCGGGACACCAUAUACAGACUACUA UACGGGCCU | 238-F2-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 64 | D-RNA | AGGCUUGGCGGCCGGGACACCAUAUACAGACUACU AUACGAGCCU | 238-A4-001 |
| 65 | D-RNA | AGACUUGGCGAGCCGGGACACCAUAUACAGACUACG AUACGAGUCU | 238-E1-001 |
| 66 | D-RNA | CGGGGCCAUAGACCCGUUAUUAAAGCACUGUAACUACCG AACCGGCCCG | 237-A5-001 |
| 67 | D-RNA | CGGGGCCAUAGACCCGUUAACUACAUACUACCGAACC GUGCCCG | 237-C5-001 |
| 68 | D-RNA | CGGGCCUACCGAACCCACUAAACCAGUGCAUAGACC GCGCCCG | 236-F2-001 |
| 69 | D-RNA | CGGGCCUACCGAACCGUCACGAAGACCAUAGACCCGG CCG | 236-G4-001 |
| 70 | D-RNA | CGAGCGCAACCGAACCCUACCCAGACAUAGACCCGGC CCG | 236-E3-001 |
| 71 | D-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCAGUCCGGCGGUGAUAG UGCCGAGUGC | 223-C5-008 |



| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 72 | D-RNA | GUGUGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUG CCACAC | 229-B1-003 |
| 73 | D-RNA | GCGUGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUG CCACGC | 229-B1-004 |
| 74 | D-RNA | GCGCGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUG CCGCGC | 229-B1-005 |
| 75 | D-RNA | CGUGUGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGU GCCACAC | 229-B1-006 |
| 76 | D-RNA | GCCGUGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGU GCCACGGC | 229-B1-007 |
| 77 | D-RNA | GCGGUGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGU GCCACCGC | 229-B1-008 |
| 78 | D-RNA | GCUGCGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGU GCCGCAGC | 229-B1-009 |
| 79 | D-RNA | GCUGGGUAAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGU GCCCCAGC | 229-B1-010 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 80 | D-RNA | GCGCGUAAAGUAGAGGACA AUUGCGCGGUAUGU GCCGCCGC | 229-B1-011 |
| 81 | D-RNA | GCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGCGCGC | 238-D4-002 |
| 82 | D-RNA | GCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AGCGCGC | 238-D4-003 |
| 83 | D-RNA | GCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AGCGCGC | 238-D4-004 |
| 84 | D-RNA | GCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG GCCGCC | 238-D4-005 |
| 85 | D-RNA | GGUGUCUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCAUC | 238-D4-006 |
| 86 | D-RNA | GGUGUCUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AGGGCAUC | 238-D4-007 |
| 87 | D-RNA | GCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AGGGCGC | 238-D4-008 |
| 88 | D-RNA | GCGCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG GGCGC | 238-D4-009 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 89 | D-RNA | GGCGCCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCGCC | 238-D4-010 |
| 90 | D-RNA | GGCGCCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AGGGCGCC | 238-D4-011 |
| 91 | D-RNA | GGGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCGCC | 238-D4-012 |
| 92 | D-RNA | GGGUCGUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AGGGCGCC | 238-D4-013 |
| 93 | D-RNA | GGCUCGGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGA UACGGGCC | 238-C4-002 |
| 94 | D-RNA | GCUCGGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU ACGGGC | 238-C4-003 |
| 95 | D-RNA | CUCGGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA CGGG | 238-C4-004 |
| 96 | D-RNA | GCCCGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU ACGGGC | 238-C4-005 |
| 97 | D-RNA | GGCCGGACAGCCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU ACGGGC | 238-C4-006 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 98 | D-RNA | GCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU AUCCGU | 238-C4-007 |
| 99 | D-RNA | AGGUCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU AGGCCU | 238-C4-008 |
| 100 | D-RNA | GGCCUGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU AAGGCU | 238-C4-009 |
| 101 | D-RNA | GCGCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU ACGCGC | 238-C4-010 |
| 102 | D-RNA | GCCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU CGGC | 238-C4-011 |
| 103 | D-RNA | GCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU CGCC | 238-C4-012 |
| 104 | D-RNA | GGCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU GGCC | 238-C4-013 |
| 105 | D-RNA | GCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU GGCC | 238-C4-014 |
| 106 | D-RNA | GGCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU ACGGCC | 238-C4-024 |
| 107 | D-RNA | GGCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAU ACGGCC | 238-C4-025 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 108 | D-RNA | GGCCGGACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGC C | 238-C4-062 |
| 109 | L-RNA | 5' UCCAGGUUCUGGA | |
| 110 | L-RNA | AGCGUAAAGUAGAGGGGCGUGAGCCCGGCGUGUUAUGGCCGCCU | 238-A1-001 |
| 111 | L-RNA | AGCGUAAAGUAGAGGGGCGUAGUCCGGCGUGUAUGGCCGCCU | 238-E2-001 |
| 112 | L-RNA | CGUGUAAAAGUAGAGGCAGUAUUCUGCGGAGUGUUAGUCCCA CACG | 237-A7-001 |
| 113 | L-RNA | CGUGAAAAGUAGAAACUUGUCGAAAGCAAGCAGCGUGUAUGGC CACG | 236-G2-001 |
| 114 | L-RNA | CGUGAAAAGUUGAAUUUUGUUGGAAUCAAGCAGGGAUUAUGUC CACG | 236-D1-001 |
| 115 | L-RNA | AGCGUUCGU AUGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGGU GCGCU | 238-D2-001 |
| 116 | L-RNA | AGCGUUCGU AUGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAGG CAUGCU | 238-D4-001 |
| 117 | L-RNA | AGUGUUCGU AUGGGAUAAAGUAAAUGAGGGGUUGGAGGAAGGA UGCGCU | 238-H1-001 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|---|------------|
| 118 | L-RNA | AGUGUGUCAUUGGGAUAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAAGGCAUGCU | 238-A2-001 |
| 119 | L-RNA | AGCGUGCCGGAUGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGGUGCCGCU | 238-G2-001 |
| 120 | L-RNA | AGCGUGCCGUAUGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUAGGAGGA AGGGUACGCU | 238-G4-001 |
| 121 | L-RNA | AGCGCGCCGUAUGGGAUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGGCGCCGCU | 238-G3-001 |
| 122 | L-RNA | AGGCUCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACCGA UACGGGCCU | 238-C4-001 |
| 123 | L-RNA | AGGCUCCGACGGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACUA UACGGGCCU | 238-E3-001 |
| 124 | L-RNA | AGGCCCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACUA UACGGGCCU | 238-F2-001 |
| 125 | L-RNA | AGGCUUGGGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACUA UACGGGCCU | 238-A4-001 |

| Seq-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|--------|-------|--|------------|
| 126 | L-RNA | AGACUUGGCAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACG AUACGAGUCU | 238-E1-001 |
| 127 | L-RNA | CGGGCCCAUAGACCGUUAUUAAGCACUCUGUAACUACCG AACCGCGCCCG | 237-A5-001 |
| 128 | L-RNA | CGGGCCCAUAGACCGUUAACUACAUAACUACCGAACC GUGCCCG | 237-C5-001 |
| 129 | L-RNA | CGGGCCUACCGAACCCACUAAAACCAGUGCAUAGACC GCGCCCG | 236-F2-001 |
| 130 | L-RNA | CGGGCCUACCGAACCGUCACGAGACCAUAGACCGCG CCG | 236-G4-001 |
| 131 | L-RNA | CGAGCGCAACCGAACCCUACCCAGACAUAAGACCGCGC CCG | 236-E3-001 |
| 132 | L-RNA | GCACUCGUAAAGUAGAGGGACCAGUCCGGCGGUGAUAG UGCCGAGUGC | 223-C5-008 |
| 133 | L-RNA | GUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUG CCACAC | 229-B1-003 |
| 134 | L-RNA | GCGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUG CCACGC | 229-B1-004 |
| 135 | L-RNA | GCGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGGUGAUAGUG CCGCGC | 229-B1-005 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 136 | L-RNA | CGUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGCGGCGUGAUAGU GCCACAC | 229-B1-006 |
| 137 | L-RNA | GCCGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGCGGCGUGAUAGU GCCACGGC | 229-B1-007 |
| 138 | L-RNA | GCGGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGCGGCGUGAUAGU GCCACCGC | 229-B1-008 |
| 139 | L-RNA | GCUGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGCGGCGUGAUAGU GCCGCAGC | 229-B1-009 |
| 140 | L-RNA | GCUGGGUAAAGUAGAGGACAAUUGCGGCGUGAUAGU GCCCCAGC | 229-B1-010 |
| 141 | L-RNA | GCGGCGUAAAGUAGAGGACAAUUGCGGCGUGAUAGU GCCGCCGC | 229-B1-011 |
| 142 | L-RNA | GCGGCGUAUGGGAUUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGCGCGC | 238-D4-002 |
| 143 | L-RNA | GCGGCGUAUGGGAUUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGCGCGC | 238-D4-003 |
| 144 | L-RNA | GCGGCGUAUGGGAUUAAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGCGCC | 238-D4-004 |

| Seq-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|--------|-------|--|------------|
| 145 | L-RNA | GGCGCGUAUGGGAAUAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAA GGCGCC | 238-D4-005 |
| 146 | L-RNA | GGUGUCGU AUGGGAUU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCAUC | 238-D4-006 |
| 147 | L-RNA | GGUGUCGU AUGGGAU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGGCAUC | 238-D4-007 |
| 148 | L-RNA | GCGCCGU AUGGGAUU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGGCGC | 238-D4-008 |
| 149 | L-RNA | GCGCCGU AUGGGAU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAA GGCGCC | 238-D4-009 |
| 150 | L-RNA | GGCGCCGU AUGGGAUU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCGCC | 238-D4-010 |
| 151 | L-RNA | GGCGCCGU AUGGGAU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGGCGCC | 238-D4-011 |
| 152 | L-RNA | GGCGUCGU AUGGGAUU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGGCGCC | 238-D4-012 |
| 153 | L-RNA | GGCGUCGU AUGGGAU AAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGA AGGGCGCC | 238-D4-013 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|------------|
| 154 | L-RNA | GGCUCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACG GGCC | 238-C4-002 |
| 155 | L-RNA | GUCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGG GC | 238-C4-003 |
| 156 | L-RNA | CUCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGG | 238-C4-004 |
| 157 | L-RNA | 5' GACAAUAGUC | |
| 158 | L-RNA | GCCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGG GC | 238-C4-005 |
| 159 | L-RNA | GGCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGG CC | 238-C4-006 |
| 160 | L-RNA | GCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACUCC GU | 238-C4-007 |
| 161 | L-RNA | AGCUGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGC CU | 238-C4-008 |
| 162 | L-RNA | GGCCUGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGG CU | 238-C4-009 |
| 163 | L-RNA | GCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGC GC | 238-C4-010 |
| 164 | L-RNA | GCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGGC | 238-C4-011 |

| Seq-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|--------|-------|--|---------------------|
| 165 | L-RNA | GGCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACGC C | 238-C4-012 |
| 166 | L-RNA | GGCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUAGGC C | 238-C4-013 |
| 167 | L-RNA | GGCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUAGCG C | 238-C4-014 |
| 168 | L-RNA | GGCCGGACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUACG GCC | 238-C4-024 |
| 169 | L-RNA | GGCCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUACG GCC | 238-C4-025 |
| 170 | L-RNA | GGCCGGACAGCCGGGAGGACACCAUAUACAGACUACGAUAC GGCC | 238-C4-062 |
| 171 | L-RNA | 5'-NH ₂ - GCUGUGUAAAGUAGAGGACAUAUUGCGGGUGAUAG UGCCACAGC | 229-B1-002-5'-Amino |
| 172 | L-RNA | 5'-NH ₂ - GCACUCGUAAAGUAGAGGACCCAGUCCGGCGUGAUAGUC CGAGUGC | 223-C5-001-5'-Amino |

| Seq-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|--------|-------|--|--------------------------------|
| 173 | L-RNA | 5'-PEG- GCUGUGUAAAGUAGAGGACAAUUGUCGGCGUGAUAGUGCC ACAGC | 229-B1-002-5'-PEG |
| 174 | L-RNA | 5'-PEG- GGCCGGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGA UACGGCC | 238-C4-006-5'_PEG |
| 175 | L-RNA | 5'-PEG- GCGCGGUAUGGGAUUAAGUAAUAGAGGAGUUGGAGGAAG GCGCGC | 238-D4-002-5'-PEG |
| 176 | L-RNA | 5'-PEG- GCGCCGU AUGGAUUAAGUAAUAGAGGAGUUGGAGGAAG GCGC | 238-D4-008-5'-PEG, NOX- H94 |
| 177 | L-RNA | 5'-CCAUACGGCGC-C18-C18-NH ₂ - | 5'CP-11_NOX-H94 |
| 178 | L-RNA | 5'-Biotin-C18-C18-GCGCCCUUCCUCC | 3'DP-13_NOX-H94 |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|--|---------------------|
| 179 | L-RNA | 5'-NH ₂ - GCGCGGU AUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGGAAG GCGCGC | 238-D4-002-5'-Amino |
| 180 | L-RNA | 5'-NH ₂ - GCGCCGU AUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGG AAGGCGC | 238-D4-008-5'-Amino |
| 181 | L-RNA | 5'-NH ₂ - GGCCGACAGCCGGGGACACCAUAUACAGACUACGA UACGGCC | 238-C4-006-5'-Amino |
| 182 | L-RNA | 5' RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGGRGUWGGGAAR | |
| 183 | L-RNA | 5' RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGGRGUWGGGAAR | |
| 184 | L-RNA | 5' GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGGAAG | |
| 185 | L-RNA | 5' GRCRCGGVGGACACCAUAUACAGACUACKAUA | |
| 186 | L-RNA | 5' GRCRCGGGARGGACACCAUAUACAGACUACKAUA | |
| 187 | L-RNA | 5' GACAGCCGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA | |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|------------------|------|
| 188 | L-RNA | 5' WAAAGUWGAR | |
| 189 | L-RNA | 5' RGMGUGWKAGUKC | |
| 190 | L-RNA | 5' GGGCUGAGCCC | |
| 191 | L-RNA | 5' GCAGAUAAUCUGC | |
| 192 | L-RNA | 5' GGACCAGUCC | |
| 193 | L-RNA | 5' GGACCCAGUCC | |
| 194 | L-RNA | 5' GGACCUAGUCC | |
| 195 | L-RNA | 5' GGACUCAGUCC | |
| 196 | L-RNA | 5' GCAGGUAAUCUGC | |
| 197 | L-RNA | 5' GCAGGCAAUCUGC | |
| 198 | L-RNA | 5' GACAAUUGUC | |
| 199 | L-RNA | 5' UAAAGUAGAG | |
| 200 | L-RNA | 5' AAAAGUAGAA | |
| 201 | L-RNA | 5' AAAAGUUGAA | |
| 202 | L-RNA | 5' GGGAUUAGUGC | |
| 203 | L-RNA | 5' GCGGUAUAGUGC | |

| Seq.-ID | RNA/肽 | 序列 | 内部参考 |
|---------|-------|-----------------------|------|
| 204 | L-RNA | 5' GGAGUGUUAGUUC | |
| 205 | L-RNA | 5' GGCUGAGAGUGC | |
| 206 | L-RNA | 5' AGCGUGAUAGUGC | |
| 207 | L-RNA | 5' GCGUGUUAGUGC | |
| 208 | L-RNA | 5' GGACBYAGUCC | |
| 209 | L-RNA | 5' GGAUACAGUCC | |
| 210 | L-RNA | 5' GCAGGYAAUCUGC | |
| 211 | L-RNA | 5' GACAAUWGUC | |
| 212 | L-RNA | 5' ACUUGUCGAAAGCAAGYU | |

【實施方式】

實施例 1：與人鐵調節激素結合之核酸

利用生物素基化人 D-鐵調節激素 -25 作為目標，可製備數種與人鐵調節激素（特定地人鐵調節激素 -25、人鐵調節激素 -22 及人鐵調節激素 -20）結合之核酸：該等核酸之核苷酸序列係顯示於圖 1 至 9。該等核酸之適體意即 D-核酸型式之特徵化利用生物素基化 D-鐵調節激素 -25 於直接拉下測定法（實施例 3）、競爭性拉下測定法（實施例 3）及 / 或表面電漿共振測定法（實施例 4）進行，或鏡像異構適體型式意即 L-核酸之特徵化係利用天然構型人鐵調節激素 -25（人 L-鐵調節激素 -25）於競爭性拉下測定法（實施例 3）、表面電漿共振測定法（實施例 4）、活體外測定法（實施例 5）及 / 或活體內測定法（實施例 6 及 7）進行。該鏡像異構適體及適體係如實施例 2 所述加以合成。

因此產製之核酸分子具有不同之序列模體，其中 3 個主要類型被鑑別及定義為 A 型、B 型及 C 型鐵調節激素結合核酸且於圖 1 至 8 中說明。

為了定義核苷酸序列模體，使用 IUPAC 縮寫代表不明之核苷酸：

S 強 G 或 C；

W 弱 A 或 U；

R 嘌呤 G 或 A；

Y 嘧啶 C 或 U；

K 酮基 G 或 U；

M 亞胺基 A 或 C ；

B 非 A C 或 U 或 G ；

D 非 C A 或 G 或 U ；

H 非 G A 或 C 或 U ；

V 非 U A 或 C 或 G ；

N 所有 A 或 G 或 C 或 U

若非另外註明，任何核酸序列或片段及框之序列分別係以 5'→3' 方向表示。

1.1 A 型鐵調節激素結合核酸

如圖 1、圖 2、圖 3 及圖 4 所示，A 型鐵調節激素結合核酸包含一個中間核苷酸片段，其中該中間核苷酸片段包含至少 2 個定義潛在鐵調節激素結合模體之核苷酸片段（在此處亦稱為核苷酸框）：第一核苷酸片段 A 框及第二核苷酸片段 B 框。

該第一核苷酸片段 A 框及第二核苷酸片段 B 框係以核苷酸連接片段互相連接。

在核苷酸連接片段中，一些核苷酸可互相雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。然而，該雜交不一定在該分子中產生。

一般來說，A 型鐵調節激素結合核酸在彼等之 5' 端及 3' 端包含末端核苷酸片段：第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段。該第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段可互相雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。然而，該

雜交不一定在該分子中產生。

A型鐵調節激素結合核酸之5個核苷酸片段為A框、B框、核苷酸連接片段、第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段，彼等可互相不同地排列：第一末端核苷酸片段-A框-核苷酸連接片段-B框-第二末端核苷酸片段或第一末端核苷酸片段-B框-核苷酸連接片段-A框-第二末端核苷酸片段。

然而，該A型鐵調節激素結合核酸之5個核苷酸片段A框、B框、核苷酸連接片段、第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段亦可如下互相不同地排列：第二末端核苷酸片段-A框-核苷酸連接片段-B框-第一末端核苷酸片段或第二末端核苷酸片段-B框-核苷酸連接片段-A框-第一末端核苷酸片段。

該定義之核苷酸框或片段之序列在A型鐵調節激素結合核酸之間可能不同，這會影響與人鐵調節激素特定地人鐵調節激素-25之結合親和性。根據不同的A型鐵調節激素結合核酸之結合分析，如下所述之該A及B框及彼等之核苷酸序列個別地且更佳地彼等整體為與人鐵調節激素特定地人鐵調節激素-25結合所需。

本發明之A型鐵調節激素結合核酸係於圖1至4顯示。彼等所有均以適體及/或鏡像異構適體之型式測試彼等分別與人鐵調節激素-25更精確地生物素基化人D-鐵調節激素-25及生物素基化人L-鐵調節激素-24結合之能力。第一個具有人鐵調節激素-25結合親和性之特徵的A型鐵調節激

素結合核酸係鐵調節激素結合核酸 223-C5-001。與人鐵調節激素 -25 之平衡結合常數 K_D 係由表面電漿共振測定法測量（以適體序列測定之 $K_D=1.2$ nM，圖 13；以鏡像異構適體測定之 $K_D=2.7$ nM，圖 11）。除了人鐵調節激素 -25 之外，鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 以幾乎相同之結合親和性與人鐵調節激素 -20 結合（圖 11）。

A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 之衍生物 223-C5-002、223-C5-007 及 223-C5-008 於競爭性拉下測定法中相較於 A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 顯示較低之結合親和性（圖 3）。事實上，鐵調節激素結合核酸 223-C5-006 在相同之測定格式中顯示類似 223-C5-001 之人鐵調節激素 -25 結合（圖 3）。

A 型鐵調節激素結合核酸 223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、223-A4-001、229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、229-B1-001、229-G1-001、229-C4-001、238-A1-001、238-E2-001、237-A7-001、236-G2-001、236-D1-001、229-D1-001 及 229-E1-001 係以適體型式於競爭性拉下測定法中相對於 A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 測試，其中該經放射活性標記之適體 223-C5-001 之結合親和性首先利用直接拉下測定法測定。無法觀察到核酸 229-E1-001 與 A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 結合之競爭（圖 2 及 15）。此觀察導致假設核酸 229-E1-001 與人鐵調節激素 -25 不具結合親和性或極低。A 型鐵調節激素結合核酸 223-B5-001、223-A5-

001、223-A3-001、223-A4-001、229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、229-C4-001、238-A1-001、238-E2-001、237-A7-001、236-G2-001及236-D1-001於競爭性拉下測定中相較於A型鐵調節激素結合核酸223-C5-001顯示降低之結合親和性（圖1、14及15）。A型鐵調節激素結合核酸223-F5-001、223-G4-001、229-G1-001及229-D1-001顯示與223-C5-001類似之結合親和性（圖1、2、14及15）。可觀察到A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001具有更佳之生物素基化人D-鐵調節激素-25結合親和性（圖1及15）。因此A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001被進一步特徵化。A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量（以適體序列測定之 $K_D=0.5$ nM，圖16；以鏡像異構適體測定之 $K_D=1.25$ nM，資料未顯示）。

A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001之衍生物229-B1-003、229-B1-004、229-B1-005及229-B5-006於競爭性拉下測定法中相較於A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001顯示較低之結合親和性（圖4）。事實上，A型鐵調節激素結合核酸229-B1-002、229-B1-007、229-B1-008、229-B1-009、229-B1-010及229-B1-011在相同之測定格式中顯示類似229-B1-001之人鐵調節激素-25結合（圖4）。

A型鐵調節激素結合核酸229-B1-002被進一步特徵化。A型鐵調節激素結合核酸229-B1-002之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量（以鏡像異構適體測定之

$K_D=1.47$ nM, 圖 10及 11)。

另外, A型鐵調節激素結合核酸 229-B1-002之結合專一性/選擇性係經下列鐵調節激素分子測試: 人鐵調節激素-25、石蟹猴鐵調節激素-25、小鼠鐵調節激素-25、大鼠鐵調節激素-25、人鐵調節激素-22及人鐵調節激素-20(圖 10及 11)。A型鐵調節激素結合核酸 229-B1-002與人鐵調節激素-25、石蟹猴鐵調節激素-25、人鐵調節激素-22及人鐵調節激素-20顯示類似結合, 但不與小鼠鐵調節激素-25及大鼠鐵調節激素-25結合(圖 10及 11)。

除了A型核酸 229-E1-001之外, 所有本發明之A型鐵調節激素結合核酸包含第一片段A框。在A型鐵調節激素結合核酸 229-D1-001中, A框係以彼之3'端與第二末端片段之5'端連接(圖 2)。在所有其他A型鐵調節激素結合核酸中, A框係以彼之5'端與第一末端片段之3'端連接(圖 1至 4)。包含A框之A型鐵調節激素結合核酸分享A框之序列 5'WAAAGUWGAR3'。除了分別包含A框序列 5'AAAAGUAGAA3'及 5'AAAAGUUGAA3'之A型鐵調節激素結合核酸 229-C4-001/236-G2-001及 236-D1-001之外, 所有其他A型鐵調節激素結合核酸之A框序列係 5'UAAAGUAGAG3'。

除了A型鐵調節激素結合核酸 236-D1-001之外(見圖 2), 所有A型鐵調節激素結合核酸包含序列 5'RGMGUGWKAGUKC3'之B框。A型鐵調節激素結合核酸 236-D1-001包含與其他A型鐵調節激素結合核酸之框的共

同序列不同之B框：5'GGGAUAUAGUGC3'。由於不包含A框之核酸229-E1-001如上述不與人鐵調節激素-25結合或微弱地結合，可以假設除了B框以外，A框係與人鐵調節激素-25結合特定地高親和性結合人鐵調節激素-25所需。在A型鐵調節激素結合核酸229-D1-001中，B框係以彼之5'端與第一末端片段之3'端連接（圖2）。在所有其他A型鐵調節激素結合核酸中，B框（除了鐵調節激素結合核酸229-E1-001以外）係以彼之3'端與第二末端片段之5'端連接（圖1、3及4）。具有不同B框序列之鐵調節激素結合核酸顯示對人鐵調節激素-25之高度結合親和性：

- a) 229-B1-001及衍生物、223-C5-001及衍生物、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、223-A4-001、238-E2：5'GGCGUGAUAGUGC3'；
- b) 229-B4-001、229-C2-001、229-E2-001：5'GGAGUGUUAGUUC3'；
- c) 229-G1-001：5'GGCGUGAGAGUGC3'；
- d) 229-C4-001、236-G2-001：5'AGCGUGAUAGUGC3'；
- e) 238-A1-001：5'GGCGUGUUAGUGC3'；
- f) 236-D1-001：5'GGGAUAUAGUGC3'。

包含A框及B框之鐵調節激素核酸係以10至18個核苷酸之核苷酸連接片段互相連接。該核苷酸連接片段從5'至3'方向包含第一核苷酸連接子片段、第二核苷酸連接子片段及第三核苷酸連接子片段，其中較佳地該第一核苷酸連接子片段與該第三核苷酸連接子片段可任意選擇地互相雜交

，其中當雜交時形成雙股結構。然而，該雜交不一定要在該分子中產生。若該第一核苷酸連接子片段與該第三核苷酸核苷酸連接子片段互相雜交，彼等在之間形成不互相雜交之核苷酸之環（意即第二子片段）。該鐵調節激素結合核酸之核苷酸連接片段的第一核苷酸連接子片段及第三核苷酸核苷酸連接子片段包含3個（見229-B1-001及衍生物、229-G1-001）、4個（見223-C5-001及衍生物、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、223-A4-001、229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、238-A1-001、238-E2-001、237-A7-001）、5個（229-D1-001）或6個（229-C4-001、236-G2-001）核苷酸。A型結合核酸236-D1-001包含18個核苷酸之核苷酸連接片段，其中因為該核苷酸連接片段之特定序列，該核苷酸連接片段無法被分類為第一核苷酸連接子片段、第二核苷酸連接子片段或第三核苷酸連接子片段。

如鐵調節激素結合核酸223-C5-001及彼之衍生物、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、238-E2-001及223-A4-001所示，該核苷酸連接片段之第一子片段包含5'GGAC3'或5'GGAU3'或5'GGA3'之序列，且該核苷酸連接片段之第三子片段包含5'GUCC3'之序列。其他核苷酸連接片段之第一及第三子片段之組合為

a) 5'GCAG3'及5'CUGC3'（229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001、237-A7-001）或

- b) 5'GAC3'及5'GUC3' (229-B1-001及彼之衍生物、229-G1-001) 或
- c) 5'ACUUGU3'及5'GCAAGU3' (229-C4-001) 或
- d) 5'ACUUGU3'及5'GCAAGC3' (236-G2-001) 或
- e) 5'UCCAG3'及5'CUGGA3' (229-D1-001) 或
- f) 5'GGGC3'及5'GCCC3' (238-A1-001) 。

如圖 1、2、3及 4所示，該核苷酸連接片段之第二子片段包含 3至 5個核苷酸，其中該不同序列係非常異源性：5'CGAAA3'、5'GCAAU3'、5'GUAAU3'、5'AAUU3'、5'AUAAU3'、5'AAUA3'、5'CCA3'、5'CUA3'、5'UCA3'、5'ACA3'、5'GUU3'、5'UGA3'及5'GUA3'。該鐵調節激素結合核酸之核苷酸連接片段之第二子片段可被總結為下列通用序列：5'VBAAW3'、5'AAUW3'或5'NBW3'。

然而，具有最佳結合親和性之鐵調節激素結合核酸包含下列核苷酸連接片段之第二子片段序列：

- a) 5'AAUU3' (229-B1及彼之衍生物)
- b) 5'CCA3' (223-C5及彼之衍生物)
- c) 5'CUA3' (223-F5-001)
- d) 5'UCA3' (223-G4-001)
- e) 5'AAUA3' (229-G1-001) 。

如上所述，該連接片段之第一及第三子片段核苷酸序列係彼此相關。另外，該核苷酸連接片段之第二子核苷酸片段序列係關於特定對之第一及第三核苷酸子片段，導致下列鐵調節激素結合核酸之核苷酸連接片段之序列或通用

序列：

- a) 5'GGACBYAGUCC3' (223-C5-001、223-C5-002、223-C5-006、223-C5-007、223-B5-001、223-A5-001、223-A3-001、223-F5-001、223-G4-001、238-E2-001)，較佳地 5'GGACCCAGUCC3'、5'GGACCUAGUCC3'或5'GGACUCAGUCC3'或 5'GGACGUAGUCC3'，更佳地 5'GGACCCAGUCC3'、5'GGACCUAGUCC3'或 5'GGACUCAGUCC3'；或
- b) 5'GGAUACAGUCC3' (223-A4-001)；或
- c) 5'GCAGGYAAUCUGC3' (229-C2-001、229-B4-001、229-E2-001)，較佳地 5'GCAGGUAAUCUGC3'或 5'GCAGGCAAUCUGC3'，更佳地 5'GCAGGUAAUCUGC3'；或
- d) 5'GACAAUWGUC3' (229-B1-001及衍生物 229-G1-001)，較佳地 5'GACAAUUGUC3'或 5'GACAAUAGUC3'；或
- e) 5'ACUUGUCGAAAGCAAGY3' (229-C4-001、236-G2-001)；或
- f) 5'UCCAGGUUCUGGA3' (229-D1-001)；或
- g) 5'GGGCUGAGCCC3' (238-A1-001)；或
- h) 5'GCAGAUAAUCUGC3' (237-A7-001)；或
- i) 5'GGACCAGUCC3' (238-C5-008)。

如前所述，A型結合核酸 236-D1-001之核苷酸連接片段無法被分類為第一核苷酸連接子片段、第二核苷酸連接子片段或第三核苷酸連接子片段。然而，該A型結合核酸 236-D1-001之核苷酸連接片段之序列係 5'AUUUGUUGGAAUCAAGCA3'

。 A型鐵調節激素結合核酸之第一及第二末端核苷酸片段包含4個（例如229-C4-001）、5個（例如223-C5-007）、6個（例如229-B1-001）或7個（例如223-C5-001）核苷酸，其中該等片段可任意選擇地互相雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。此雙股結構可由4至7個鹼基對組成。然而，該雜交不一定在該分子中產生。

組合所有經測試之鐵調節激素結合核酸之第一及第二末端核苷酸片段，該第一末端核苷酸片段及該第二末端核苷酸片段之通式係5'X₁X₂X₃BK BK3'（第一末端核苷酸片段）及5'MV VVX₄X₅X₆3'（第二末端核苷酸片段），其中X₁係G或不存在，X₂係S或不存在，X₃係V或不存在，X₄係B或不存在，X₅係S或不存在且X₆係C或不存在，較佳地

- a) X₁係G，X₂係S，X₃係V，X₄係B，X₅係S且X₆係C，或
- b) X₁係不存在，X₂係S，X₃係V，X₄係B，X₅係S且X₆係C，或
- c) X₁係G，X₂係S，X₃係V，X₄係B，X₅係S且X₆係不存在，或
- d) X₁係不存在，X₂係S，X₃係V，X₄係B，X₅係S且X₆係不存在，或
- e) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係V，X₄係B，X₅係S且X₆係不存在，或
- f) X₁係不存在，X₂係S，X₃係V，X₄係B，X₅係不存在且

X₆係不存在，或

g) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係V或不存在，X₄係B或不存在，X₅係不存在，X₆係不存在。

然而，具有最佳結合親和性之鐵調節激素結合核酸包含下列第一及第二末端核苷酸片段之組合：

a) 223-C5-001、223-F5-001、223-G4-001：5'GCACUCG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CGAGUGC3'（第二末端核苷酸片段）；

b) 229-B1-002：5'GCUGUG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CACAGC3'（第二末端核苷酸片段）；

c) 229-B1-001、229-G1-001：5'CGUGUG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CACACG3'（第二末端核苷酸片段）；

d) 229-D1-001：5'CGUGC3'（第一末端核苷酸片段）及5'AGCACG3'（第二末端核苷酸片段）；

e) 223-C5-006：5'CGCGCG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CGCGCG3'（第二末端核苷酸片段）；

f) 229-B1-007：5'GCCGUG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CACGGC3'（第二末端核苷酸片段）；

g) 229-B1-008：5'GCGGUG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CACCGC3'（第二末端核苷酸片段）；

h) 229-B1-009：5'GCUGC3'（第一末端核苷酸片段）及5'CGCAGC3'（第二末端核苷酸片段）；

i) 229-B1-010：5'GCUGGG3'（第一末端核苷酸片段）及5'CCCAGC3'（第二末端核苷酸片段）；

j) 229-B1-011 : 5'GCGGCG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGCCGC3' (第二末端核苷酸片段)。

爲了證實鏡像異構適體型式之鐵調節激素結合核酸之功能性，A型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 及 229-B1-002 係以在彼之 5'端包含胺基之鏡像異構適體合成。使經胺基修飾之鏡像異構適體 223-C5-001-5'-胺基及 229-B1-002-5'-胺基與 40千道爾頓之 PEG 基團偶合，形成 A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001-5'-PEG 與 229-B1-002-5'-PEG。鏡像異構適體之合成及 PEG 化係描述於實施例 2。

鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 與 229-B1-002-5'-PEG 之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量 (圖 12) :

223-C5-001-5'-PEG : $K_D = 4.44$ nM ;

229-B1-002-5'-PEG : $K_D = 1.92$ nM 。

測試鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 抑制 / 拮抗鐵調節激素於活體外及活體內之功能。如實施例 5 所示，鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 於活體外抑制鐵調節激素誘發之膜鐵轉運蛋白下調。於活體內使用鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 之適用性係於發炎性貧血之動物模型中測試，其中利用人鐵調節激素 -25 誘發血清鐵下降之已知特性 (實施例 5)。

1.2 B 型鐵調節激素結合核酸

如圖 5 及 6 所示，B 型鐵調節激素結合核酸包含一個中

間核苷酸片段，該中間核苷酸片段定義潛在鐵調節激素結合模體。

一般來說，B型鐵調節激素結合核酸在彼等之5'端及3'端包含末端核苷酸片段：第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段。該第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段可互相雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。然而，該雜交不一定在該分子中產生。

B型鐵調節激素結合核酸之3個片段為第一末端核苷酸片段、中間核苷酸片段及第二末端核苷酸片段，彼等可互相不同地排列：第一末端核苷酸片段-中間核苷酸片段-第二末端核苷酸片段或第二末端核苷酸片段-中間核苷酸片段-第一末端核苷酸片段。

該等定義片段之序列在B型鐵調節激素結合核酸之間可能不同，這會影響與人鐵調節激素特定地人鐵調節激素-25之結合親和性。根據不同的鐵調節激素結合核酸之結合分析，如下所述之中間核苷酸片段及彼之核苷酸序列個別地且更佳地彼之整體為與人鐵調節激素特定地人鐵調節激素-25結合所需。

本發明之B型鐵調節激素結合核酸係於圖5及6顯示。彼等所有均以適體或鏡像異構適體之型式測試彼等分別與人鐵調節激素-25更精確地生物素基化人D-鐵調節激素-25及生物素基化人L-鐵調節激素-25結合之能力。

B型鐵調節激素結合核酸238-D2-001、238-D4-001、238-H1-001、238-A2-001、238-G2-001、238-G4-001、

238-G3-001係以適體型式於競爭性拉下測定法中相對於A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001測試。只有B型鐵調節激素結合核酸238-G4-001於競爭性拉下測定中相較於A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001顯示降低之結合親和性(圖5)。B型鐵調節激素結合核酸238-D2-001、238-D4-001、238-H1-001、238-A2-001、238-G2-001及238-G3-001相較於A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001顯示增進結合親和性(圖5)。B型鐵調節激素結合核酸238-D4-001被進一步特徵化。鏡像異構適體238-D4-001之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量($K_D=0.51$ nM; 圖5)。

B型鐵調節激素結合核酸238-D4-001之衍生物238-D4-003、238-D4-005、238-D4-007、238-D4-009、238-D4-010、238-D4-011及238-D4-013於競爭性拉下測定法中(或由表面電漿共振測定法顯示)相較於B型鐵調節激素結合核酸238-D4-001顯示較低之結合親和性(圖6)。事實上,鐵調節激素結合核酸238-D4-002、238-D4-004、238-D4-006、238-D4-008及238-D4-012在相同之測定格式中顯示類似238-D4-001之人鐵調節激素結合(圖6)。鏡像異構適體238-D4-002、238-D4-006及238-D4-008之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量。238-D4-001之衍生物的經計算之平衡結合常數係與238-D4-001本身所顯示之範圍相同(圖6)。

另外, B型鐵調節激素結合核酸238-D4-001及238-D4-008之結合選擇性係經下列鐵調節激素分子測試: 人鐵調

節激素-25、石蟹猴鐵調節激素-25、狢猴鐵調節激素-25（僅測試 238-D4-008）、小鼠鐵調節激素-25、大鼠鐵調節激素-25、人鐵調節激素-22（238-D4-008不測試）及人鐵調節激素-20（圖 10及 11）。B型鐵調節激素結合核酸 238-D4-001及 238-D4-008與人鐵調節激素-25、人鐵調節激素-22、人鐵調節激素-20及石蟹猴鐵調節激素-25顯示類似結合，與狢猴鐵調節激素-25較弱結合且不與小鼠鐵調節激素-25及大鼠鐵調節激素-25結合（圖 10及 11）。

本發明之 B型鐵調節激素結合核酸分享中間核苷酸片段之序列 5'RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR3' 或 5'RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGRGUWGGAGGAAR3'。對人鐵調節激素-25顯示相同結合親和性之 B型鐵調節激素結合核酸 238-D4-001及彼之衍生物分享共同序列，該共同序列包含中間核苷酸片段之序列 5'GUAUGGGAUUAAGUAAAUGAGGAGUUGGAGGAAG3'。

B型鐵調節激素結合核酸之第一及第二末端核苷酸片段包含 5個（238-D4-004、238-D4-005、238-D4-008、238-D4-009）、6個（238-D4-002、238-D4-003、238-D4-006、238-D4-007、238-D4-010、238-D4-011、238-D4-012、238-D4-013）或 8個（238-D2-001、238-D4-001、238-H1-001、238-A2-001、238-G2-001、238-G4-001、238-G3-001）核苷酸，其中該等片段可任意選擇地彼此雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。此雙股結構可由 5至 8個鹼基對組成。然而，該雜交不一定在該分子中產生。

組合所有經測試之 B 型鐵調節激素結合核酸之第一及第二末端核苷酸片段，該第一末端核苷酸片段及該第二末端核苷酸片段之通式係 5'X₁X₂X₃SBSBC3'（第一末端核苷酸片段）及 5'GVBVBX₄X₅X₆3'（第二末端核苷酸片段），其中

X₁係 A 或不存在，X₂係 G 或不存在，X₃係 B 或不存在，X₄係 S 或不存在，X₅係 C 或不存在且 X₆係 U 或不存在，

較佳地

a) X₁係 A，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係 U，或

b) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係 U，或

c) X₁係 A，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

d) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

e) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 B，X₄係 S，X₅係 C 且 X₆係不存在，或

f) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 B，X₄係 S，X₅係不存在且 X₆係不存在，或

g) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 B 或不存在，X₄係 S 或不存在，X₅係不存在，X₆係不存在。

然而，具有最佳結合性之 B 型鐵調節激素結合核酸包含下列第一及第二末端核苷酸片段之組合：

a) 238-D2-001：5'AGCGUGUC3'（第一末端核苷酸片段

-) 及 5'GGUGCGCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- b) 238-D4-001 : 5'AGCGUGUC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGCAUGCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- c) 238-H1-001 : 5'AGUGUGUC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GAUGCGCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- d) 238-A2-001 : 5'AGUGUGUC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGCAUGCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- e) 238-G2-001 : 5'AGCGUGCC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGUGCGCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- f) 238-G3-001 : 5'AGCGCGCC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGCGCGCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- g) 238-D4-002 : 5'GCGCGC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GCGCGC3' (第二末端核苷酸片段) ;
- h) 238-D4-006 : 5'GGUGUC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGCAUC3' (第二末端核苷酸片段) ;
- i) 238-D4-012 : 5'GGCGUC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGCGCC3' (3'末端核苷酸片段) ;
- j) 238-D4-008 : 5'GCGCC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GGCGC3' (第二末端核苷酸片段) ;
- k) 238-D4-004 : 5'GGCGC3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'GCGCC3' (第二末端核苷酸片段) 。

爲了證實鏡像異構適體型式之B型鐵調節激素結合核酸之功能性，鐵調節激素結合核酸238-D4-002及238-D4-008係以在彼之5'端包含胺基之鏡像異構適體合成。使經

胺基修飾之鏡像異構適體 238-D4-002-5'-胺基及 238-D4-008-5'-胺基與 40 千道爾頓之 PEG 基團偶合，形成鐵調節激素結合核酸 238-D4-002-5'-PEG 與 238-D4-008-5'-PEG。鏡像異構適體之合成及 PEG 化係描述於實施例 2。

鏡像異構適體 238-D4-002-5'-PEG 與 238-D4-008-5'-PEG 之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量（圖 12）：

238-D4-002-5'-PEG : 0.53 nM ;

238-D4-008-5'-PEG : 0.64 nM 。

測試鏡像異構適體 238-D4-008-5'-PEG 抑制 / 拮抗鐵調節激素於活體外及活體內之功能。如實施例 5 所示，鏡像異構適體 238-D4-008-5'-PEG 於活體外抑制鐵調節激素誘發之膜鐵轉運蛋白下調。於活體內使用鏡像異構適體 238-D4-008-5'-PEG 之適用性係於發炎性貧血之動物模型中測試，其中利用人鐵調節激素 -25 誘發血清鐵下降之已知特性（實施例 5，圖 20）。另外，鏡像異構適體 238-D4-008-5'-PEG 係於另一發炎性貧血之動物模型（石蟹猴）中測試，其中 IL-6 誘發之鐵調節激素分泌接著導致非人靈長動物之貧血。在該試驗中，人 IL-6 導致血清鐵濃度降低（實施例 6，圖 21）。

1.3 C 型鐵調節激素結合核酸

如圖 7 及 8 所示，C 型鐵調節激素結合核酸包含一個中間核苷酸片段，該中間核苷酸片段定義潛在鐵調節激素結

合模體。

一般來說，C型鐵調節激素結合核酸在彼等之5'端及3'端包含末端片段：第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段。該第一末端核苷酸片段及第二末端核苷酸片段可互相雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。然而，該雜交不一定在該分子中產生。

C型鐵調節激素結合核酸之3個核苷酸片段為第一末端核苷酸片段、中間核苷酸片段及第二末端核苷酸片段，彼等可互相不同地排列：第一末端核苷酸片段-中間核苷酸片段-第二末端核苷酸片段或第二末端核苷酸片段-中間核苷酸片段-第一末端核苷酸片段。

該等定義片段之序列在C型鐵調節激素結合核酸之間可能不同，這會影響與人鐵調節激素特定地人鐵調節激素-25之結合親和性。根據不同的C型鐵調節激素結合核酸之結合分析，如下所述之中間核苷酸片段及彼之核苷酸序列個別地且更佳地彼之整體為與人鐵調節激素結合所需。

本發明之C型鐵調節激素結合核酸係於圖7及8顯示。彼等所有均以適體或鏡像異構適體之型式測試彼等與人鐵調節激素-25更精確地生物素基化人D-鐵調節激素-25及生物素基化人L-鐵調節激素-25結合之能力。

C型鐵調節激素結合核酸238-C4-001、238-E3-001、238-F2-001、238-A4-001及238-E1-001係以適體型式於競爭性拉下測定法中相對於A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001測試。C型鐵調節激素結合核酸相較於A型鐵調節激素

結合核酸 229-B1-001 顯示增進之結合親和性（圖 7）。C 型鐵調節激素結合核酸 238-C4-001 被進一步特徵化。鏡像異構適體 238-C4-001 之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量（ $K_D=0.9$ nM；圖 7）。

C 型鐵調節激素結合核酸 238-C4-001 之衍生物 238-C4-003、238-C4-004、238-C4-005、238-C4-007、238-C4-008、238-C4-009、238-C4-011、238-C4-012、238-C4-013、238-C4-014、238-C4-024、238-C4-025 及 238-C4-062 係於競爭性拉下測定法或由表面電漿共振測定法中相較於鐵調節激素結合核酸 238-C4-001 或 238-C4-006 顯示較低之結合親和性（圖 8）。核酸 238-C4-063 顯示不與鐵調節激素結合。事實上，鐵調節激素結合核酸 238-C4-002、238-C4-006 及 238-C4-010 在相同之測試中顯示類似 238-C4-001 之人鐵調節激素 -25 結合（圖 8）。鏡像異構適體 238-C4-002 及 238-C4-006 之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量。238-C4-001 之衍生物的經計算之平衡結合常數係與 238-C4-001 本身所顯示之範圍相同（圖 8）。

另外，C 型鐵調節激素結合核酸 238-C4-006 之結合專一性/選擇性係經下列鐵調節激素分子測試：人鐵調節激素 -25、石蟹猴鐵調節激素 -25、狨猴鐵調節激素 -25、小鼠鐵調節激素 -25、大鼠鐵調節激素 -25、人鐵調節激素 -22 及人鐵調節激素 -20（圖 10 及 11）。C 型鐵調節激素結合核酸 238-C4-006 與人鐵調節激素 -25、人鐵調節激素 -22、人鐵調節激素 -20 及石蟹猴鐵調節激素 -25 顯示類似結合，但不

與狢猴鐵調節激素-25、小鼠鐵調節激素-25及大鼠鐵調節激素-25結合（圖10及11）。

除了顯示不與鐵調節激素-25結合之核酸238-C4-063以外，本發明之C型鐵調節激素結合核酸分享中間核苷酸片段之序列5'GRCRGCCGGVGGACACCAUAUACAGACUACKAUA3'或5'GRCRGCCGGVAGGACACCAUAUACAGACUACKAUA3'。所有均顯示相同結合親和性之C型鐵調節激素結合核酸238-C4-001及彼之衍生物238-C4-002、238-C4-005、238-C4-010及C型鐵調節激素結合核酸238-E3-001、238-F2-001、238-A4-001、238-E1-001分享共同序列5'GRCRGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACKAUA3'及較佳地序列5'GACAGCCGGGGGACACCAUAUACAGACUACGAUA3'。

C型鐵調節激素結合核酸之第一及第二末端核苷酸片段包含4個（238-C4-004、238-C4-011、238-C4-012、238-C4-013、238-C4-014）、5個（238-C4-003、238-C4-005、238-C4-006、238-C4-007、238-C4-008、238-C4-009、238-C4-010、238-C4-024、238-C4-025、238-C4-062）、6個（238-C4-002）或7個（238-C4-001、238-E3-001、238-F2-001、238-A4-001、238-E1-001）核苷酸，其中該等片段可任意選擇地彼此雜交，藉此在雜交時形成雙股結構。此雙股結構可由4至7個鹼基對組成。然而，該雜交不一定在該分子中產生。

組合所有經測試之C型鐵調節激素結合核酸之第一及

第二末端核苷酸片段，該第一末端核苷酸片段及該第二末端核苷酸片段之通式係 5'X₁X₂X₃SBSN3'（第一末端核苷酸片段）及 5'NSV SX₄X₅X₆3'（第二末端核苷酸片段），其中 X₁係 A 或不存在，X₂係 G 或不存在，X₃係 R 或不存在，X₄係 Y 或不存在，X₅係 C 或不存在且 X₆係 U 或不存在，

較佳地

- a) X₁係 A，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係 U，或
- b) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係 U，或
- c) X₁係 A，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係不存在，或
- d) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係不存在，或
- e) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係 C 且 X₆係不存在，或
- f) X₁係不存在，X₂係 G，X₃係 R，X₄係 Y，X₅係不存在且 X₆係不存在，或
- g) X₁係不存在，X₂係不存在，X₃係 R 或不存在，X₄係 Y 或不存在，X₅係不存在，X₆係不存在。

然而，具有最佳結合性之 C 型鐵調節激素結合核酸包含下列第一及 3' 末端核苷酸片段之組合：

- a) 238-C4-001、238-E3-001：5'AGGCUCG3'（第一末端核苷酸片段）及 5'CGGGCCU3'（第二末端核苷酸片段）；

- b) 238-F2-001 : 5'AGGCCCG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGGGCCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- c) 238-A4-001 : 5'AGGCUUG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGAGCCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- d) 238-E1-001 : 5'AGACUUG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGAGUCU3' (第二末端核苷酸片段) ;
- e) 238-C4-002 : 5'GGCUCG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGGGCC3' (第二末端核苷酸片段) ;
- f) 238-C4-006 : 5'GGCCG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGGCC3' (第二末端核苷酸片段) ;
- g) 238-C4-010 : 5'GCGCG3' (第一末端核苷酸片段) 及 5'CGCGC3' (第二末端核苷酸片段) 。

爲了證實鏡像異構適體型式之鐵調節激素結合核酸之功能性，鐵調節激素結合核酸 238-C4-006 係以在彼之 5' 端包含胺基之鏡像異構適體合成。使經胺基修飾之鏡像異構適體 238-C4-006-5'-胺基與 40 千道爾頓之 PEG 基團偶合，形成 C 型鐵調節激素結合核酸 238-C4-006-5'-PEG。鏡像異構適體之合成及 PEG 化係描述於實施例 2。

鏡像異構適體 238-C4-006-5'-PEG 之平衡結合常數 K_D 係以表面電漿共振測定法測量 (圖 12) : 0.76 nM。

1.4 其他鐵調節激素結合核酸

圖 9 顯示與 A、B 及 C 型鐵調節激素結合核酸無關之其他鐵調節激素結合核酸。該等鐵調節激素核酸之結合親和

性係藉由表面電漿共振測定法及競爭性結合試驗與A型鐵調節激素結合核酸229-G1-001比較測定。所有核酸相較於A型鐵調節激素結合核酸229-G1-001顯示較弱之結合親和性（圖9）。

實施例2：適體及鏡像異構適體之合成及衍生化

小規模合成

適體（D-RNA核酸）及鏡像異構適體（L-RNA核酸）係利用2'TBDMS RNA亞磷醯胺化學法（Damha and Ogilvie, 1993）藉由ABI 394合成儀（美國加州福斯特市應用生物系統（Applied Biosystems））以固相合成製備。D型及L型之rA（N-Bz）-、rC（Ac）-、rG（N-ibu）-及rU-亞磷醯胺係購自麻州威明頓市肯基公司（ChemGenes, Wilmington, MA）。適體及鏡像異構適體係以膠體電泳純化。

大規模合成加修飾

鏡像異構適體係利用2' TBDMS RNA亞磷醯胺化學法（Damha and Ogilvie, 1993）藉由ÄktaPilot100合成儀（弗萊堡通用電氣醫療集團安森生物科技公司（Amersham Biosciences））進行固相合成製備。L-rA（N-Bz）-、L-rC（Ac）-、L-rG（N-ibu）-及L-rU-亞磷醯胺係購自麻州威明頓市肯基公司。5'-胺基-修飾物係購自美國國際化學公司（美國麻州佛明罕）。未經修飾或經5'胺基修飾之

鏡像異構適體之合成係始於經 L-riboG、L-riboC、L-riboA 或 L-riboU 修飾之 CPG 孔徑 1000 埃 (Å) (英國格拉斯哥聯接技術公司 (Link Technology)) 上。在進行偶合時 (每循環 15 分鐘)，使用於乙腈中之 0.3M 苄硫基四唑 (英國阿賓頓 CMS 化學) 及 3.5 當量於乙腈中之個別 0.1M 亞磷醯胺溶液。使用氧化-加帽循環。其他用於寡核苷酸合成之標準溶劑及反應劑係購自拜爾索夫 (Biosolve) 公司 (荷蘭範肯斯沃德 (Valkenswaard))。該鏡像異構適體係以 DMT-ON 合成；在去保護後，使用 Source15RPC 介質 (安森公司) 藉由製備型 RP-HPLC (Wincott et al., 1995) 純化。該 5' DMT 基團係以 80% 醋酸移除 (於室溫中 30 分鐘)。接著，添加水性 2M NaOAc 溶液並利用 5K 再生纖維素膜 (麻州貝德福市密理博 (Millipore) 公司) 以切流過濾法使鏡像異構適體去鹽。

● 鏡像異構適體之 PEG 化

爲了延長鏡像異構適體於活體內之血漿滯留時間，鏡像異構適體之 5' 端係與 40 kDa 之聚乙二醇 (PEG) 基團共價偶合。

鏡像異構適體之 5'-PEG 化

爲了進行 PEG 化 (PEG 化方法之技術細節見歐洲專利申請案 EP 1 306 382)，該經純化之 5'-胺基修飾之鏡像異構適體係溶解於 H₂O (2.5 毫升)、DMF (5 毫升) 及緩衝

液 A (5 毫升 ; 藉由混合含水檸檬酸 [7 克] 、 硼酸 [3.54 克] 、 磷酸 [2.26 毫升] 及 1M NaOH [343 毫升] 且添加水至終體積 1 公升加以製備 ; 以 1M HCl 調整成 pH=8.4) 之混合物中。

該鏡像異構適體之 pH 係利用 1M NaOH 調整成 8.4 。 接著 , 以 6 份 0.25 當量之 40 kDa PEG-NHS 酯 (美國德州艾倫市健凱技術 (Jenkem Technology) 公司) 於 37°C 每 30 分鐘添加直到達到 75 至 85% 之最高產率 。 在添加 PEG-NHS 酯期間 , 利用 1M NaOH 使該反應混合物之 pH 保持在 8-8.5 。

該反應混合物係與 4 毫升之尿素溶液 (8M) 及 4 毫升之緩衝液 B (0.1M 於 H₂O 中之三乙胺乙酸鹽) 混合 , 並加熱至 95°C 15 分鐘 。 該 PEG 化之鏡像異構適體接著利用乙腈梯度 (緩衝液 B ; 緩衝液 C : 0.1M 於乙腈中之三乙胺乙酸鹽) 以 Source 15RPC 介質 (安森公司) 由 RP-HPLC 純化 。 多餘之 PEG 於 5% 緩衝液 C 溶離 , PEG 化之鏡像異構適體於 10-15% 緩衝液 C 溶離 。 收集純度 > 95% 之產物餾份 (以 HPLC 檢測) 並與 40 毫升之 3M NaOAc 混合 。 該 PEG 化鏡像異構適體係藉由切流過濾法 (5K 再生纖維素膜 , 麻州貝德福市密理博公司) 去鹽 。

實施例 3 : 測定與鐵調節激素之結合常數 (拉下測定法)

直接拉下測定法

鐵調節激素結合核酸之親和性係於 37°C 拉下測定格式中以適體 (D-RNA 核酸) 對生物素基化人 D-鐵調節激素 -

25 (SEQ ID NO 7) 測試。適體之 5'-磷酸係經標記，由 T4 多核苷酸激酶 (德國喀斯魯市英維創基 (Invitrogen) 公司) 使用 [γ -³²P] 標記之 ATP (德國布朗施維格市哈特曼分析 (Hartmann Analytic) 公司) 進行。該經標記之適體的特定放射活性係 200,000-800,000 cpm/pmol。適體在變性及復性後於 37°C 以 20 pM 濃度於選擇緩衝液 (20 mM Tris-HCl pH 7.4; 137 mM NaCl; 5 mM KCl; 1 mM MgCl₂; 1 mM CaCl₂; 0.1% [w/vol] Tween-20) 中與不同量之生物素基化人 D-鐵調節激素一起培養 2-12 小時以於低濃度下達到平衡。選擇緩衝液添加 10 微克 / 毫升人血清白蛋白 (德國施泰因海姆市西格瑪奧德里奇 (Sigma-Aldrich) 公司) 及 10 微克 / 毫升酵母菌 RNA (美國奧斯丁市安比恩 (Ambion) 公司) 以預防結合物吸附至用過之塑膠製品或該固定基質之表面。生物素基化人 D-鐵調節激素之濃度範圍係設定於 32 pM 至 500 nM; 總反應體積為 1 毫升。生物素基化人 D-鐵調節激素及適體與生物素基化人 D-鐵調節激素之複合物係固定於 6 微升中性抗生物素蛋白 (NeutrAvidin) 或鏈黴抗生物素蛋白 (Streptavidin) Ultralink Plus 顆粒 (美國洛克福市賽默飛科學 (Thermo Scientific) 公司) 上，該顆粒已經選擇緩衝液預先平衡並重懸於總體積 12 微升。顆粒保持於恆溫混合儀中不同溫度之懸浮液中 30 分鐘。在分離上清液及適當清洗後，經固定之放射活性係於閃爍計數器中定量。以結合百分比對生物素基化人 D-鐵調節激素之濃度作圖，解離常數係利用假設 1:1 化學計量學之軟

體演算法 (GRAFIT; 英國蘇里市艾里沙可斯軟體 (Erithacus Software) 公司) 獲得。

適體競爭性拉下測定法

爲了比較鐵調節激素結合核酸之不同適體，進行競爭性排名測定。爲此目的，可獲得之最具親和性之適體係經放射活性標示 (見上述) 且作爲參考物。在變性及復性後，適體與生物素基化人 D-鐵調節激素一起培養於 37°C、0.8 毫升之選擇緩衝液中，該培養條件導致在固定於中性抗生物素蛋白 (NeutrAvidin) 洋菜或鏈黴抗生物素蛋白 (Streptavidin) Ultralink Plus (二者均購自賽默飛科學公司) 上及經未競爭之清洗後約 5-10% 之結合率。添加不同濃度 (例如 10、50 及 250 nM) 之過量之變性及復性之未經標示之 D-RNA 適體變異體與經標示之參考適體以比較結合反應。欲被測試之適體與參考適體競爭與目標之結合，因此結合信號之降低係依彼等之結合特徵而定。在此測定法中被發現最具活性之適體接著可作爲新的參考物以供其他適體變異體之比較分析。

鏡像異構適體競爭性拉下測定法

另外，進行競爭性拉下測定法以分析鐵調節激素結合鏡像異構適體之親和性。就此目的而言，使用與生物素基化人 L-鐵調節激素-25 結合之鏡像異構適體。在 D-構型鏡像異構適體之 5' 端添加 2 種額外之鳥苷殘基，使 T4 多核苷

酸激酶能對鏡像異構適體進行放射活性標記（見上）。在變性及復性後，該經標記之鏡像異構適體與一組介於0.032至500 nM之競爭者分子的5倍稀釋液（不同物種之鐵調節激素、截短版之鐵調節激素或鏡像異構適體；見下）係與固定量之生物素基化人L-鐵調節激素一起培養於37°C、0.8毫升之選擇緩衝液中2至4小時。該經選擇之肽濃度應導致在最低競爭者濃度中經放射標記之鏡像異構適體約5-10%之最終結合率。在一種版本之競爭性拉下測定法中，過量之變性及復性之未經標示之L-RNA鏡像異構適體變異體作為競爭者，而測試未經修飾及PEG化型式。在另一種測定方法中，來自不同物種之非生物素基化之L-鐵調節激素-25（諸如人L-鐵調節激素-25、石蟹猴L-鐵調節激素-25、狨猴L-鐵調節激素-25或大鼠L-鐵調節激素-25）或非生物素基化之N端截短L-鐵調節激素-20及L-鐵調節激素-22與生物素基化L-鐵調節激素競爭與鏡像異構適體之結合。在固定化生物素基化L-鐵調節激素-25及該經結合之鏡像異構適體於1.5-3微升之鏈黴抗生物素蛋白Ultralink Plus基質（美國洛克福市賽默飛科學公司）上、清洗及閃爍計數（見上）後，該經結合之放射標記鏡像異構適體之正常化百分比係對競爭者分子之對應濃度作圖。該導致之解離常數係採用GraFit軟體計算。

實施例4：表面電漿共振測定之結合分析

Biacore 2000儀器（瑞典烏普薩拉市Biacore AB公司

）係用來分析鐵調節激素結合核酸之適體與生物素基化人 D-鐵調節激素-25之結合及分析鐵調節激素結合核酸之鏡像異構適體與生物素基化人 L-鐵調節激素-20及人、大鼠及小鼠 L-鐵調節激素-25之結合。

該儀器被設定為 37°C 恆溫。在每次試驗開始前，根據廠商指示使用 DESORB 方法清潔 Biacore。在安裝維持晶片之後，將該儀器連續灌注 DESORB 溶液 1（0.5% 十二基硫酸鈉，SDS）、DESORB 溶液 2（50 mM 甘胺酸 pH 9.5）及最後 MilliQ 脫氣水。接著利用 0.1M NaOCl 進行 SANATIZE 方法，該系統之後以 MilliQ 水灌洗。

生物素基化人 D-鐵調節激素 25、人 L-鐵調節激素 20 及人、大鼠及小鼠 L-鐵調節激素 25（所有肽係購自巴亨（BACHEM）客製合成）係以 1 mM 之濃度溶解於含有 1 毫克 / 毫升無脂肪酸 BSA 之水，使用前儲存於 4°C 之旋鎖小瓶中。

在安裝羧甲基化聚葡萄糖基質之感測晶片（Sensor Chip CM5, GE, BR-1000-14）後，該 Biacore 儀器先後以 MilliQ 水及 HBS-EP 緩衝液灌洗（0.01 M HEPES 緩衝液 [pH 7.4]，0.15M NaCl 及 0.005% 表面活性劑 P20; GE, BR-1001-88）並加以平衡直到觀察到穩定基準。流動槽（FC）係從流動槽 4 開始固定到流動槽 1 以避免肽類殘留至其他流動槽。

利用 QUICKINJECT 指令以 10 微升 / 分鐘之流速注射 100 微升 0.4M EDC（1-乙基-3-（3-二甲胺丙基）碳二醯亞胺

於水中；GE, BR-1000-50) 與 0.1 M NHS (N-羥基琥珀醯亞胺於水中；GE, BR-1000-50) 之 1:1 混合物。流動槽之活化係於 NHS/EDC 注射後藉由 RU 之增加監測 (CM5 晶片通常 500-600 RU)。

可溶性中性抗生物素蛋白係溶解於水中至濃度 1 毫克 / 毫升，以 HBS-EP 稀釋至 50 微克 / 毫升接著利用 MANUALINJECT 指令以 10 微升 / 分鐘之流速注射。經共價固定之中性抗生物素蛋白的最高觀察量係約 10,000-15,000 RU。該流動槽以 10 微升 / 分鐘之流速注射 70 微升之 1M 乙醇胺鹽酸鹽 (GE, BR-1000-50) 以封閉；通常非共價結合之肽 / 蛋白質係藉由此程序移除。非共價偶合之中性抗生物素蛋白藉由注射 10-30 微升之 50mM NaOH 溶液移除。生物素基化人 D-鐵調節激素 25、人 L-鐵調節激素 20 及人、大鼠及小鼠 L-鐵調節激素 25 係以 HBS-EP 緩衝液直接稀釋至終濃度 10-20 nM 及直接震盪。1000 微升之此樣本被轉移至直徑 9 毫米之玻璃小瓶 (Glass Vials, Φ 9mm, GE, BR-1002-07)，利用 MANUALINJECT 指令以 10 微升 / 分鐘之流速注射。以結合試驗而言高達 5000 反應單位 (RU) 之生物素基化人 D-鐵調節激素 25、人 L-鐵調節激素 20 及人、大鼠及小鼠 L-鐵調節激素 25 及以動力學評估而言 500-1500 RU 係固定於流動槽。接著該流動槽以 1M NaCl (Ambion, Cat.No.AM9759) 清洗以避免生物素基化人 D-鐵調節激素 25、人 L-鐵調節激素 20 及人、大鼠及小鼠 L-鐵調節激素 25 因為生物素基化人 D-鐵調節激素 25、人 L-鐵調節激素 20 及

人、大鼠及小鼠 L-鐵調節激素 25 與 Biacore 管壁及其他表面之非專一性交互作用而殘留。FC1 作為封閉對照流動槽。

最後所有感測流動槽（從 FC1 開始至 FC4）藉由以 20 微升/分鐘之流速注射 20 微升之經 HBS-EP 緩衝液稀釋 1:10 之飽和生物素溶液（Biotin, Sigma-Aldrich B-4501 Lot 68H1373）封閉。該感測晶片以脫氣流動緩衝液（20 mM Tris pH 7.4; 150 mM NaCl; 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂ 及 0.1% Tween20）灌洗二次並以 30 微升/分鐘加以平衡直到基準呈現穩定。

通常以分析目的而言，該鐵調節激素結合核酸之適體/鏡像異構適體係以水稀釋成儲存濃度 100 μM（以 UV 測量定量），在水浴或恆溫混合儀中加熱至 95°C 30 秒，在冰上快速冷卻以確保均質溶解溶液。

動力學參數及解離常數係藉由一系列以流動緩衝液稀釋之濃度 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.63、7.8、3.9 及 0 nM 之適體注射液評估。在所有實驗中，該分析係於 37°C 利用 Kinject 指令進行，該指令定義以流速 30 微升/分鐘結合時間 360 及解離時間 360 秒。該測定法係經雙重參照，然而 FC1 作為（封閉）表面對照（各適體濃度之晶塊貢獻）及一系列不含分析物之緩衝液注射測定該緩衝液本身之晶塊貢獻。資料分析及解離常數（KD）之計算係利用蘭慕爾（Langmuir）1:1 化學計量學擬合演算法以 BIAevaluation 3.0 軟體（瑞典烏普薩拉市 BIACORE AB 公司）進行。

實施例 5：由鐵調節激素結合鏡像異構適體抑制人及小鼠鐵調節激素誘發之膜鐵轉運蛋白下調

方法

J774.1細胞（小鼠單核細胞-巨噬細胞，得自布朗施維格 DSMZ）係於含有 Glutamax（德國喀斯魯市英維創基公司）之達爾伯克改良伊格爾氏培養基（DMEM）中於 37°C 及 5% CO₂ 中培養，該培養基包含 10% 胎牛血清、100 單位 / 毫升青黴素及 100 微克 / 毫升鏈黴素。在該實驗中，細胞以 7.3×10^5 細胞 / 孔（ 2×10^5 細胞 / 公分²）之密度接種於 12 孔板中之 2 毫升培養基，在 37°C 及 5% CO₂ 中培養數小時。在細胞附著之後，細胞藉由添加 20 微升之 Fe-NTA-溶液以攜載鐵，該 Fe-NTA-溶液之製備係藉由混合 1 部分之 0.3M FeCl₃ 於水中及 2 部分 0.3M NTA（氮川三醋酸鹽）於水中然後以 DMEM 1:10 稀釋。細胞如所述隔夜培養。隔天製備 DMEM 刺激溶液，該刺激溶液含有各 5 倍該意圖終濃度之人鐵調節激素及若需要之鏡像異構適體（見下被添加之鏡像異構適體），於 37°C 預先培養 30 分鐘。0.5 毫升之溶液被添加至 12 孔板之各孔。經過 3 小時刺激後，移除該培養基，利用 1 毫升冰冷磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）快速清洗該細胞一次。接著刮除 1 毫升冰冷 PBS 孔槽中之細胞，收集於預冷之艾本德（Eppendorf）試管。於 4°C 以 500g 離心 5 分鐘後，移除上清液，將該團塊重懸於 75 微升之溶解緩衝液（Tris/HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100 及蛋

白酶抑制劑（蛋白酶抑制劑雞尾酒錠，Roche #1187358001））。細胞懸浮液於乾冰上冷凍，解凍，徹底震盪後於4°C以1000g離心10分鐘。收集該溶解上清液並儲存於-80°C直到進一步分析。

蛋白質測定係利用二金雞納酸方法進行。包含20微克蛋白質的溶解產物量係與2倍樣本緩衝液（125 mM Tris/HCl, pH 6.8; 20%甘油；4% SDS; 0.02%溴酚藍）混合，於37°C培養10分鐘。蛋白質在10% SDS-聚丙烯醯胺凝膠上分離，接著以電印漬轉移至HybondECL硝酸纖維素或Hybond-P PVDF膜（德國慕尼黑GE醫療集團）。在印漬後，該膜係以麗春紅（0.2%於3%三氯乙酸中）染色以控制蛋白質攜載及轉移。膜鐵轉運蛋白係以兔抗小鼠膜鐵轉運蛋白抗體（阿法診斷試劑（Alpha Diagnostics）公司，#MTP11-A）及抗兔IgG-HRP共軛物（德國法蘭克福新英格蘭生物實驗室（New England Biolabs））偵測，利用LumiGlo^R化學發光試劑（德國法蘭克福細胞信號技術（CellSignaling Technology）公司）及HyperfilmTM ECL化學發光膜（德國慕尼黑GE醫療集團）。

結果

自經人鐵調節激素或鐵調節激素+個別鏡像異構適體刺激後之J774.1細胞獲得之溶解產物係以SDS膠體電泳分離並以西方墨漬法利用抗小鼠膜鐵轉運蛋白之抗體分析。

以Fe/NTA處理J774.1細胞導致大幅上調膜鐵轉運蛋白

之表現。此效應藉由以 100 nM 人鐵調節激素 -25 刺激細胞 3 小時而顯著逆轉。當鐵調節激素與鏡像異構適體 226-C5-001-5'-PEG、238-D4-008-5'-胺基及 238-D4-008-5'-PEG (=NOX-H94) 預先培養後，該鐵調節激素效應被阻斷。

圖 17A：幾乎無法在未處理細胞（第 1 行）中偵測到之膜鐵轉運蛋白（箭頭）受到 Fe/NTA 處理（第 2、3 行）之上調。100 nM 人鐵調節激素 -25（HEP）導致膜鐵轉運蛋白下調（第 4、5 行），此效應可被鏡像異構適體 226-C5-001（C5-PEG）強烈抑制（第 6、7 行）。

圖 17B：人鐵調節激素導致經 Fe/NTA 處理之 J774.1 細胞中之膜鐵轉運蛋白下調（第 6、7 行）。該人鐵調節激素 -25 之效應可被鏡像異構適體 NOX-H94（第 12-15 行）及鏡像異構適體 HEP-238-D4-008a（第 8-11 行）強烈抑制，HEP-238-D4-008a 係 238-D4-008-5'-PEG 經胺基修飾之寡核苷酸中間物（=NOX-H94）。

實施例 6：活體內鐵調節激素結合鏡像異構適體之活性

慢性疾病之貧血目前的概念係鐵調節激素之合成及釋放在肝細胞中受到前發炎性細胞介素（特別是 IL-6）之刺激。鐵調節激素接著與表現鐵質轉運蛋白膜鐵轉運蛋白之不同細胞類型結合。此交互作用誘發鐵調節激素-膜鐵轉運蛋白複合物之內化及降解，隨後造成血清鐵下降。血清鐵之慢性下降負面地影響紅血球生成，最後以貧血表現。人鐵調節激素 -25 於小鼠誘發血清鐵下降之已知特性（

Rivera, 2005) 被用來作為發炎性貧血之模型。為了測試鏡像異構適體於活體內之活性，以人鐵調節激素-25於C57BL/6小鼠誘發低血鐵症之狀態。為了在此模型中特徵化鏡像異構適體，動物接受鏡像異構適體之預防處理以阻斷人鐵調節激素之效應。

方法

C57BL/6母鼠（法國艾里維奇強維爾（Elevage Janvier）公司，6周齡，n=每組6-7隻）接受抗鐵調節激素鏡像異構適體（10-20毫升/公斤體重）或載劑（5%葡萄糖，10-20毫升/公斤體重）之單一靜脈注射。經過30分鐘後，合成性人鐵調節激素-25（德國威爾市巴亨公司，目錄編號H-5926）以1-2毫克/公斤體重之劑量腹腔內注射（10毫升/公斤體重）。在鐵調節激素注射後2小時收集血液。取得血清及血漿樣本以分別測定鐵及全血計數。測定每隻動物之血清鐵、血紅素、血容比、白血球數、紅血球數、血小板數、平均紅血球體積及平均紅血球血紅素值。

結果

注射合成性人鐵調節激素-25導致血清鐵快速降低。注射後2小時，血清鐵濃度降低至載劑處理小鼠之該值之56%。這些活體內發現係與李維拉等人（Rivera et al發表之資料類似，該資料指出在使用較高鐵調節激素劑量之非常類似實驗中減少至約25%。如圖9所示，在注射人鐵調節

激素之前使用鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 可完全阻斷該血清鐵之降低（對照之 98%）。相同效應見於 239-D4-008-5'-PEG，如圖 20 所示。

實施例 7：鐵調節激素結合鏡像異構適體於經人介白素-6 刺激之石蟹猴中之活性

介白素-6 (IL-6) 於慢性疾病貧血中之主要作用係由 IL-6 受體抗體托西珠單抗證實。此抗體治療在卡斯曼症 (Castleman disease) 病患 (Nishimoto, 2008) 及另外在石蟹猴關節炎模型 (Hashizume, 2009) 中顯示療效。IL-6 誘發鐵調節激素分泌接著導致非人靈長動物貧血之已知特性被用來作為發炎性貧血之另一模型 (Asano, 1990; Klug 1994)。不選用血紅素參數而是選擇血清鐵含量作為終點以顯示抗鐵調節激素鏡像異構適體之療效。以人重組 IL-6 於石蟹猴誘發低血鐵症之狀態。此模型重要地顯示抗鐵調節激素鏡像異構適體亦與內源性鐵調節激素結合，如同在所有其他實驗中所使用之合成性人鐵調節激素。為了測試鏡像異構適體於活體內之活性，以人重組 IL-6 誘發石蟹猴低血鐵症之狀態。為了特徵化於此模型中之鏡像異構適體，動物接受鏡像異構適體之預防性治療以阻斷石蟹猴鐵調節激素之效應。

方法

公石蟹猴 (荷蘭蒂爾堡羅伯特哈特盧斯特 (Roberto

C. Hartelust) 公司，34至38月齡，n=每組3隻) 接受抗鐵調節激素鏡像異構適體(1毫升/公斤體重)或載劑(5%葡萄糖，1毫升/公斤體重)之單一靜脈注射。經過30分鐘後，重組人IL-6(德國貝爾吉施格拉德巴赫市美天旋生技(Miltenyi Biotech)公司)以10微克/公斤體重之劑量皮下注射(1毫升/公斤體重)。在IL-6注射後8小時收集血液。取得血清及血漿樣本以分別測定鐵及全血計數。測定每隻動物之血清鐵、血紅素、血容比、白血球數、紅血球數、血小板數、平均紅血球體積及平均紅血球血紅素值。

結果

注射重組人IL-6導致血清鐵降低。注射後8小時，血清鐵濃度降低至載劑/IL-6處理猴之給藥前值之27%。如圖21所示，在注射人IL-6之前使用鏡像異構適體238-D4-008-5'-PEG可完全阻斷血清鐵之降低。

【圖式簡單說明】

本發明另外以揭示其他特徵、實施態樣及優點之圖式、實施例及序列表說明，其中

圖1及2 顯示A型鐵調節激素結合核酸之序列的排比；

圖3 顯示A型鐵調節激素結合核酸223-C5-001之衍生物；

圖4 顯示A型鐵調節激素結合核酸229-B1-001之衍

生物；

圖 5 顯示 B 型鐵調節激素結合核酸之序列的排比；

圖 6 顯示 B 型鐵調節激素結合核酸 238-D4-001 之衍生物；

圖 7 顯示 C 型鐵調節激素結合核酸之序列的排比；

圖 8 顯示 C 型鐵調節激素結合核酸 238-C4-001 之衍生物；

圖 9 顯示其他鐵調節激素結合核酸之序列的排比；

圖 10 顯示有關鐵調節激素結合核酸 223-C5-001、229-B1-002、238-C4-006、238-D4-001 及 238-D4-008 與人鐵調節激素 -25、石蟹猴鐵調節激素 -25、狢猴鐵調節激素 -25、小鼠鐵調節激素 -25 及大鼠鐵調節激素 -25 結合之資料；

圖 11 顯示有關鐵調節激素結合核酸 223-C5-001、229-B1-002、238-C4-006、238-D4-001 及 238-D4-008 與人鐵調節激素 -25、鐵調節激素 -22 及鐵調節激素 -20 結合之資料；

圖 12 顯示有關鐵調節激素結合核酸 223-C5-001-5'-PEG、229-B1-002-5'-PEG、238-C4-006-5'-PEG、238-D4-002-5'-PEG 及 238-D4-008-5'-PEG 與人鐵調節激素 -25 結合之資料；

圖 13 Biacore 2000 傳感圖，其顯示 A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 之適體與生物素基化人 D-鐵調節激素 -25 於 37°C 結合之 K_D 值，其中該生物素基化人 D-鐵調節

激素係藉由鏈黴抗生物素蛋白偶合方法固定在 37°C 之經鏈黴抗生物素蛋白偶合之感測晶片上，以不同時間之反應 (RU) 表示；

圖 14 及 15 鐵調節激素結合核酸互相比較以鑑別最佳鐵調節激素結合核酸之排名試驗之結果，其中 A 型鐵調節激素結合核酸 223-C5-001 係經標記且核酸 223-C5-001 與生物素基化人 D-鐵調節激素 -25 於 37°C 之結合係分別於 10、50 或 250 nM 未經標記之競爭者 RNA (不同類型之鐵調節激素結合核酸) 存在時進行，以不同濃度之生物素基化人 D-鐵調節激素 -25 之 223-C5-001 結合表示 (競爭性拉下測定法)；

圖 16 Biacore 2000 傳感圖，其顯示 A 型鐵調節激素結合核酸 229-B1-001 之適體與生物素基化人 D-鐵調節激素 -25 於 37°C 結合之 K_D 值，其中該生物素基化人 D-鐵調節激素 -25 係藉由鏈黴抗生物素蛋白偶合方法固定在 37°C 之經鏈黴抗生物素蛋白偶合之感測晶片上，以不同時間之反應 (RU) 表示；

圖 17A/17B 顯示鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG、238-D4-008-5'-胺基及 238-D4-008-5'-PEG (=NOX-H94) 對於人鐵調節激素 -25 對鐵誘發之膜鐵轉運蛋白上調之效應，其中自經人鐵調節激素 -25 或鐵調節激素 -25 + 鏡像異構適體刺激後之 J774.1 細胞獲得之溶解產物係以 SDS 膠體電泳分離並以西方墨漬法利用抗小鼠膜鐵轉運蛋白之抗體分析；

圖 18 顯示鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 對活體內鐵調節激素活性之效應，其中由人鐵調節激素造成之血清鐵降低藉由在注射人鐵調節激素之前投予鏡像異構適體 223-C5-001-5'-PEG 而被完全阻斷；

圖 19 Biacore 2000 傳感圖，其顯示鐵調節激素結合核酸 NOX-H94 (=238-D4-008-5'-PEG) 之鏡像異構適體與生物素基化人 L-鐵調節激素於 37°C 結合之 K_D 值，其中該生物素基化人 L-鐵調節激素係藉由鏈黴抗生物素蛋白偶合方法固定在 37°C 之經鏈黴抗生物素蛋白偶合之感測晶片上，以不同時間之反應 (RU) 表示；

圖 20 顯示鏡像異構適體 NOX-H94 (=238-D4-008-5'-PEG) 對活體內鐵調節激素活性之效應，其中由人鐵調節激素造成之血清鐵降低藉由在注射人鐵調節激素之前應用鏡像異構適體 NOX-H94 (=238-D4-008-5'-PEG) 而被完全阻斷；

圖 21 顯示鏡像異構適體 NOX-H94 (=238-D4-008-5'-PEG) 於發炎性貧血之動物模型 (石蟹猴) 中之效應，其中 IL-6 誘發之鐵調節激素分泌接著導致非人靈長動物之貧血；在該試驗中，人 IL-6 導致血清鐵濃度降低至載劑 /IL-6 治療猴之投藥前濃度之 27%，該血清鐵之降低藉由在注射人 IL-6 之前投予鏡像異構適體 238-D4-008-5'-PEG 而被完全阻斷。

參考文獻

- Abboud S, Haile DJ (2000) A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 275(26): 19906-19912
- Andrews NC (2008) Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 112(2): 219-230
- Asano S, Okano A, Ozawa K, Nakahata T, Ishibashi T, Koike K, Kimura H, Tanioka Y, Shibuya A, Hirano T (1990) In vivo effects of recombinant human interleukin-6 in primates: stimulated production of platelets. *Blood* 75(8): 1602-1605
- Constante M, Jiang W, Wang D, Raymond VA, Bilodeau M, Santos MM (2006) Distinct requirements for Hfe in basal and induced hepcidin levels in iron overload and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291(2): G229-237
- De Domenico I, Ward DM, Langelier C, Vaughn MB, Nemeth E, Sundquist WI, Ganz T, Musci G, Kaplan J (2007) The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation. *Mol Biol Cell* 18(7): 2569-2578
- Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI (2000) Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 403(6771): 776-781
- Frazer DM, Wilkins SJ, Millard KN, McKie AT, Vulpe CD, Anderson GJ (2004) Increased hepcidin expression and hypoferraemia associated with an acute phase response are not affected by inactivation of HFE. *Br J Haematol* 126(3): 434-436
- Hashizume M, Uchiyama Y, Horai N, Tomosugi N, Mihara M (2009) Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, improved anemia in monkey arthritis by suppressing IL-6-induced hepcidin production. *Rheumatol Int* Jul 29, DOI 10.1007/s00296-009-1075-4.
- Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ (2002) The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 277(40): 37597-37603
- Klug S, Neubert R, Stahlmann R, Thiel R, Ryffel B, Car BD, Neubert D (1994) Effects of recombinant human interleukin 6 (rhIL-6) in marmosets (*Callithrix jacchus*). 1. General toxicity and hematological changes. *Arch Toxicol* 68(10): 619-31

- Klussmann, S. (eds.); *The Aptamer Handbook*, 1. Edition - February 2006, Wiley-VCH, Weinheim
- Krause A, Neitz S, Magert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, Adermann K (2000) LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 480(2-3): 147-150
- McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, Miret S, Bomford A, Peters TJ, Farzaneh F, Hediger MA, Hentze MW, Simpson RJ (2000) A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 5(2): 299-309
- Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T (2004a) IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 113(9): 1271-1276
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J (2004b) Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 306(5704): 2090-2093
- Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S (2001) Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(15): 8780-8785
- Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S (2002a) Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(7): 4596-4601
- Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S (2002b) The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 110(7): 1037-1044
- Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Andrews NC, Vaulont S (2003) Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 34(1): 97-101
- Nishimoto N, Terao K, Mima T, Nakahara H, Takagi N, Takeuchi T (2008) Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. *Blood* 112(10): 3959-3964.

- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T (2001) Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 276(11): 7806-7810
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loreal O (2001) A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 276(11): 7811-7819
- Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T (2005) Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 106(6): 2196-2199
- Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C (2003) Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 33(1): 21-22
- Valore EV, Ganz T (2008) Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells Mol Dis* 40(1): 132-138
- Weiss G (2008) Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta*
- Weiss G, Goodnough LT (2005) Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 352(10): 1011-1023

在本說明書、申請專利範圍、序列表及/或圖式中所揭示之本發明之特徵可分開地或以彼等之任何組合作為實現不同形式之本發明之物質。

序列表

<110> 諾克森製藥公司(NOXXON Pharma AG)

<120> 與鐵調節激素(hepcidin)結合之核酸類

<130> N 10082 PCT

<160> 212

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> 肽

<222> (1)..(25)

<400> 1

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

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
20 25

<210> 2

<211> 25

<212> PRT

<213> 恆河獼猴(Macaca mulatta)

<220>

<221> 肽

<222> (1)..(25)

<400> 2

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

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
20 25

<210> 3

<211> 25

<212> PRT

<213> 長尾獼猴(Macaca fascicularis)

<220>

<221> 肽

<222> (1)..(25)

<400> 3

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

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
20 25

<210> 4

<211> 25

<212> PRT

<213> 野豬(Sus scrofa)

<220>
 <221> 肽
 <222> (1)..(25)

<400> 4

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

Ala Ile Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
 20 25

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

<220>
 <221> 肽
 <222> (1)..(25)

<400> 5

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

Ser Gln Cys Gly Ile Cys Cys Lys Thr
 20 25

<210> 6
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 褐鼠(Rattus norvegicus)

<220>
 <221> 肽
 <222> (1)..(25)

<400> 6

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

Ser Ser Cys Gly Leu Cys Cys Ile Thr
 20 25

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

<220>
 <221> 肽
 <222> (1)..(25)

<400> 7

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

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
 20 25

<210> 8
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <221> 肽
 <222> (1)..(20)

<400> 8

Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg Ser Lys Cys Gly Met
 1 5 10 15

Cys Cys Lys Thr
 20

<210> 9
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<220>
 <221> 肽
 <222> (1)..(22)

<400> 9

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

Gly Met Cys Cys Lys Thr
 20

<210> 10
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 10
 gcacucguua aguagagga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc

48

<210> 11
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 11
 gcacuuguaa aguagagga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc

48

<210> 12
 <211> 48

<212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 12
 gcacucguaa aguagagga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

 <210> 13
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 13
 gcacucguaa aguagagga ccuaguccgg cgugauagug ccgggugc 48

 <210> 14
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 14
 gcacucguaa aguagagga ccuaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

 <210> 15
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 15
 gcacucguaa aguagagga cucaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

 <210> 16
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

 <220>

<21> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 16
 gcacucguaa aguagaggga uacaguccgg cgugauagug acgagugc 48

<210> 17
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 17
 cguguguaaa guagaggcag gaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 18
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 18
 cguguguaaa guagaggcag gaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 19
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 19
 cguguguaaa guagaggcag gaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 20
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 20
 cguguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acacg 45

<210> 21

<211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 21
 gcuguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acagc 45

 <210> 22
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 22
 cguguguaaa guagaggaca auagucggcg ugagagugcc acagc 45

 <210> 23
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 23
 cgugaaaagu agaaacuugu cgaaagcaag uagcgugaua gugccacg 48

 <210> 24
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 24
 cgugcugcg ugauagugcu ccagguucug gauaaaguag agagcacg 48

 <210> 25
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 25
 cgugcgaagg agugauaagu guuucugacu uucuuccaga cuccaccg 48

<210> 26
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 26
 cacucguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgagug 46

<210> 27
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 27
 cgcgcuaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgcgcg 46

<210> 28
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 28
 gcgcuaaaag uagagggacc caguccggc ugauagugcc gcgc 44

<210> 29
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 29
 gcacucguaa aguagagga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 30
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 30
 gcacucguuaa aguagagggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 31
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 31
 gcauucguuaa aguagagggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 32
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 32
 gcacucguuaa aguagagggga ccuaguccgg cgugauagug ccgggugc 48

<210> 33
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 33
 gcacucguuaa aguagagggga ccuaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 34
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成



<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 34
 gcacucguaa aguagaggga cucaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 35
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 35
 gcacucguaa aguagaggga uacaguccgg cgugauagug acgagugc 48

<210> 36
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 36
 cguguguaaa guagaggcag gaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 37
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 37
 cgcguguaaa guagaggcag gaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 38
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 38
 cguguguaaa guagaggcag gcaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 39
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 39
 cguguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acacg 45

<210> 40
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 40
 cguguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acacg 45

<210> 41
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 41
 cguguguaaa guagaggaca auugucggcg ugagagugcc acacg 45

<210> 42
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 42
 cgugaaaagu agaaacuugu cgaaagcaag uagcgugaua gugccacg 48

<210> 43
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

 <400> 43
 cgugcuggcg ugauagugcu ccagguucug gauaaaguag agagcacg 48

<210> 44
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 44
 cgugcgaagg agugauaagu guuucugacu uucuuccaga cucccacg 48

<210> 45
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 45
 cacucguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgagug 46

<210> 46
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 46
 cgcgguaaa guagagggac ccaguccggc gugauagugc cgcgcg 46

<210> 47
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 47
 gcgcuaaaag uagagggacc caguccggcg ugauagugcc gcgc 44

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

<220>
 <223> 合成

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

<400> 48
 gcacucguaa aguagaggga cccaguccgg cgugauagug ccgagugc 48

<210> 49
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 49
 aggcguaaag uagaggggcu gagcccggcg uguuagugcc gccu 44

<210> 50
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 50
 aggcguaaag uagaggggac uaguccggcg ugauagugcc gccu 44

<210> 51
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 51
 cguguguaaa guagaggcag auaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

<210> 52
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>

<223> 合成

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

 <400> 52
 cgugaaaagu agaaacuugu cgaaagcaag cagcgugaua gugccacg 48

 <210> 53
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 53
 cgugaaaagu ugaaauuugu uggaaucaag cagggauaua gugccacg 48

 <210> 54
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 54
 agcgugucgu augggauaag uaaaugagga guuggaggaa gggugcgcu 49

 <210> 55
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 55
 agcgugucgu augggauuaa guaaaugagg aguuggagga agggcaugcu 50

 <210> 56
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 56

agugugucgu augggauaag uaaaugaggg guuggaggaa ggaugcgcgcu 49
 <210> 57
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 57
 agugugucgu augggauaag uaaaugagga guuggaggaa aggcgucgcu 49
 <210> 58
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 58
 agcgugccgg augggauaag uaaaugagga guuggaggaa gggugcgcgcu 49
 <210> 59
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 59
 agcgugccgu augggauaag uaaaugagga guaggaggaa gggucgcu 49
 <210> 60
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 60
 agcgugccgu augggagaag uaaaugagga guuggaggaa gggcgcgcu 49
 <210> 61
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 61
 aggcucggac agccggggga caccauauac agacuacgau acgggccu 48

<210> 62
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 62
 aggcucggac ggccggggga caccauauac agacuacgau acgggccu 48

<210> 63
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 63
 agccccggac agccggggga caccauauac agacuacgau acgggccu 48

<210> 64
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 64
 aggcugggc ggccggggga caccauauac agacuacgau acgagccu 48

<210> 65
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 65
 agacuugggc agccggggga caccauauac agacuacgau acgagucu 48

<210> 66
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 66
 cgggcgccau agaccguuau uaagcacugu aacuaccgaa ccgccccg 49

<210> 67
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 67
 cgggcgccau agaccguuaa cuacauaacu accgaaccgu gcccg 45

<210> 68
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 68
 cgggcgcuac cgaaccacu aaaaccagug cauagaccgc gcccg 45

<210> 69
 <211> 41
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 69
 cgggcgcuac cgaaccguca cgaagaccu agaccgcgcc g 41

<210> 70
 <211> 41
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 70

cgagcgcgaac cgaaccucua cccagacaua gaccgcgccc g

41

<210> 71

<211> 47

<212> RNA

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 71

gcacucguaaa aguagaggga ccaguccggc gugauagugc cgagugc

47

<210> 72

<211> 43

<212> RNA

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 72

guguguaaaag uagaggacaa uugucggcgu gauagugcca cac

43

<210> 73

<211> 43

<212> RNA

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 73

gcguguaaaag uagaggacaa uugucggcgu gauagugcca cgc

43

<210> 74

<211> 43

<212> RNA

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<223> D-RNA

<400> 74
 gcgcguaaag uagaggacaa uugucggcgu gauagugccg cgc 43

<210> 75
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 75
 cguguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acac 44

<210> 76
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 76
 gccguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acggc 45

<210> 77
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 77
 gccguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc accgc 45

<210> 78
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 78
 gcugcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gcagc 45

<210> 79
 <211> 45
 <212> RNA

<213> 人工
 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 79
 gcuggguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc ccagc 45

 <210> 80
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 80
 gcggcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gccgc 45

 <210> 81
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 81
 gcgcgcguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcgcgc 46

 <210> 82
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 82
 gcgcgcguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg cgcgc 45

 <210> 83
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature

<223> D-RNA
 <400> 83
 ggcgcguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcc 44

 <210> 84
 <211> 43
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 84
 ggcgcguaug ggauaagua augaggagu ggaggaagg gcc 43

 <210> 85
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 85
 ggugucguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcauc 46

 <210> 86
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 86
 ggugucguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcauc 45

 <210> 87
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 87
 gcgccguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc 44

 <210> 88
 <211> 43

<212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 88
 gcgccguaug ggauaaguaa augaggaguu ggaggaaggg cgc 43

<210> 89
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 89
 ggcgccguau gggauuaagu aaaugaggag uuggaggaag ggcgcc 46

<210> 90
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 90
 ggcgccguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg ggcgcc 45

<210> 91
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> D-RNA
 <400> 91
 ggcgucguau gggauuaagu aaaugaggag uuggaggaag ggcgcc 46

<210> 92
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>

<221> misc_feature
 <223> D-RNA

 <400> 92
 ggcgucguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgcc 45

 <210> 93
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 93
 ggcucggaca gccgggggac accauauaca gacuacgaua cgggcc 46

 <210> 94
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 94
 gcucggacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac gggc 44

 <210> 95
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 95
 cucggacagc cgggggacac cauauacaga cuacgauacg gg 42

 <210> 96
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 96
 gcccgacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac gggc 44

 <210> 97

<211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 97
 ggccggacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac ggcc 44

 <210> 98
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 98
 gcggagacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauau ccgu 44

 <210> 99
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 99
 aggcugacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauag gccu 44

 <210> 100
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 100
 ggccugacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauaa gccu 44

 <210> 101
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

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

<400> 101
 gcgaggacag cgggggaca ccgauuacag acuacgauac gcgc 44

<210> 102
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 102
 gccggacagc cgggggacac cauuuacaga cuacgauacg gc 42

<210> 103
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 103
 gccggacagc cgggggacac cauuuacaga cuacgauacg cc 42

<210> 104
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 104
 gccggacagc cgggggacac cauuuacaga cuacgauagg cc 42

<210> 105
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 105
 gcgagacagc cgggggacac cauuuacaga cuacgauacg gc 42

<210> 106
 <211> 44
 <212> RNA

<213> 人工
 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 106
 ggccggacag ccggaggaca ccatauacag acuacgauac ggcc 44

 <210> 107
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 107
 ggccggacag ccggcggaca ccatauacag acuacgauac ggcc 44

 <210> 108
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 108
 ggccggacag ccgggaggac accatauaca gacuacgaua cggcc 45

 <210> 109
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 109
 uccagguucu gga 13

 <210> 110
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature

<223> L-RNA
 <400> 110
 aggcguaaag uagaggggcu gagcccggcg uguuagugcc gccu 44

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 111
 aggcguaaag uagaggggac uaguccggcg uguuagugcc gccu 44

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 112
 cguguuuuuu guagagggcag auaaucugcg gaguguuagu uccacacg 48

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 113
 cgugaaaagu agaaacuugu cgaaagcaag cagcgugaua gugccacg 48

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 114
 cgugaaaagu ugaaauuugu uggaaucaag cagggauuaa gugccacg 48

 <210> 115
 <211> 49



<212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 115
 agcgugucgu augggauaag uaaaugagga guuggaggaa gggugcgcu 49

 <210> 116
 <211> 50
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 116
 agcgugucgu augggauuaa guaaaugagg agnuggaggaa agggcaugcu 50

 <210> 117
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 117
 agugugucgu augggauaag uaaaugaggg guuggaggaa ggaugcgcu 49

 <210> 118
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 118
 agugugucan augggauaag uaaaugagga guuggaggaa aggcaugcu 49

 <210> 119
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

 <220>

<221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 119
 agcgugccgg augggauaag uaaaugagga guuggaggaa gggugcgcu 49

 <210> 120
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 120
 agcgugccgu augggauaag uaaaugagga guaggaggaa ggguacgcu 49

 <210> 121
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 121
 agcgcgccgu augggagaag uaaaugagga guuggaggaa gggcgcgcu 49

 <210> 122
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 122
 aggcucggac agccggggga caccuauac agacuacgau acgggccu 48

 <210> 123
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 123
 aggcucggac ggccggggga caccuauac agacuacau acgggccu 48

 <210> 124

<211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 124
 agcccccggac agccggggga caccauauac agacuacuau acgggccu 48

 <210> 125
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 125
 aggcuuaggc ggccggggga caccauauac agacuacuau acgagccu 48

 <210> 126
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 126
 agacuugggc agccggggga caccauauac agacuacgau acgagucu 48

 <210> 127
 <211> 49
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 127
 cggcgccau agaccguuau uaagcacugu aacuaccgaa ccgcgcccg 49

 <210> 128
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 128
 cgggcgccau agaccguuaa cuacauaacu accgaaccgu gcccg 45

 <210> 129
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 129
 cgggcgcuac cgaaccacac aaaaccagug cauagaccgc gcccg 45

 <210> 130
 <211> 41
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 130
 cgggcgcuac cgaaccguca cgaagaccac agaccgcgcc g 41

 <210> 131
 <211> 41
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 131
 cgagcgcaac cgaaccucua cccagacaua gaccgcgcc g 41

 <210> 132
 <211> 47
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 132
 gcacucguaa aguagaggga ccaguccgcg gugauagugc cgagugc 47

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 133
 guguguaaag uagaggacaa uugucggcgu gauagugcca cac 43

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 134
 gcguguaaag uagaggacaa uugucggcgu gauagugcca cgc 43

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 135
 gcgcguaaag uagaggacaa uugucggcgu gauagugccg cgc 43

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

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 136
 cguguguaaa guagaggaca auugucggcg uguauagugcc acac 44

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

 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 137
 gccguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acggc 45

<210> 138
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 138
 gcgguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc accgc 45

<210> 139
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 139
 gcugcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gcagc 45

<210> 140
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 140
 gcuggguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc ccagc 45

<210> 141
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 141
 gcggcguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc gccgc 45

<210> 142
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 142
 gcgcgcuau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcgcg 46

<210> 143
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 143
 gcgcgcuau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg cgcgc 45

<210> 144
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 144
 gcgcgcuau ggaauaagua aaugaggagu uggaggaagg cgcc 44

<210> 145
 <211> 43
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 145
 gcgcgcuau ggaauaagua augaggagu ggaggaaggc gcc 43

<210> 146
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 146
 ggugucguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag ggcauc 46

 <210> 147
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 147
 ggugucguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcauc 45

 <210> 148
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 148
 gcgccguaug ggaauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc 44

 <210> 149
 <211> 43
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 149
 gcgccguaug ggauaaguua augaggagu uggaggaagg cgc 43

 <210> 150
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 150
 gcgccguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcgcc 46

<210> 151
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 151
 ggcgcccguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgcc 45

<210> 152
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 152
 ggcgucguau gggauuaagu aaaugaggag uggaggaag gcgcc 46

<210> 153
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 153
 ggcgucguau gggauaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgcc 45

<210> 154
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 154
 ggcucggaca gccgggggac accauauaca gacuacgaua cgggcc 46

<210> 155
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>

<223> 合成

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

 <400> 155
 gcucggacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac gggc 44

 <210> 156
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 156
 cucggacagc cgggggacac cauuuacaga cuacgauacg gg 42

 <210> 157
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 157
 gacaaauaguc 10

 <210> 158
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 158
 gcccgacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac gggc 44

 <210> 159
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 159

ggccggacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac ggcc 44
 <210> 160
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 160
 gcggagacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauau ccgu 44
 <210> 161
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 161
 aggcugacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauag gccu 44
 <210> 162
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 162
 ggccugacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauaa gccu 44
 <210> 163
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 163
 gcgcggacag ccgggggaca ccgauuacag acuacgauac gcgc 44
 <210> 164
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 164
 gccggacagc cgggggacac cauauacaga cuacgauacg gc 42

<210> 165
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 165
 gccggacagc cgggggacac cauauacaga cuacgauacg cc 42

<210> 166
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 166
 ggccgacagc cgggggacac cauauacaga cuacgauagg cc 42

<210> 167
 <211> 42
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 167
 gcgcgacagc cgggggacac cauauacaga cuacgauagc gc 42

<210> 168
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 168
 ggccggacag ccggaggaca ccgauuacag acuacgauac ggcc 44

<210> 169
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 169
 ggccggacag ccggcggaca ccgauuacag acuacgauac ggcc 44

<210> 170
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 170
 ggccggacag ccgggaggac accgauuaca gacuacgaua cggcc 45

<210> 171
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 171
 gcuguguaaa guagaggaca auugucggcg uguagugcc acagc 45

<210> 172
 <211> 48
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 172
 gcacucguaa aguagaggga cccaguccgg cgugauagug cggagugc 48

<210> 173
 <211> 45
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
<223> 合成

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

<400> 173
gcuguguaaa guagaggaca auugucggcg ugauagugcc acagc 45

<210> 174
<211> 44
<212> RNA
<213> 人工

<220>
<223> 合成

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

<400> 174
ggccggacag ccgggggaca ccuauacag acuacgauac ggcc 44

<210> 175
<211> 46
<212> RNA
<213> 人工

<220>
<223> 合成

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

<400> 175
gcgcgguau gggauuaagu aaugaggag uggaggaag gcgcgc 46

<210> 176
<211> 44
<212> RNA
<213> 人工

<220>
<223> 合成

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

<400> 176
gcgccguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc 44

<210> 177
<211> 11
<212> RNA
<213> 人工

<220>
<223> 合成

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

<400> 177
 ccauacggcg c 11

<210> 178
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 178
 gcgccuucc ucc 13

<210> 179
 <211> 46
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 179
 gcgcgcuau gggauuaagu aaaugaggag uggaggaag gcgcg 46

<210> 180
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 180
 gcgccguaug ggauuaagua aaugaggagu uggaggaagg gcgc 44

<210> 181
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 181
 ggccggacag ccgggggaca ccauauacag acuacgauac ggcc 44

<210> 182
 <211> 34
 <212> RNA

<213> 人工
 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 182
 rkaugggaku aaguaaanga ggrguwggag gaar 34

 <210> 183
 <211> 33
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 183
 rkaugggaka aguaaaugag grguwggag aar 33

 <210> 184
 <211> 34
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 184
 guaugggauu aaguaaanga ggaguuggag gaag 34

 <210> 185
 <211> 34
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 185
 grgrccggv ggacaccaua uacagacuac kaua 34

 <210> 186
 <211> 35
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

 <220>
 <221> misc_feature

<223> L-RNA
 <400> 186
 grcrgccgga rggacaccau uacagacua ckaua 35

<210> 187
 <211> 34
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 187
 gacagccggg ggacaccau uacagacuac gaua 34

<210> 188
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 188
 waaaguwgar 10

<210> 189
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 189
 rgmgugwkag ukc 13

<210> 190
 <211> 11
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 190
 gggcugagcc c 11

<210> 191
 <211> 13

<212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 191
 gcagauaauc ugc 13

 <210> 192
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 192
 ggaccagucc 10

 <210> 193
 <211> 11
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 193
 ggaccaguc c 11

 <210> 194
 <211> 11
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 194
 ggaccuaguc c 11

 <210> 195
 <211> 11
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

 <220>

<21> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 195
 ggacucaguc c 11

<210> 196
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 196
 gcagguaauc ugc 13

<210> 197
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 197
 gcaggcaauc ugc 13

<210> 198
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 198
 gacaauuguc 10

<210> 199
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工
 <220>
 <223> 合成

<220>
 <221> misc_feature
 <223> L-RNA
 <400> 199
 uaaaguagag 10

<210> 200

<211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 200
 aaaaguagaa 10

<210> 201
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 201
 aaaaguugaa 10

<210> 202
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 202
 gggauauagu gc 12

<210> 203
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

<400> 203
 ggcgugauag ugc 13

<210> 204
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成

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

 <400> 204
 ggaguguuag uuc 13

<210> 205
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 205
 ggcgugagag ugc 13

<210> 206
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 206
 agcgugauag ugc 13

<210> 207
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 207
 ggcguguuag ugc 13

<210> 208
 <211> 11
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 208
 ggacbyaguc c 11

<210> 209
 <211> 11
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 209
 ggauacaguc c 11

<210> 210
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 210
 gcaggyaauc ugc 13

<210> 211
 <211> 10
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 211
 gacaauwguc 10

<210> 212
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> 人工

 <220>
 <223> 合成

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

 <400> 212
 acuugucgaa agcaagyu 18

七、申請專利範圍：

公告本

105年12月7日修正本

1. 一種能與鐵調節激素 (hepcidin) 結合之 L 型核酸，其中該核酸從 5' 至 3' 方向包含：

第一末端核苷酸片段，其包含 5 至 8 個核苷酸；

中間核苷酸片段，其包含

5'RKAUGGGAKUAAGUAAAUGAGGGRGUWGGAGGAAR3'

或 5'RKAUGGGAKAAGUAAAUGAGGGRGUWGGAGGAAR3' 之核苷酸序列；及

第二末端核苷酸片段，其包含 5 至 8 個核苷酸；

其中該核酸係由如 SEQ ID NO. 115 至 119、SEQ ID NO. 121、SEQ ID NO. 142、SEQ ID NO. 144、SEQ ID NO. 146、SEQ ID NO. 148、SEQ ID NO. 151、SEQ ID NO. 152、SEQ ID NO. 175 或 SEQ ID NO. 176 中任一者之核酸序列所構成。

2. 如申請專利範圍第 1 項之核酸，其中該核酸包含修飾基團，其中包含該修飾基團之核酸自有機體分泌之速率相較於不含該修飾基團之核酸為低。

3. 如申請專利範圍第 1 項之核酸，其中該核酸包含修飾基團，其中包含該修飾基團之核酸在有機體內留滯之時間相較於不含該修飾基團之核酸為長。

4. 如申請專利範圍第 2 至 3 項中任一項之核酸，其中該修飾基團係經由連接子 (linker) 與該核酸偶合。

5. 如申請專利範圍第 1 項之核酸，其係用於治療及 / 或預防疾病之方法。

6. 一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之核酸及可任意選擇之額外成分，其中該額外成分係選自包含醫藥上可接受之賦形劑、醫藥上可接受之載劑及醫藥上之活性劑之群組。

7. 一種如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之核酸於製造藥物之用途。

8. 一種如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之核酸於製造診斷劑之用途。

9. 如申請專利範圍第 7 項之用途，其中該藥物係用於治療及/或預防貧血、低血鐵症、異食癖、鐵調節激素含量上升之症狀、鐵含量上升之症狀或鐵過度負擔之症狀。

10. 如申請專利範圍第 7 項之用途，其中該藥物係用於治療或與其他藥物或治療方法組合使用，其中該藥物或治療方法包含其他醫藥活性化合物或給予該其他醫藥活性化合物，其中該其他醫藥活性化合物係選自鐵質補充劑、維生素補充劑、紅血球生成刺激劑、抗生素、抗發炎生物製劑、免疫系統抑制劑、抗血栓溶解劑、他汀類、血管加壓劑或心肌收縮化合物。

11. 一種複合物，其包含如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之核酸與鐵調節激素。

12. 一種用於篩選鐵調節激素之拮抗劑或激動劑之方法，該方法包含下列步驟：

- 提供鐵調節激素之候選拮抗劑及/或候選激動劑，

- 提供如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之核酸，
- 提供測試系統，該測試系統於鐵調節激素之拮抗劑及 / 或激動劑存在時可提供信號，及
- 測定該候選拮抗劑是否為鐵調節激素之拮抗劑及 / 或該候選激動劑是否為鐵調節激素之激動劑。

13. 一種用於偵測鐵調節激素之套組，該套組包含如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之核酸。